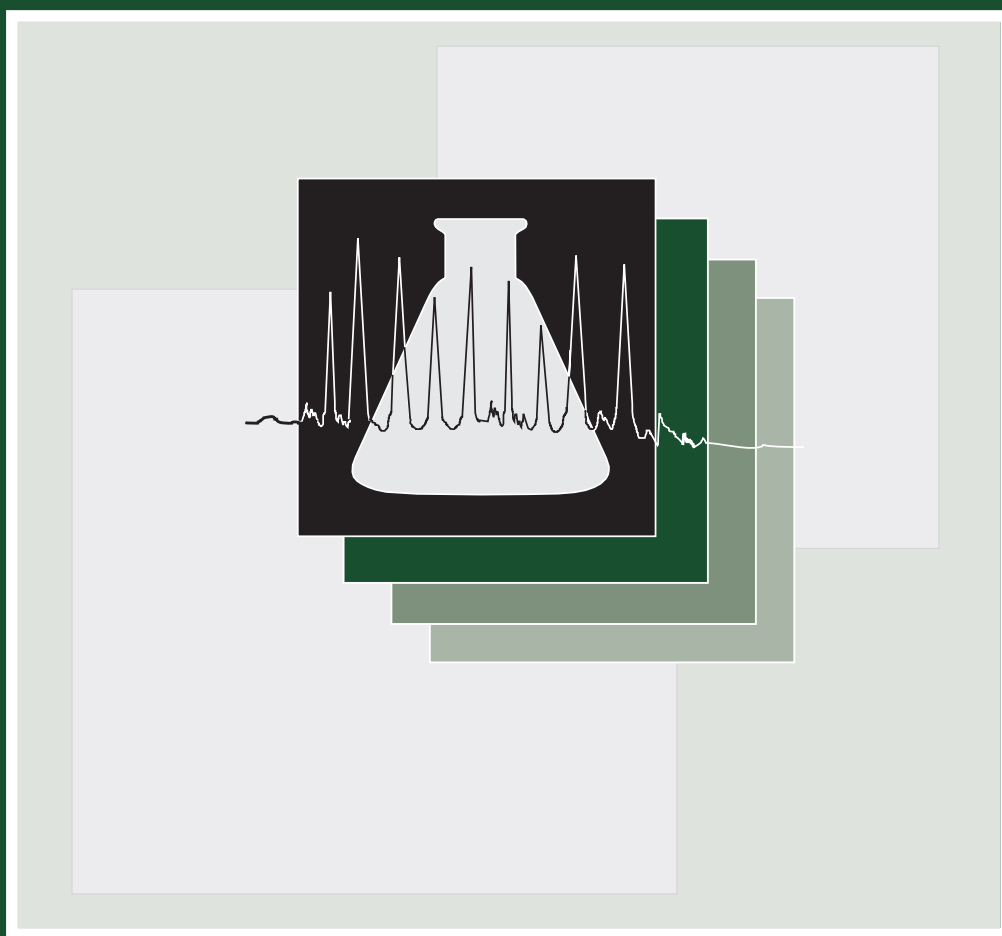


儀器總覽 Introduction to Instrumentation

化學分析儀器

Chemical Analysis Instrument



國家實驗研究院
儀器科技研究中心

儀器總覽 Introduction to Instrumentation

化學分析儀器

Chemical Analysis Instrument

序言

工業革命以來，儀器技術伴隨科技發展、學術研究及產業需求而蓬勃發展，為人類生活帶來重大變革；近年來政府開始積極推動儀器產業發展，列為重點產業及重要關鍵技術之一，每兩年專案規劃儀器產業技術發展策略，以期帶動本土儀器產業技術發展。本中心進行精密儀器研究發展與技術服務廿餘年，深感國內儀器資訊之重要，陸續編輯出版『科儀新知』、『科儀叢書』等專業刊物及建立『全國科學儀器網路查詢系統』供各界使用。近年來科技發展一日千里，新穎設備不斷問世，系統愈形繁雜，新名詞、新術語層出不窮，本中心乃編纂兼顧廣度與普及性的儀器百科全書，有系統且廣泛地介紹各種科學儀器，『儀器總覽』便是此一構思下之產物，透由國內專家、學者參與，藉深入淺出的解說一方面為廣大青年學子與社會人士解讀各種科學儀器，另一方面亦作為相關技術人員補充專業領域之儀器知識的參考工具。

鑑於儀器係結合光、機、電、真空、控制等物理、化學及生命技術之整合系統，種類繁多，各國分類標準及涵蓋範圍亦隨該國產業現況而異，而我國在工業生產統計分類上尚無精密儀器產業類，「儀器總覽」則依儀器用途概分為八大類組，涵括基本物理量量測儀器、光學量測儀器、化學分析儀器、材料分析儀器、表面分析儀器、電子測試儀器、醫療儀器、環境及安全衛生檢測儀器等，從基本簡易的量測儀器到尖端複雜的分析儀器，盡皆包羅其中。每項儀器的內容儘可能以淺顯易懂的文字表達，避免太過專業的術語與公式，並著重基本原理的說明與實際的應用介紹。

本總覽自 84 年 11 月開始規劃，從架構的研擬，儀器項目的分類，到實際內容的撰寫與審核，共邀集了約二百位儀器相關領域的學者專家共同參與，其中包括大專院校教授、研究機構研究人員、醫學中心的醫生及技術人員等，本總覽承蒙專家學者於百忙之中鼎力協助，方能順利付梓，對所有參與撰稿、審稿及編輯的單位與人員，特致謝忱。本總覽內容如有疏漏之處，冀望各界先進不吝指正，俾供未來修訂增補時之參考。

黃文雄

謹誌

中華民國八十七年九月一日

編審委員

總召集人

黃文雄 國科會精密儀器發展中心主任

副總召集人

陳建人 國科會精密儀器發展中心副主任

分組召集人

張良知 國科會精密儀器發展中心顧問

委員

梁振民 中山科學研究院材料研發中心研究員

陳振文 中山科學研究院材料研發中心研究員

陸懋宏 國立交通大學光電工程系教授

賀方涓 工業技術研究院光電工業研究所研究員

薛新國 工業技術研究院光電工業研究所顧問

(按姓名筆畫序)

編輯說明

一、編輯目的

儀器在科學研究與工業生產上是極為重要的工具，且與日常生活的關係，如食品檢驗、環境偵測、醫療診斷等，亦日趨密切。環視國內現有之儀器書刊，或為龐大深入之專書，或為尖端之技術性論文，欠缺對儀器廣泛而完整的介紹。精密儀器發展中心彙編本「儀器總覽」，即希望由全面性的角度出發，以較為淺易卻不失完整的方式，向讀者介紹各種儀器。

因為內容較為淺易，故適合大專院校學生與從事儀器相關工作人員，甚或一般社會大眾，建立對儀器基本的認識與瞭解。因為涵蓋了各種領域的儀器，故也適合對某類儀器相當熟悉之研究人員或儀器廠商參考使用。

二、範圍與分類

本總覽收錄之儀器項目以商業化產品為原則。功能過於簡單之工具，因不具備完整的量測或分析功能，不在收錄範圍。所收錄之儀器，依其應用領域，概分為八個類組：

- 基本物理量量測儀器
- 光學量測儀器
- 化學分析儀器
- 材料分析儀器
- 表面分析儀器
- 電子測試儀器
- 醫療儀器
- 環境及安全衛生檢測儀器

各類組依其所含儀器之功能、性質，再細分為不同次項目。

三、基本格式

每項儀器原則上以二至四頁之版面介紹，其內容由以下項目所構成：

1. 名稱：儀器的中、英文名稱
2. 關鍵字：列出該儀器內文中重要的關鍵字與關鍵詞，中、英文並列。
3. 基本原理：說明儀器運作的基本原理與概念。
4. 結構示意圖：利用平面結構圖標明儀器的各項元件，或以方塊圖說明儀器各部份的功能。

5. 規格與特徵：說明一般商業化產品的規格及其優、缺點。
6. 應用與用途：說明儀器主要的應用及其操作技巧。
7. 參考文獻：列出相關的書籍及文獻資料，以供讀者更深入探討之參考。

極少部份的儀器，因其特殊性或解說上的需要，未完全遵循上述原則，例如部份醫療儀器，因涉及人體安全，增列儀器使用安全事項。有些儀器則因其較為簡單或較為複雜，篇幅略有增減。這些都不會影響讀者之閱讀。

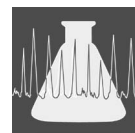
四、出版形式

為便於讀者閱讀與使用，本總覽依八個類組分冊編印，每一冊除有該類組收錄儀器之中、英文目錄外，並將該冊全部關鍵字，分別依中文及英文排序方式整理為索引，以利讀者查閱。全書並編印總目錄一冊，將八個類組的儀器目錄及索引彙整，除方便查閱，亦有助於不同類組間的參照。

在「基本物理量量測儀器」類組中，因收錄之儀器多與度量衡的標準檢測有關，特附錄經濟部公告之「度量衡單位及其所用之倍數、分數之名稱、定義及代號」，供讀者參考。

部份類組所涵蓋的儀器領域較廣，儀器種類與項目非常多，部份儀器項目於本輯中未能收錄，加上新產品陸續推出，本中心將持續增補出版。

目錄



原子光譜儀

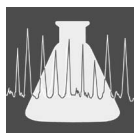
- 1 原子吸收光譜儀
Atomic Absorption Spectrometer (AAS)
- 4 原子放射光譜儀
Atomic Emission Spectrometer (AES)
- 6 感應耦合電漿原子發射光譜儀
Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometer (ICP-AES)
- 10 X 光螢光光譜儀
X-Ray Fluorescence Spectrometer (XRF)

分子光譜儀

- 14 紫外光／可見光吸收光譜儀
Ultraviolet/Visible Absorption Spectrometer
- 17 近紅外光吸收光譜儀
Near Infrared Absorption Spectrometer
- 19 紅外光吸收光譜儀
Infrared Absorption Spectrophotometer
- 22 螢光光譜儀
Fluorescence Spectrometer
- 25 雷射拉曼散射光譜儀
Laser Raman Scattering Spectrometer
- 29 雷射光散射光譜儀
Laser Light Scattering Spectrometer
- 32 化學發光測量儀
Chemiluminescence Photometer
- 35 生物發光測量儀
Bioluminescence Photometer

共振儀 (波譜儀)

- 38 核磁共振波譜儀
Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (NMR)
- 41 固態核磁共振儀
Solid State Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer
- 45 電子自旋共振儀 (電子順磁共振儀)
Electron Spin Resonance Spectrometer (ESR)

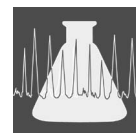


質譜儀

- 49 質譜／質譜儀
Mass Spectrometer/Mass Spectrometer (MS/MS)
- 52 氣相層析／質譜儀
Gas Chromatography/Mass Spectrometer (GC/MS)
- 54 四極矩質譜儀
Quadrupole Mass Spectrometer
- 57 離子阱質譜儀
Ion Trap Mass Spectrometer
- 60 磁扇形場式質譜儀
Magnetic Sector Mass Spectrometer
- 63 飛行式質譜儀
Time of Flight Mass Spectrometer (TOF-MS)
- 66 傅立葉轉換質譜儀
Fourier-Transform Mass Spectrometer (FT-MS)
- 69 快速原子撞擊質譜儀
Fast Atom Bombardment Mass Spectrometer (FAB-MS)
- 71 大氣壓離子化質譜儀
Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometer (API-MS)
- 74 雷射脫附質譜儀
Laser Desorption Mass Spectrometer
- 77 感應耦合電漿質譜儀
Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer (ICP-MS)

電化學分析儀

- 80 酸鹼度測定儀
pH Meter
- 82 導電度計
Conductivity Meter
- 84 電位滴定儀
Potentiometric Titrator
- 86 伏特安培儀
Voltammeter



層析

- 90 高效能薄層分析儀
High Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC)
- 95 氣相層析儀
Gas Chromatography (GC)
- 98 低壓液相層析儀
Low Pressure Liquid Chromatography (LPLC)
- 101 高效能液相層析儀
High Performance Liquid Chromatography (HPLC)
- 104 大小排除層析
Size-Exclusion Chromatography (SEC)
- 107 離子層析儀
Ion Chromatography (IC)
- 110 超臨界流體層析儀
Supercritical Fluid Chromatography (SFC)
- 114 逆向流層析
Countercurrent Chromatography (CCC)

其他

- 117 平板凝膠電泳
Slab Gel Electrophoresis
 - 120 毛細管電泳
Capillary Electrophoresis (CE)
 - 123 場流分離儀
Field-Flow Fractionation (FFF)
 - 126 流動注入分析儀
Flow Injection Analyzer (FIA)
 - 129 超臨界流體萃取儀
Supercritical Fluid Extractor (SFE)
 - 133 熱卡計
Calorimeter
 - 136 微差掃描卡計
Differential Scanning Calorimeter (DSC)
-
- 139 中文關鍵字索引
 - 143 英文關鍵字索引

原子吸收光譜儀

Atomic Absorption Spectrometer (AAS)

關鍵字：原子吸收光譜儀、火焰式原子吸收光譜儀、石墨爐原子吸收光譜儀

Keywords：atomic absorption spectrometer, flame atomic absorption spectrometer, graphite furnace atomic absorption spectrometer

一、基本原理

原子吸收光譜儀是 1955 年由 Walsh 和 Alkemade 所發明。其基本原理是將樣品中欲分析物質以熱能將其分子結構破壞，使處於基態的原子釋出，同時通過一束特定波長的光，使部份基態的原子因吸光而發生能階躍遷。根據比爾定律 (Lambert-Beer's Law)，被吸收的光的比例與此原子的量，亦即物質的濃度，成一定函數關係： $I = I_0 e^{-\epsilon bc}$ ，式中 I 為出射光強度， I_0 為入射光強度， ϵ 為吸收係數， b 為樣品槽之長度， c 為物質濃度。上式亦可寫成： $\log I_0/I = A = \epsilon bc$ ， A 被稱為吸收度，因此可知吸收度與物質濃度成正比。欲求得未知溶液物質之濃度必須先利用標準溶液建立檢量曲線 (calibration curve)，再測得未知溶液之吸收度後內插求其正確濃度。

原子吸收光譜儀包括光源、樣品導入與原子化裝置、單光儀、偵檢器，以下針對各部份進行解說。

1. 光源

有連續式光源和線光源。連續式光源以 Xe-Arc 燈為代表，波長範圍界於 200 至 700 nm 間。使用連續式光源必須搭配高解析的單光器。即便如此，其所解析出的頻寬往往仍大於原子吸收之線寬 (因原子光譜為線狀光譜)，這使得部份雜光到達偵檢器，造成比爾定律無法被嚴格遵守，而使定量發生偏差。因此連續光源並非儀器設計主流。

線光源以中空陰極燈 (hollow cathode lamp, HCL) 為代表，其中有單元素燈和多元素燈 (multi-element HCL)，而以單元素燈最為普遍。中空陰極燈 (見圖 1) 的主要構造包括一對電極，陽極固定為鎢絲，而製造陰極的材質可為各種元素或元素合

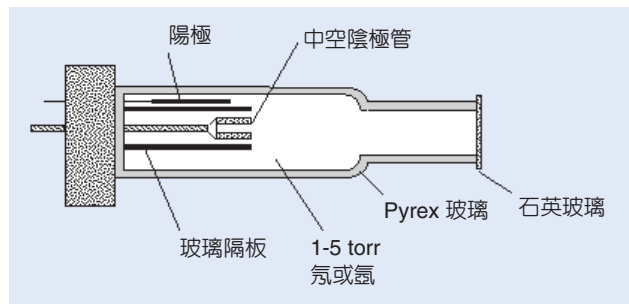


圖 1. 中空陰極管結構圖。

金，因其形狀為中空圓柱形，故以其為名。整個電極是以玻璃管密封，但光線穿透部份為石英，避免光源被一般玻璃所吸收。燈管內充氬氣或氙氣，在工作時，以 300 伏特，1-50 mA 加諸電極，將氣體游離，而正離子被電壓加速撞擊在陰極表面，將陰極原子撞出，此一過程稱為濺射 (sputtering)。這些原子與充填的氣體的離子或電子碰撞後便會有輻射放出，此即原子發射光 (atomic emission)。

2. 樣品導入與原子化

在原子吸收光譜儀發展之初，原子化的過程需要藉由高溫的火焰。液體樣品經由霧化器高壓形成微小水珠，然後被帶至火焰中燃燒，火焰的溫度往往決定了原子化的效率。倘若欲測的元素為低游離能的元素如鹼土金屬，則火焰溫度便不能太高，否則會影響在基態上原子的數目而降低感度。相反的，對於較耐抗熱的物質，則必須提高火焰溫度以提高分解效率，增加分析靈敏度，因此可視欲分析物質選擇燃料與助燃劑來決定火焰的溫度。火焰式原子化裝置由於需要將液體樣品輸送至霧化器內霧化再與燃料混合後送至長度約十公分的狹長出口 (稱為魚尾式爐頭 (fish-tail burner)) 進行燃燒，在這過程中大部份的水珠都因為與器壁碰撞而由導管流

出變成廢液，只有少部份進入火焰（約 3 %），因此雖然進樣量極大但靈敏度卻也不高，此一環節是火焰式原子吸收光譜儀（flame AAS）最大的弱點。雖然已有許多努力投注在此一方面的改良，但尚無突破性的技術能完全取代傳統式霧化器。

除了利用火焰之外，原子化的工具尚有電熱式的石墨爐。利用電阻加熱將石墨爐內的樣品以階段升溫的方式先以低溫乾燥，再升溫予以灰化（ashing）將有機物質蒸發，溫度約為 300–1200 °C，維持數十秒鐘，而後再升溫進入原子化的階段（溫度約 2000–3000 °C）。電熱式石墨爐較火焰式所需的樣品量少許多（約數十 μL ），且能夠在瞬間原子化，增加單位時間內的原子數目。必須注意的是，使用石墨爐原子吸收光譜儀（graphite furnace AAS, GFAAS）的分析再現性對於樣品注入的方式相當敏感，往往必須搭配自動進樣器使每次進樣條件保持一致。

其它進樣方式尚包括氫化產生器，此方式用於 As、Se、Sb、Bi、Ge 等元素，可與 NaBH_4 反應產生 AsH_3 、 H_2Se 、 SbH_3 、 BiH_3 、 GeH_4 等氣體，由載流氣體將之帶入加熱的石英管中進行原子化。

3. 單光器

原子吸收光譜在分析時必須針對欲測元素而選擇該元素的中空陰極燈。而陰極燈所發射光已是該元素的發射光譜，因此理論上每條光都可以被利用來作為測量波長，但為避免元素間共同吸收造成光譜干擾（spectral interference）和提高靈敏度的考慮，一般均選擇幾個較強且不受干擾的波長，當光源通過石墨爐或火燄而被吸收後，再透過單光器負責選出適合定量的波長，而此一部份的裝置可分為兩類，其一為使用簡單的濾光鏡，適用於分析鹼金屬元素。因其發射光譜相當簡單，譜線距離較寬，因此光譜干擾的顧慮較低。這類儀器造價較低，適用於醫學檢驗，分析血液，尿液中之鈉、鉀等元素。第二類儀器使用單光儀，為一般儀器所用，利用光柵偏轉而將某一波長的光導出狹縫至偵檢器。一般所使用的單光器解析度均可達 1 \AA ，足夠將大部份光譜干擾排除。

4. 偵檢器

一般的原子吸收光譜所使用的偵檢器為光電倍增管（photomultiplier），利用光電效應將光轉變成電流，再將電流作倍數放大。此外，為了減少來自於火燄的連續光被單光器濾出後送至光電倍增管造成干擾，因此儀器可將光源調頻（利用電子電路或遮蔽器（chopper）為之）。此時，偵檢器的濾波電路便能分辨真正的光源或來自火燄的連續光。

二、結構示意圖

目前大部份的原子吸收光譜儀均採用雙光束設計（圖 2）。其中除先前所述之各主要部份之外，雙光束設計較單光設計多了一個旋轉遮光器，可將入射光交錯地通過火焰/石墨爐或避開而直接進入單光器然後至光電倍增管成為參考值，而計算此兩路徑的光之比值。如此可排除因光源或光電倍增管不穩定所造成定量上的偏差。

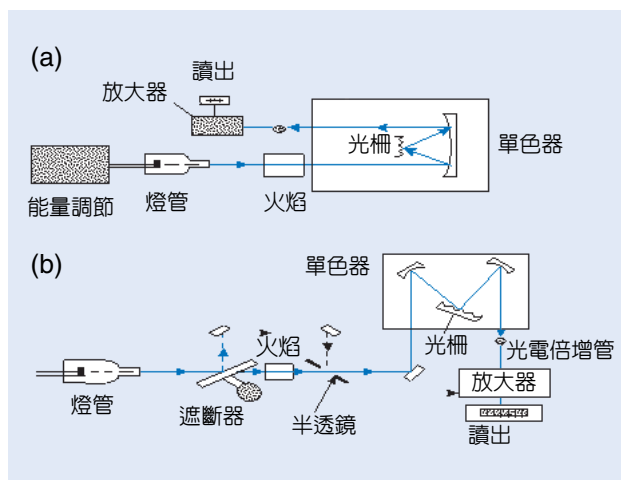


圖 2. (a) 單光束與 (b) 雙光束原子吸收光譜儀構造圖。

三、儀器規格與特徵

1. 線性特性

原子吸收光譜儀之校正曲線通常在超過 0.5–1.0 吸收度後便開使向下彎曲，而在超過 1.5–2.0 時變平直。其中一個主要原因是由於來自於光源的雜光在整個出射光的比例開始顯得重要。

2. 精確性

火焰式原子吸收光譜儀的精確性一般在吸收度

0.1—0.2 時約為 0.3—1.0，而石墨式原子吸收光譜儀則稍差，約在 1—5 %。

3. 準確度

源自於隨機誤差或雜訊所影響的準確度約為 0.5—5 %。系統性偏差的來源有光譜干擾和化學干擾。

4. 靈敏度

火焰式原子吸收光譜儀的偵測極限約在 0.001 到 0.020 ppm 間；而石墨式的偵測極限對大部份元素而言均遠較火焰式為低，約在 1×10^{-4} 到 1×10^{-5} ppm 間。通常需要對樣品進行前處理，包括消化和萃取等工作，以降低偵測極限

四、應用與用途

原子吸收光譜儀可針對 60 種以上的金屬或似

金屬元素進行定分析，因此在許多領域上都有它的用途，這些領域包括環境科學，地球科學、醫學檢驗、食品、材料科學等，是無機微量分析中常被使用的工具。

參考文獻

1. L. H. J. Lajunen, *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission*, Cambridge: Royal Society of Chemistry (1992).
2. L. Ebdon, *Atomic Absorption Spectroscopy*, London: Heyden (1982).
3. C. Vandecasteele and C. B. Block, *Modern Methods for Trace Element Determination*, Wiley (1993).

作者：王家麟先生為美國加州大學 Irvine 分校化學博士，現任國立中央大學化學系教授。

原子放射光譜儀

Atomic Emission Spectrometer (AES)

關鍵字：原子放射光譜儀、感應耦合電漿原子放射光譜儀

Keywords：atomic emission spectrometer, inductively coupled plasma atomic emission spectrometer

一、基本原理

原子放射光譜與原子吸收光譜可說是一體的兩面。理論上，一原子放射光譜儀若不考慮原子吸收光譜儀的光源 (例如中空陰極燈)，便是一部原子放射光譜儀。由於原本的火燄或石墨爐不但要擔任原子化的角色，同時也要負責激發原子至高能階，因而當這些原子掉回基態時會以輻射的方式放出特定波長的光，而每種元素均有其特定放射能量的方式，而形成所謂的原子放射光譜。放射光譜經過單光器 (monochromator) 可將特定波長的光導出至偵檢器，此一部份原理與原子吸收光譜相同。不同於原子吸收光譜儀的是原子放射光譜儀可針對許多元素進行波長掃描 (轉動光柵)，瞬間定量出多種元素。此外，對原子吸收光譜儀 (AAS) 而言，其靈敏度是決定於其基態的原子數目，而對原子放射光譜儀而言，卻剛好相反，靈敏度是取決於激發態的原子數目。根據波茲曼分佈的理論，在一溫度下激發原子的數目會隨著元素激發能的增加而成指數衰減。因此，傳統的火燄溫度 ($< 3000\text{ }^{\circ}\text{C}$) 僅能夠激發低游離能的元素，例如鹼金屬族，與部份鹼土族元素。而傳統的石墨爐能夠提供較高的溫度，因此可以測得比火燄更多的元素。近年來，傳統的石墨爐原子放射光譜儀 (graphite furnace atomic emission spectrometer, GFAES) 已被大幅改良，例如一種 furnace atomic non-thermal excitation spectrometry (FANES) 的技術，除將石墨爐僅作為加熱原子化的工具外，同時亦提供一非熱式電漿源，將原子激發。此一技術結合了傳統式石墨爐與部份電漿式原子放射光譜儀的優點，但價格卻遠較電漿式低廉許多。

電弧 (arc) 與電火花 (spark) 也是屬於較傳統的熱激發源，由於可提供的溫度較火焰或石墨爐高，因此元素間的干擾較少，且能夠直接分析固體如礦

石、合金、玻璃等，但與晚近的電漿源相較，其原子化的再現性較差。

除了傳統的火燄、石墨爐、電弧與電火花等熱源之外，自 1960 年代末起，電漿 (plasma) 開始被使用作為熱源，在 1970 年中期已有感應耦合電漿原子放射光譜儀 (inductively coupled plasma-AES, ICP-AES) 問世。目前電漿式熱源已成為 AES 的主流。感應耦合電漿的工作原理是利用一個高週波產生器產生 2 kW、27 MHz 的高週波以感應一強大磁場包圍一石英管。當通過石英管內的氬氣以電火花游離後磁場便能持續引發電子和氬離子流在高週波產生器盤管所包圍的石英管中流動，其高熱足以維持電漿的持續發生。液體樣品可以霧化的形式由石英內管 (石英管中心尚有內管) 由另一股氬氣帶入電漿。此時電漿的高溫將樣品激發，甚至游離。在實體上，石英管分為內外管共三層，最外層負責石英管的冷卻，中間夾層所提供的氬氣作為產生電漿之用，而中心的氬氣流為負責帶入霧化液體樣品之用。電漿所形成的火炬在中心垂直線上的溫度變化很大，在磁場附近的部份溫度最高 ($10000\text{ }^{\circ}\text{C}$)，但會放射出屬於氬所造成的連續光，因此必須利用上方約 1–3 cm 處較冷的火炬部份 ($5000\text{--}600\text{ }^{\circ}\text{C}$) 對準聚焦鏡，將元素放射光導入單光器。為了使各元素得到最佳的分析狀態，包括火炬高度、電源供給、載流氬氣流速等條件都必須做調整。

另一種電漿源稱為直流式電漿源 (direct current argon plasma source)，是由三個電極 (兩個石墨陽極和一個鎢絲陰極) 以倒 Y 字形構成電漿源，而氬氣從兩個陽極間向上流至陰極。當開啟電漿時，兩個陽極會短暫的與陰極互搭，產生高熱火花，形成氬電漿，工作溫度可達 6000 K 以上。直流式電漿源的缺點在於激發的溫度帶太窄，以致樣品停留在高溫的時間太短，揮發不完全，也因此稍微影響了高

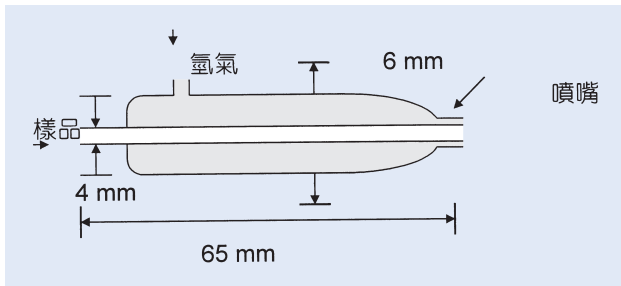


圖1. 同心式霧化器。

激發態元素的分析靈敏度。由此方式產生的放射光譜大都是原子態的放射，光譜較簡單，而由感應耦合電漿產生的光譜大多是離子態光譜，光譜較複雜。

進樣方式：

將樣品導入 ICP 的方式有許多種設計，但最常見的進樣方式是氣壓霧化的方式，包括同心式 (concentric)、十字交叉式 (cross-flow) 和細孔式 (fritted) 等多種方式，均不外乎是利用氣壓推擠或白努力原理 (Venturi effect) 將溶液霧化。但如同 FAAS 一般，其霧化的效率非常低，大部分的樣品都成為廢液。以最普遍的同心圓霧化器為例 (見圖 1)，其設計簡單，主要是利用一組同心的玻璃內外管，外管通以高速氫氣，進氣壓約為 30–350 kPa，當氣體通過前端窄口噴嘴時，流速被提高而造成中心管的負壓，將液體樣品帶出噴嘴而霧化，而進樣流量約為 0.5–4 mL/min。由於構造簡單，不需要幫浦 (需要高壓氣瓶)，因此進樣穩定，但缺點是噴嘴容易被粒子所堵住。

其它的非氣壓式進樣方式還包括超音波震盪、

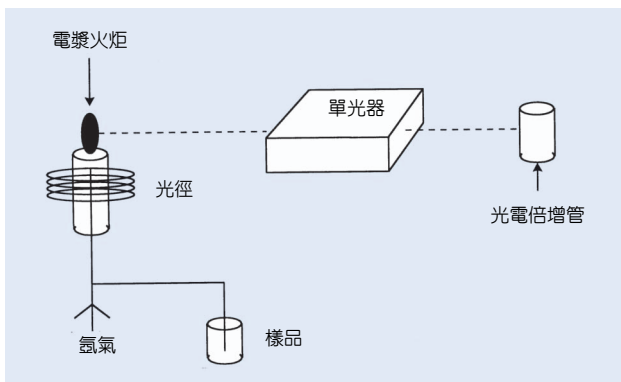


圖2. ICP-AES 的簡單結構示意圖。

熱灑法 (thermospray)、電熱蒸發 (electrothermal evaporation)、氫化 (hydridation)、直接固體進樣等。

二、結構示意圖

圖 2 為 ICP-AES 的簡單結構示意圖，詳細的連續式 (sequential) 或同時式 (simultaneous) 儀器示意圖可參見以下所列之參考文獻。

三、儀器規格與特徵

對大部份元素而言其有用的放射波長都很短，因此 ICP-AES 一般的操作範圍不超過 500–600 nm，但有些從 170 nm 延伸至 900 nm (真空下)。針對價格及用途考量，目前 ICP-AES 有兩大類：一為掃描式，由電腦控制步進馬達以轉動光柵。為了節省掃描時間可採跳躍方式從某一波長快速移至下一個測定波長附近再放慢速度，以每步 0.01–0.001 nm 的速度移動。第二種設計是多元素同時偵測方式，以固定光柵 (rowland circle 設計) 與多個光電倍增管 (photomultiplier tube, PMT) 同時偵測多元素的特性放射波長。ICP-AES 有很寬的偵測線性範圍 (10^3 – 10^6) 與低偵測極限 (界於 GFAAS 與 flame-AAS 之間)。

四、應用與用途

原子放射光譜儀具有多元素的偵測功能，尤其是 ICP-AES 更是無機微量分析在生物科學、材料科學、環境科學、半導體工業等領域不可或缺的利器。而隨著使用者與生產廠商的增加，其價格也逐漸普及化。

參考文獻

1. A. Montaser, and D. W. Golightly, *Inductively Coupled Plasma in Analytical Atomic Spectroscopy*, VCH Publishers (1992).
2. P. W. J. M. Boumans (Ed.), *Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry*, Parts 1 and 2, New York: Wiley (1987).
3. L. H. J. Lajunen, *Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission*, Cambridge: Royal Society of Chemistry (1992).

作者：王家麟先生為美國加州大學 Irvine 分校化學博士，現任國立中央大學化學系教授。

感應耦合電漿原子發射光譜儀

Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometer (ICP-AES)

關鍵字：感應耦合電漿原子發射光譜儀、同時式、連續式

Keywords： inductively coupled plasma atomic emission spectrometer, simultaneous, sequential

一、基本原理

原子發射光譜分析法因為具有快速、靈敏及多元素同時分析的特性，因而成為分析化學中的一種重要方法。其中，利用感應耦合電漿方式所形成的激發源，因其溫度高達 5000 K 以上，故可大幅提高待測元素的激發效率，有效的達成多元素測定、減少化學干擾及提昇分析靈敏度的目標。圖 1 所示為感應耦合電漿激發源 (inductively coupled plasma) 的構造圖。其係由一個三同心軸的石英管所組合而成，依序可區分為外層管 (outer tube)、中層管 (intermediate tube) 和內層管 (inner tube)；另並於電

漿火炬 (torch) 的外圍環繞著與高頻產生器 (high-frequency generator) 相連接的感應線圈 (induction coil)。目前高頻產生器在實際應用上所使用的頻率範圍介於 4 到 50 MHz 之間 (常用的頻率為 27 MHz)，而可輸出的功率為 1 到 5 kW 範圍。至於感應耦合電漿激發源所使用的燃料氣體，主要以氬氣為主。因此，當欲點燃電漿火燄時，首先需於電漿火炬下方的 Tesla coil 位置進行電擊放電 (spark)，以促使部份氬氣原子先行游離繼而形成電子和正電荷的氬離子；然後這些荷電粒子再隨著氬氣氣流進入由高頻產生器所形成的感應強磁場區中，並在強磁場的感應作用下，形成具高溫的感應耦合電漿。相關感應耦合電漿形成的原理則如下所述：當高頻產生器所產生的高頻電流 (rf current) 通入感應線圈時，於感應線圈四周的垂直軸方向將伴隨產生感應磁場，此時所導入的荷電粒子 (包括：電子和正電荷的氬離子) 將在感應磁場的感應作用下，沿著感應線圈內側進行圓周加速運動進而形成環狀電流 (annular electric current)；但由於氬氣氣體為一高電阻性的介質，基於高電阻特性的影響，致使感應電流在運行過程中以電阻加熱 (ohmic heating) 的方式，將能量釋放出而形成高溫的電漿熱源。

其中，為避免電漿氣體過度擴散觸及感應線圈而導致短路 (short-circuiting) 情形，外層石英管的高度設計需較感應線圈位置為高；另為確保電漿穩定性及克服高溫電漿可能觸及外層石英管導致石英管融化 (melting) 的問題，外層管氬氣氣流採與石英管呈切線的方式導入，然後沿著中層管迴旋繞行上昇。基於外層管氬氣氣流具備可充當冷卻與隔離的功能，所以外層管氬氣氣流，一般又稱為冷卻氣流 (coolant gas flow)。早期部份儀器在設計上，

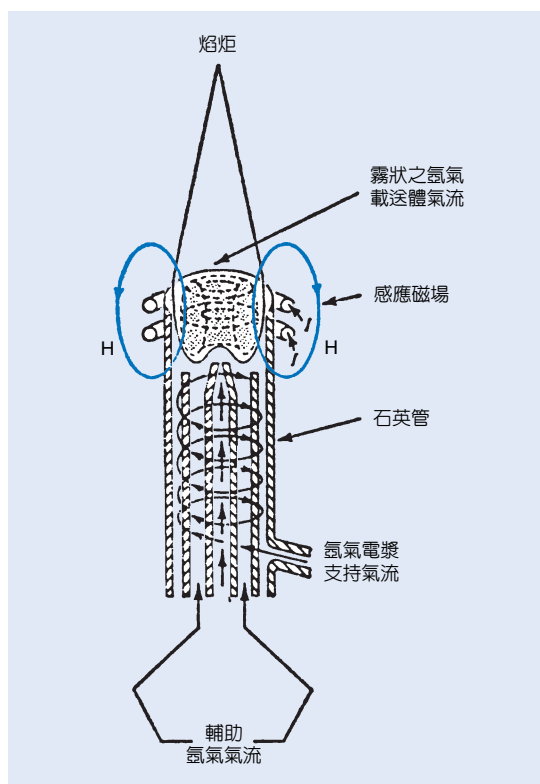


圖 1. 典型感應耦合電漿激發源的構造圖。

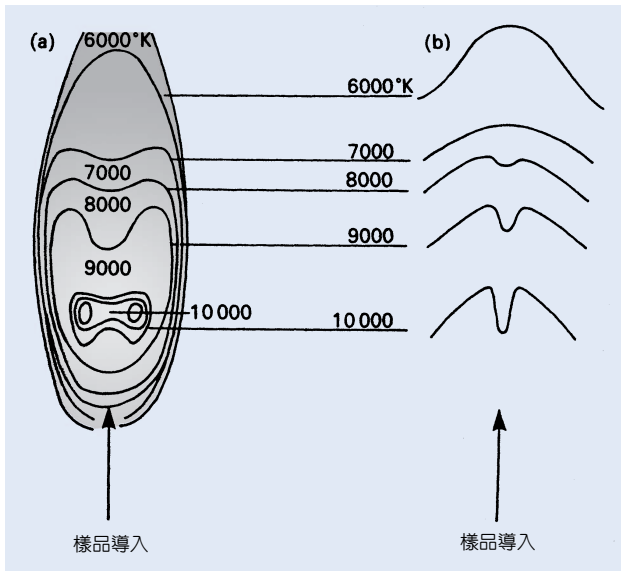


圖 2. 當待測樣品導入感應耦合電漿熱源時，在不同火燄高度位置所顯示 (a) 溫度分佈和 (b) 溫度梯度的縱向截面圖。

採用氮氣來充當冷卻用氣流，因此用以維持電漿激發源的氬氣氣流主要係由中層管來提供。至於內層管所提供的氬氣氣流又稱為載送氣流 (carrier gas flow)，主要功用為將待測樣品攜帶輸送至電漿位置來予以激發。對於完全採用氬氣氣體的電漿激發源而言，由於外層管氬氣氣流除具備可充當冷卻和隔離的功能外，同時可提供電漿形成時所需的氬氣，因此一般亦將外層管氬氣氣流稱為電漿氣體 (plasma gas)，至於原先由中層管所提供來維持感應電漿的氬氣氣流，則稱之為輔助氣流 (auxiliary gas)。因此在實際進行樣品分析時，假若待測樣品為水溶液則輔助氣流可以不必使用；但若待測樣品中含有較高濃度的鹽類或有機物質時，為避免鹽類沉積或積碳的現象發生，常需適度提升輔助氣流的流速。一般電漿激發源的操作條件，其外層管氬氣流速設定為 10–20 升/分，輔助氣流流速為 0–1 升/分，至於載送體氣流流速則約為 1 升/分。

對於感應耦合電漿激發源而言，其不僅具備可提供 6,000–10,000 K 高溫的優點 (參見圖 2(a))，且其獨特的溫度分佈更可促使待測樣品進行高效率的氣化、分解與激發。然而當待測樣品經由內層石英管輸送導入電漿熱源時，其將面臨在樣品導入通道 (tunnel) 位置的溫度遠較周遭電漿溫度為低的問

題。如圖 2(b) 所示，為待測樣品導入感應耦合電漿熱源時，在不同火燄高度位置所顯示溫度梯度的縱向截面圖。由該圖中可得知在較高溫的電漿熱源區域，樣品導入通道區的溫度略低於周遭電漿的溫度。由於此原因，使得待測樣品可獲得在樣品導入通道區接受較低溫的熱裂解處理，另並可經由周遭高溫電漿以輻射熱方式來進行加熱處理。因此為獲得高靈敏的偵測效果，及避免儀器量測上訊號不穩定的跳動問題，一般電漿觀測位置的選擇，以樣品導入通道區溫度與周遭電漿溫度約略相等的區域為最佳，此訊號觀測位置則在感應線圈上方 12–20 公分處。基於感應耦合電漿激發源所提供的是一個惰性的氬氣電漿環境，因此常見的化學干擾效應可大幅減小；加上原子化的元素係集中在狹窄的電漿中央位置，且其在電漿激發源中的滯留時間長 (約 2 ms)，致使發射光譜的分析靈敏度增強，可發揮其最佳的分析效果。另外由於採用非燃燒性的氬氣來產生電漿，因此對於一些在燃燒性氣體環境下無法操作的樣品，亦可利用感應耦合電漿熱源進行激發反應達到分析目標。

二、結構示意圖

利用感應耦合電漿熱源充當激發源的發射光譜儀器，可分為同時式 (simultaneous，或直讀式

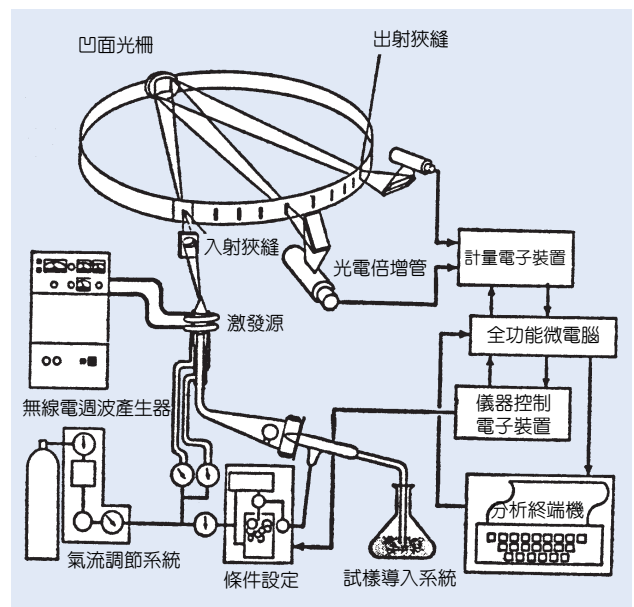


圖 3. 典型同時式感應耦合電漿光譜儀的構造圖。

(direct-reading)) 光譜儀和連續式 (sequential) 光譜儀二種型式。對於同時式光譜儀而言 (如圖 3 所示)，電漿激發源的發射譜線經由固定式凹面光柵 (fixed concave grating) 進行譜線解析之後，可反射至各特定譜線的出射狹縫，配合各個光子偵測器 (photon detector) 的量測並輸出電壓強度訊號，最後可經由紀錄器計算出各待測元素的含量。其優點是由於光柵和特性譜線出射口均為固定，每一出射狹縫均有一個光子偵測器用以量測出射譜線，可同時偵測試樣中的各元素含量且可提供較高的精確度，對於固定元素數目的分析效果良好。但是其缺點則為每一個元素的光譜測定條件，在儀器製造過程時已預先設定好，因此在實際使用時缺少彈性。另由於每一待測元素必須有一專用的分析頻道 (channel)，若欲增加分析元素的數目，儀器的造價必然將隨之提高；而且實際上可分析元素的數目亦將因受光柵的譜線解析能力及儀器空間的限制，無法大量增加，目前市售儀器約可進行 40 個左右元素的同時測定。至於連續式光譜儀 (如圖 4 所示)，則係利用光柵轉動的方式來進行電漿激發源發射譜線的解析分離，進而促使各待測元素的特定譜線可依序投射在出射狹縫，經由光子偵測器的量測和電壓強度訊號的輸出，最後由紀錄器計算出各待測元素特定譜線的強度。此類光譜儀的優點為僅需一個光子偵測器，因此造價較低；此外，因為其係利用光柵轉動的方式來進行譜線的解析，因此光譜的測試條件較具伸縮條件，而且可測試元素的數目亦可不受限

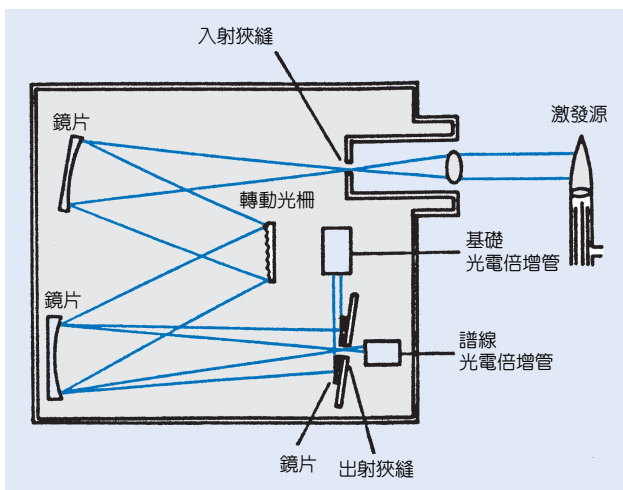


圖 4. 典型連續式感應耦合電漿光譜儀的構造圖。

制。然其缺點則為試樣分析的時間及樣品消耗量，將隨所欲測定元素數目的增多而延長與增加。目前市售的此種發射光譜儀，對於同一試樣每一分鐘約可測定 10 種元素，已頗能達到快速分析的目標。

三、儀器規格與特徵

在光譜測定系統中，光柵的解析能力 (resolution) 對於分析結果具有決定性的影響，其不僅可提供正確的分析結果，而且可節省確認結果的時間。一般感應耦合電漿原子發射光譜儀的光譜測定系統，必須具有選擇 175 至 850 nm 發射譜線波長的能力。通常採用的光柵有凹面光柵系統 (concave grating) 和平面光柵系統 (plane grating)。近年來則由於二維 (two dimension) 譜線解析概念的導入，致使經由感應耦合電漿激發源所激發的發射光譜，可在有限空間的分光系統中達成高效能的解析。至於二維分光系統的原理，主要係採用 Echelle 光柵並匹配一個稜鏡 (Echelle grating/prism) 的分光作用來進行光譜解析；即入射光譜首先經 Echelle 光柵進行一維分光處理，然後此經分光處理的一維光譜圖再透過稜鏡的折射進行二維分光處理，此時即可獲得一個經二維分光處理的平面解析光譜圖。假若於特定頻率的解析譜線位置各安裝一個光子偵測器，則可達成多元素同時量測的目標。亦或僅安裝一個光子偵測器，然後藉由偵測器在二維平面上的移動，來進行多元素依序分析的偵測。

對於目前商品化的感應耦合電漿原子發射光譜儀而言，其用以偵測光譜訊號的光子偵測器，主要係以光電倍增管 (photomultiplier) 為主。雖然此類型偵測器具備有高靈敏的偵測能力，但其體積稍嫌龐大，特別在有限的儀器空間條件限制下，無法大量增加偵測器的數目，致使可同時測定的元素數目約為 40 個左右。為克服上述所面臨的問題，現行小體積的半導體偵測器已陸續開發成功，且已被實際應用在商品化的感應耦合電漿原子發射光譜儀上充當偵測器；現行小體積的半導體偵測器，主要種類包括有電荷耦合元件 (charge-coupled device, CCD) 和電荷注入元件 (charge-injection device, CID) 等電荷遷移偵測器 (charge-transfer detectors)。

四、應用與用途

自從感應耦合電漿原子發射光譜儀正式問世之後，已迅速推廣於生物醫學、材料科學及環境科學等的研究應用，這可從國際性期刊每年所發表有關感應耦合電漿原子發射光譜儀論文的篇數，可提供一有效力的佐證。雖然感應耦合電漿原子發射光譜儀無可置疑的是一種具快速及高靈敏的元素分析儀器，且其對試樣前處理的需求性較一般分析方法為低；但這並不表示不需要，在某些情況下為了要獲得精密和準確的分析結果，前處理的步驟是不可或缺的。

參考文獻

1. P. W. J. M. Boumans, *Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry Part 1.: Methodology, Instrumentation, and Performance*, New York: John Wiley & Sons (1987).
2. M. Thompson and J. W. Walsh, *A Handbook of Inductively Coupled Plasma Spectrometry*, London: Blackie (1983).
3. 林宏明, 楊末雄, 科儀新知, **4** (1), 64 (1982).
4. D. A. Skoog and J. L. Leary, *Principles of Instrumental Analysis*, 4th ed., New York: Saunders College Publishing (1992).

作者：藍啟仁先生為國立清華大學理學博士，現任台電公司電力綜合研究所化學師。

X 光螢光光譜儀

X-Ray Fluorescence Spectrometer (XRF)

關鍵字：X 光螢光光譜儀、能量分散式、波長分散式、全反射 X 光螢光光譜儀

Keywords：X-ray fluorescence spectrometer, energy dispersive, wavelength dispersive, total reflection XRF

一、基本原理

X 光是指波長位於 10^{-5} Å 至 100 Å 範圍的電磁輻射，但利用於 XRF 光譜儀的 X 光波長只限於 0.1 Å (鈾 K_{α}) 至 20 Å (氟 K_{α}) 的電磁輻射。產生 X 光的方法大略可區分為原子受撞擊 (如以高速電子、X 光光子、放射性同位素之伽瑪射線、質子撞擊或同步輻射現象) 與原子內層電子移轉兩種方式。「X 光螢光光譜儀」名詞中的「螢光 (fluorescence)」則專指相對於利用 X 光光子 (第一次 X 光) 為激發源，以產生元素特性 X 光 (第二次 X 光) 的光譜儀。由於 XRF 以第二次 X 光為元素分析工具，因此亦可稱為 X-ray secondary emission spectrometry。X 光的產生原理如圖 1 所示，當原子受高能電子或光子撞擊時，原子內層軌域之電子將吸收此能量而移出，並在該軌域形成「空位」。此空位將由外層電子移入填補，並將內、外層軌域之能階差以 X 光的形式放出 (或同時發生另一種現象，將更外層的電子撞擊移出軌域，此電子稱為 Auger 電子)。如 K 層產生空位時，若由 L 層電子移入填補此空位，則將產生 K_{α} X 光；由 M 層移入時將產生 K_{β} X 光。若 L 層產生空位時，則將由 M 層以上電子移入填補，同時產生 L_{α} 、 L_{β} ... 等 X 光，由於此 X 光 (K_{α} 、 K_{β} 、 L_{α} 、 L_{β} ... 等) 的波長 (能量) 為個別元素之特性光譜線，稱為 X 光特性光譜線。XRF 光譜分析原理即為量測此 X 光特性光譜線在該元素之特定波長位置是否出現，達到定性分析的目的，同時在該波長位置比對 (或計算) 光譜強度得到定量分析結果。目前商業化 XRF 光譜儀可量測 F ($Z = 9$) 至 Lu ($Z = 71$) 之 K 系列 X 光與 Mn ($Z = 25$) 至 U ($Z = 92$) 之 L 系列 X 光，至於 M、N 系列 X 光雖也可能發生，但甚少利用於 XRF 光譜儀。

商業化 XRF 螢光光譜儀依偵測方法、激發方式的不同可分為 (1) 波長分散式，(2) 能量分散式，(3) 放射性同位素激發，(4) 其他特殊激發方式 (如全反射、同步輻射、質子撞擊) 等。

1. 波長分散式 X 光螢光光譜儀 (wavelength dispersive XRF)。

波長分散式 X 光螢光光譜儀的分析原理主要是利用單晶材料將樣品受激發放之特性 X 光解析分離，再以類比計數器搭配閃爍計數器偵測 X 光光子強度 (圖 2)。由 Bragg 定律 ($n\lambda = 2d \sin\theta$) 顯示，當利用固定晶格距離 d 的單晶為繞射器時，波長為 λ 的欲測元素 X 光，可在特定繞射角度 θ 的地方被偵測出。同時由 Moseley 定律中顯示波長與原子序的關係得到定性分析結果。波長分散式 XRF 光譜儀若僅配備單一單晶時，僅能以掃描方式 (scanning) 改變 θ 角做多元素分析，若同時配備多種單晶如 LiF (220)、LiF (200)、PE (002)... 等時，則可同時 (simultaneous) 分析多種元素。

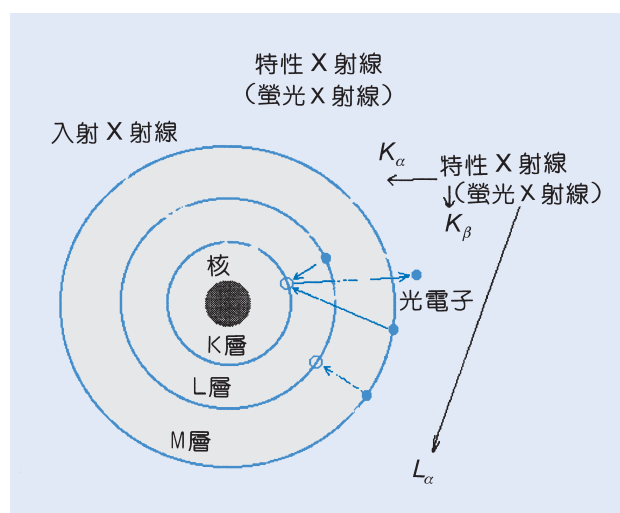


圖 1. X 光特性光譜線的來源。

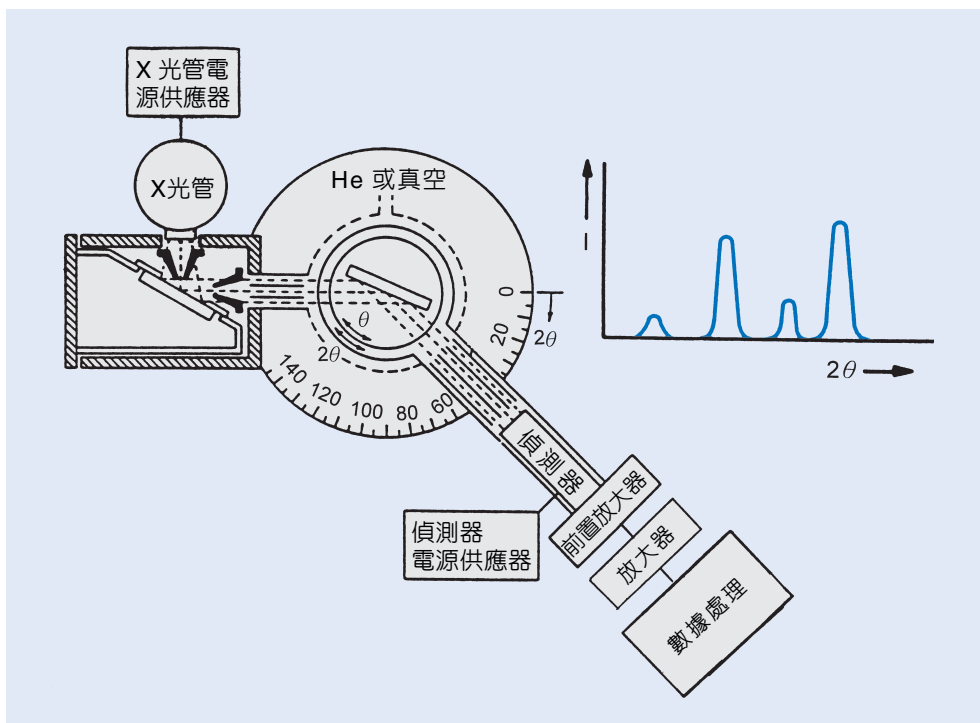


圖 2.
波長分散式 XRF 光譜儀。

2. 能量分散式螢光光譜儀 (energy dispersive XRF)

能量分散式 XRF 螢光光譜儀與波長分散式 XRF 光譜儀的最大差異在於能量分散式 XRF 以半導體偵測器為 X 光波長解析與偵測的工具 (圖 3)。商業化的儀器均以 Si (Li) 半導體偵測器將樣品之特性 X 光光子，轉換為瞬間電流脈衝 (pulse)，此脈衝的強度正比於 X 光光子能量；再以多頻道分析儀依每一 X 光光子能量大小，加以分析、積分、記憶、組合，而於螢光幕上顯示 X 光能量與強度之光譜圖，由光譜圖之波峰位置 (波長) 與強度積分即可得到分析結果。Si (Li) 偵測器必須保持在液態氮溫度下，才具有半導體特性，造成能量分散式 XRF 僅限於實驗室使用的主要原因。近年來發展室溫下可使用之偵測器如 Ge、CdTe 或 HgI₂，也僅限於某些特定用途，如攜帶式 XRF 光譜儀或高能量光譜。

3. 放射性同位素 X 光螢光光譜儀 (radioisotope XRF)

以放射性同位素為激發源的 XRF 光譜儀，主要是利用放射性同位素如 ²⁴¹Am、¹⁰⁹Cd、¹⁵³Gd、¹⁵⁵Eu 與 ¹⁴⁵Sm 放出之伽馬射線，激發靶材以產生 X 光。由於

放射性同位素可以小體積被包覆在特殊輻射防護容器中，再搭配 Si (Li) 或 Ge 半導體偵測器，因此可設計成為低成本 XRF 光譜儀。此種 XRF 光譜儀的另一特點為可設計成桌上型、攜帶型或特殊形狀以分析野外樣品或古物鑑定 (陶瓷、油畫、字跡)。

4. 全反射 X 光螢光光譜儀 (total reflection XRF, TXRF)

波長分散式或能量分散式 XRF 光譜儀的分析能力主要受限於入射 X 光激發樣品時，產生的散射干擾，使光譜背景升高，降低 S/N 比。TXRF 即針對此缺點，將入射 X 光以低於臨界角 (critical angle) 的角度入射樣品，使入射 X 光可被完全反射，再加上樣品受入射 X 光與反射 X 光的雙重激發的效應，TXRF 的偵測極限可降低至 pg 範圍。TXRF 與傳統 XRF 不同的另一特色為 Si (Li) 偵測器緊靠樣品表面，甚至充以鈍氣，以增加低能量 X 光之定量分析靈敏度。TXRF 光譜儀分析的樣品必須具平坦的表面或以薄膜方式附在支撐物表面，因此樣品的製備與樣品支撐物 (一般最常用的材質為 Si、Ge、glassy carbon) 的選擇是首先必須考慮的因素。TXRF 的定量分析以內標準法最常用，即於樣品表面加入已知濃度之參考元素為內標準，再經由

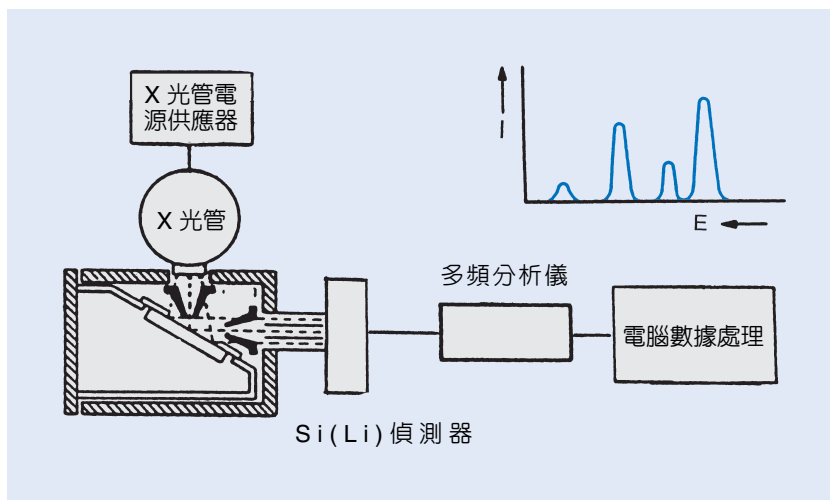


圖 3.
能量分散式 XRF 光譜儀。

欲測元素與內標準元素之 X 光強度比值，考慮相對螢光強度後，即可求得欲測元素之濃度。

5. 同步輻射 XRF 光譜儀 (synchrotron source XRF, SSXRF) 與質子激發 XRF 光譜儀 (PIXE)

利用同步輻射光源 (3 GeV 之電子) 作為 XRF 光譜儀之激發源，可提供可變波長且高強度之激發光束 (比傳統 X 光管約強 $10^4 - 10^5$)。尤以 SSXRF 結合能量分散式 XRF 光譜儀，可偵測極少量樣品中之微量元素，如於 2 mL 的乾燥血液中，偵測 1 ppm 之微量元素，此種技術特別適用於考古學之古物鑑定。SSXRF 與 TXRF 結合時，則可降低偵測極限至 1 pg。

以快速質子 (1–4 MeV) 為激發源之 XRF 光譜儀最大優點為低光譜背景，因此適用於微量元素分析，尤以考古學、犯罪科學之比對與醫學研究中之人體體液微量分析。

二、結構示意圖

波長分散式 XRF 光譜儀結構圖如圖 2 所示，X 光管產生一次 X 光後，激發置於真空腔中之樣品，樣品受照射產生之特性 X 光經由準直儀 (collimator) 對準於單晶，經解析後之 X 光，再以氣體比例計數與閃爍計數器偵測，信號經放大後於螢幕顯示或以計錄器輸出，此時之能譜為 2θ 角度對光譜強度。能量分散式 XRF 光譜儀如圖 3 所示，激發方式與波長分散式相同，但以 Si (Li) 為偵測器，信號經多頻道分析儀解析後，於螢幕或記

錄器顯示，此時之光譜圖為特性 X 光能量 (keV) 對光譜強度。全反射 XRF 光譜儀如圖 4 所示，Si (Li) 偵測器直接置於樣品薄膜或支撐物上方，X 光激發源經多重 (或單一) 反射後，以低於臨界角的角度由右方射入，並於最左方全部反射。偵測器與信號處理則與能量分散式相同。半導體工業使用的 TXRF 一般均搭配自動送樣裝置，可自動分析晶片中之特性元素含量與濃度梯度，並自動儲存數據作為品管依據。

三、規格與特徵

XRF 光譜儀以 X 光管的設計為各廠牌之設計重點，其中以端窗 (end-window) 管與側窗 (side-window) 管最常用。而 X 光管中陽極材料 (anode element) 的選擇 (如 Cr、Rh)、操作電壓、電流、Be 濾片厚度等操作條件，必須視分析元素種類而於儀器設備採購時列入考慮。波長分散式 XRF 光譜儀具有高解析度 (光譜重疊機會少)、低偵測極限 ($\sim 10 \mu\text{g/g}$) 的優點，但分析速度較慢且購置成本較高為主要缺點。能量分散式 XRF 光譜儀則具有分析速度快、操作簡便等優點，但須額外使用液態氮，以及分析能力較差等缺點。相對於上述兩種 XRF 光譜儀，TXRF 則擁有分析能力佳 ($\sim \text{pg}$)，且快速、多元素分析的特性，但樣品製備要求嚴謹且需避免外界污染 (如使用無塵室、高純度試藥) 限制了 TXRF 的普遍性。至於同步輻射 XRF 則只限於特定研究用途，並未普遍化。因此，當分析速度要求高，偵測極限僅於一般分析範圍，且初期購

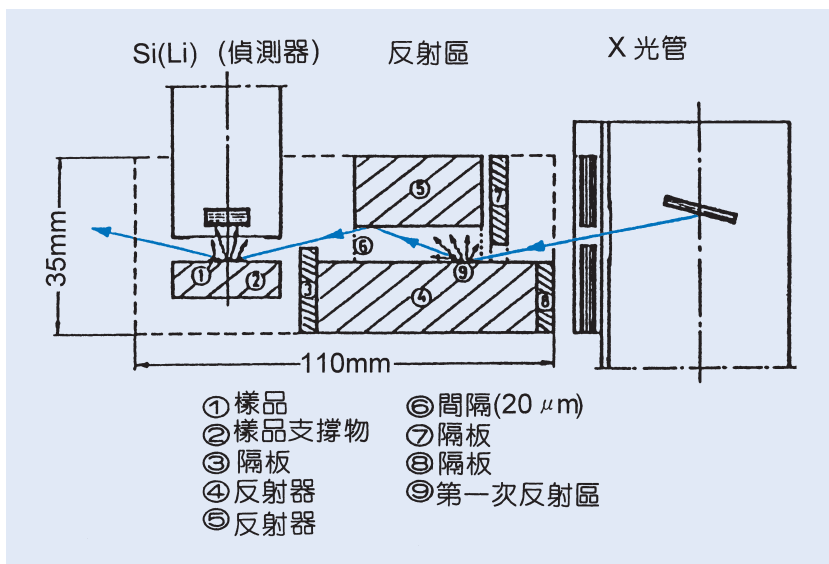


圖 4.
全反射 XRF 光譜儀結構圖。

置費用須考慮時，則能量分散式較佳。若分析速度與偵測能力為購置重點時，則以同時式(多單晶)波長分散式較佳。高純度材料或薄膜樣品之微量分析則以 TXRF 可得到高靈敏度與快速、多元素分析的目的。

四、應用與用途

XRF 光譜儀由於具有非破壞性，多元素同時分析的特性，廣泛應用於材料科學、冶煉、礦石、環保、半導體等樣品分析。樣品形狀以固體、粉末、液體之應用最多，尤以工業應用中如礦砂鑑定，合金熔煉分析、玻璃工業、熔渣分析等，XRF 均是不可或缺的品管工具。XRF 光譜儀之定量分析結果受樣品表面粗糙度、樣品組成均勻度影響甚鉅。因此，對於不規則形狀或不均勻樣品須以熔融法將樣品以助熔劑熔融成均勻塊狀樣品。尤其當無法獲得比對用之標準樣品時，須先確保樣品組成與標準品類似，以減低基質效應。現代化的 XRF 光譜儀，均於數據處理系統中，提供基本物理參數，除可提供半定量分析結果外，也可不使用標準品而

獲致正確性較佳的分析結果。

TXRF 為近年來引進之 XRF 光譜分析技術，由於其高靈敏度的偵測能力，漸漸為半導體工業中，作為晶片污染控制分析、高純度酸、水中微量元素分析的利器，同時也應用於環境試樣如水、空氣、人體組織中微量污染元素的分析。TXRF 光譜分析的重點在於樣品前處理步驟中污染物的控制，以保證分析結果的可靠性。

參考文獻

1. R. Jenkins, *X-ray Fluorescence Spectroscopy*, John Wiley & Sons, Inc. (1988).
2. R. E. Van Grieken, A. A. Markowicz, *Hand book of X-Ray Spectrometry*, Marcel Dekker, Inc. (1993).
3. E. P. Bertin, *Principles and Practice of X-Ray Spectrometric Analysis*, 2nd ed. Plenum Press (1984).
4. H. Bennett, G. J. Oliver, *XRF Analysis of Ceramics, Minerals and Allied Materials*, John Willey & Sons (1992).
5. A. Prange, *Spectrochimica Acta*, **44 B** (5), 437 (1989).

作者：陳榮顯先生為德國 Dortmund 大學光譜與應用光譜學研究所分析化學博士，現任冠華科技股份有限公司廠長。

紫外光／可見光吸收光譜儀

Ultraviolet/Visible Absorption Spectrometer

關鍵字：紫外光／可見光吸收光譜儀

Keywords：ultraviolet/visible absorption spectrometer

一、基本原理

光譜儀乃是藉觀察電磁波與偵測物之間的作用情況，以探討被偵測物的特殊光學性質，電磁波的波長範圍如圖 1 所示。

紫外光／可見光吸收光譜儀則是偵測光波長在 200 至 800 nm 範圍內，化合物分子外層軌道電子躍遷的能量。當光的能量達到電子躍遷所需能量時，電子將會從化合物基底狀態分子軌域躍遷至高能量之分子軌域，此波長的光能同時被化合物分子吸收，而有吸收光譜顯示出來，因此紫外光／可見光光譜吸收又可稱為電子吸收光譜，由於電子運動速率 (10^{15} sec^{-1}) 遠較原子核 (10^{13} sec^{-1}) 為快，當電子自基底狀態躍遷至激勵狀態時，原子核間之振動 (vibration) 尚未能配合，因此在激發狀態時的振動能階 (vibrational level) 仍維持基底狀態時的振動能階，如圖 2 所示，而不是激發狀態時應有的振動能階，此時電子將感受到振動能量 (vibrational energy)，而導致吸收波變寬，兩者能階相差愈大，則波寬也愈大，這種現象叫做弗蘭克－康登 (Franck-Condon) 效應。

量測過程中，光的吸收量與偵測物濃度之間的關係，可以比爾－蘭伯特 (Beer-Lambert) 定律表

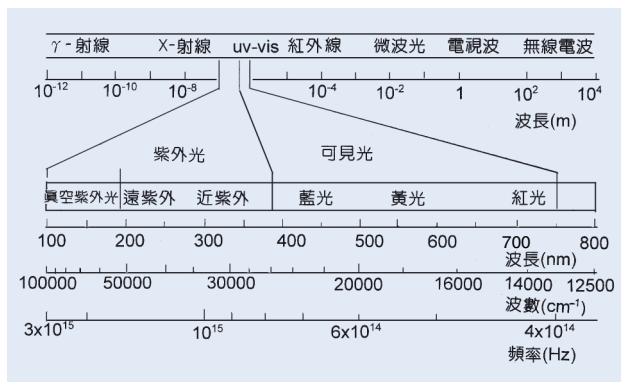


圖 1. 電磁波能量範圍。

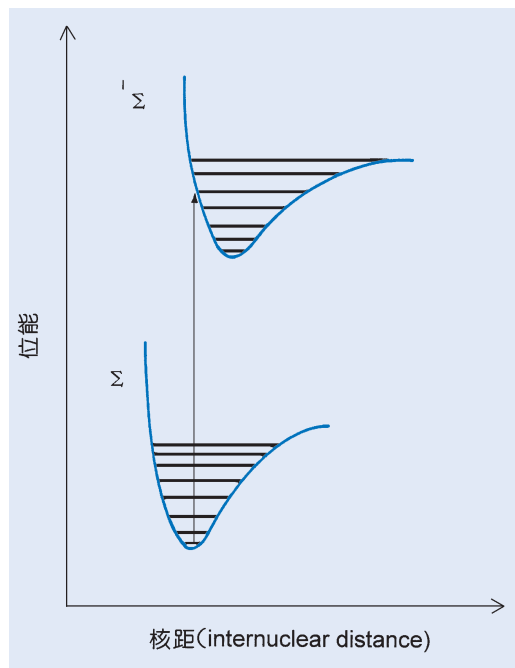


圖 2. 電子躍遷能量圖。

示：

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon b c \quad (1)$$

其中 A 為吸收度， I_0 為入射光 (incident light) 強度， I 為透射光 (transmitted light) 強度， ϵ 為消光係數 (extinction coefficient)，或稱莫耳吸收度 (molar absorptivity)， b 為光路徑長度 (light path)，通常以 cm 為單位， c 為待測樣品的莫耳濃度 (molar concentration)。

在不同濃度下，測定樣品光譜波峰的吸收度，根據式 (1) 兩者應呈線性關係，因此以 A 對 c 作圖，應得一直線通過原點，如樣品裝於 1 cm 透光瓶 (cuvett)，此斜率即為 ϵ 值。

二、結構示意圖

紫外光／可見光光譜儀可分為單光束 (single

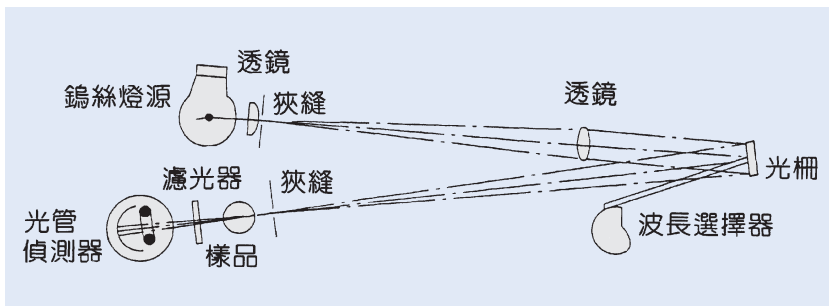


圖 3.
單光可見光光譜儀結構圖。

beam) 及雙光束 (double beam) 光譜儀兩種。

1. 單光可見光光譜儀

單光可見光光譜儀結構圖如圖 3，鎢絲光源藉一穩壓器操作以使光源強度能維持足夠時間的穩定性，使吸收度的量測有再現性 (reproducibility)。樣品槽及參考槽共用，通常先量樣品吸收，再量溶劑吸收。

單光光譜儀一般僅有可見光，但目前已有廠商提供紫外光設備，唯 D_2 燈與鎢絲燈共用一個位置，需交替使用，較為麻煩。另一個缺點，便是僅能作固定波長的吸收量測，不能作全波長的光譜掃描。

2. 雙光紫外—可見光光譜儀

一般典型雙光紫外—可見光光譜儀結構圖如圖 4 所示，由於光波為正弦波 (sine wave)，強度並不穩定，即使有穩壓控制，仍會隨時間而稍有變化，導致偵測上的誤差，雙光光譜儀的設計就是為解決這個問題。參考槽上的透光瓶為純溶劑，所偵測樣品的光吸收事實上為樣品瓶的吸收減去空白吸收，如此誤差可減至最低，目前一般光譜儀的設計已可把此誤差減至可忽略的程度，因此所測得的吸收度相當準確。在量測時，樣品槽 (cell compartment) 必須蓋緊，不能有任何光線從外面滲入，否則會影響偵測準確性，甚至完全無法偵測。另外，由於一般玻璃會吸收紫外光，因此透光瓶必須使用石英玻璃。

三、儀器規格與特徵

一般紫外光／可見光光譜儀波長範圍在 200 至 800 nm，近年來生產的儀器多已擴展為 190—1100

nm，波長準確度可達 0.4 nm，吸收度可高達 3.0，誤差在 ± 0.005 ，但通常吸收度超過 2.5 時，偵測光管 (phototube) 反應不夠靈敏，所得吸收波長及吸收度將不可靠。

紫外光／可見光光譜儀的特點乃在同時可作定性及定量測定，任何物質吸收波峰之消光係數為固定值，只要有某物質之波峰及消光係數資料，即可很容易從光譜吸收得知未知溶液中，該物質的含量 (利用比爾—蘭伯特定律)。

儀器的缺點便是侷限於溶液狀態的測定，固態樣品因無法確定光路徑長度，而只能作定性分析。

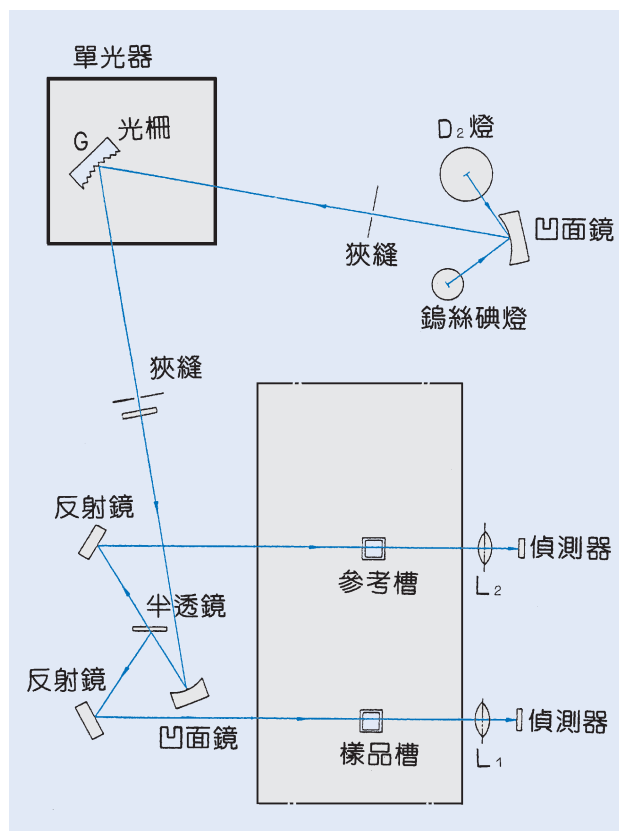


圖 4. 雙光紫外光—可見光光譜儀結構圖。

另外對消光係數低 ($\epsilon < 10^3$) 的樣品，如要作準確的定量分析，需在高濃度條件下進行，較不符合經濟效益，也容易導致畢爾定律的誤差。

四、應用與用途

由於一般過渡金屬錯合物在可見光區都有吸收，因此適合用於分析過渡金屬元素之含量，生化上也有廣泛的應用，如氨基酸之分析與鑑定，生物酶的催化反應動力學，此光譜儀更是非常有效的偵測儀器。

參考文獻

1. D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, *Fundamentals of Analytical chemistry*, 2nd ed., Saunders College Publishing (1996).
2. R. S. Drago, *Physical Methods for Chemists*, 2nd ed., Saunders College Publishing (1977).
3. R. C. Denney and R. Sindair, *Visible and Ultraviolet Spectroscopy*, John Wiley (1991).

作者：葉玉堂先生為美國紐約州立大學石溪分校化學博士，現任東海大學化學系教授。

近紅外光吸收光譜儀

Near Infrared Absorption Spectrometer

關鍵字：近紅外光吸收光譜儀

Keywords：near infrared absorption spectrometer

一、基本原理

近紅外光 (near infrared) 被發現的時間僅次於可見光。在 1800 年，Herschel 發現在波長大於紅色光的光不但可使底片感光，也可使溫度計上升，此部份的光譜即是近紅外光。但真正實際利用近紅外光是在 1950 年後，掃描式紫外光／可見光／近紅外光 (UV/VIS/NIR) 儀器的問市，例如 Beckman 公司的 Model DK 和 Perkin-Elmer 公司的 Spectracord 400A 等。

最早人們對於近紅外光譜的感覺不外乎只是一堆嚴重重疊的吸收峰，無法被解析而利用，但此一情形隨著電腦的使用而完全被改觀。它最大的優點在於能夠在電腦的強大數據處理能力下分辨樣品成份些微的變化，使得它非常適合用於混合物質的定量與定性分析。

一般紅外光譜儀必須要求很窄的通過頻寬 (band pass) 以得到較佳的光譜解析度，有助於分子結構的判定之用，不過由於近紅外光譜的吸收峰原本較紅外光譜寬許多 (100—150 nm 寬)，所以它不需要很好的光譜解析度，因此其通過頻寬可以較大，到達偵檢器的光強度較大，直接有利於吸收光譜穩定性與再現性。

類似紅外光譜儀，近紅外光譜儀同樣是利用分子吸收光而發生振動的原理來達到物質定性和定量的目的，只不過近紅外光譜的波長範圍較紅外光譜儀短，大約從 800—2500 nm。在近紅外光範圍內，大部份分子的吸收特性是屬於泛波 (overtone) 或是合併波 (combinations)，因此吸收信號相當微弱，因而限制了它定量上的靈敏度，其偵測極限約為 0.1 %。

1. 定性分析

由於大部份的物質在近紅外光的部份吸引均很

微弱，因此很容易突顯出幾種化學鍵的吸收峰，而使得含有此類化學鍵的物質能夠被檢測出來。目前利用此儀器進行分析物之確認工作 (confirmation) 有以下兩種方式：一為光譜比對法，二為判別分析法 (discriminant analysis)。在光譜比對法中，樣品與標準品的光譜經一次，或二次微分後，將光譜特徵突顯，以方便比對工作。例如由於探針在插入粒狀樣品時的角度或接觸條件不同，而使得幾次掃描出的光譜在吸收強度上有明顯的位移，但在經過兩次微分後，光譜間的差異便被排除，在與標準品比對時大大提高了確認的準確性。而在排除分析法中，樣品的光譜須經過數學統計處理方法，如主成份分析法 (principle components analysis)，找出物質的特性波長，再與資料庫中的標準物特性波長進行比對。這些定性功能對於工廠生產過程中大批的原料或成品與半成品的品管工作提供了迅捷與非破壞的檢測方法。

2. 定量分析

在定量上，如同一般的吸收光譜法，是根據比爾定律 (Beer's law)，利用吸收度與物質濃度含量成線性關係的特性，在建立標準檢量曲線後，待測物質的含量便可在得知特定波長下的吸收度後透過校正曲線內插而得。檢量曲線的建立往往是整個分析過程中最困難最耗時的環節，需要為數眾多的標準樣品以取得足夠的可信度。由於光譜分析法的不準確度往往是其它物質的光譜干擾所造成，尤其對近紅外光譜儀而言，混合物間彼此的光譜重疊特別嚴重，不過因為其穩定度佳所以能夠倚賴電腦進行複雜的統計處理將差異解析出來。然而，由於一般原料在良好的生產製程下，其成份均能維持在一定的範圍內，而變動不大。這使得近紅外光譜在辨認微小的含量比例差異上顯得較為困難。但在一般的

使用上，工廠往往可以接受一定範圍的成份變動，因此近紅外光譜儀所扮演的角色不一定需要報告準確的成份，而是在一定誤差範圍內決定這批原料是否可被生產線所接受。

二、結構示意圖

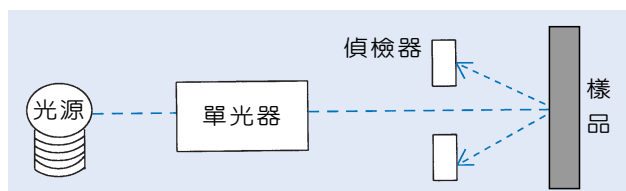


圖 1. 近紅外光譜儀的簡單系統示意圖。

圖 1 為近紅外光譜儀的簡單系統示意圖，其組成元件包括光源、單光器、樣品槽和偵測器。通常近紅外光源為鹵素鎢絲燈，而單光器則利用光柵負責波長掃描，不過因波長較紅外光短，所以光柵上的刻痕需較密。近紅外光譜儀無法像傅立葉轉換紅外光譜儀一般使用干涉器 (interferometer) 的原因在於因為波長短，使得步進馬達必須步進的距離也必須短到接近波長，這使得誤差和雜訊變得很大，其訊雜比往往比光柵式低 100 倍。

度量吸收度時有兩種方式，一為擴散反射式，二為穿透式。在前者，光線垂直照射至樣品穿透表層激發振動後再從四面八方反射回來到達位於一定角度上的硫化鉛 (PbS) 偵檢器，所得到的訊號在與標準參考物質，通常是 $\text{BaSO}_{4(s)}$ 相比，而得到所謂的擴散反射度 (diffuse reflectance)。而 R 的倒數與波長的關係即為反射度光譜 (reflectance spectrum)。此一方式適用於不透明或混濁的樣品。而穿透式測量法則與一般吸收光譜法相同，是度量穿透樣品後光的強度，適用於一般透明水溶液。

三、儀器特徵與規格

由於近紅光譜儀主要的使用對象大多為工業界，因此目前儀器的設計採用模組化的概念。除了光源、單光器所構成的主體外，可針對不同的樣品

形態 (固體或液體)、操作環境 (現場或實驗室)、檢測目的連接不同配備。例如在檢測粒狀原料時，在實驗室中可選用反射式的偵檢模組，將樣品放入靜態或旋轉式的樣品槽中。倘若在生產現場檢測大量原料時，則可選用探針式模組，直接將探針插入原料中，而訊號則由光纖傳回本體。

四、應用與用途

目前近紅外光譜儀以在工廠生產線上的品管用途最多，也最能發揮以下幾個優點：操作簡單、結果可靠、不具破壞性、不需樣品前處理、適用性廣等。舉凡在製藥、肥料、食品、農產、化工等工業上，對於用料成份、混合均勻度、粒徑、結晶型態、含水量等檢驗可發揮很大的功能。如此簡單方便的特性使得近紅外光譜儀在進入 90 年代後成為許多工業生產品管上的新寵。而以往這些定性定量的工作必須依賴其它耗時費力的分析方法，如 HPLC、GC、UV、克耳大法、滴定法等，節省了相當多的工時與儀器的投資。因此未來這些產業可能廣泛的使用紅外光譜儀，以取代以往傳統品管分析的方法，在未來 3-5 年內此一趨勢將逐漸在工業界顯現出。然而必須注意的是在依賴紅外光譜儀優點的同時，也必須注意在工廠嚴格的溫濕度條件下，儀器的長期穩定性必須密切注意，需要不時檢查校正曲線是否發生偏差。否則在過度依賴卻疏於照顧的情況下，反而可能造成生產無可彌補的損失。

參考文獻

1. E. S. Taylor, *spectroscopy*, **4** (7), 10 (1989).
2. S. S. Sekulic, H. W. Ward, II, D. R. Brannegan, E. D. Stanley, C. L. Evans, S. T. Sciavolino, P. A. Hailey, and P. K. Aldridge, *Anal. Chem.*, **68**, 509 (1996).
3. P. C. Williams and K. H. Norris, Eds., *Near-Infrared Technology in the Agriculture and Food Industries*, St. Paul, Minnesota: American Association of Cereal Chemists (1987).

作者：王家麟先生為美國加州大學 Irvine 分校化學博士，現任國立中央大學化學系教授。

紅外光吸收光譜儀

Infrared Absorption Spectrophotometer

關鍵字：紅外光吸收光譜儀、傅立葉轉換

Keywords：infrared absorption spectrophotometer, Fourier transform

一、基本原理

紅外光的能量較紫外光及可見光為弱，無法用來觀測電子躍遷的光譜，因此紅外光的吸收基本上侷限於分子內不同振動能階 (vibrational levels) 間的躍遷。

分子內原子的相對位置並不固定，會藉不同型態的振動而改變位置，振動型式主要分為伸展 (stretching) 及彎曲 (bending)。伸展振動乃指兩原子間之距離沿鍵軸 (bond axis) 不斷地改變。而彎曲振動乃指分子內兩鍵結間夾角的改變，不同型式的分子振動可以圖 1 表示。

分子振動的原理可用簡單的簡諧振盪 (harmonic oscillator) 來描述，對一雙原子分子 (diatomic molecule) 而言，設若兩原子間可以一彈

簧連接，從古典力學角度看，此系統之位能與原子間的距離成拋物線 (parabola) 關係，而此拋物線與雙核間之平衡距離 (equilibrium internuclear distance r_e) 成對稱關係，當 $r = r_e$ 時，位能最小，如圖 2(a) 所示，曲線的曲率 (curvature) 決定於系統的力常數 (force constant)。對實際分子系統，此古典力學模型考量並不完全適用，因分子系統中振動能量的分布為非連續性，呈量子化的能階型態，用量子力學處理簡諧振盪運動，所得振動能量如式 (1)：

$$E_v = hv \left(v + \frac{1}{2} \right) \quad (1)$$

其中 $v = 0, 1, 2, \dots$ 為振動量子數 (vibrational quantum number)， E_v 為第 v 階的能量， h 為 Planck 常數 (Planck constant)，任何物理量如含有此常數，將為不連續性，屬量子力學範疇， ν 為基本振動頻率 (fundamental frequency)，亦即從 $v = 0$ 至 $v = 1$ 躍遷所需的能量。

根據簡諧振盪理論，躍遷僅在 $\Delta v = +1$ 時發生，而大部分分子在室溫時都在 v_0 狀態，因此僅有 v_0 至 v_1 的躍遷，如圖 2(b) 所示，而 v_0 至 v_2 及 v_3 躍遷均不存在，但因大部分分子，特別是含三個原子以上的分子，仍可觀測到 $\Delta v > 1$ 的吸收，此類吸收在紅外光譜上稱為泛波 (overtone)。

並非所有分子在振動能階躍遷時都有紅外光的吸收，欲有紅外光吸收，分子振動時必須同時有雙極矩 (dipole moment) 的改變，因此同核雙原子分子 (homonuclear diatomics)，如 O_2 、 N_2 等無法觀察到紅外光光譜，當雙極矩改變時，紅外光之電場 (electric field) 與分子作用導致分子振動之振幅 (amplitude) 隨之改變，此時光能為分子所吸收。

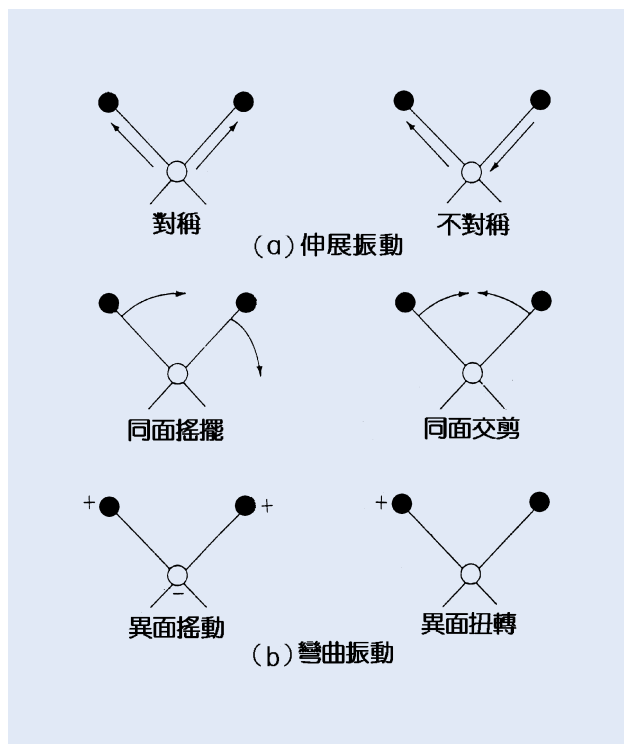


圖 1. 分子振動型式。

二、結構示意圖

紅外光光譜儀較常用的有分散 (dispersive) 紅

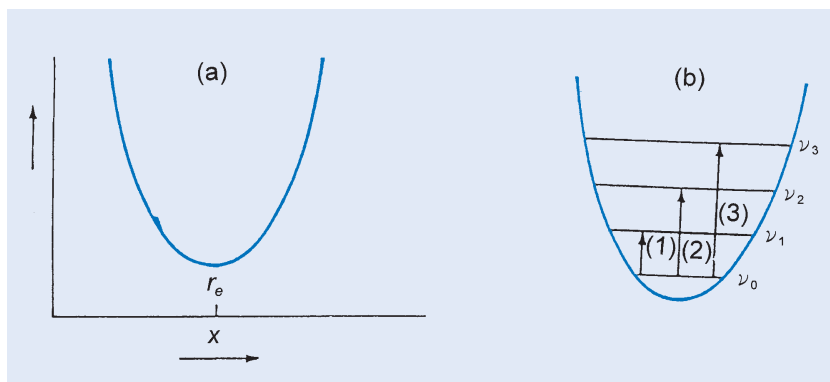


圖 2. 簡諧運動位能圖，(a)古典力學模型，(b)實際分子系統。

外光譜儀及傅立葉轉換 (Fourier transform) 紅外光譜儀兩種。

1. 分散紅外光光譜儀

分散式紅外光光譜儀結構與一般雙光光譜儀相似，唯一不同的，在於樣品箱 (cell compartment) 的位置，由於紅外光能量低，不會導致樣品產生光分解，因此槽室位置在光源與分光器之間，如圖 3 所示，不像紫外光/可見光光譜儀，乃置於單光器 (monochromator) 與偵測器 (detector) 之間，在參考槽後裝有衰減器 (attenuator)，以減弱參考光的強度，另外又有一低頻光束阻斷器 (chopper)，使偵測器能分辨來自光源的訊號以及外在的輻射。

2. 傅立葉轉換紅外光光譜儀

傅立葉轉換紅外光光譜儀通常是單束光儀，主要特色便是多了一個干涉器 (interferometer)，由兩面鏡子 S (固定) 與 M (可移動)，以及一分光器

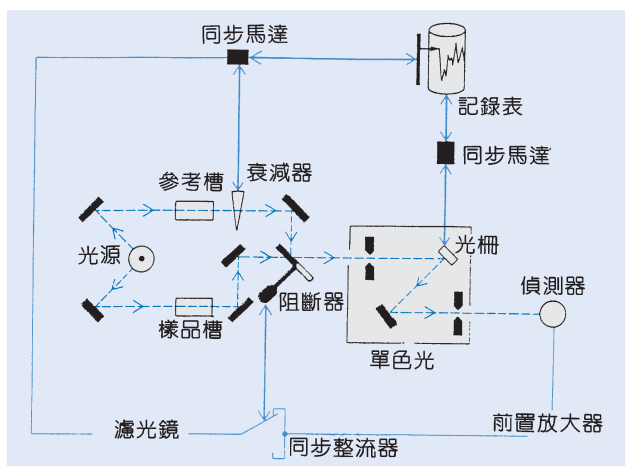


圖 3. 雙光分散紅外光光譜儀結構圖。

(beamsplitter) 所組成，如圖 4。當光束 a_0 進入干涉器，會被分光器分成兩道光， a_1 及 a_2 ，兩者分別被鏡子反射而再回到分光器，OM 與 OS 距離不一定相同，使得干涉器內的兩個分波光徑 (light path) 差異為 $2(OM - OS)$ ，此差異稱之為延滯 (retardation, δ)，偵測器所測光強度為 δ 的函數，如式 (2) 所示。

$$I(\delta) = B(\tilde{\nu}) \cos\left(\frac{2\pi\delta}{\lambda}\right) = B(\tilde{\nu}) \cos(2\pi\tilde{\nu}\delta) \quad (2)$$

$I(\delta)$ 為偵測器所量的光強度， $\tilde{\nu}$ 為光的能量 (波數, cm^{-1})， $B(\tilde{\nu})$ 為一常數，與光源強度、分光器效率及偵測器敏感度有關，經干涉器所得之干涉波圖 (interferogram)，基本上為一吸收強度對時間的關係圖，亦即時間範圍光譜 (time-domain spectrum)，傅立葉轉換乃利用數學處理方法，將吸收強度-時間關係轉換成吸收強度-頻率關係圖，亦即頻率範圍光譜 (frequency-domain spectrum)，傅立葉轉換紅外光光譜儀 (或 FT-IR) 因之得名。

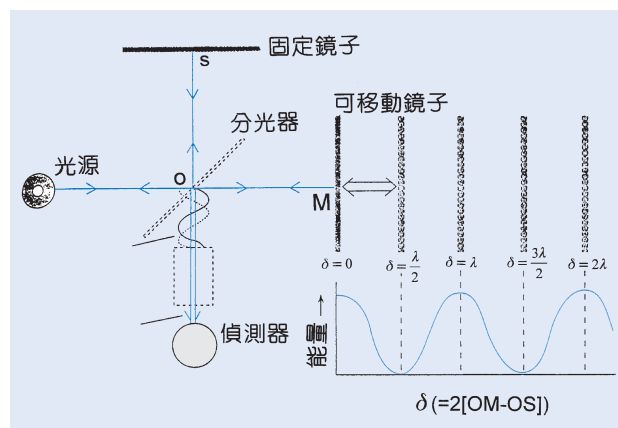


圖 4. 干涉器結構圖。

由於 FT-IR 不需單光器，所有頻率的光同時通過樣品，因此可省下相當的測量時間，且具有高解析度 (resolution)，通常在 $\leq 0.001 \text{ cm}^{-1}$ ，不僅如此，因所得數據會經由 A/D (analog-to-digital) 轉換，光譜結果較容易處理，可藉結合數次掃描結果將雜訊消除，提高訊號／雜訊 (signal/noise) 比，通常較分散式光譜儀高出 10 倍以上，因此即使極少量的樣品，亦可得相當好而精確的光譜結果。

三、儀器規格與特徵

紅外光光譜儀偵測能量範圍在 4000 至 200 cm^{-1} ，屬中—紅外光線區，一般商業化的儀器通常只到 600 cm^{-1} ，由於 IR 吸收光譜波峰相當窄，導致比爾定律的誤差，因此紅外光譜儀較適合作定性分析，而非定量分析。

偵測固體樣品時，通常將樣品與乾燥的溴化鉀 (KBr) 均勻混合，壓成 KBr 薄片後量測，對液體樣品，如為非水溶液，則取 1—2 滴夾於兩氯化鈉鹽片

量測，如為水溶液，則需改用氟化鈣 (CaF_2) 片偵測。

四、應用與用途

對化學家而言，紅外光光譜儀是用來鑑定有機及無機化合物最有效的儀器之一，尤其是對官能基的確認、對材料分子組成之鑑定，極有幫助。

參考文獻

1. D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, *Fundamentals of Analytical chemistry*, 2nd ed., Saunders college Publishing (1996).
2. D. A. Skoog, J. J. Leary, *Principles of Instrumental Analysis*, 4th ed., Saunders College Publishing (1992).
3. K. Nakanishi, P. H. Solomon, *Infrared Absorption Spectroscopy*, 2ND ED., (1977).
4. R. S. Drago, *Physical Methods for Chemists*, 2nd. ed., Saunders College Publishing (1977).

作者：葉玉堂先生為美國紐約州立大學石溪分校化學博士，現任東海大學化學系教授。

螢光光譜儀

Fluorescence Spectrometer

關鍵字：螢光、量子產率、生命期、異向度

Keywords：fluorescence, quantum yield, lifetime, anisotropy

一、基本原理

螢光之基本原理可由圖 1 之 Jablonski 能階圖瞭解之。當分子被光激發時，單重基態 (ground singlet state, S_0) 之電子因吸收光子而在數毫微微秒 (femtosecond) 內躍遷至單重激態 (excited singlet states: S_1, S_2, \dots)。激態之電子可經由許多途徑逐步回到基態。這些途徑包括：振動緩解 (vibrational relaxation, VR；即由高振動態釋出能量而降至振動基態)、內轉換 (internal conversion, IC；即由高電子激態釋出能量而降至次一電子激態)、外轉換 (external conversion, EC；即由 S_1 或 T_1 釋出能量給溶劑分子而回到 S_0)、系統間穿越 (intersystem crossing, ISC；即由 S_1 改變電子自旋而跨越至 T_1)、或者放射光即螢光 (fluorescence, FL) 和磷光 (phosphorescence, PH)。

一般說來，振動緩解及內轉換之速率都遠比螢光或磷光放光速率快，所以螢光都是由第一電子單重激態 (S_1) 之振動基態躍遷至電子單重基態 (S_0) 的各振動態，而磷光則由第一電子參重激態 (first excited triplet state, T_1) 之振動基態躍遷至 S_0 的各振動態。由於螢光並未牽涉到電子自旋之改變，屬於允許的躍遷 (allowed transition)，所以躍遷速率較快，其生命期 (lifetime) 為微秒 (microsecond) 到毫微秒 (nanosecond) 間；而磷光則牽涉到電子自旋之改變，屬於禁止的躍遷 (forbidden transition)，所以躍遷速率較慢，其生命期為數毫秒到數十秒。

一般可測量到之螢光特性包括：激發及螢光光譜、量子產率 (quantum yield 或 quantum efficiency)、生命期及異向度 (anisotropy)。茲將這些特性分別說明如下：

1. 激發及螢光光譜係強度對波長 (nm) 或能量 (cm^{-1}) 所作之圖譜。

這兩種光譜與分子之特性及其環境有關；而強

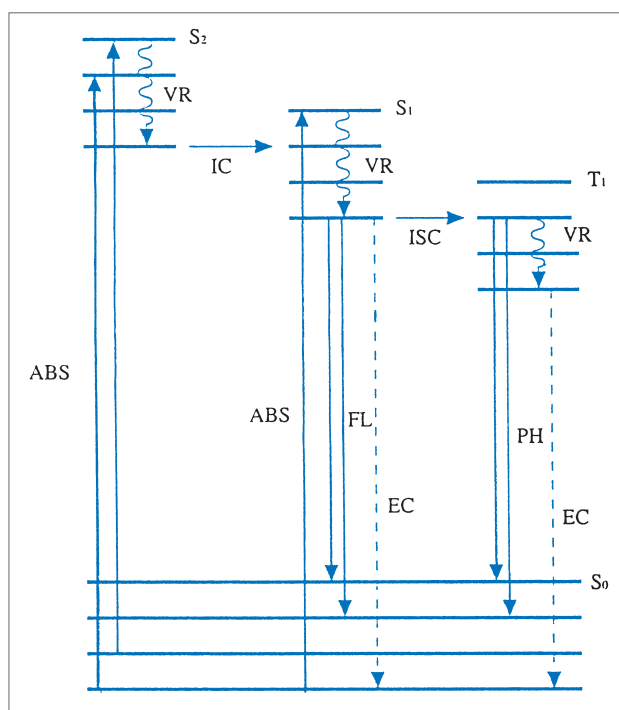


圖 1. Jablonski 能階圖。ABS：吸收；VR：振動緩解；IC：內轉換；ISC：系統間穿越；EC：外轉換；FL：螢光；PH：磷光。

度則和螢光分子之濃度及環境、淬滅劑 (quencher) 之量有關。

2. 螢光量子產率 $= k_f / (k_f + k_m)$ 。

k_f 為螢光衰減速率常數而 k_m 為所有非輻射 (nonradiative) 路徑之去激化 (deactivation) 速率常數。換句話說，量子產率就是電子由 S_1 回到 S_0 之所有路徑中螢光放射所佔的比例。量子產率和分子之特性、環境、各種去激化過程之快慢有關。

3. 生命期 $\tau = 1 / (k_f + k_m)$ ，即電子在 S_1 能階平均停留時間的一種指標。

因此螢光強度 (I) 隨時間 (t) 之變化可表示為：

$I = I_0 \exp(-t/\tau)$ ；其中 I_0 為 $t = 0$ 時之螢光強度。如果有幾個螢光分子或一個螢光分子處於幾種不同的環境時則螢光強度隨時間之變化通常表示為幾個指數項之和： $I = \sum \alpha_i \exp(-t/\tau_i)$ ；其中 α_i 為具有生命期 τ_i 之螢光對整體螢光所貢獻之比例。

4. 異向度 $r = (I_{\parallel} - I_{\perp}) / (I_{\parallel} + 2I_{\perp})$ 。

I_{\parallel} 和 I_{\perp} 分別代表與入射極化 (polarized) 光之方向平行或垂直所量到之螢光強度。異向度與分子之大小、吸收偶極 (dipole) 與放射偶極之相對位向 (orientation)、旋轉相關時間 (rotational correlation time)、溶劑之黏性及溫度等因素都有關。

二、結構示意圖

一般螢光光譜儀之裝置如圖 2 所示。由氙 (Xe) 燈所發出之激發光源經激發單色器 (monochromator) 選擇波長後通過樣品槽以激發螢光分子；產生之螢光通過垂直方向之放射單色器，再經由偵測器 (detector) 測得螢光之強度。最常使用之偵測器為光電倍增管 (photomultiplier tube, PMT)。將不同波長所測得之螢光強度記錄下來即為光譜。固定激發波長，變換放射波長所測得之光譜稱為螢光光譜；而固定放射波長，變換激發波長所測得之光譜稱為激發光譜。通常波長之變換、資料之記錄、儲存、處理及輸出等都可由電腦來控制。此外，由於光源強度、單色器、偵測器及各光學元件之效率都會隨波長而變，所以還必須對激發

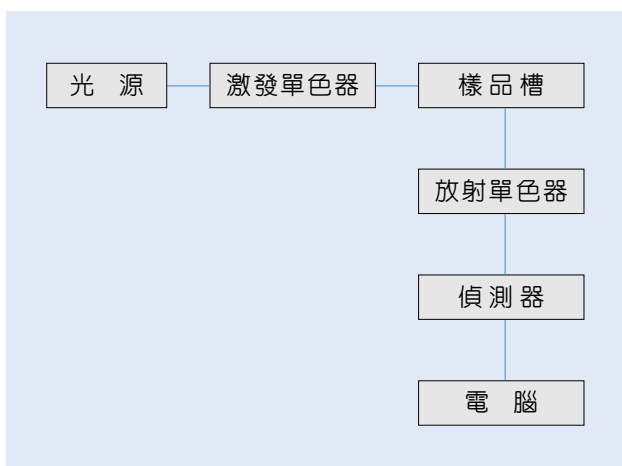


圖 2. 螢光儀簡圖。

及螢光光譜進行校正。激發光譜之校正通常是在激發單色器和樣品槽間用分光器 (beam splitter) 將一小部份之入射光分出來並通過一量子計數器 (quantum counter) 及參考光電倍增管，再將樣品訊號與參考訊號相除以達到校正之目的。最常使用之量子計數器為高濃度 (3-8 克/升) 之玫瑰紅 (rhodamine B) 溶於甘油或乙二醇中；此溶液被 200-600 nm 之入射光激發時幾乎具有相同之量子產率。螢光光譜之校正通常利用已知輻射強度之光源 (如鎢絲-鹵素燈) 及已知螢光光譜之標準樣品先行測定儀器之轉換函數儲存於電腦中再進行校正。不過一般之定量工作都是在固定波長下為之，所以只要作一檢量線即可而不需要作光譜之校正。

異向度之測定則需在圖 2 之激發單色器和樣品槽間及放射單色器和偵測器間各放置一個極化器 (polarizer)。當二個極化器之角度相同或差九十度時所測得之螢光訊號即為 I_{\parallel} 和 I_{\perp} ，再利用異向度之定義以決定其值。

生命期之測定有下列幾種方法：

1. 脈衝-取樣 (pulse-sampling) 法

螢光樣品經脈衝式光源 (氙燈或雷射) 激發後，PMT 在不同時間偵測每一脈衝之螢光強度並記錄在多頻道分析器 (multichannel analyzer, MCA) 上，如此便可得到一螢光強度隨時間變化之圖形。此圖形亦包含了光源強度隨時間曲線，需經由電腦軟體之組合 (convolution) 處理以求得螢光生命期。

2. 時間-相關單光子計數 (time-correlated single photon counting) 法

由於螢光放射是一種隨機 (random) 事件，如果每一脈衝只有一個光子發射出來則這個光子在不同時間之放射機率應該和螢光強度之衰減曲線相同，所以只要記錄到足夠多之光子抵達的時間便可得到螢光強度之衰減曲線。實驗上，螢光樣品經非常微弱之脈衝式光源激發後會立即啟動一時間-振幅轉換器 (time-to-amplitude converter, TAC)，當 PMT 記錄到第一個抵達之光子的訊號後隨即關閉 TAC 並將其歸零，重新接收第二個脈衝的訊號；餘此類推，直到記錄到數十萬到數百萬個光子為止。因為 TAC 之電壓與時間成正比而且每一個時

間在 MCA 上都有一個對應的位置，如此便可將各個時間抵達之光子的次數記錄在 MCA 之對應位置上以得到螢光強度之衰減曲線再經由電腦軟體之處理就可得到螢光生命期。

3. 調合 (modulation) 法

當螢光樣品被正弦 (sinusoidal) 調合之光源激發時，其螢光會以相同之頻率 (ω) 振盪但具有不同之相位 (ϕ) 及調合程度。正弦光及螢光可分別表示為： $f(t) = a + b \sin \omega t$ 及 $F(t) = A + B \sin(\omega t - \phi)$ ；其中 b/a 或 B/A 稱為光之調合程度。相位及去調合 (demodulation, m) 與生命期的關係為： $\omega\tau = \tan \phi$ 及 $m = (B/A)/(b/a) = [1 + (\omega\tau)^2]^{-1/2}$ 。因此由實驗得到之相位及去調合值即可決定出螢光之生命期 τ 。

三、儀器規格與特徵

螢光光譜儀種類繁多，其各部位通常可依個人之需求選擇不同規格之產品組合而成，所以其價格也相差非常懸殊。例如光源就有氙燈、汞-氙燈、雷射、脈衝式氙燈或雷射等選擇。波長選擇器可用濾片或單色器。單色器依解析度、波長適用範圍也有諸多選擇。偵測系統除了 PMT 外還可選擇 MCA 或矽增強靶偵測器 (silicon intensified target detector)；而且其適用波長範圍及解析度也有各種選擇。此外，有些光譜儀還配備了偵測異向度之極化器、偵測異向度及螢光強度衰減之裝置。規格不同，其波長解析度、波長準確性及再現性、適用波長範圍、偵測極限、偵測功能等也都會有所差異。

四、應用

螢光法所偵測到的是絕對強度，具有非常高的靈敏度，其偵測極限可以低到十億分之一 (ppb)，比吸收光譜法靈敏一至三個數量級。螢光法的應用真是不勝枚舉。例如定量具螢光性之有機分子，以衍生化的方式偵測非螢光分子，以螯合的方法測定金屬離子；其他如臨床醫學、藥物、食品、化工、農藥之檢驗、環境分析等。在化學及生命科學之研

究方面，螢光法可應用於層析、電泳之偵測、滴定、免疫分析 (immunoassay)、生化感測器 (biosensor)、胺基酸組成分析、核酸定序等等。此外，螢光之淬滅 (quenching) 可用於研究分子之可接近度 (accessibility)、構形改變、動力學等。光譜之特性可用於研究螢光分子之局部環境 (酸鹼度、極性、剛性等)、螢光所在位置 (site) 之數目、位置間之距離 (利用能量轉移)。偵測螢光衰減曲線可用於研究快速動力學 (kinetic)、淬滅途徑之來源、交換過程、解析 (resolve) 靜態光譜 (static spectra) 等；例如決定蛋白質中氨基酸之複雜螢光之來源、偵測螢光分子周圍偶極之再組合 (reorganization) 情形、研究淬滅機制、組織化介質 (organized media)；如微胞 (micelle)、環糊精 (cyclodextrin)、溶劑對高分子動力學 (dynamics) 之效應及快速化學反應等。異向度之測定可以估計大分子之大小、局部及整體之動性 (mobility)、研究蛋白質-配位子之鍵結情形等；例如偵測細胞膜之結構及流動性、決定能量受體與予體間之距離、研究蛋白質之片段 (segmental) 動性及內部動力學 (intrinsic dynamics)、界面溶質之動性等。至於在未來的發展方面，用螢光偵測單一分子已經成為事實；而隨著毫微微秒 (fs) 雷射、更快速電子及光電元件之開發，快速過程之追蹤及研究也將更為普遍及可靠。此外，多功能 (同時偵測光譜、螢光衰減、異向度等) 儀器之開發、細胞之顯影、遙測 (remote sensing) 及生化感測器等方面都還很有發展的空間。

參考文獻

1. J. R. Lakowicz, *Principles of Fluorescence Spectroscopy*, New York: Plenum Press (1983).
2. J. R. Lakowicz, Ed., *Topics in Fluorescence Spectroscopy*, New York: Plenum Press, 1-3 (1991).
3. E. L. Wehry, Ed., *Modern Fluorescence Spectroscopy*, New York: Plenum Press, 1-4 (1981).

作者：林萬寅先生為佛羅里達州立大學化學博士，現任國立台灣大學化學系教授。

雷射拉曼散射光譜儀

Laser Raman Scattering Spectrometer

關鍵字：拉曼、散射

Keywords：Raman, scattering

一、基本原理

當光照射到物質時，除了穿透與被吸收外，有一部份光是以散射的形式放出。絕大多數的散射光頻率都與入射光相同，從量子的語言來講，這是光子與物質作彈性碰撞的結果。當物質的粒子的尺寸遠小於入射光的波長時，所產生的散射光稱為 Rayleigh 散射。有少部份的散射光頻率與入射光不相同，這是光子與物質間作非彈性碰撞，使得光子有一部份的能量轉移到物質上所造成的。如果這份能量是以熱的形式存於物質中，這種散射光稱為 Brillouin 散射；但如果這份能量是以分子轉動或振動甚至電子激發態的形式存於物質中，則這種散射光通稱為拉曼 (Raman) 散射。拉曼散射是印度物理學家拉曼 (C. V. Raman) 在 1928 年首先發現的。由於拉曼散射光中隱含著分子結構的訊息，再加上近幾十年來雷射的發展與偵測技術的進步，已經使得雷射拉曼散射光譜學在化學分析上扮演重要的角色。

從量子理論來看，拉曼散射的過程可以用圖 1(a) 來說明。分子在基態受光子 ($h\nu_0$) 照射後躍遷到虛激發態，隨即躍遷回基態，放出能量 $h\nu_0$ 的瑞利散射光。但若分子吸收了部份能量 $h\nu$ ，即躍遷回振動態，則放出的拉曼散射光能量為 $h(\nu_0 - \nu)$ 。這種能量比瑞利散射光小的譜線稱為斯托克 (Stoke) 譜線。假如分子原先處於振動態，激發後

躍回基態，則此拉曼散射光的能量為 $h(\nu_0 + \nu)$ ，較瑞利散射光大，稱為反斯托克 (anti-Stoke) 譜線。

由古典理論來看，拉曼效應是光的電磁場與物質交互作用的結果。分子在電磁場中所產生的感應偶極矩 (\mathbf{P}) 與激發光的電場 (\mathbf{E}) 間的關係為

$$\mathbf{P} = \alpha\mathbf{E} + (1/2!)\beta\mathbf{E}^2 + (1/3!)\gamma\mathbf{E}^3 + \dots \quad (1)$$

其中 $\mathbf{E} = E_0\cos 2\pi\nu_0 t$ 。 β 與 γ 遠小於 α ，因此在激發光強度不大時，(1) 式的高次項可以忽略。 α 為極化率，是原子間距 (r) 的函數。當分子以頻率 ν 振幅 x 振動時， $\alpha(r)$ 在平衡位置 (r_0) 附近作級數展開為

$$\begin{aligned} \alpha(r) &= \alpha(r_0) + (d\alpha/dr)xcos2\pi\nu t + (1/2)(d^2\alpha/dr^2)x^2cos^22\pi\nu t \\ &+ \dots \\ &= \alpha(r_0) + (1/4)(d^2\alpha/dr^2)x^2 + (d\alpha/dr)xcos2\pi\nu t \\ &+ (1/4)(d^2\alpha/dr^2)x^2cos4\pi\nu t + \dots \end{aligned} \quad (2)$$

代入 (1) 式可得

$$\begin{aligned} \mathbf{P} &= [\alpha(r_0) + (1/4)(d^2\alpha/dr^2)x^2]E_0\cos 2\pi\nu_0 t \\ &+ (1/2)(d\alpha/dr)xE_0\cos 2\pi(\nu_0 + \nu)t \\ &+ (1/2)(d\alpha/dr)xE_0\cos 2\pi(\nu_0 - \nu)t \\ &+ (1/8)(d^2\alpha/dr^2)x^2E_0\cos 2\pi(\nu_0 + 2\nu)t \\ &+ (1/8)(d^2\alpha/dr^2)x^2E_0\cos 2\pi(\nu_0 - 2\nu)t \\ &+ \dots \end{aligned} \quad (3)$$

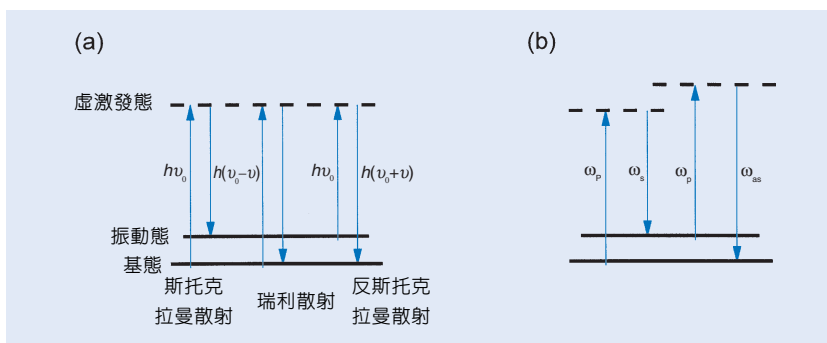


圖 1.
(a) 拉曼散射的過程。(b) 相干反斯托克拉曼散射的過程。

其中的第一項是瑞利散射，第二項是反斯托克拉曼散射，第三項是斯托克拉曼散射。

從光激發的技術上作分類，拉曼光譜可以分成線性與非線性拉曼光譜。

1. 線性拉曼光譜

雖然從拉曼與瑞利散射的頻率差可以獲得分子的振動光譜，但是拉曼散射光的強度太弱，只有瑞利散射光的 10^{-8} ，需要純度很高的樣品以及高品質的光學系統配合才能觀察到，嚴重限制了它的應用。但 1960 年雷射發明以後，利用高強度的高單色性雷射光為激發光源，大大提升了拉曼散射光的強度，而使拉曼光譜學再次獲得重視。

除了以高強度的雷射光作為激發光源，來提升拉曼散射光的強度外，將激發光的能量調進分子的某一電子吸收帶，可以使一些特定振動模式的拉曼散射有效截面異常增大，進而增強其拉曼散射光到 10^4-10^6 倍，大量提升了訊噪比。這種光譜學稱為共振拉曼光譜學 (resonance Raman spectroscopy)。

表面增強拉曼光譜法 (surface-enhanced Raman spectroscopy) 是另一個大量提升訊噪比的方法，這是 Fleischman 等人在銀電極表面吸附吡啶 (pyridine) 的拉曼光譜實驗中首次觀察到的現象。這個表面增強拉曼散射的散射截面比一般的拉曼散射增大了 10^5-10^6 倍。主要有兩個模型來解釋這個增強機制：其一是電磁效應，認為是金屬局部電場的增強所造成的。其二是電荷轉移效應，認為從分子基態到金屬費米面附近的空電子態可以發生共振躍遷，進而改變分子的有效極化率，而使拉曼散射增強。

拉曼光譜學除了作為研究轉動與振動態的利器外，也可以用來研究低能電子態。對普通的樣品，電子能階間隔大，不易觀察到電子拉曼散射。但對過渡金屬離子而言，其低能電子態處於紅外光區，可以透過電子拉曼散射光譜來研究。

此外，由於雷射光具有偏振性，可以調成左旋光或右旋光。以這兩種光來激發具有光學活性的分子，會有不同強度的拉曼散射。因此旋光拉曼散射光譜是研究鏡像分子結構的利器。

2. 非線性拉曼光譜

在激發光強度大到 (1) 式中的高次項不能忽略時， \mathbf{P} 與 \mathbf{E} 的關係不再是線性的，所產生的拉曼光譜稱為非線性拉曼光譜。

受激拉曼散射 (stimulated Raman scattering) 的產生是因為當激發光 (ω_p) 強度增加到一個程度時，散射光 (ω_s) 也增加到某一強度，進而誘發受激放射，可使自發拉曼散射放大到 10^{13} 倍。如果用兩束雷射光激發樣品，頻率分別為 ω_p 與 ω_s ，其中 ω_p 較強，兩者差為 $\omega_v = \omega_p - \omega_s$ ，是分子的振動頻率。透過受激放射，可使弱光 ω_s 得到增強，稱為受激拉曼增益。

受激拉曼散射會使得大量的分子累積在振動態。此時若累積在振動態的分子再受到激發光 (ω_p) 的激發，則會產生相干的反斯托克拉曼散射 (coherent anti-Stokes Raman scattering, CARS)，其頻率 $\omega_{as} = 2\omega_p - \omega_s$ ，如圖 1(b) 所示。與一般的拉曼散射相比，CARS 的散射效率提高了約 10^5 倍，而且其信號具有方向性，收集效率高。此外，CARS 的光頻率比激發光還高，用一個切除式 (cut-off) 濾光片即可有效地消除螢光的干擾，甚至不需要單光儀。

超拉曼效應 (hyper-Raman effect) 是樣品吸收雙光子躍遷到虛激發態，再放射頻率為 $\omega_h = 2\omega_p \pm \omega_v$ 的拉曼散射光。

二、結構示意圖

由於雷射拉曼光譜可以在可見光區研究分子振動，因此相對於紅外光譜來說，大大地降低了對儀器器材質的要求。圖 2 是線性雷射拉曼散射光譜儀簡

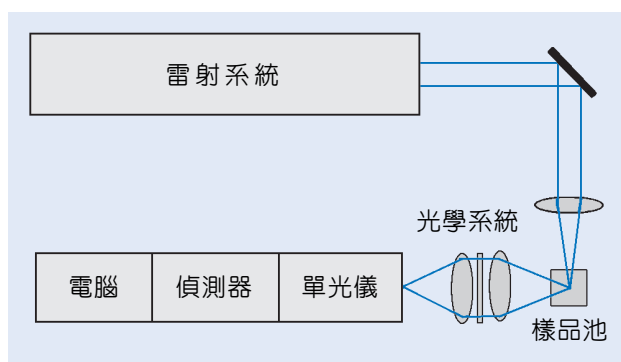


圖 2. 雷射拉曼散射光譜儀的結構示意圖。

單的結構示意圖。雷射光激發樣品，用光學系統收集及過濾散射光，引入單光儀中分光，照在偵測器上將光信號轉成電子信號，再轉成數位信號由電腦處理。對非線性拉曼光譜儀來說，除了雷射系統較為複雜外，其它的裝置均類似，但其光信號具有方向性，可以較有效地降低螢光的干擾。

三、儀器規格與特徵

雷射系統的選擇，視所選用的實驗方法而定。對一般的拉曼光譜法與表面增強拉曼光譜法而言，普通的單色連續雷射光即可勝任，如 Ar^+ 或 Kr^+ 雷射。若要避免螢光的干擾，可以選擇紫外或近紅外雷射光。紫外光可以透過一些混頻技術來獲得。近紅外光則可從 $\text{Nd}:\text{YAG}$ 雷射，半導體雷射或 $\text{Ti}:\text{Sapphire}$ 雷射產生。但對共振拉曼光譜法來說，由於激發光的能量必須調進樣品的電子激發能帶，對不同的樣品需要不同頻率的雷射光，因此雷射系統最好是頻率可調的，如染料雷射或光學參量振盪器等。為了防止樣品被光分解，脈衝式雷射要避免使用。但若要從事非線性拉曼光譜的研究，特別是時間解析的實驗，脈衝式雷射則是必要的，其中以 $\text{Nd}:\text{YAG}$ 雷射為基礎的雷射系統是相當好的選擇。

傳統收集散射光的光學系統是用透鏡與切除式濾光片組合而成。但由於光纖具有撓曲性，直接將光纖迫近樣品來激發與收光相當方便，近年來大量用於儀器的架設以取代透鏡。此外，全像式 (holographic) 濾光片可以準確地只消除瑞利散射光 ($\text{OD} > 4$) 至 50 cm^{-1} 以內，是濾光片的最佳選擇。聲光調變式濾光器 (acousto-optic tunable filter) 則是一種頻率可調的濾光器，作用原理與全像式濾光片相同，也可作為單光儀來掃描拉曼光譜。

分光用的單光儀，傳統上是採用單光柵或雙光柵甚至三光柵的單光儀，愈後者解析度愈高，信號強度也愈弱 ($< 5\%$)。但由於全像式濾光片可以準確地消除瑞利散射光，只需配合單一光柵即可有效獲得拉曼光譜，而且信號強度可達 50% 。此外，穿透式全像光柵 (holographic transmission grating) 的繞射效率高 ($> 80\%$)，且裝置簡單，與全像式濾光片配合是新一代拉曼光譜儀的最佳組合。

偵測器的發展也是促進拉曼光譜儀進步的一大動力。從早期的感光底片，光電倍增管，二極體陣列 (photodiode array)，到近期的二維偵測器 CCD (charge-coupled device)，信號的收集速度得到巨幅的提升，也使訊噪比得到顯著的改善。

在 1986 年，結合近紅外雷射光與 FT-IR 的干涉儀所發展而成的傅立葉轉換拉曼光譜儀問世了。這個結合主要有兩個好處：首先，用紅外雷射光作為激發光源可以有效地減少螢光干擾。其次，引入傅立葉轉換技術，大大增快了信號的收集速度。因此可用傅立葉轉換拉曼光譜分析的樣品相當廣泛，而且在一次的量測中就可得到全波段的高解析光譜，這使它受到各領域科學家的矚目。

由以上的說明可以知道，新一代雷射拉曼光譜儀的設計可以分成兩類：第一種是以 CCD 偵測器為中心，配合全像式光學元件，用於雷射光波長小於 $1\ \mu\text{m}$ 的可見與紫外光區。另一種設計是以傅立葉轉換技術為中心，用於雷射光波長大於 $1\ \mu\text{m}$ 的近紅外光區。這兩種設計對信號的靈敏度是傳統光電倍增管的 10^4 倍，大大開拓了拉曼光譜學應用的領域。

四、應用與用途

由於拉曼散射光中隱含著分子結構的訊息，而且是一種非破壞性的分析技術，再加上雷射的發展與偵測技術的進步，已經使得雷射拉曼散射光譜學成為物理、化學、生物、環境科學，甚至工業生產上重要的工具。在物理方面，利用脈衝雷射透過非線性拉曼光譜，可以獲得分子瞬態壽命與相干時間等訊息，發展可調頻雷射，研究晶體性質等。在化學方面，由振動光譜的研究可以獲分子的定性、定量與結構的訊息。而且由於拉曼光譜幾乎不受水的干擾，因此在生物系統的應用最為廣泛。在環境污染方面，可以配合遙測技術檢測空氣中的污染物。隨著光纖與傅立葉轉換技術的進步，將拉曼光譜用於工業生產的線上品保工作已逐漸受到重視。此外，結合共焦式掃描顯微鏡而成的拉曼顯微鏡，更是表面分析的利器，在藝術品的鑑定方面是最優秀的方法。

參考文獻

1. D. A. Long, *Raman Spectroscopy*, New York: McGraw-Hill Int. Book Co. (1977).
2. J. C. Wright, M. J. LaBuda, D. E. Thompson, R. Lascola, and M. W. Russell, *Anal. Chem.*, **68**, 600A (1996).
3. B. Chase, *App. Spec.*, **48** (7), 14A (1994).
4. M. Pelletier and K. Davis, *Amer. Lab.*, **34** C (Feb. 1996).
5. D. L. Gerrard, *Anal. Chem.*, **66**, 547 R (1994).

作者：江建志先生為國立臺灣大學化學研究所博士班研究生。

張大釗先生現任中央研究院原子分子科學研究所研究員。

雷射光散射光譜儀

Laser Light Scattering Spectrometer

關鍵字： 散射光譜、光子相關光譜、分子量

Keywords： light scattering spectrum, photon correlation spectroscopy, molecular weight

一、基本原理

利用雷射光照射物質，偵測其散射光所得的光譜稱為雷射光散射光譜。常用的散射光譜可分為四種，包括光散射法、低角度散射 (low-angle scattering)、半彈性光散射 (quasi-elastic light scattering)，以及 Brillouin 散射 (Brillouin scattering)。以下分別說明：

1. 光散射法 (light scattering)

此為最基本的散射光譜。以入射光打在物質上時，光子會與物質分子碰撞而被散射。考慮此碰撞為彈性碰撞時，可以 Rayleigh 散射 (Rayleigh scattering) 表示散射角 θ 的散射光：

$$(E_{sc})_{\theta} = \frac{8\pi^4(\alpha')^2(1 + \cos^2 \theta)E_0}{\lambda^4 d^2} \quad (1)$$

其中 λ 、 E_0 、 d 分別為入射光波長、電場、散射中心至偵測器的距離，而 α' 為散射粒子的極化能力 (polarizability)。 α' 與分子量、溶劑折射率，及折射率對濃度的變化率成正比，故散射光強度的平方與散射粒子的分子量成正比。由於在實驗上，不可能測得單一粒子的散射光，必須考慮在單位體積內所造成的散射光。定義 Rayleigh 比 (Rayleigh ratio) 為：

$$R_{\theta} = \frac{(E_{sc})_{\theta} d^2}{(1 + \cos^2 \theta)E_0} \quad (2)$$

此式可改寫為：

$$R_{\theta} = KCM \quad (3)$$

其中 C 為濃度， M 為分子量， K 為與折射率、折射率變化率、入射波長有關之常數。利用測量 Rayleigh 比，可以得知分子量大小。以上所述針對

的是小分子的理想溶液，若考慮非理想溶液以及大分子造成的干涉兩個因素，則 (3) 式必須再改寫為：

$$\frac{KC}{R_{\theta}} = \frac{1}{MP(\theta)} + 2A_2C \quad (4)$$

$P(\theta)$ 為粒子散射因子 (particle scattering factor)， A_2 為 second virial coefficient。一般在實驗上，是以 KC/R_{θ} 對 $\sin^2[(\theta/2) + kC]$ 作圖，稱為 Zimm 圖，其中 k 為常數。從 Zimm 圖中可得到分子量、分子形狀、粒子迴轉半徑等等資訊。

2. 低角度散射 (low-angle laser light-scattering, LALLS)

在早期，散射光譜都是以汞燈作為光源。而在雷射開始發展後，由於雷射的高指向性、高強度、單頻、同相等性質，利用雷射作為光源可在散射角接近 0° 得到散射光譜，因而有 LALLS 的發展。在 LALLS 中，Rayleigh 比可由 (5) 式得到：

$$R_{\theta} = \left(\frac{S_{\theta}}{S_0}\right)\left(\frac{T}{\Omega b}\right) \quad (5)$$

S_{θ} 、 S_0 、 T 、 Ω 、 b 分別為散射光信號強度、入射光信號強度、透射比、收集散射光的立體角，以及散射光徑長。同樣的，從 Rayleigh 比可以求得分子量。

3. 半彈性光散射 (quasi-elastic light scattering, QLS)

又稱動力光散射 (dynamic light scattering) 或光子相關光譜 (photon correlation spectrometry)。當測量粒子的散射光時，粒子會因熱效應不斷行布朗運動 (Brownian motion)，使其在散射光時產生

Doppler 效應，造成頻寬增加。此頻率增寬與粒子的移動擴散係數 (translation diffusion coefficient, D_T) 成正比。從 D_T 可以得到粒子大小 d 為：

$$d = \frac{KT}{3\pi\eta D_T} \quad (6)$$

其中 k 為 Boltzmann 常數， T 為絕對溫度， η 為溶液黏度。

4. Brillouin 散射 (Brillouin scattering)

在凝態介質中，散射光會小於在氣態所得到的結果，這是由於凝態介質是連續性的，必須考慮熱漲落 (thermal fluctuation) 的影響。1914 年，Brillouin 提出對於一個等向性 (isotropic) 物體，由於本身具有的熱激發密度漲落 (thermally excited density fluctuations)，當光被此物體散射時，被散射的光子會有能量不同的分佈，在光譜圖上形成雙重峰，稱為 Brillouin 雙重峰 (Brillouin doublet)。而被散射的光頻率位移 ω 可表示為：

$$\omega = \pm cq \quad (7)$$

其中 c 為聲速， q 稱為傳播向量長度 (propagation vector length)。 q 則與波長 λ 和散射角 θ 有關：

$$q = \frac{4\pi}{\lambda} \sin\left(\frac{\theta}{2}\right) \quad (8)$$

$$\Delta\nu = \pm \left(\frac{2\nu_0\nu_s\eta}{c}\right) \left(\frac{\sin\theta}{2}\right) \quad (9)$$

ν_0 : frequency of light

η : refractive index of the medium

ν_s : velocity of sound in medium

除了頻率位移的雙重峰外，散射光也有未位移的中心譜線。1934 年，Landau 與 Placzek 提出了中心譜線與雙重峰的強度比例關係，稱為 Landau-Placzek 比例 (Landau-Placzek ratio)：

$$\frac{I_c}{I_d} = \frac{(C_p - C_v)}{C_v} \quad (10)$$

其中 C_p 、 C_v 分別代表定壓熱容與定體積熱容。

雷射光散射光譜，就是利用雷射光作為光源，觀察物質散射光時造成的頻率位移。從散射光的頻率位移、角度分布、極化，以及強度，可以得到關於散射物質的大小、形狀，以及分子間作用的資訊。從這些資訊可以了解散射介質的結構及內部分子作用。

二、結構示意圖

雷射光散射光譜儀的裝置基本上都相當簡單，不過依所欲取得的光譜不同而有不同的裝置。光散射法與 LALLS 的裝置簡圖分節如圖 1 與圖 2 所示。光從光源放射出後先經過透鏡聚焦於樣品槽，再穿過分析物產生散射光，散射光經過光譜分析儀後到達光電倍增管，並連接記錄器加以紀錄。一般光散射法的檢測器是可繞樣品槽旋轉的，以便於取得全角度的散射光譜。QLS 與 Brillouin 散射光譜的儀器裝置與光散射法類似。

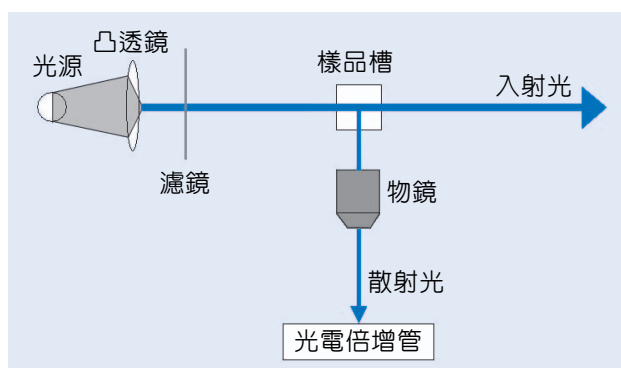


圖 1. 光散射法儀器簡圖。

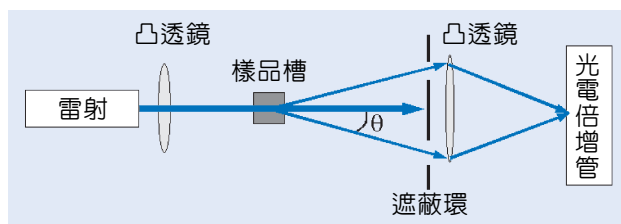


圖 2. 低角度雷射散射儀器簡圖。

三、儀器規格及特徵

在偵測器部分，某些光散射光譜儀具有旋轉的自動化功能，可自動完成 Zimm 圖，而其餘三種方法不需更動散射光偵測角度，故無此部份。商業化的 LALLS 通常使用低能量的氦氖雷射 (He-Ne

laser) 作為光源，這是因為某些聚合物分子與生化樣品在高能的 UV 範圍會有螢光產生，干擾散射光的偵測，故不使用高能的 UV 雷射。QLS 光譜儀與 Brillouin 散射光譜儀使用的光源是脈動雷射 (pulse laser)，而依其分析光譜方法，儀器可分為時間解析 (time-domain) 與頻率解析 (frequency domain) 兩種。頻率解析是直接以單光儀分析散射光的光譜，而時間解析是利用 photon correlation 技術分析散射光。時間解析的優點是解析度高，價格便宜，但其裝置複雜，不利自動化是缺點。頻率解析其則是裝置簡單，但其解析力較低。

四、應用與用途

光散射法除了可得到散射粒子的分子量、分子大小、分子形狀之外，也可藉由測量散射光極化率得到分子的異向性 (anisotropic)。在一般物質的檢測上，光散射法是使用最廣的。不過由於光散射法不能測量散射角 0° 的散射光，對於大型聚合物分子而言，在推算分子量時會產生相當大的誤差。而 LALLS 光譜就可精確的推算出大分子的分子量。不過 LALLS 光譜雖然簡化了測量分子量的過程，但對於分子大小與形狀的資訊完全付之闕如，只能適用在某些只需測分子量的物質。LALLS 現已被運用於分子篩選層析 (size-exclusion chromatography) 上，作為檢測方法，此系統可運用於決定聚合物的分子量分布情形。QLS 系統也運用於聚合物分子

的檢測上，監控聚合物分子聚合時的粒子成長狀態，特別適用於不溶性的聚合物。QLS 系統也可以檢測微胞系統，以及生物聚合物與生物微胞。在生化分析上，QLS 光譜被應用於白內障的檢測、免疫分析、細胞表面分析、生物薄膜分析、血流速度、細胞運動性等等各方面。Brillouin 散射光譜的應用主要是在凝態物質上面，包括晶態系統及非晶態系統都可運用。由於 Brillouin 散射光譜能獲得相當多熱力學方面的資料，在聚合物系統以及臨界現象的研究上，Brillouin 散射光譜是相當重要的工具。在微胞溶液中，Brillouin 散射光譜可分析微胞的形狀、大小、結構，及其他熱力學性質。

參考文獻

1. J. D. Ingle, Jr., S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, Chap. 16, New Jersey: Prentice Hall, Englewood Cliff (1988).
2. B. J. Berne, R. Pecora, *Dynamic Light Scattering with Application to Chemistry, Biology, and Physics*, New York: John Wiley & Sons (1976).
3. R. Pecora, ed., *Dynamic Light Scattering: Applications of Photon Correlation Spectroscopy*, New York: Plenum Press (1985).
4. M. Kerker, *The Scattering of Light and Other Electromagnetic Radiation*, New York: Academic Press (1969).

作者：陳鉉升先生為國立台灣大學化學所碩士班學生。
張煥宗先生為美國愛荷華州州立大學化學博士。
現任國立台灣大學化學系副教授。

化學發光測量儀

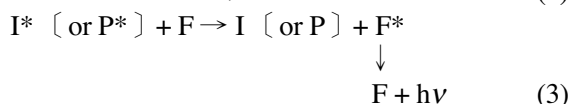
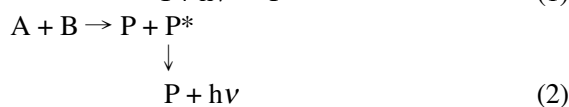
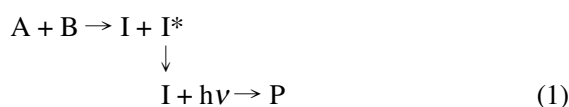
Chemiluminescence Photometer

關鍵字：化學發光、量子效率

Keywords：chemiluminescence, quantum efficiency

一、基本原理

於化學反應系統中，產生一激發態的中間產物或產物，此激發物種，再藉由放出光或將能量轉移至螢光接收物等形式來產生化學發光現象。化學發光反應的反應機制可簡單地由下列三式表示：



其中 A 和 B 表反應物；I 表中間產物；P 表產物；F 表螢光接收物。由 (1) 式及 (2) 式，可知發光物種可為中間產物或產物。而 (3) 式又闡明了，化學發光現象也可藉由激發物種 (I* 或 P*) 將能量傳遞至一螢光接收團而產生。

化學發光現象的發生，一般需滿足三要件：

- (1) 必須有足夠的能量去產生一激發態的物種；即需滿足 (4) 式。

$$-\Delta G \geq \frac{hc}{\lambda_{ex}} \quad (4)$$

若化學發光的發散波長位於可見光區中，則 $-\Delta G$ 必須介於 40–70 仟卡/莫耳。

- (2) 必須要有合適的反應途徑去產生激發物種。一般而言，激發物種相對於其基態物質之量是相當少的，因而化學發光是不易經由 (1) 式及 (2) 式之反應途徑產生。
- (3) 光子必須經由一適當的去活化過程發散。例如，去活化過程是經由 (3) 式之途徑產生時，能量之去活化過程的效率，必須視其激發物種傳遞能量

給螢光接受物的效率及螢光團發出螢光的效率而定。

化學發光的量子效率 (ϕ_{CL}) 的定義如下：

$$\phi_{CL} = \frac{\text{發光分子的數目}}{\text{被激發分子的總數}} \quad (5)$$

又

$$\phi_{CL} = \phi_{ex} \phi_L \quad (6)$$

其中 ϕ_{CL} 表激發物種的產生效率； ϕ_L 表發光物種的發光效率 (一般即為螢光團的量子率)。能量轉移的大小，可由產物的螢光發散光譜及反應物的化學發光光譜的吻合度而定。一般而言，較高的 ϕ_{ex} 及較好的能量傳遞的效率則可得到較強的化學發光。化學發光的輻射功率是被定義為：

$$I_{CL} = p(t) = \phi_{CL} [-d_{n_A}(t) V] / dt \quad (7)$$

其中， $-d_{n_A}(t)/dt$ 表一反應速率 (如單位體積，單位時間內化學發光物種之前趨物的消耗速率)；V 表化學發光混合物的體積。起始物與試劑混合後，化學發光的訊號強度會隨著時間的增長而減小，如圖 1 所示。

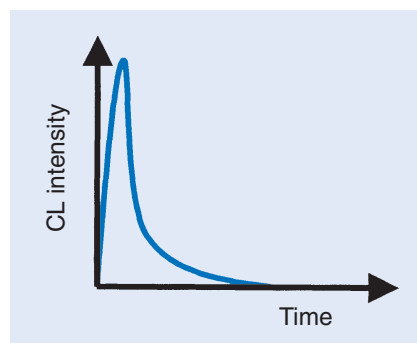


圖 1. 化學發光的訊號強度會隨著時間的增長而減小。

化學發光強度和形式及其減弱的速度與化學物種及產物的形成或環境的改變等有關。例如，對位碘苯酚可提高發光胺之化學發光效率或部分發光物在微胞或高分子化合物相中，其化學發光效率亦會增高。雖然大多數化學發光反應是於單一相中進行，但非均相的化學發光反應也被應用，且其化學發光訊號和反應動力學及質量傳遞的速率有關。

由於不需光源的輔助，化學發光法之背景值主要取決於使用的反應物之化性及發散物種的發光特性。相較於光誘導發光法的測量，化學發光的偵測是不受光源波動所造成之雜訊或其它散射光的干擾，因此化學發光法的偵測極限是由試劑與溶劑純度所控制。

二、結構示意圖

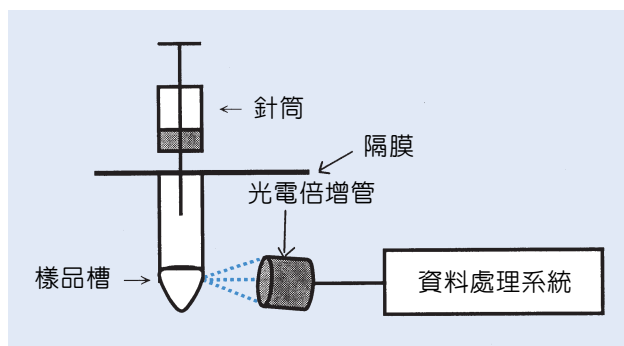


圖 2. 一簡單的化學發光測量儀器圖。

表 1. 化學發光法之分析應用。

分析物 (Analyte)	化學發光反應	樣品	混合方式
種類 (Type)	物種 (Species)	(CL reaction)	
無機物	Co(II), Mn(II), Ag(I) Cd(II), Pb(II)	H ₂ O ₂ -gallic acid	Synthetic Stopped flow
酸類	Carboxylic acids	Ion displacement luminol	Synthetic LC
胺類	Primary amines and Amino acids	Schiff base-Fe(II)-H ₂ O ₂	Synthetic FIA
胺基酸	L-Alanine	Bacterial luciferase	Serum, urine FIA
醣類	Glucose	Hexacyano- ferrate(III)	Plasma FIA
類固醇、脂類	Cholesterol	H ₂ O ₂ -luminol-peroxidase	Serum Static
碳氫化合物	PAHs	H ₂ O ₂ -TCPO	Coal tar LC
藥物	Morphine	MnO ₄ ⁻ H ⁺	Blood, urine FIA

圖 2 為一簡單的化學發光測量儀器圖，樣品及一些試劑置於樣品槽中，決定性的試劑由針筒穿透一隔膜後注入樣品槽中進行化學發光反應。所產生的化學發光再由光電倍增管來收集，訊號再經由資料處理系統記錄。

三、儀器規格與特徵

化學發光測量儀器的一大特色為其組成簡單，可能僅由一個適當的反應容器，一個光電倍增管及訊號處理器所組成。儀器本身通常不需要波長選擇器的裝置，因為僅有的輻射光源是由分析物和反應試劑進行的化學反應所產生。目前商業化的化學發光測量儀型式頗多，主要的規格差異在於反應之樣品注入器，樣品槽溫控裝置及自動化之程度。目前商業上用於液相化學發光的測量儀分為批次型化學發光分度計 (或稱不連續樣品注入型) 及流動式化學發光分度計。相較於批次型化學發光分度計，流動式化學發光分度計較適於快速的化學發光反應。但流動式化學發光法，需消耗較大量的試劑且較不適於緩慢的化學發光反應。因為化學發光的訊號通常很微弱，故有效地收集光也是非常重要的。

四、應用與用途

由於操作簡易、靈敏度高及儀器設備低廉等優點，化學發光法於分析上的應用至今仍是蓬勃的發

展。但此方法之應用卻受能產生化學發光的物種很少之缺點所限制。解決之道是藉由間接之化學方法來得到偵測非發光物種之目的。例如，利用金屬離子催化發光胺之發光反應，並由其產生之光的強度來偵測銅、鐵等金屬離子；又如，利用酚類化合物可提高發光胺的發光強度之特性，來偵測酚類化合物。表 1 是目前一些常用的化學發光法偵測分析物之例子。

化學發光的應用範圍很廣，包括氣體分析、無機物種在液相中的分析及有機物種的分析等。氣體分析主要是以測定大氣中之污染物為主，如氮的氧化物及硫化物等，其中與 GC 之組合尤其重要。化學發光法亦普遍被用來當做 HPLC、CE 和 FIA 之偵測器以測量微量且複雜之胺基酸、金屬離子、酚類化

物等。另外，和酵素免疫分析之配合應用更被用來偵測微量之藥物、毒物、DNA 和蛋白質等。

參考文獻

1. D. A. Skoog and J. J. Leary, *Principles of Instrumental Analysis*, 4th ed. New York: Harcourt Brace College Publishers (1992).
2. J. D. Ingle, JR. and S. R. Crouch, *Spectrochemical Analysis*, Englewood Cliffs (New Jersey): Prentice-Hall Inc. (1988).
3. A. K. Campbell, *Chemiluminescence, Principles and Applications in Biology and Medicine*, Chichester (England): Ellis Horwood Ltd (1988).

作者：柯淑惠小姐現為國立台灣大學化學研究所碩士生。
張煥宗先生為美國愛荷華州州立大學化學博士，現任國立台灣大學化學研究所副教授。

生物發光測量儀

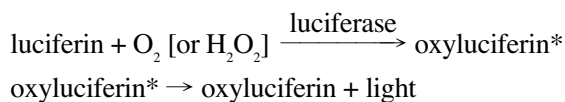
Bioluminescence Photometer

關鍵字：生物發光、螢光素、螢光酵素

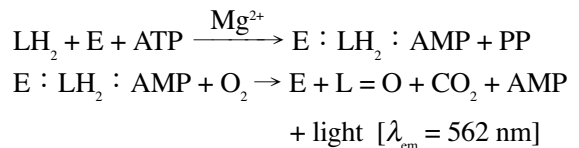
Keywords：bioluminescence, luciferin, luciferase

一、基本原理

涉及生物或酵素反應所發生的化學發光現象，稱之為生物發光。生物發光基本上和化學發光具有相同原理，其發光可由發光物質在激態下直接放出光或由能量轉移之形式放出光。一般而言生物發光之產生需要下列物質之存在；氧化物、蛋白質、發光物質、輔助酵素、金屬離子及共因子。最常見的生物發光例子有海底生物、蚯蚓、螢火蟲等生物體之發光。生物發光可源自於生物體在環境不同的刺激下，因酵素結構的改變而釋出發光物質及光或有機受質在酵素催化下進行氧化反應發出光。下式為螢光素在螢光酵素催化下發出光之反應機構：



生物發光所產生之光可存在數毫秒至數分鐘，其化學發光效率亦會因生物體之不同或環境之不同而有所不同。某些生物體之化學發光效率更可超過 50 %。其中最為人所知的生物發光反應即螢火蟲發光反應：



其中 LH_2 表螢火蟲螢光素； $\text{L} = \text{O}$ 表氧化螢光素； E 表螢火蟲螢光酵素； PP 表焦磷酸鹽。此反應主要是被用來作為極微量之 ATP 的偵測，但也可被用來作為 Mg^{2+} 、 O_2 或可產生 ATP 之酵素的偵測。但由於生物發光是因酵素結構的改變或因酵素的催化而產生，故凡影響酵素結構或活性之變因皆是重要的因子，例如：溫度、 pH 、溶劑、胺基酸之排列順序等。另外微胞和膠體系統亦常被用來增強生物發光之強度。表 1 是一些發光生物體內常見之蛋白質。

二、結構示意圖

圖 1 為一簡單的自動化生物發光測量儀器圖，樣品及一些試劑置於樣品槽中，決定性的試劑經由壓力注入樣品槽中進行生物發光反應。所產生的生物發光再由光電倍增管來收集，訊號再經由資料處理系統記錄。

表 1. 生物發光體內常見之蛋白質。

Luminous organism	Example	protein	mol. wt.	λ_{max}
A. Luciferases				
Bacteria	Photobacterium	Luciferase	80000	495 – 500
Dinoflagellates	Gonyaulax	Luciferase	135000	475
Coleoptera	Photinus	Luciferase	100000	540 – 580
B. Photoproteins				
Radiolaria	Thalassicolea	Thalassicollin	20000	450
Polychaete	Chaetopterus	Chaetopterin	120000	460
Scale worm	Harmothoe	Polynoidin	500000	510
Fish	Jellyfish	Aequorin	22000	469

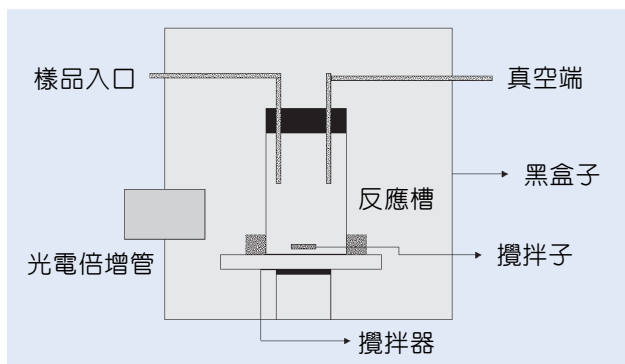


圖 1. 生物發光儀器簡圖。

三、儀器規格與特徵

生物發光測量儀器和化學發光儀器是可通用的，儀器的一大特色為其組成簡單，僅需一個適當的樣品注射器、反應容器，一個光電倍增管及訊號處理器。儀器本身通常不需要波長選擇器的裝置，因為僅有的輻射光源是由生物樣品發光所產生。目前商業化的生物發光測量儀型式頗多，主要的規格差異在於反應之樣品注入器，樣品槽溫控裝置及自動化之程度。目前商業上用於液相化學發光的測量儀分為批次型生物發光分度計 (或稱不連續樣品注入型) 及流動式生物發光分度計。相較於批次型生物發光分度計，流動式生物發光分度計較適於快速的生物發光反應。但流動式生物發光法，需消耗較大量的試劑且較不適於某些緩慢的生物發光反應。尤其是不適於極昂貴之生物樣品之檢測。

四、應用與用途

因生物發光法具有高選擇性、簡單性及極高之靈敏度，故為重要分析工具之一。此方法除常被用來決定細胞之數目及活性外，亦被廣泛應用於藥物、毒物、金屬和無機離子之測定。細胞中 ATP 和鈣離子含量的測定是較常見的例子。例如，Aequorin 在鈣離子的刺激下會在 460 nm 的波長下放出藍光，由其藍光強度可測得鈣離子之含量，另外，利用直鏈醛化合物影響細菌放出藍光之原理可由發光強度測得樣品中醛之含量：

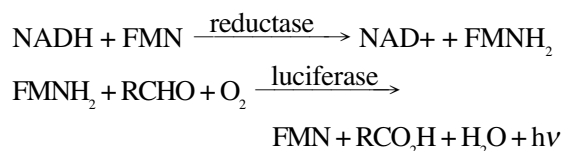


表 2. 生物發光之應用。

蛋白質 (Proteins)	應用 (Applications)
Aequorin	TSH, biotin, Avidin, digoxigenin, Ca^{+2}
Luciferase	ATP, Ti (III), IgG, GMP, AMP, RCHO, O_2

由於重金屬離子亦會影響可產生此生物發光之細菌的生長，此方法亦被用來偵測水樣品中重金屬之含量，另外可和 NADH 起反應之酵素或小分子亦可由此方法測得。表 2 為目前在微量分析上應用最廣之兩種生物發光蛋白質的應用。

生物發光和酵素免疫分析之結合更是現代重要分析技術之一。常用的酵素免疫偵測方法有同相性 (homogeneous) 及異相性 (heterogeneous) 兩種，異相性免疫分析雖較靈敏，但其需分離等步驟較為費時且不易自動化。而同相免疫分析則較簡易，近年來已有取代異相酵素免疫分析之勢。例如：利用抗生素和抗生素 Aequorin 與抗生素蛋白 (Avidin) 之競爭，測其 Aequorin 在鈣離子刺激下發光強度之減小量，可偵測樣品中 10^{-14} M 之抗生素。另外，此技術亦可用於去核糖核酸之分析上，和聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR) 技術之結合更是偵測細胞病變之另一項利器。

早期生物發光之應用因受樣品昂貴所限制，但由於近年來分子生物學的進步，價格較低廉、發光強度較強及較具特异性之生物發光樣品已由市面上購得或在一般實驗室中製得。例如可將具有生物發光的基因植入大腸桿菌 (Ecoli) 內，以大量製造具有生物螢光特性之細菌或具有特异性之酵素並用來來檢測樣品中微量物質之存在。另外，改變酵素中胺基酸之物種或排列的順序，亦被用來提昇生物發光強度或其特异性。例如：利用 DNA 再併合技術製得之螢光酵素已被用來偵測 10^{-20} M 之乙酸酯酵素 (acetate kinase)；protein-A-luciferase fusion protein 則被用來偵測 10^{-10} 克/毫升之 Human IgG。而具有螢光之細菌亦被用來偵測水樣品中低於 10^{-15} M 之砷和碲的含量。相信隨著分子生物技術、光學偵測測器及相關之機械技術的發展，生物發光必將更廣泛地被應用於測量複雜樣品中之微量物質，將來發展之趨勢可能包括在毛細管電泳中之應用、光纖維偵測器、單細胞偵測器及細胞分化及

病變之研究等。

3. S. murakami, M. Nakajima, H. Sekine, M. Maeda, and A. Tsuji,
Anal. Lett., **29** (6), 969 (1996).

參考文獻

1. A. K. Campbell, *Chemiluminescence: Principles and Applications in Biology and Medicine*, Chichester (England): Ellis Horwood Ltd (1988).
2. E. Kobatake, T. Iwai, Y. Ikariyama, and M. Aizawa, *Anal. Biochem.*, **208**, 300 (1993).

作者：柯淑惠小姐現為國立台灣大學化學研究所碩士生。
張煥宗先生為美國愛荷華州州立大學化學博士，現任國立台灣大學化學研究所副教授。

核磁共振波譜儀

Nuclear Magnetic Resonance Spectrometer (NMR)

關鍵字：核磁共振、化學位移、自旋耦合、二維核磁共振波譜

Keywords：nuclear magnetic resonance (NMR), chemical shift, spin-spin coupling, 2-D NMR

一、基本原理

核磁共振波譜學是探討物質和電磁波的作用，屬於光譜學的一支。物質如何受到影響，仰賴於射頻波的波長或頻率，科學家利用所得結果瞭解有關物質在分子層次的問題，探討原子的核磁性質所表現出來的行為，這種現象是在 1945 年分別由 Bloch 及 Purcell 所發現，他們於 1952 年獲得諾貝爾物理獎。

核磁共振功能原理簡述如下：物質中的原子核，其行為就有如微小指南針般，我們叫它做核自旋。將物質放在靜磁場裡，每個小指南針和磁場所成的角度相當於核自旋處在不同的能階，由於有溫度效應，使得低能階的分佈略多。當射頻波的頻率剛好等於兩能階間的差異時，低能階的自旋躍遷至高能階，這種現象稱為核磁共振。為了測量不同能階間的差異，可緩慢掃描射頻頻率，當共振時電磁波被吸收，偵測線路阻抗改變，引發電子訊號，把訊號的強度對頻率作圖，所得圖譜稱之為核磁共振波譜。

在 1950 年間發現，核磁共振頻率的差異不僅和原子核的自身性質有關，也跟其所處化學環境有關，從此，核磁共振開啟了在化學的應用。它的訊號，可用來決定化合物中的分子結構，在早期，由於核磁共振方法靈敏度相當低，它的應用僅限於研究濃度高的小分子。

在 1966 年，針對這個問題，Ernst 發現新的波譜測得方法，採用短而強的射頻脈衝取代頻率掃描方法提高靈敏度。脈衝和自旋作用產生訊號，此訊號隨時間而遞減，直接觀察對時間變化的訊號，不易瞭解其意義，Ernst 發現經傅立葉轉換，可得一般波譜。而且靈敏度的提高可由訊號累加而得，累加所用的時間較傳統掃描方法大大的減少。

核磁共振波譜是指譜線強度對頻率的變化，所

以稱這種光譜為一維波譜，在頻率空間裡含著化學位移及自旋-自旋耦合，或化學交換之訊息。茲將最基本的化學位移及自旋-自旋耦合介紹如下：

1. 化學位移⁽¹⁾

常溫下，一般液體之核磁共振譜線都是相當窄，其譜線在光譜中有固定的頻率位置，譜線寬度窄意味著有效自旋間的作用相當弱，核自旋所受的有效磁場作用和核所在的化學環境有關，藉此特性可做為分子構造分析的工具。

在分子內，核自旋感受之外加磁場因電子在核四周之分佈，而有所遮蔽，在液體中因分子旋轉運動相當快，其有效的漢米頓 (Hamiltonian) 為

$$\mathbf{H} = -\gamma\hbar I_z(1 - \sigma)B_0 \quad (1)$$

式中 σ 是等方向遮蔽常數 (isotropic screening constant)，假若 B_0 是無遮蔽核之共振磁場， B_s 是受遮蔽影響之共振磁場，因此由共振條件告訴我們

$$h\nu = \gamma\hbar B_s = \gamma\hbar(1 - \sigma)B_0 \quad (2)$$

得到

$$\sigma = \frac{B_0 - B_s}{B_0} \cong \frac{B_0 - B_s}{B_s} \quad (3)$$

式中近似符號之成立，乃因對各種核種而言， B_0 和 B_s 相差約在萬分之一以下。實際上，我們做核磁共振測量時，樣品中常內含化學位移參考化合物，通常測碳或氫譜時的參考化合物為四甲基矽烷 (TMS)，以其核自旋共振磁場 (B_{ref}) 為參考點，樣品核種所測遮蔽量是相對於此參考點，則對於參考點之遮蔽量為

$$\sigma - \sigma_{ref} = \frac{B_s - B_{ref}}{B_{ref}} \quad (4)$$

依據此關係化學位移之定義為

$$\delta = \frac{B_{ref} - B_s}{B_{ref}} \times 10^6 \quad (5)$$

上式中化學位移 δ 是以 ppm 表示，又得知化學位移越大，其遮蔽量越小，共振發生在較低的磁場，要注意的是，化學位移是分子參數，和外加磁場(或共振頻率)無關。但因不同溶液之磁化率不同，觀察到的和真正的化學位移差別也隨溶劑不同而改變，且溶質和溶劑間的作用也可能改變磁化率，所以對化學位移做記錄時必須記明所使用溶劑，而且樣品容器形狀也會影響磁化率，因而使用內標準參考物抵消磁化率的效應。圖 1 為乙醇的氫譜，乙醇的甲基 (1)、亞甲基 (2) 與氫氧基 (3) 由於化學環境的不同，而分別在不同的化學位移上 (橫軸上 $\delta = 1.1$ 、3.5 及 4.4 ppm)。

2. 自旋-自旋耦合⁽¹⁾

核自旋在不同化學環境有它不同的共振頻率，造成不同的化學位移，但在高解析度的波譜中，發現更細微的譜線，這種現象是由於自旋-自旋耦合產生的，此種耦合是由於鄰近的價鍵電子與核自旋之間經由化學鍵互相影響產生，但遠距離(距被觀察之核自旋超過三個化學鍵外者)之價鍵電子的影響可被忽略。

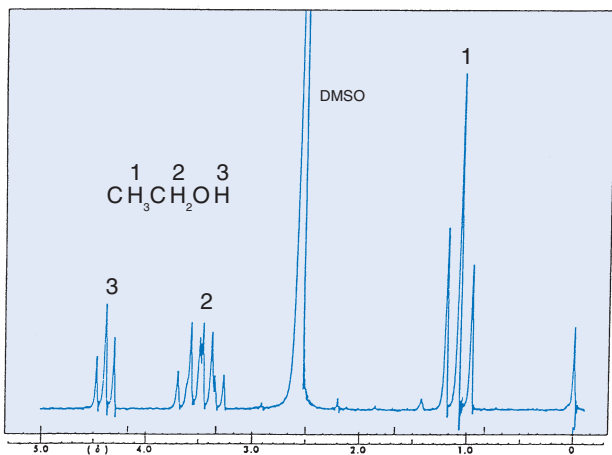


圖 1. 乙醇分子在 DMSO 溶液中的一維氫譜。由於 DMSO 易與溶液中殘餘水分子結合，使乙醇分子氫氧基上的氫核自旋不易交換而保留自旋-自旋耦合的三重峰 (4.4 ppm)。

在 1 乙醇的氫譜中，甲基的化學位移在 1.1 ppm 處，其三重峰是由於與鄰近的亞甲基 (CH₂) 上的氫耦合作用，但在遠處的氫氧基則無法影響甲基的氫核使其譜線進一步的分裂；同理可理解其他譜線的分裂。此外，當兩種化學環境不同的氫核互相耦合時，其多重峰之間的頻率差會相同，此即為耦合常數 (coupling constant)，其數值對結構的解析有很大的幫助。

3. 二維核磁共振波譜⁽²⁾

在 1960-1970 年代，由於有新的超導材料，嶄新超導磁鐵因而設計出來，這種磁鐵具有高且穩定的特性，對核磁共振而言，提高了靈敏度及解析度，因此可用來研究較複雜的系統，為了要朝這方面進展，比利時的科學家 Jeener、Ernst 及其同事於 1975 年發展出二維的核磁共振，於是開展了新的研究方向。

二維波譜是利用多重脈衝將一維波譜所展現之部分波譜訊息，以另一度空間表現出來，因此二維光譜有助於化學家對化學構造的辨別。如圖 2 所示為氫、碳核相關二維波譜，縱軸所顯示的為氫譜，橫軸顯示的為碳譜，波譜中的數字為化合物中碳的位置。在碳氫二維波譜中呈現的訊號代表氫和碳鍵結情形，比如在氫譜 2.1 ppm 之附近之氫核是和碳

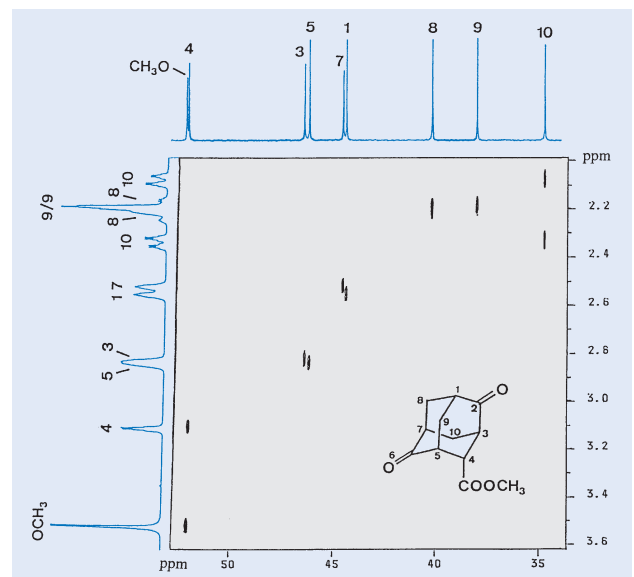


圖 2. 4-methoxycarbonyladamantane-2,6-dione 的碳氫二維光譜。

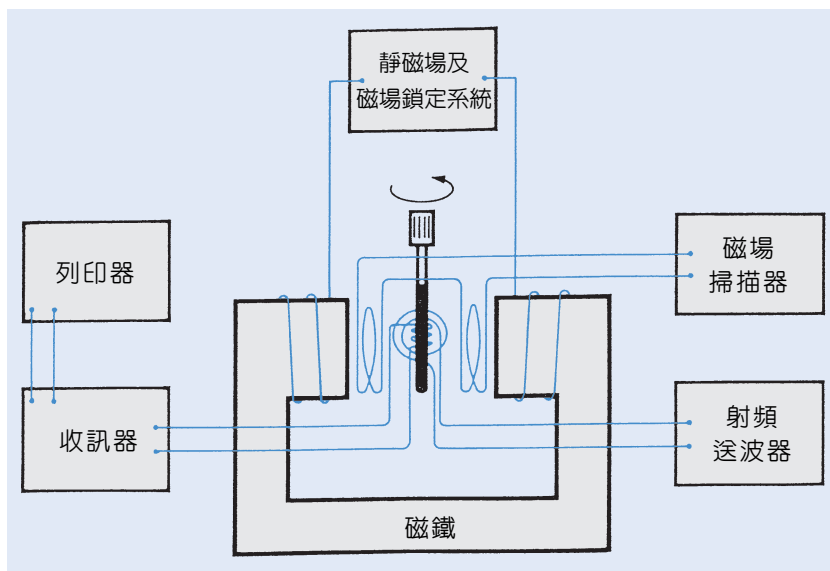


圖 3.
核磁共振儀器示意圖。

譜 35 ppm (標示第 10 的碳核) 有關，即第 10 位置的碳上連接兩個氫核波譜顯現在 2.1 ppm 附近。

二、結構示意圖

核磁共振儀之基本結構和其他光譜儀不同之處在於其能量分裂是由外加靜磁場產生，自旋躍遷是受電磁波影響，因此需要兩種線路來偵察共振，如圖 3 所示，一為送波器，另一是收訊器，此二部份均調至核自旋的共振頻率，我們現在就以雙正交線圈型核磁共振儀來說明，樣品置於探頭中，樣品可由噴氣方式旋轉，而增加解析度；探頭內樣品管外繞有二正交線圈，其中之一為射頻送波線圈，和射頻產生器相連接，另一為收訊線圈，和收訊器相連接，在磁鐵兩端旁設有磁場掃描線圈，和掃描器相聯接用以掃描磁場找到共振訊號。

三、應用

應用上，核磁共振光譜學無論在學術界或工業界幾乎遍及各化學學門，典型的核磁共振研究包括一維、二維甚至四維的核磁共振⁽²⁾，這些實驗可用來決定蛋白質或生物高分子在溶液中的三度空間構

造，其應用可延伸至藥物的設計，及生化反應機構的瞭解，核磁共振也可用來瞭解分子間的作用、微觀運動情形、高分子結構甚至化學反應的速率。對固體樣品的測量方面，應用多脈衝與交叉極化去耦合、魔角旋轉技術，以及多量子魔角旋轉，可得固態高解析波譜。

近二十年來，在核磁共振成像方面，有急速的進展，除解析度提高外，快速成像、生理功能成像、液體流面成像等皆是創新的發展³。

參考資料

1. A. Carrington and A. D. McLachlan, *Introduction to Magnetic Resonance, with Applications to Chemistry and Chemical Physics*, New York: Wiley (1978).
2. R. R. Ernst, *Principles of Magnetic Resonance in One and Two Dimensions*, London: Clarendon Press (1987).
3. P. T. Callaghan, *Principles of Nuclear Magnetic Resonance Microscopy*, Oxford: Clarendon Press (1991).

作者：黃良平先生為美國紐約州立大學石溪校區化學系博士，現任國立台灣大學化學系教授及中研院原子與分子研究所研究員。

固態核磁共振儀

Solid State Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectrometer

關鍵字：固態核磁共振光譜學、跨越極化、魔角旋轉

Keywords：solid state NMR spectroscopy, cross polarization, magic angle spinning

一、基本原理

一般區分固態 (或稱凝態) 物質特性的重要指標，除系統本身的基本物理性質之外，即針對其組成分子的運動狀態及其有序化 (ordering) 程度而言。依後兩者之變化型態與程度之不同，固態物質又可區分為不同類型，如結晶體、非結晶體、塑性晶體 (plastic crystal)、液晶 (liquid)、細胞膜及聚合物等。在上述各種固態物質中，有此雖然可藉由傳統實驗技術，如中子散射 (neutron scattering)、X 光繞射 (x-ray diffraction) 測量等方法直接或間接地偵測分子的運動狀態。但是，前述傳統實驗技術往往又受限於物質組成分子排序之程度而無法發揮其功能。固態 NMR 光譜技術恰可彌補此一不足，它不但可以用來探討分子運動，而且還具備取向相關 (orientation dependent) 的訊息，藉之可探討物質之組成、排序、結構等特性。固態物質的核磁共振現象與較為普及的高解析液態 NMR 光譜有許多不同之處。在液態中，由於分子多呈現快速 (以 NMR 時間刻度而言) 且均向性的 (isotropic) 運動，因此有效地平均各種核自旋交互作用項。一般而言，液體中所有的偶極 (dipole) 及四極矩 (quadrupole) 交互作用項均被平均為零，而其他如化學遮蔽效應 (chemical shielding) 及核自旋交互作用項 (spin-spin coupling) 則被平均至一特定平均值。

因此，液態 NMR 光譜多為高解析的分立窄峰，藉由這些譜峰所提供的數據，吾人得以推衍出分子之組成與其結構訊息。相反地，在固體中，由於分子間的排列較為固定，分子間運動呈各向異性 (anisotropy)，所獲得之 NMR 參數大抵與分子的取向有關，因此光譜多呈現較無特徵的寬峰。一般而言，固體光譜的譜寬 (10–100 kHz) 約超過液體譜

寬兩個數量級以上。嚴格說來，固體光譜中所隱藏的訊息應該比液體光譜來得多，因為它們不但含有取向有關的資料，也具備與外磁場強度、核自旋豐度 (abundance) 及核磁矩強度等相關之特性。因此，如何透過實驗技術的創新，使得固態 NMR 光譜具備有如液態光譜的高解析度，是一項重要的課題。自 1970 年以來，所謂「固態高解析核磁共振光譜學」即逐漸獲得重視，由於實驗技術的不斷創新發展，此一技術已廣泛地被應用且成為探討物質材料特性及相關應用研究不可或缺的利器。

在固體中，主要的核自旋交互作用項有四種：即偶極交互作用 (大小約 0–10⁵ Hz)，化學遮蔽作用 (~0–10⁵ Hz)，核自旋交互作用 (~0–10⁴ Hz) 及四極矩交互作用 (~0–10⁹ Hz) 等項。其中，偶極交互作用項在核自旋 $I = 1/2$ 的高豐度核種中，通常是最重要的交互作用項，然而若在低豐度核種 (rare nuclei) 中則以化學遮蔽作用項為主。核自旋交互作用項貢獻最小，常被忽略不計。此外，若自旋系統是 $I > 1/2$ ，即具備四極矩的核種時，則交互作用幾乎完全以四極矩交互作用項為主。因此，當吾人操作固態 NMR 實驗時，所選擇之實驗方法取決於固體中可能產生之核自旋交互作用種類及其相對大小，換言之，即是取決於：(1) 所選定之核種、(2) 核自旋豐度及 (3) 系統之基本特性，如分子運動形態及分子有序化程度等。

目前發展已趨成熟的「固態高解析 NMR 光譜」相關實驗技術如下：

1. 跨越極化 (cross polarization, CP)

跨越極化 (或稱為交叉極化) 法的主要是以直接或間接的方式將高豐度或高磁化靈敏度

(sensitivity) 核種 I (如 ^1H 核) 之極化量 (polarization) 轉借給較低豐度或低靈敏度的核種 S (如 ^{13}C 核), 藉以提高其訊雜比 (S/N ratio)。此法需透過雙共振 (double resonance) 的方式進行, 即同時對 I、S 兩系統施以射頻激發 (radio frequency excitation)。在旋轉座標 (rotating frame) 系統中選擇適當的射頻脈衝 (RF pulse) 場強度, 藉而達成所謂 Hartmann-Hahn 匹配條件: $\gamma_I B_{II} = \gamma_S B_{IS}$; 其中 γ_I 、 B_{II} 、 γ_S 及 B_{IS} 分別代表高豐度與低豐度核自旋的迴旋比 (gyromagnetic ratio) 及射頻場強度。此法最高可提昇低豐度核之訊號靈敏度 γ_I/γ_S 倍, 以 ^{13}C - ^1H 系統為例, $\gamma_I/\gamma_S \approx 4$ 。此外, 由於共振系統是由極化量供應者 (即 I 核) 所主導, 因此 S 核之訊號強度原則上是由 I 核之弛豫 (relaxation) 來決定的, 以 ^{13}C - ^1H 系統而言, 這同時代表實驗循環時間 (recycle time) 的縮短, 因此除了提高訊號靈敏度外, 亦同時提昇了實驗的效率。

2. 核自旋解耦 (spin decoupling)

核自旋解耦法通常是獲得高解析固體 NMR 光譜的必備方法, 尤以系統含有不同核種之情況為甚。不同核種的耦合作用, 常造成寬廣的固體光譜, 以常見的碳氫化合物為例, 主要的異核耦合 (heteronuclear coupling) 即來自 ^{13}C 核與 ^1H 核間之強

交互作用力, 因此, 吾人若對 ^1H 核施以一強射頻脈衝或連續波激發, 只要此一射頻場強度大於 I 核的觸發項 (flip-flop term), 使同核偶極作用 (homonuclear dipolar coupling) 項在漢彌爾頓 (Hamiltonian) 的貢獻為零 ($H_{II} \rightarrow 0$), 因而調制異核作用項 H_{IS} , 致使 S 核之譜線窄化, 進而提昇其靈敏度。顯然地, 此法亦需使用雙共振才得以完成。在方法上, 對 I 核又有偏共振解耦 (off-resonance decoupling) 及共振 (on-resonance) 解耦等方式。值得注意的是, 異核核自旋解耦只允許我們偵測 S 核的化學位移, 其他如偶極交互作用或異核核自旋 (I-S) 交互作用 (或稱間接偶極交互作用或 J-coupling) 等項將均被消除。若吾人想獲得異核核自旋交互作用的大小 (即 J_{IS}), 則需使用同核核自旋解耦法, 此法通常配合跨越極化、魔角旋轉、複合脈衝或二維 NMR 等實驗技術進行, 隨後將逐一介紹。

3. 魔角旋轉 (magic angle spinning, MAS)

魔角旋轉法亦是一用來平均或消除核自旋交互作用的常用方法。以下簡單介紹其原理與操作方法: 一般而言, 吾人只要透過適當的座標轉換, 即可將異核或同核偶極核自旋漢彌爾頓的長期項 (secular part) 表示成為 H_{spacial} 及 H_{spin} 的相乘積, 即

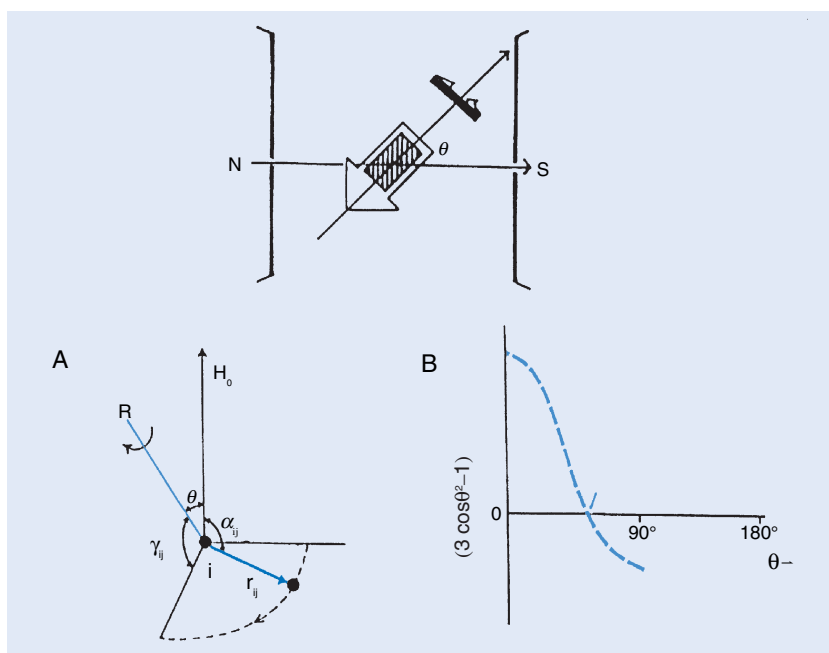


圖 1. 魔角旋轉 NMR 中, 樣品與外磁場配置圖; (A) 樣品旋轉軸 R 與外磁場 H_0 之幾何關係圖, (B) 二階 Legendre polynomial $P_2(\cos\theta)$ 函數與 θ 之關係圖⁽¹⁾。

$H_D = H_{spacial} \cdot H_{spin}$ 。其中 H_{spin} 描述核自旋本身的取向 (orientation)，它只與核自旋運算子 (operator) 有關，而 $H_{spacial}$ 則與空間參數有關，代表核自旋與外磁場或與其他核自旋間之對應空間關係。無論是在同核或異核系統， $H_{spacial}$ 均可轉換成具有二階 Legendre 函數之形式，即 $H_{spacial} \propto P_2(\cos\theta) = 1/2(3\cos^2\theta - 1)$ ， θ 即樣品旋轉軸 \vec{R} 與外磁場 \vec{H}_0 之夾角；兩核自旋 i 、 j 間之距離向量 \vec{r}_{ij} 與 \vec{R} ， \vec{H}_0 之關係如圖 1(A) 所示。由於 $P_2(\cos\theta)$ 在 $\theta_M = 55^\circ 44'$ (或 54.73°) 時之平均值為零 (如圖 1(B))，此一角度即所謂「魔角」(magic angle)。換言之，吾人若透過實驗硬體設備，將樣品與外磁場傾斜 θ_M 角，然後設法使樣品在該軸旋轉 (如圖 1)，即可達到消除 $H_{spacial}$ 之目的。這一種透過 H_D 對空間參數相關的巧妙實驗應用，需要十分精密的探頭與樣品旋轉子 (rotor) 製造過程，但此一技術目前已廣泛的商業化了，取得並不困難。MAS NMR 通常需要將樣品在高速 (4–20 kHz) 旋轉，此一旋轉速率應接近所擬消除之交互作用力大小。此法除可完全消除同核偶極及四極矩交互作用之外，亦可將異核核自旋交互作用及各向異性化學位移 (CSA) 做有效平均，並獲得其各向同性之平均值。此法若配合跨越極化，即為 CP-MAS，效果更佳，亦常配合同核或異核核自旋解耦進行實驗。

4. 多重脈衝激發 (multiple pulse irradiation)

此法在概念上與前述 MAS 法相似，但在方法上則是採取對治 H_{spin} 項而非 $H_{spacial}$ 。其原理是利用強射頻脈衝，有效地將核自旋系統 (spin ensemble) 平均取向導引至魔角 (旋轉座標系)。但由於強射頻脈衝通常無法維持足夠的射頻場均勻度，因此往往利用適當的脈衝組合來達成。早期較著名的複合脈衝系列有 WAHUA-4、MERV-8、BR-24 等。一般而言，新發明之多重脈衝系列均朝向降低射頻功率、對稱性及使用同相位或較少脈衝等方向改進，盡量避免由脈衝本身所帶來的其他不良效應。值得注意的是，此法可消除同核偶極交互作用及得到異核 J_{is} 常數，但卻無法去除 CSA。因此，後來經改良與 MAS 合用，稱為 CRAMPS (Combines Rotational And Multiple Pulse Sequence)，恰可彌補

MAS 法中無法有效平均掉強同核偶極交互作用之缺憾，因為目前 MAS 之最高穩定轉速只能到達約 25 kHz。

5. 雙旋轉 (double rotation, DOR) 與動態角旋轉 (dynamic angle spinning, DAS)

DOR 是採用兩個旋轉子，同時以兩種角度旋轉，其中大旋轉子的轉速一般較慢 (~ 1 kHz)，與外磁場成魔角 ($\theta_M = 54.74^\circ$)，而小旋轉子則置於大旋轉子之內呈 $\theta' = 30.56^\circ$ 或 70.12° ，以較高速 (~ 5 kHz) 旋轉。後者主要是為了消除四階 Legendre 函數，即 $P_4(\cos\theta)$ ，該項常出現在次階四極矩交互作用中。而 DAS 則是採用將樣品有次序的交替旋轉在不同的轉軸，如選擇 $\theta_1 = 37.38^\circ$ 及 $\theta_2 = 79.19^\circ$ 。使用上述兩法的目的，均是為了消除高階作用項，尤其是在 $I > 1/2$ 的核種中的高階四極矩交互作用。以實際的操作而言，DOR 比 DAS 來得容易，但兩者在探頭及週邊設備的設計及製造方面均相當精密且費時，目前類似設備也已商業化，唯價格仍居高不下。

6. 二維核磁共振 (two-dimensional NMR)

二維 (2D) NMR 實驗技術早已被廣泛應用在液態物質的研究方面，其主要目的通常是探討原子與分子結構間之連接特性。原則上 2D NMR 在固態物質的應用受到相當程度的限制；固體中的交互作用力太強、弛豫時間短、譜寬太大、光譜解析度及訊號靈敏度偏低等均是主因。然而也有許多成功的應用範例，如 HSC (Heteronuclear Shift Correlation) 系列建立異核間 (如 ^{13}C - ^1H) 之連接關係，COSY (COrrrelation SpectroscopY) 系列則決定同核 (如 ^1H - ^1H) 之作用，INADEQUATE (Incredible Natural Abundance Double QUantum Transfer Experiment) 系列則利用雙量子 NMR 技術偵測低豐度核種之同核交互作用 (如 ^{13}C - ^{13}C)。此外，所謂二維章動 (2D nutation) 實驗，主要針對 $I > 1/2$ 核種，可分辨化學位移與四極矩交互作用力之大小與關係。二維核自旋擴散 (2D spin diffusion) 實驗則類似於液態 2D NMR 中的 NOESY (Nuclear Overhauser Enhancement SpectroscopY) 實驗，是利用偶極交互作用探討不同

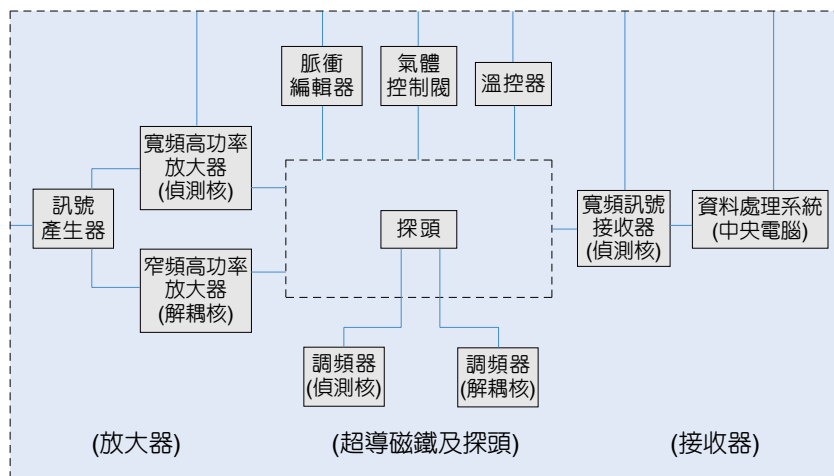


圖 2.
基本的固態核磁共振光譜儀裝置圖。

位置 (sites) 之磁化量交換程度，藉以了解核自旋擴散情形。此外，尚有如自旋回波雙共振 (Spin-Echo Double Resonance, SEDOR) 實驗，能測量異核間之局部場偶極交互作用。其他較新的實驗技術進展包括運用 2D MAS 方法偵測各向異性交互作用及合併磁場梯度 (field gradient) 及多量子 (MQ) NMR 技術做固態成像 (solid-state imaging) 等。

二、結構示意圖

固態核磁共振儀的結構示意圖如圖 2 所示。

三、儀器特徵

基本的固態 NMR 光譜儀結構示意圖如圖 2 所示，系統大部份週邊設施均與中央電腦連接，並可直接在操作主機搖控微調。實驗系統主要可分為三大部份，即放大器 (amplifier 或 transmitter)、磁場及探頭 (probe) 及接收器 (receiver)。為了符合雙共振的需要，在放大器部份，又分為偵測核與解耦核兩類，前者通常為寬頻 (broad band) 高功率 (~1 kWatt) 放大器，而後者多為窄頻 (narrow band)，一般以 ^1H 或 ^{19}F 為主，後者通常亦用來做 CP，但其功率需求較低 (50–200 Watt)。若實驗需要一次解耦二種以上的核，則另需一套放大器，一般稱此為三共振實驗 (triple resonance)。中間部份主要為磁場及探頭，新型的 NMR 光譜儀均採用超導磁鐵，探頭通常與一般液態 NMR 所使用的不同，主要是在其較耐高電壓。樣品放置在探頭內之 NMR 線圈處，依實驗需求之不同，可以調頻器調制偵測核與解耦核之共振頻率。脈衝編輯器控制各種不同脈衝

系列之運用，溫控器可調節樣品溫度，而氣體控制閥則可改變樣品旋轉所需之高壓乾燥空氣進量並控制 MAS 速率。最後部份則是訊號接收器，此部份通常又可分為訊號放大器、數位轉化器 (digitizer 或 ADC) 及資料處理系統等三大項。資料處理一般亦利用中央電腦來進行，其中包括分析數據之各種軟體設施及繪圖系統等。

四、應用與用途

近年來，由於高解析固態 NMR 實驗技術的不斷進步與提昇，固態 NMR 光譜目前已成為探討物質特性不可或缺的利器，是其他傳統研究固體實驗技術所不及的。目前固態 NMR 實驗技術已廣泛地被應用在材料、生化、地質與化工產業等各種領域上。常見的應用包括各種材料之合成、鑑定及特性與應用探討，如矽鋁酸鹽化合物、聚合物、液晶、樹脂、細胞膜及油脂等。

參考文獻

1. C. A. Fyfe, *Solid State NMR for Chemists*, Guelph, Ontario: C. F. C. Press (1983).
2. M. Mehring, *Principles of High Resolution NMR in Solids*, 2nd ed., New York: Springer-Verlag (1983).
3. U. Haeberlen, in *Advances in Magnetic Resonance*, edited by J. S. Waugh, Suppl. 1, New York: Academic Press (1976).
4. G. Engelhardt and D. Michel, *High-Resolution Solid-State NMR of Silicates and Zeolites*, New York: Wiley (1987).

作者：劉尚斌先生為美國維吉尼亞州威廉瑪麗學院物理博士，現任中央研究院原子與分子科學研究所研究員。

電子自旋共振儀 (電子順磁共振儀)

Electron Spin Resonance (ESR) or Electron Paramagnetic Resonance (EPR) Spectrometer

關鍵字：電子自旋共振、電子順磁共振

Keywords：electron spin resonance, electron paramagnetic resonance

一、基本原理

電子因為自旋轉所產生之磁矩 (magnetic moment, μ_e) 可以式 (1) 來表示，

$$\mu_e = -g\beta S \quad (1)$$

其中 g 為一個沒有單位的常數，稱為 g 因子 (g factor)， β 亦為一常數稱為波耳磁子 (electronic Bohr magneton)，其大小等於 $e\hbar/2mc$ ，此 \hbar 為 Planck 常數 (Planck constant, h) 除以 2π ， e 與 m 分別代表電子之電量及質量，而 $\hbar S$ 代表電子之自旋角動量 (spin angular momentum vector of electron)， S 為電子之自旋量子數，等於二分之一。

$$\mathbf{H} = -\mu_e \cdot \mathbf{H} \quad (2)$$

$$\mathbf{H} = g\beta HS_z \quad (3)$$

電子之磁矩與磁場 (H) 之作用可以用 Hamiltonian 運算子 (\mathbf{H}) 來表示式 (2)，由式 (1) 代入式 (2) 則可得到式 (3)，假設外加磁場作用在 z 軸方向。因為電子帶負電荷所以式 (1) 為負號與核子磁共振之相關式不同，因此定義 β 為正值。電子之 $S = 1/2$ ，在外加磁場 H_z 作用之下，電子之自旋 (spin) 分裂成順磁場 (β) 與逆磁場 (α) 兩種，如圖 1 所示，比較低能量之狀態 (state) 以 $|\beta\rangle$ 表示， $m_s = -1/2$ ，比較高能量之狀態以 $|\alpha\rangle$ 表示其 $m_s = 1/2$ ，剛好與核磁共振相反，因為 μ_e 與 μ_N 有相反之正負值。在圖 1 中因為 α 與 β 兩種自旋之能量差 (ΔE) 與磁場成正比，在外加磁場 H 時，能量差等於 $g\beta H$ 。

$$\Delta E = h\nu = g\beta H \quad (4)$$

此時稱為共振條件 (resonance condition)，也就是說在與磁場垂直之方向加入一個具有頻率 (ν) 的

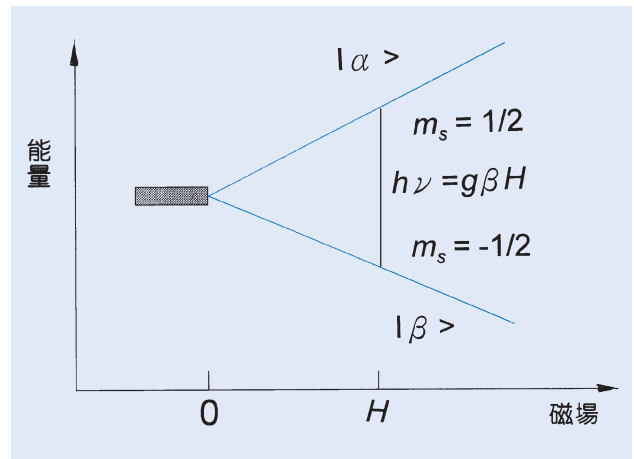


圖 1. 在磁場作用下，電子自旋之能階圖。

電磁波則會使此系統產生共振吸收，而此共振吸收之頻率與外加磁場 H 成正比，在一萬高斯 (gauss) 之磁場下自由電子 (free electron，其 g 值等於 2.002322) 共振頻率等於 28026 MHz，其值大約為核子共振頻率之一千倍，此種電磁波稱為微波 (microwave) 其波長約為一公分左右。如同核磁共振儀，電子自旋共振光譜儀實際上是以固定頻率而改變磁場之大小來進行。最常使用之一種頻率為 9500 MHz (波長 3 公分，稱為 X-Band)，其磁場約在 3400 高斯，適用於液體試樣。另外一種頻率為 35000 MHz，此稱為 Q-Band，可變磁場在 12500 高斯左右。以上 X-Band 及 Q-Band 最為常見，另外亦有 S-Band (微波頻率 3200 MHz，磁場 1140 gauss) 以及 K-Band (微波頻率 25000 MHz，磁場 8900 gauss) 亦有所聞。

在溶液中之電子自旋共振光譜最簡單明瞭，因為我們只對分子中不成對電子 (unpaired electron) 與具有磁性之原子核之間的相互作用有興趣，而此種原子核與電子之間的相互作用稱為超微細偶合

(hyperfine coupling) 其 Hamiltonian 表示如式 (5)。

$$H = S \cdot T \cdot I = aS \cdot I + S \cdot T' \cdot I \quad (5)$$

其中 S 及 I 分別代表電子及核子之自旋向量而 T 為超微細張量 (hyperfine tensor)，而又可以分為兩項其中 a 為等方向性 (isotropic contact part) 而 T' 為磁偶極張量 (magnetic dipolar tensor)，在固體中會引起異方向性分裂 (anisotropic splitting)，在液相中 T' 之平均值為零，所以只有等方向性之 a 超微細偶合常數存在。如果吾人不考慮原子核之 Zeeman 作用項，因為此作用項對溶液中之光譜無影響，而 a_1 與 a_2 分別代表兩個與電子產生超微細偶合作用之常數則此時之 Hamiltonian 可以用式 (6) 來表示。

$$H = g\beta HS_z + S_z (a_1 I_{1z} + a_2 I_{2z}) \quad (6)$$

$$h\nu = g\beta H + a_1 m_1 + a_2 m_2 \quad (7)$$

而所得之共振頻率如式 (7) 所示，其中 m_1 與 m_2 為代表原子核之量子數，ESR 測量時通常固定微波之頻率 ν 而改變磁場 H 之大小，因兩種原子核 (以質子為例) 所引起之 ESR 波譜會分裂成四條譜線，如圖 2 所示，其中最高磁場之吸收線是由兩個 β 狀態之質子所致，而最低磁場之吸收線則由兩個 α 狀態 (順磁) 之質子所引起。

由此類推則單一電子與 n 個相同環境之質子所產生之超微細分裂為 $n + 1$ 譜線，而譜線之相對強度則與 $(1 + x)^n$ 展開式之係數成正比，當質子數為

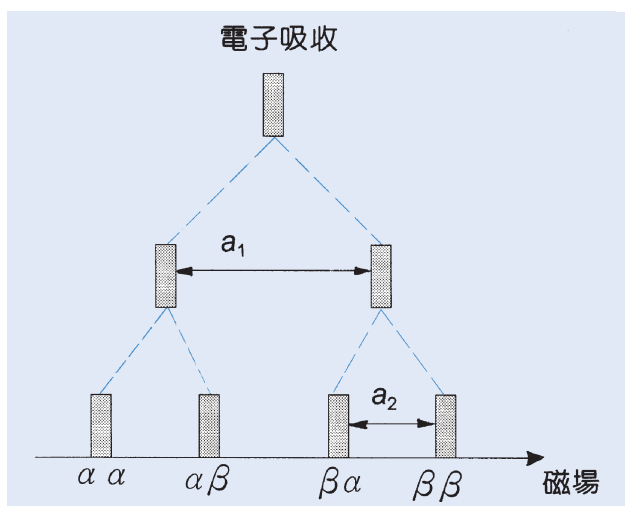


圖 2. 由兩個質子 (a_1 與 a_2) 所引起之超微細偶合作用與光譜之吸收線譜。

1 時則分裂成 1 : 1 之雙線，當質子數為 2 時則分裂成 1 : 2 : 1 之三線，當 $n = 3$ 時則分裂成 1 : 3 : 3 : 1 之四線， $n = 4$ 時則為 1 : 4 : 6 : 4 : 1 等等。通常 ESR 波譜圖皆以一次微微分圖 (first derivative) 來表示，如此則可得到較佳解析度 (resolution) 之圖譜。如圖 3 所示為一張菲醌 (phenanthroquinone) 與格林納試劑 (Grignard reagent, ethyl magnesium bromide) 混合於苯試劑中之 ESR 波譜圖 3(a)，而圖 3(b) 為電腦之模擬光譜圖 [$g = 2.0044$ 、 $a = 1.70$ gauss (2 H)、 $a = 1.74$ gauss (2 H)、 $a = 0.36$ gauss (2H), $a = 0.42$ gauss (2 H)]。

芳香族含不成對電子 (odd electron) 之自由基，例如苯陰離子自由基 (benzene anion radical)，因為此奇電子可以非定域化 (delocalized) 到苯環上任何一個碳原子之 $2p_z$ 軌域上，因此不成對電子在每個碳原上之平均自旋密度都小於一，碳原子上之 π 電子自旋密度 (π -electron spin density, ρ_π) 與苯環上氫原子之超微細偶合常數 a_H (hyperfine splitting constant) 之間成正比例，比例常數為 Q (約為 -22.5 gauss)，如式 (8) 所示，此式稱為 McConnell 關係式。

$$a_H = Q\rho_\pi \quad (8)$$

$$a_H = Q\rho_\alpha \quad (9)$$

此式亦適用於烷類自由基之 α 位置上之氫原子之 a_H 與此碳原子之電子密度 ρ_α 之關係式 (式 9)，其

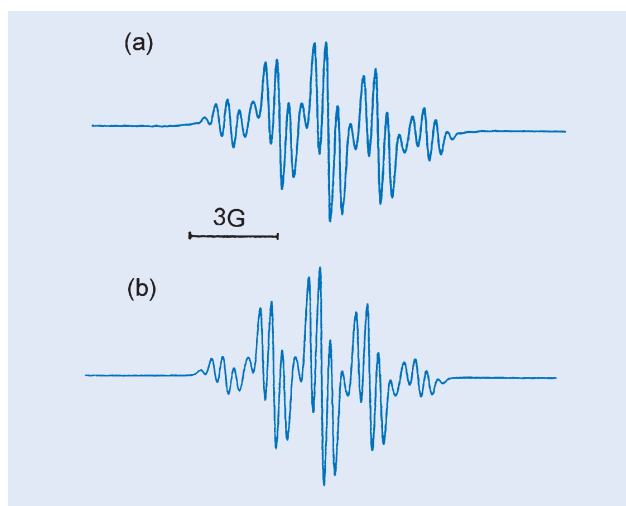


圖 3. 菲西昆與格林納試劑在苯中之 ESR 光譜圖 (常溫)。

中比例常數 Q 之值介於 -23 gauss 到 -30 gauss 之間。至於烷類自由基之 β 位置上之氫之 a_H 之間亦有類似的關係式存在。

固態 ESR 光譜，因為具有異方向性 (anisotropic) 所以磁場之方向與單晶 (single crystal) 之各個結晶軸之方向不同所測得之光譜亦不同，因此沿著單晶 a 、 b 、 c 各軸所測得之譜線亦不同， g 值亦各不相同。粉末狀態之試料其 ESR 光譜與單晶狀態之光譜亦有所不同，有的試料 $g_x \neq g_y \neq g_z$ ，有的試料 $g_x = g_y = g_{\perp}$ ， $g_z = g_{\parallel}$ 等等。

有些分子本身具有兩個不成對的電子，稱為雙自由基 (biradical)，如果兩者之自旋平行的話，則具有磁矩，此時有三種狀態存在，故稱為三重態，有些分子例如萘 (naphthalene)，其三重態之壽命期較長，亦可測得其 ESR 光譜，此為激發態之三重態光譜。有一些有機分子其在基態亦為三重態，則此種分子亦可測得其 ESR 光譜。

有些金屬離子或著離子錯合體 (metal ion complexes)，其在 d 軌域之多電子因互相平行，具有磁矩，例如 Mn^{2+} 具有五個自旋 ($I = 5/2$)，亦可測得其 ESR 光譜。

電子-核子二重共振 (electron-nuclear double resonance, ENDOR)、電子-電子二重共振 (ELDOR)、磁共振之光檢測 (optical detection of magnetic resonance, ODMR)、電子-核-核三重共振 (TRIPLE) 以及 CIDEP (chemically induced dynamic electron polarization) 等等都是比較複雜的磁性分子之檢測方式，其目的也各有不同。

二、結構示意圖

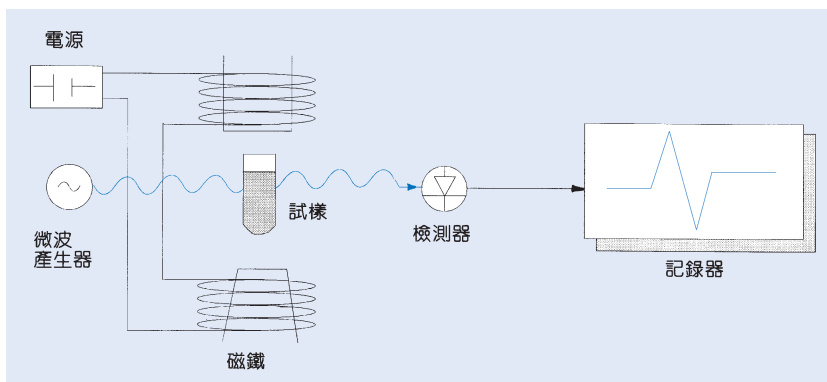


圖 4.
電子自旋共振儀之結構示意圖。

如圖 4 所示，電子自旋共振儀必須具有下列部份，(1)可變磁場之磁鐵，(2)具固定波長之微波產生器，(3)檢測微波之檢測器，(4)增幅器，(5)記錄器等等。

三、儀器規格與特徵

目前商業化之電子自旋共振儀並不多，主要以德國 Bruker、美國 Varian 和日本之 JOEL 等公司出品之儀器為主，大多以 X-Band 之配備為主，但可以增加各式電腦及 ENDOR 等附屬儀器，變化頗多。

四、應用與用途

電子自旋共振光譜之應用非常廣泛，從生物、醫學、藥物、免疫、金屬酵素、抗氧化、食品等方面皆有其特定的用途。最近亦有應用在考古學上的定年法 (dating)，以及放射線強度之測量。至於詳細的說明必須參考特定的參考書。

自旋標示 (spin labeling) 法為 1965 年史丹佛大學 McConnell 教授等首創，把高分子 (例如核酸、脂肪、蛋白質) 之一部份以具有常磁性的小分子來標示，以便研究此類高分子的環境對此標示常磁性分子之 ESR 光譜之影響，而加以推斷此分子周圍之狀態；所用之常磁性分子大多為安定的胺氧自由基 (nitroxide) 為主。

自由基免疫分析 (radical immuno assay) 是一種利用在抗原分子加上自旋標示試劑時，與抗體結合造成 ESR 信號改變來測定抗原與抗體之量，通常用來檢測麻菲 (morphine)、古柯鹼等毒品吸食者之一種方法，對麻菲之檢測感度可達 $(1-10 \text{ ng/mL})$ 。

在醫學上之應用，例如利用 ESR 可以研究血液中異常血紅素 (Hb-M，鐵三價) 之量、血紅素與一氧化氮結合體、腫瘤組織之自由基含量、致癌藥物產生自由基，以及對 DNA 之影響等等。

參考文獻

1. A. Carrington and A. D. McLachlan, *Introduction to Magnetic*

Resonance, Cambridge: Chapman and Hall (1979).

2. C. P. Poole, Jr. and H.A. Farach, *Handbook of Electron Spin Resonance*, New York: AIP Press (1994).

3. J. R. Pilbrow, *Transition ion Electron Paramagnetic Resonance*, Oxford Clarendon Press (1990).

作者：何東英先生為美國西北大學化學博士，現任台灣大學化學系教授。

質譜／質譜儀

Mass Spectrometer/Mass Spectrometer

關鍵字：質譜／質譜儀、串聯質譜儀

Keywords：mass spectrometer/mass spectrometer, tandem mass spectrometer

一、基本原理

質譜／質譜儀 (MS/MS) 或稱串聯質譜儀 (tandem mass spectrometer)，是將兩個 (或更多個) 質譜儀互相銜接，結合分離與鑑定特性於一體的分析利器。由於 MS/MS 是由兩個以上 MS 所串聯而成，除可得到與一般單一 MS 所提供二度空間 (離子和強度) 圖譜外，尚可提供離子與離子間相關資料，因此串聯質譜儀除了可進行一般質譜分析外，並可進行下列四種特殊圖譜掃描方式。

1. 子離子掃描 (daughter ion scan)

其基本原理是樣品經離子源離子化後，經過第一個質譜儀 (MS-I) 分離，經選擇一特定離子，再進入第二個質譜儀 (MS-II) 前，先進入一個可導入如氬、氮、氫等碰撞氣體的碰撞室 (collision cell)，在碰撞室內，所選擇之離子與碰撞氣體碰撞，使離子產生碰撞活化裂解 (collisionally activated dissociation, CAD)，再利用 MS-II 分析所有的裂解離子，可用為鑑定某一特定化合物之結構。

2. 母離子掃描 (parent ion scan)

經過碰撞氣體產生離子裂解後，於 MS-II 選擇一特定子離子，掃描 MS-I 能產生此一特定子離子之所有離子。利用母離子圖譜，可篩檢能產生相同次結構 (sub-structure) 離子的同一類化合物。

3. 中性丟失掃描 (neutral loss scan)

MS-I 與 MS-II 以一個固定質量數差異同步掃描，所得中性丟失圖譜包含所有母離子產生一特定的中性裂解所形成之子離子。利用此特性，可在複雜混合物中尋找具有相同官能基者。

4. 選擇反應偵測 (selected reaction monitoring, SRM)

即對分析物，在 MS-II 質譜儀只偵測於 MS-I 特定母離子所產生強度最大之子離子，將增加所偵測離子之訊號雜訊比 (signal-to-noise ratio)，而提高了靈敏度和選擇性，適於微量偵測。

因此，質譜／質譜儀對於分析混合物的特性與氣相層析質譜儀 (GC/MS) 類似，只是質譜／質譜儀是利用每一成分的分子量不同而進行分離鑑定，而氣相層析質譜儀則是利用每一成分的層析滯留時間 (retention time) 不同而分離鑑定。因此特性不同，對於複雜混合物分析，質譜／質譜儀較適合於對其中某一特定成分之篩測，而氣相層析質譜儀則較適合於未知混合物之分析。若質譜／質譜儀與分離儀器，如 GC、LC、CE 等連接，形成 GC/MS/MS、LC/MS/MS 或 CE/MS/MS，則其分離鑑定能力增強，更成為分析不可或缺之工具。

二、結構示意圖

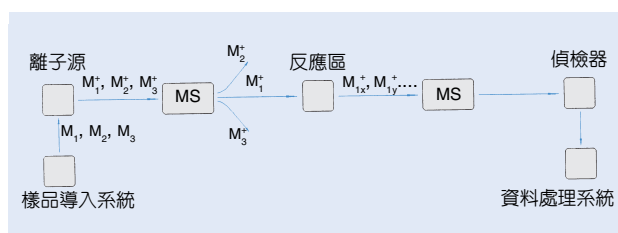


圖 1. 質譜／質譜之基本結構。

質譜／質譜儀，其基本結構如圖 1 所示，是必須具備有兩個以上用以分離離子的質譜儀，和一能通入碰撞氣體的碰撞室 (collision chamber)，促使離子與碰撞氣體碰撞產生碎裂且可調整離子與碰撞氣體碰撞能量。樣品導入系統與一般單一質譜儀相同，可連結各種不同的方式，如直接導入偵測棒

(direct inlet probe, DIP)、快速原子撞擊偵測棒 (fast atom bombardment, FAB), 或與具有分離功能之氣相層析儀 (gas chromatograph, GC)、液相層析儀 (liquid chromatograph, LC)、毛細電泳儀 (capillary electrophoresis, CE) 等儀器連結, 用於複雜混合物樣品之導入。離子化方式則可包含電子撞擊法 (electron impact, EI)、化學游離法 (chemical ionization, CI) 等與於一般單一質譜儀相同。

三、儀器規格與特徵

利用不同型態的 MS, 可以組成各種類型的 MS/MS。若以離子碰撞活化裂解 (CAD) 能量來區分, 又可分為高能量與低能量或高、低能量均可執行等三種型態。磁扇型質譜儀因在高電壓下操作, 因此其組成之 MS/MS 屬於高能量碰撞活化裂解。茲將各種不同組合型態之 MS/MS 做一簡單介紹。

1. 扇型串聯質譜儀 (multiple sectors)

磁扇型質譜儀是最早被用於質譜研究的。1964 年 Barber 等人利用扇型的磁場 (B) 和電場 (E), 組成 EB, 即一般雙聚焦質譜儀, 探討離子於離開離子源, 未進入扇形場力前, 令其產生裂解, 利用加速電壓 (V) 掃描, 即可進行串聯質譜中的母離子掃描。但利用電壓掃描, 電壓的改變將減少離子之聚焦而降低靈敏度, 且加速電壓的變化也有一定的範圍。為解決此缺點, 改用電場與磁場同時掃描的連結掃描 (linked scan) 方式, 即加速電壓 V 保持固定, 磁場與電場均保持 B^2/E 比值固定同時掃描。因此, 以各種不同連結掃描方式, EB 可得到類似串聯質譜儀的子代離子掃描, 中性丟失掃描等功能。

若將磁場置於電場前, 形成 BE 反式雙聚焦質譜儀, 其離子進行碰撞活化裂解可在進入扇形場力前或磁場與電場之間, 利用 B 和 E 各種不同連結掃描, 即可進行串聯質譜中之特殊掃描。若離子碰撞活化裂解於磁場與電場間, 利用電場掃描, 則可準確的測量所選定的離子在裂解時各裂解離子的能量分布, 所以又被稱為分析質量離子動能光譜儀 (mass-analyzed ion kinetic energy spectrometry, MIKES)。

上述以 B、E 所組成的兩個扇形質譜儀, 雖可得到類似 MS/MS 的掃描功能, 但並非真正的 MS/MS。若由三個扇形串聯質譜儀, 應有八種組合, 但實際應用只有 EBE、BEE 和 BEB 三種, 這種組合的儀器, 優點是可進行高解析度的母離子質譜或子離子質譜, 但無法同時進行選擇一高解析度母離子, 再得到高解析度的子離子圖譜。為達此目的, 則必須使用四個扇形串聯, 即具有兩個雙聚焦質譜儀串聯, 而形成 BEBE 或 EBEB, 此種儀器則有三個無場力區 (field-free region), 用於進行離子碰撞活化裂解, 但此種儀器設備費用昂貴。

2. 三級四極矩質譜儀 (triple-quadrupole spectrometer)

利用三個四極矩 (quadrupole, Q) 所組成的 QQQ 型串聯質譜儀, 前後兩個 Q 供給射頻電壓 (radio frequency, RF) 和直流電壓 (direct current, DC), 可進行離子分離, 而中間的 Q 只通過 RF, 作為離子聚焦和提供進行離子碰撞活化裂解。由於在四極矩場力中, 離子的分離不受其運動速度影響, 只與其 m/z 值有關, 因此得到單位質量解析度 (unit mass resolution) 子離子圖譜。因其只要幾十個 eV, 即能進行離子的碰撞活化裂解, 故此種串聯質譜儀屬低能量碰撞活化裂解, 可利用離子與碰撞氣體分子產生結合反應 (association reaction), 以探討選定母離子的化學特性。加上其操作簡單, 易與其他分離儀器連接, 是目前市面上 MS/MS 使用最多者。

3. 混合型串聯質譜儀 (hybrid mass spectrometer)

將扇形質譜儀與四極矩分析器組合起來, 所形成的串聯質譜儀, 如 BQQ、EQ、QB、EBQQ 和 BEQQ 等, 稱為混合型串聯質譜儀。這種混合型儀器, 將不同類型質量分析器的優點結合在一起, 成為多功能、多用途的儀器。可同時進行離子的高能量與低能量碰撞活化裂解, 用於探討離子在不同狀況下之特性。

4. 離子阱 (ion-trapping) 技術之串聯質譜儀

傅立葉轉換離子迴旋共振光譜儀 (Fourier

transform-ion cyclotron resonance spectrometer, FT-ICR) 和三度空間四極矩的離子阱質譜儀 (ion trap mass spectrometer, ITMS)，其特性是離子的分離是依各種離子穩定時間不同而區別，而非如於扇形分析器和四極矩質譜儀中是依離子在空間路徑進行不同而區別，其離子的形成和分離均在同一地方。兩者都具有很高的碰撞活化裂解效率，幾乎可達到百分之百，因此可進行多重 MS/MS 實驗，即 MS/MS/MS、MS/MS/MS/MS，目前已發表可進行 MS⁶ 實驗，FT-MS 與 ITMS 最大不同在於前者用磁場，後者用電場。此類儀器，相當適於離子／分子間反應之討論。

四、應用與用途

由於 MS/MS 實驗是探討離子電荷、質量和活性的變化，因此其特性並不只限定應用於某一範圍或某一特定實驗。若由其應用性質，可分為化學基本研究和應用分析兩大類。MS/MS 應用於化學基本研究的實驗，主要是在探討離子結構、反應機

構和熱化學 (thermochemistry) 等方面。應用分析主要是在複雜混合物中成分定性、定量分析的應用，如環境污染物分析、天然物結構之鑑定、工業產品微量添加劑之分析應用、情治化學應用、藥理與毒理學的應用等，加上最近離子活化方法的迅速發展，如表面誘導裂解 (surface-induced dissociation)、電子誘導裂解 (electron-induced dissociation) 等的開發，使得 MS/MS 技術，將提供更廣泛更完善的分析應用。

參考文獻

1. K. L. Busch, G. L. Glish and S. A. McLuckey, *Mass Spectrometry/Mass Spectrometry : Techniques and Applications of Tandem Mass Spectrometry*, VCH Publishers Inc (1988).
2. F. W. McLafferty, Ed., *Tandem Mass Spectrometry*, New York: Wiley&Sons (1983).
3. J. V. Johnson and R. A. Yost, *Anal. Chem.*, **57**, 579A (1985).

作者：李茂榮先生為美國佛羅里達大學化學碩士，現任中興大學化學系副教授。

氣相層析／質譜儀

Gas Chromatography/Mass Spectrometer (GC/MS)

關鍵字：氣相層析儀、質譜儀、電子撞擊離子化、化學離子化

Keywords： gas chromatography, mass spectrometer, electron impact ionization, chemical ionization

一、基本原理

氣相層析／質譜儀 (GC/MS) 是將氣相層析儀 (gas chromatography) 與質譜儀 (mass spectrometer) 銜接而成，樣品注入層析儀後，載行氣體攜帶樣品之蒸氣通過層析管，各成份在固定相及移動相中有不同之分佈，並依各成份蒸氣壓之不同及對固定相之選擇性不同而得以分離，分離後的成份進入質譜儀檢測。樣品進入質譜儀後，在離子化室 (ionization chamber) 被高能量之電子或帶電荷之分子撞擊，生成分子離子或分子離子再分裂成裂解離子，所有生成之離子經過質量分析器 (mass analyzer)，依其不同之質量／電荷 (m/z) 比而被分離，最後到達檢測器被測得。記錄一化合物在不同 m/z 離子之強度，即為該化合物之質譜 (mass spectrum)，由質譜之判讀，可得知化合物分子量及結構，且將樣品注入氣相層析／質譜儀，可同時得到分離及質譜的資訊，所以適合用於複雜樣品的分析及未知化合物的鑑定。

基本上一套氣相層析儀和一套質譜儀，由一界面加以連接，再加上離子源即為完整之氣相層析／質譜儀。

1. 氣相層析儀與質譜儀之界面

使用充填式層析管時，載行氣體之流速約為 30 毫升／分，由於質譜儀必須在高真空狀態操作，所以無法將所有載行氣體送入質譜儀，須有一界面移去部分載行氣體而保留樣品氣體。常見的界面有：1. 噴射式分離器 (jet separator)；2. 薄膜分離器 (membrane separator)；3. Watson-Bieman 洩流分離器，此三種界面皆能有效的移去載行氣體，而順利地將氣相層析儀及質譜儀連接。載行氣體的選擇也很重要，由於氮氣較氫氣及氬氣重，所以抽氣速度較慢，基於安全理由，氬氣是最常使用的載行

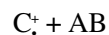
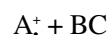
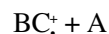
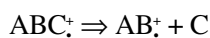
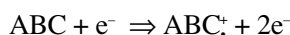
氣體。

毛細層析管氣體流量較小，可直接與質譜儀相連，而不需要任何界面，但層析管出口為真空，導致解析度受到真空的影響，可使用開放分離式 (open-split) 界面克服，毛細管末端插入界面連接處，流出之氣體導入另一轉移管 (transfer line)，再進入質譜儀，層析管末端為常壓，故不再受到真空系統影響。

2. 離子源

(1) 電子撞擊式離子源 (electron impact ion source)

電子撞擊式離子化是最廣泛使用的方法 (> 90%)，由加熱的金屬絲 (Rh、W) 釋放出電子，電子經高電壓加速進入離子化室撞擊氣體分子，在碰撞的過程中電子將能量傳給氣體分子，若電子能量足夠 (通常為 70 eV)，分子被激發失去電子而形成分子離子，若電子能量更大，則分子形成離子後依然處於高能量狀態，會再斷裂成不同形式的碎片，碎片的形態和分子結構有關，下列為離子化及分裂的途徑



對於正離子的偵測，離子化室必須保持一個正電壓，在離子化室內的離子得到位能，然後經過接地的出口狹縫 (exit slit) 進入質量分析器，同時把位能轉成動能。

(2) 化學離子化離子源 (chemical ionization ion source)

在電子撞擊離子化過程中，受撞擊之分子得到高能量，常易碎裂而使得分子離子強度過低，甚至

完全看不見，而失去判定化合物分子量的資料，雖然低能電子撞擊可增加分子離子強度，但靈敏度較差，化學離子化在不犧牲靈敏度的情況下可提供較高的分子離子訊號。反應氣體 (reagent gas) 和樣品氣體在離子化室混合，反應氣體之分壓遠高於樣品氣體 (約 10,000 比 1)，其壓力通常為 1 torr，因此金屬絲釋放出之電子大多撞擊到反應氣體生成離子，離子再與反應氣體分子互相碰撞，生成反應氣體電漿，樣品分子被圍繞在電漿中，經由化學反應得到質子或其他帶電體而離子化，生成的離子未具高能量而不易繼續分裂，可提供樣品分子量的資料。常用的反應氣體有甲烷、異丁烷、氨-碳氫化合物...等，甲烷經電子撞擊後主要生成 CH_4^+ 、 CH_3^+ 、 CH_2^+ 或 CH^+ 和其他甲烷分子碰撞生成 C_2H_5^+ 或 C_3H_5^+ ，這些離子非常活潑，和樣品分子碰撞即將質子轉移至樣品分子，或整個離子和樣品分子結合，生成 $(M+1)^+$ 、 $(M+29)^+$ 或 $(M+41)^+$ 之離子。化學離子化是一種軟性離子化技術，傳至樣品分子的能量較小，所生成的分子離子有較高的穩定性，通常不再斷裂成裂解離子。

二、結構示意圖

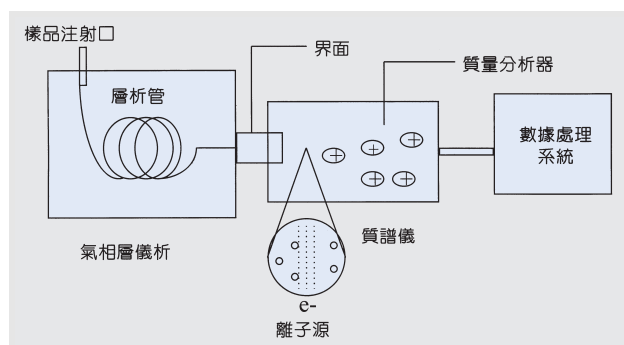


圖 1. 氣相層析／質譜儀的結構示意圖。

氣相層析／質譜儀可分為三個部分：氣相層析儀、質譜儀及數據處理系統 (data system)，基本裝置如圖 1 所示。氣相層析儀由注射器、層析管、轉移管所組成。質譜儀包含了離子化室、質量分析器

和離子偵測器，而這些必須在真空狀態操作。數據處理系統除收集數據外，還具備質譜圖庫查詢 (library search) 的功能，協助未知質譜的判讀。

三、儀器規格與特徵

目前商業化的氣相層析／質譜儀型式很多，主要規格差異在界面的設計與質量分析器的不同，近年來由於毛細層析管之高解析度、靈敏度，能一次分離低濃度且成份複雜的樣品，而被廣泛使用，所以界面的設計主要針對毛細層析管。市售的氣相層析／質譜儀以桌上型 (bench-top) 為主，由於操作方便，價格較低，所以廣受歡迎，質量分析器採用四極矩 (quadrupole) 或離子阱 (ion trap)，兩者靈敏度都在 picogram 的範圍，但離子阱可提供質譜／質譜 (MS/MS) 的功能，得到更多有關分子結構的資料。

四、應用與用途

氣相層析／質譜儀具高靈敏度，且可提供分離和質譜的資料，所以適合低濃度複雜樣品的分析，目前已廣泛應用於環境樣品、藥物及代謝產物、農藥等分析，對於揮發或半揮發性的有機化合物，如多環芳香族碳氫化合物、烷類化合物，可直接分析；不易揮發的化合物，如脂肪酸，則須要衍生反應。

參考文獻

1. G. M. Message, *Practical Aspects of Gas Chromatography/Mass Spectrometry*, New York: Wiley (1984).
2. F. W. Karasek, R. E. Clement, *Basic Gas Chromatography-Mass Spectrometry-Principles and Techniques*, Amsterdam: Elsevier (1988).
3. A. I. Mikaya, V. G. Zaikin, *Reaction Gas Chromatography/Mass Spectrometry*, *Mass Spectrom. Rev.*, **9**, 115 (1990).

作者：張玉珍小姐為美國愛荷華州立大學化學博士，現任朝陽科技大學副教授。

四極矩質譜儀

Quadrupole Mass Spectrometer

關鍵字：四極矩質譜儀、選擇離子偵測法

Keywords： quadrupole mass spectrometer, selected ion monitoring

一、基本原理

質譜法的基本原理，主要是根據分子在真空狀態下，被離子化後，產生一群不同質量的特徵離子 (characteristic ions) 或帶電碎片，而這群離子在依其質量的大小和數量的多寡，以質量分析器 (mass analyzer)，將其分開而繪製成圖譜，稱為該分子的質譜圖 (mass spectrum)。質譜測量的原理簡單，但質譜儀卻是一部精密複雜的裝置，其主要的基本組件如圖 1 所示。

注入系統 (sample inlet) 之目的是在最不影響真空度的情形下，將極少量的樣品導入離子源中，並將固態或液態樣品利用揮發方式轉換成氣態。離子源 (ion source) 是將樣品以電子、離子、分子或光子撞擊樣品，也就是以熱能或電能達成樣品離子化的目的。質量分析器的功能類似光學儀器中的光柵，可用來分離不同質荷比 (m/z) 的離子。偵檢器 (detector) 則可將離子轉換成電子訊號，處理並儲存於電腦中，再以各種方式顯示或記錄。此外，質譜儀還需要一個精密的真空系統將所有組件 (除了訊號處理和讀出系統之外) 維持在 10^{-4} 至 10^{-6} torr 的低壓環境中。

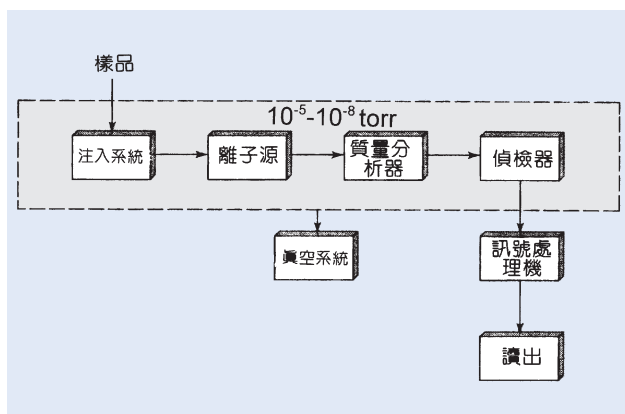


圖 1. 質譜儀的基本組件。

市面上有多種不同型式的質譜儀系統，目前最常見的是磁場型和四極矩型兩類。本文主要著重在四極矩質譜儀的介紹，此類質譜儀主要是利用四極電場篩選具相同質量對電荷比 (m/z) 的離子，而形成質譜圖。與磁場型主要利用磁場篩選具相同動能之離子不同，而磁場型質譜儀將在其他章節中介紹。

二、結構示意圖

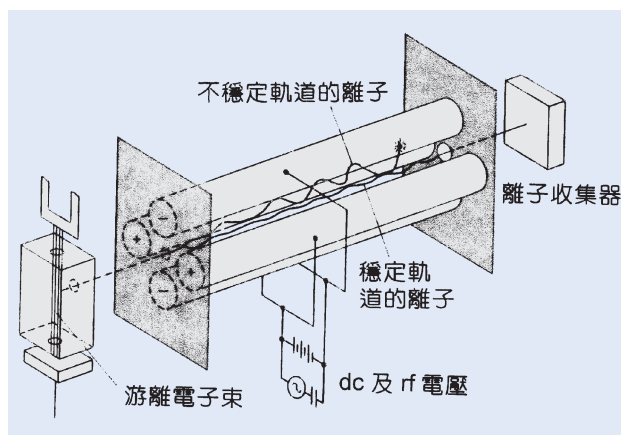


圖 2. 四極矩質譜儀的質量分析器裝置。

四極矩質譜儀的裝置如圖 2 所示，其主要由四支圓柱形的電極棒所組成，以四方形之對角線形成雙曲面排列而成。不論其所使用電極棒的大小和形狀，主要是在棒的中央形成一個靜電場。其中相對的電極棒以電線連接，將直流電壓 (dc) 與射頻電壓 (rf) 通入其上。Y 軸方向的一對電極所加入之直流電壓為負電，X 軸方向的一對電極所加入之直流電壓為正電，且射頻電壓與 Y 軸的相位相差 180 度。這些直流與射頻電壓所形成的電場使得離子在其中產生一定規則之振動軌跡，而不同質量 (m/z) 遵循不同之振動軌跡，唯有呈穩定振動之離子可通

過四極棒而到達偵測器被偵測到，其他之離子則撞擊到四極棒上而被中和。不同質量之離子在場中的解析能力 (mass resolution)，決定於加在棒上的 dc 與 rf 電壓的比值，固定保持 dc 與 rf 電壓的比值，並同時改變 dc 與 rf 的電壓，而使不同質量的離子被偵測到。目前電腦能很容易的控制並校正這種質量與電壓的線性關係，而達到全質量掃描 (mass scan)。因快速改變 dc 和 rf 電壓，使得四極矩質譜儀能在微秒間隔中很快的做質量掃描。這種特性非常適合將氣相層析儀與其相結合，尤其是解決了目前因使用毛細管分離管柱，所產生的狹窄峰寬，需要在短時間內做快速掃描的困難。

三、儀器規格與特徵

四極矩質譜儀中，圓柱形電極棒的直徑依不同廠商之產品而有所不同，一般皆在 6 至 18 毫米之間。理論上電極棒越長，質譜儀之解析度越高，但因受射頻電壓功率限制，一般之長度在 125 至 230 毫米之間，而解析度一般都在 2000 以下，質量之準確度在 ± 0.1 amu 之間。目前市面上的四極矩質譜儀，主要可分為桌上型 (bench-top) 與落地型。桌上型一般只有單一進樣系統，如與氣相層析儀相結合。落地型均配備有多種樣品注入系統，以符合各類樣品的需求。一般桌上型的質量範圍上限在 800 至 1000 amu 左右，而落地型可延伸至 4000 amu。

四極矩質譜儀，尤其是桌上型，其構造簡單，體積小，保養與維修也很容易，在價格上更較磁場形質譜儀便宜，所以目前已成為一般分析實驗室中非常普遍與實用的分析儀器。其與氣相層析儀前後直接銜接，所構成的氣相層析質譜儀 (GC-MS)，除擁有其個別儀器固有的功能和特性外，並提供各個儀器單獨使用時無法擁有的高靈敏度，可靠性和廣泛的實用性。其中的選擇離子偵測法 (selected ion monitoring, SIM)，是 GC/MS 技術的一種特殊用法。在此方法中，質譜儀只對幾個預先選定的離子做掃描，而不是掃描一個完全的質譜圖。此種方法增加了這些選定離子的靈敏度，並相對的降低了背景雜訊，大大提升信號與雜訊比 (S/N)。

簡單舉例來說，一般質譜的掃描範圍是在一秒內做從 50 amu 到 550 amu 的掃描，以便得到一個

完全質譜圖，也就是說，對每一個單一 m/z 而言，只有五百分之一秒的掃描。在 SIM 中，若只選擇一個離子做偵測，在相同的時間間隔下，這個特定離子的靈敏度，便提高了 500 倍。SIM 技術的另一個好處，是提高偵測樣品的選擇性 (selectivity)，因為只有被選擇的離子會被偵測到。所以，SIM 常被用來做特定化合物在複雜樣品中之定量分析。

與磁場形質譜儀相比較，四極矩質譜儀更適合 SIM 的應用，因其選擇離子，主要是依據加在四極棒上的 dc 和 rf 電壓，可以在預先選定的寬廣離子間快速改變，而不須依質量大小次序做掃描，並能提供每一個離子不同的駐留時間 (dwell time)。SIM 提高了超微量分析的靈敏度，使得偵測極限降低到兆分之一克 (picogram, 10^{-12} g) 甚至一千兆分之一克 (femtogram, 10^{-15} g) 的範圍。除了上述之特性外，四極矩質譜儀具有線性之質量尺度，對不同質量之分析，具有相同之解析度，並適用於陰離子之偵測。四極矩質譜儀的主要缺點是其質量解析度較差，可偵測的質量範圍較小，無法偵測介穩離子 (metastable ions)，且對高質量的靈敏度降低，無法與磁場型儀器相比。

四、應用

自從氣相層析儀與質譜儀相結合後，大大提升了質譜儀的功能，對從事與化學相關科系—如有機化學、分析化學、生物化學、醫學、藥學、環境科學等—的工作者助益甚大，在工業上其應用價值之高更難以估計，自從本世紀六十年代以來解決了這兩種儀器在銜接上的技術瓶頸之後，目前 GC-MS 不但已是一個成熟完善的分析技術，且仍不斷往更精密的方向持續發展之中，使其成為從事上述工作者不可或缺的工具。

例如對於分析環境中的有機污染物，GC-MS 就是最重要的儀器，美國環境保護署於 1970 年代初期開始使用 GC-MS 執行環境中有機物質之分析，並訂定水中揮發性有機物質、水中半揮發性有機物質以及水中戴奧辛之檢驗方法，於 70 年代末期歐洲各國亦相繼使用 GC-MS 來分析環境中的有機物質，質譜儀於是逐漸取代了氣相層析儀的其他偵檢器而成為有機分析上最重要的儀器，待測物之

確認除了層析之滯留時間外，質譜的查詢及比對提供了更確切的資料。

另外質譜儀在藥物化學的應用上也愈趨廣泛，可用於一般常用禁藥與運動員常用藥物之鑑別分析上，利用質譜儀的高靈敏度、特殊波峰的比對以及人體內代謝物質譜的比對，可正確無誤地分析出100種以上常用的藥物，不但能夠維持國際運動競賽的公平性，也可進一步保障全世界廣大人類的身心健康。

參考文獻

1. 質譜分析術專輯, 國科會精密儀器發展中心 (1992).
2. 簡增祥, 陳國美, 科儀新知, **6** (2), 59 (1984).
3. F. W. Karasek and K. E. Clement, *Basic Gas Chromatography-Mass Spectrometry*, Amsterdam: Elsevier (1988).

作者：丁望賢先生為美國紐約州立大學化學博士，現任國立中央大學化學系副教授。
華希哲先生現為國立中央大學化學研究所碩士班學生。

離子阱質譜儀

Ion Trap Mass Spectrometer

關鍵字：離子阱質譜儀、電子撞擊法、化學游離法、串聯質譜法

Keywords：ion trap spectrometer, electron ionization, chemical ionization, tandem mass spectrometry

一、基本原理及結構

利用不同質荷比的離子通過磁場時產生不同行徑路線而加以分離，即是質譜測定法的基本原理。其中離子阱質譜儀較不同於一般離子束傳輸分析器 (beam transport analyzers) 如：磁扇形分析器、四極矩分析器和飛行時間分析器等，它是屬於儲存式的質譜儀。主要組成是由一個環電極 (ring electrode) 和二個端蓋電極 (end cap electrode) 所構成 (如圖 1)。

操作時，當射頻電壓 (radio frequency) 交流電加到環電極，便在阱中形成了三度空間的四極電場，就如同是一個阱而將離子限制於其中。其特殊之處，就是離子的形成、儲存、掃描分析均在同一空間進行，其中樣品的導入和游離的方式，與一般質譜儀相似。茲將離子阱質譜儀如何掃描分析離子做一概述。

1. 離子儲存 (ion storage)

當待測化合物游離時，同時於環電極上施加固定交流電壓，則游離的離子將被儲存於離子阱中，且不同質荷比的離子會依其個別振動特性頻率於阱中運動。

2. 離子掃描分析 (ion analysis)

離子掃描分析是藉由在環電極上穩定的增加射頻電壓，這將會使得不同 m/z 比值離子，依序變得不安定，當離子特性振動頻率達到環電極射頻交流電壓頻率一半時，便會從四極電場吸收能量，加大振幅穿過下端蓋電極的小孔，到達電子倍增管偵測器而被偵測。然而離子與四極電場的頻率並不是處於共振狀態，故其在掃描的同時，若於端蓋電極上另施加以一頻率略小於環電極射頻一半的交流電，則掃描中的離子到達不穩定邊界時，便會吸取軸向電場的能量，而有效地自阱中射出，此軸向調節電

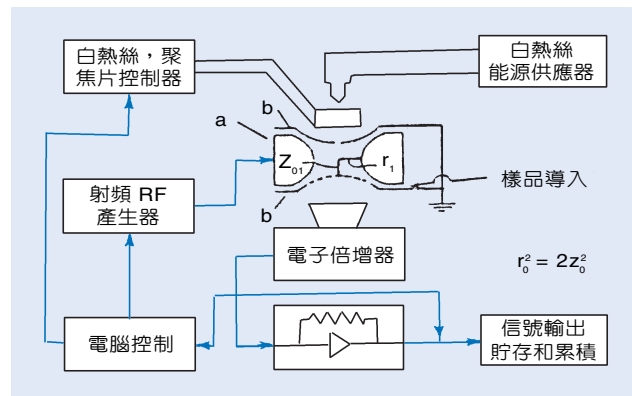


圖 1. 離子阱質譜儀裝置圖，(a) 環電極，(b) 端蓋電極。

壓可消除空間電荷作用，增進質譜解析度與再現性。

二、離子阱質譜儀的基本操作

離子阱質譜儀目前可進行電子撞擊式、化學游離法及串聯質譜法 (MS/MS) 之各項研究，尤其是在串聯質譜法的操作是採用時間串聯 (tandem in time) 的方式完成，不需另外增加離子阱的數目，亦不須增加原有真空系統的負擔，且其碰撞誘導游離 (collisionally induced dissociation, CID) 效率比四極串聯質譜儀高。以下簡單敘述離子阱質譜儀基本操作原理：

1. 電子撞擊法 (electron ionization, EI)

目前市售儀器環電極的半徑大都為 1 公分，故其離子阱中有最大儲存離子之限制，若超過此數目，將導致空間電荷 (space charge) 效應發生 (通常離子阱最多可儲存 10^6 到 10^7 個離子，但在超過 10^4 到 10^5 離子時，即可能產生空間電荷效應)，因而影響到光譜的解析度，因此適當地控制阱中儲存離子數目是相當重要的。自動增益控制 (automatic gain

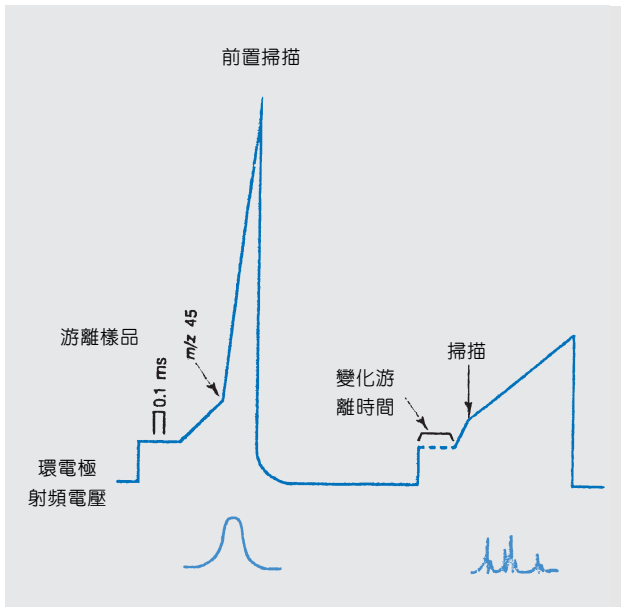


圖 2. 自動增益控制 (AGC) 操作掃描。

control, AGC) 即是控制樣品游離時間，以保持阱中達到最理想的離子數目 (圖 2)。其技巧為：

- (1) 在正式掃描前先以一短時間 (如 0.1 毫秒) 游離樣品，並增加環電極電壓以射出小於某值之質荷比離子，此值定義為背景質量 (background mass)。
- (2) 前置掃描 (prescan)，此時迅速地增加環電極上之電壓，並獲測得總電流，其電流強度即代表了樣品濃度之高低，透過電腦計算就可求得該樣品最佳游離時間。
- (3) 待前置掃描完成後，將環電極的電壓降至於 0，並維持 2 毫秒以促使電路穩定，去除阱中殘餘的離子。
- (4) 環電極的電壓是控制在穩定的儲存電壓下，儲存樣品游離的離子，此游離時間之長短，是依據前置掃描所測得樣品濃度而加以增減，其可在樣品濃度較低時以較長時間游離樣品，反之若樣品濃度較高則以相對較短時間游離。
- (5) 正式掃描部份，首先電子倍增管的入口打開，緊接著將環電極電壓穩定上升，並同時於端蓋電極施加頻率略小於環電極射頻電壓一半之交流電，以共振方式將不同質荷比的離子陸續射至電子倍增管偵測，而完成正式掃描。

以上五個部份即是完成一次微掃描 (microscan)

的完整步驟，而一次掃描通常是包含多次微掃描所求得平均值。

2. 化學游離法 (chemical ionization, CI)

對於分析複雜化合物，藉由化學游離的質譜圖將可補足電子撞擊法之不足。在化學游離法的操作模式下，試劑氣體被導入離子阱中，利用電子撞擊將試劑氣體游離後，待測樣品再與試劑氣體離子反應而發生游離，如同電子撞擊法一樣，適度地控制離子阱中的離子數目是非常重要的。游離的時間是藉由自動反應控制 (automatic reaction control, ARC) 來完成 (如圖 3)。

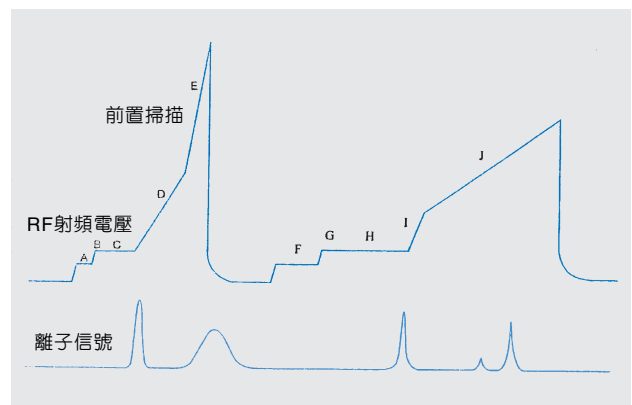


圖 3. 自動反應控制 (ARC) 操作掃描。

操作方式可分為下列步驟：

- (A) 試劑氣體被游離。
- (B) 所有大於試劑氣體質荷比的離子被射出離子阱外；例如樣品被電子撞擊所產生的離子。
- (C) 試劑氣體離子與待測樣品發生碰撞產生離子。
- (D) 將質荷比低於背景質量的離子射出離子阱外。
- (E) 將質荷比高於背景質量的離子射出阱外，並利用電子倍增管偵測，藉由離子電流信號而計算從阱中射出離子數目完成前掃描步驟。
- (F) 試劑氣體被游離的時間長短決定於前掃描的偵測。
- (G) 所有大於試劑離子質荷比的離子被射出離子阱外，例如樣品被電子撞擊所產生的離子。
- (H) 試劑氣體離子與樣品分子碰撞游離 (游離時間長短決定於前置掃描之偵測)。
- (I) 將試劑氣體離子射出離子阱。

(J) 正式掃描經由化學游離法產生離子之質譜圖。

一般而言，化學游離法是一種較軟 (softer) 之游離技巧，經由化學游離法所生成之質子化離子 (M+H)⁺ 的裂解較經由電子撞擊之裂解為簡單，且質子化分子離子亦保持原化合物的組態，故可用來輔助分子量之測定。

3. 串聯質譜法 (MS/MS)

離子阱串聯質譜儀是採時間串聯方式，依時間先後次序完成串聯質譜的步驟 (如圖 4)，其操作方式可分成下列四個步驟：

(1) 分析物游離和去除樣品基質離子

當環電極加上儲存電壓時，通常樣品離子和干擾基質離子皆被儲存於離子阱中，若於此階段同時在端蓋電極加上一寬頻 (broad band) 共振電壓 (圖 4, WF1-A)，即可概略地將質荷比小於母代離子部份去除，保留母離子後，再緊接著去除質荷比大於母代離子的部份 (圖 4, WF1-B)，此步驟可減少非母代離子之儲存，降低了空間電荷，使阱中儲存更多母代離子增加靈敏度。

(2) 選擇母代離子

當游離階段完成後，母代離子分離是藉由二個步驟來完成的。首先是配合環電極作掃描的同時，於端蓋電極施加單一固定頻率電壓，以共振射出小於母代離子的部份，然後軸向共振電壓隨即關閉，第二部份則是於端蓋電極加上一寬頻非共振電壓 (圖 4, WF2)，射出質荷比大於母代離子部份，如此即完成母代離子之分離。

(3) 形成子代離子

子代離子是由碰撞誘導解離所產生，當母代離子被分離出來而於阱中運動時，可利用共振活化或非共振活化給予母離子能量，加速母代離子與載流氣體碰撞，因而使得母代離子化學鍵之振動能增加，當其某個化學鍵之振動能超出其鍵結能量時，該化學鍵便斷裂產生子代離子。共振活化與非共振活化之差異僅在端蓋電極上所施加之頻率電壓不同，共振活化是加上頻率與母代離子特性頻率相同之交流電，而非共振活化則是加上固定頻率之交流

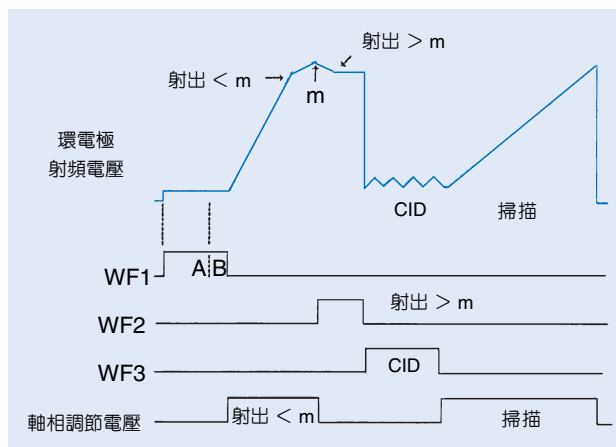


圖 4. 串聯質譜 (MS/MS) 操作掃描。

電壓，通常共振活化使用簡單，且可能產生孫代離子。

(4) 掃描子代離子質譜

子代離子儲存於阱中後，以穩定速率上升環電極電壓，並於端蓋電極上施加頻率略小於環電極射頻電壓一半之交流電，以共振方式掃描收集子代質譜。

三、應用與用途

離子阱質譜儀和傳統四極式質譜儀相比較，主要的優點是表現在超高靈敏度及高掃描特性，特別是在串聯質譜法中，因其具有較高的離子碰撞誘導效率，更適於做為環境分析科學及醫藥臨床之微量分析工作，且由於離子阱質譜儀是採時間式的串聯，因此可進行 MSⁿ 系列的研究，亦不須再另增加離子阱數目，故其可稱做多功能的質譜儀。

參考文獻

1. Saturn 2000 GC/MS operation manual, Varian Assoc. Inc. (1996).
2. 黃忠智, 科儀新知, 17 (2), 42 (1995).
3. R. E. March and J. F. J. Todd, *Practical Aspects of Ion Trap Mass Spectrometry*, Vol III, New York: CRC Press (1995).

作者：曾新華先生現為國立中央大學化學研究所學生。
丁望賢先生為美國紐約州立大學化學博士，現任國立中央大學化學系副教授。

磁扇形場式質譜儀

Magnetic Sector Mass Spectrometer

關鍵字：磁扇形質譜儀、雙聚焦質譜儀

Keywords：magnetic sector mass spectrometer, double-focusing mass spectrometer

一、基本原理

不同質量之離子，經過一場力時，其行經路徑受到場力影響將產生偏轉，而偏轉大小與場力大小和離子質量有關。質譜儀即利用此特性，用以區別不同質量離子，並進行結構鑑定。質譜儀的觀念，最早可追溯到 1913 年，J. J. Thomson 發現可利用帶正電荷的離子，於磁場中產生不同的拋物線而分離，因此質譜儀最早使用的是磁場式，雖然各種不同場力之質譜儀先後問世，如四極矩質譜儀，飛行式質譜儀，離子阱質譜儀，傅立葉轉換質譜儀，但磁場式質譜儀具有質量偵測範圍大，解析度高，定量準確及適用於各種不同的樣品導入方式和離子化方法等特徵，因此不管在以前或將來均佔有一席之地。

磁場式質譜儀，其基本原理是利用離子源產生帶 ze 電荷的離子，經一加速電壓 V 進入一磁場，則此離子所得動能 $KE = zeV = 1/2 m v^2$ ， v 為離子經加速後的速度。帶電荷離子進入磁場，將受到作用其上的兩個力的均衡，一為磁力 $F_M = Bzev$ ，另一為平衡的離心力 $F_C = mv^2/r$ ， r 為扇形磁場的彎曲半徑， F_M 和 F_C 必須相同，離子才能到達偵測器，因而得 $r = mv/(BzeV)$ ，由此可知磁場分離帶電荷的離子與其動量 (momentum) 有關。經整理後得 $m/z = (B^2 r^2 e)/2V$ ，顯示質譜可由三個變數 B 、 V 或 r 中，固定兩個而改變另外一個而得，現代磁場式質譜儀均包含一電磁鐵，藉 V 和 r 固定，改變磁場電流而使 B 改變，即可將不同質量離子分離。

二、結構示意圖

磁場式質譜儀，其基本結構如圖 1 所示，包含樣品導入系統，離子源，磁場，離子檢測系統和資料處理系統。樣品經適當之導入系統進入離子源，產生離子後，再以高壓 V 加速，經狹縫聚焦後，

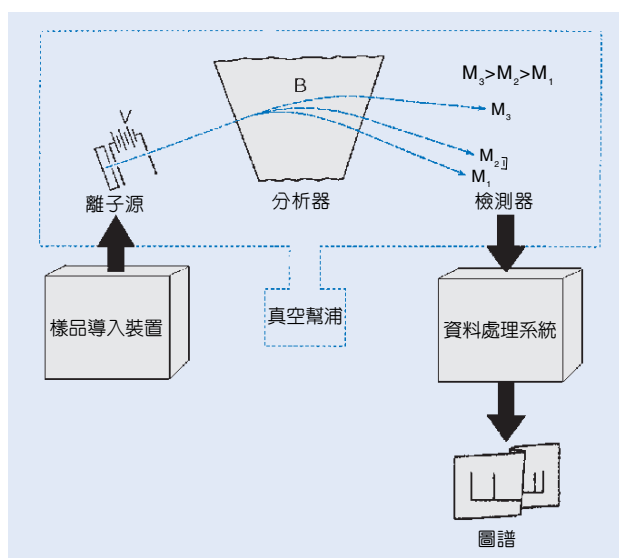


圖 1. 磁場式質譜儀之基本結構。

以磁場將不同動量的離子分離而到達檢測器。質譜儀主要是探討氣相中離子之性質，因此，離子源、分離離子之磁場和離子檢測系統必須維持在高真空 (10^{-6} torr– 10^{-8} torr) 狀態下。由於樣品的性質不同，磁場式質譜儀可連接氣相層析儀 (gas chromatograph, GC)、液相層析儀 (liquid chromatograph, LC)、毛細管電泳儀 (capillary electrophoresis, CE)，直接導入偵測棒 (direct inlet probe, DIP) 等樣品導入裝置。離子化方式則包含電子撞擊游離法 (electron impact, EI)、化學游離法 (chemical ionization, CI)、快速原子撞擊法 (fast atom bombardment, FAB)、電灑法 (electrospray) 等。

三、儀器規格與特徵

1. 單一磁扇形質譜儀

最簡單磁扇型質譜儀為包含單一均勻的永久磁鐵或電磁鐵，從離子源產生的離子束產生繞一 180、90 或 60 度等環型路徑運動，儀器大小則與

繞行角度有關。磁場具有分離與聚焦作用，於 180° 時分離效果最好，於 360° 時聚焦效果最好。1940 年以前，180° 磁場質譜儀常與能產生單一動能離子源結合，用以測量同位素含量。於 60° 磁場質譜儀則離子進入與離開 60° 楔形磁鐵時，均成直角。且離子源，磁鐵尖頂點與檢測離子點均位於一條水平直線上。於 90° 磁場質譜儀時，離子行進之路徑距離介於 180° 與 60° 之儀器，可得相同之解析度，但在真空之分析磁場中，與殘留之氣體分子碰撞產生散射 (scattering) 之概率比 60° 儀器小，但比於 180° 儀器大。對於太小之扇形 (< 10°) 磁鐵，不太適合成為質譜儀，主要在於較難形成一均勻磁場，而影響到離子分離之解析度。

如同於基本原理所述，單一磁扇形質譜儀，所分離聚焦的是具有相同動量之離子，而非真正以離子之質量來區別。因此，對於具有不同能量的相同離子，則無聚焦作用。從離子源所產生的離子，假設其均具有相同的能量，事實上是不正確的，由於離子源溫度形成之熱能及表面離子源所形成之離子，其具有能量形成一分布 (energy spread)，是不容忽視的，可能影響質譜儀對於離子偵測之靈敏度及解析度。雖可以提高加速電壓 (V)，減少 $\Delta V/V$ 值，而降低能量分布，但電壓加大，容易形成瞬間火花 (spark)，而促成更多離子化造成所得質譜複雜。但最常使用的方法，乃是多加裝一個電場於單一磁扇型質譜儀，而形成雙聚焦質譜儀 (double-focusing spectrometer)。由於電場與質譜之排列順序不同，而有下列兩種雙聚焦質譜儀。

2. 雙聚焦質譜儀 (double-focusing spectrometer)

離開離子源的離子之動能分布是依分子的動能之波茲曼分布。所以離子源產生之離子動能不完全相同。動能的分散使到達偵檢器之離子束變寬。為了精確偵測離子之質量至百萬分之一，必須使離子離開離子源時均具有相同方向和能量，亦即使相同質量離子之方向差 (angular aberration) 和能量差 (velocity aberration) 減至最小。此亦為雙聚焦一詞之來源，為達到此目的，一般均於磁場前加一電場分析器 (electrostatic analyzer, ESA)，其作用為限制到達磁場時之離子動能為一特定的小範圍內。當離

子於離子源以加速電壓 V 伏特進入電場 E (Volts/cm) 時，其在電場中偏轉半徑 $r_e = 2V/E$ 。由此公式得知，於電場中離子的偏轉半徑只受到其能量影響，而與其質量無關。電場與磁場之排列形狀有兩種，一為 Mattauch-Herzog 型排列，此種排列的特徵是能量和方向聚焦平面一致，因此可用照相板為檢測器。另一為成圓弧形排列的 Nier-Johnson 型，此種排列方式適於電子檢測系統，一般商業上產品均為此種形式，目前解析範圍，最精密可達 10^5 。

3. 反式雙聚焦質譜儀 (reversed double-focusing spectrometer)

若將電場排在磁場後面，形成 BE 型式，即稱為反式，用以區別與前所述 EB 型式，為 Beynon 等人最早提出，先利用磁場將相同動量離子聚焦後，再經過電場的能量聚焦，因此也可用以得到高解析度，偵測離子真正質量。BE 型式雙聚焦質譜儀除了可進行高解析度偵測外，亦可進行先利用磁場選擇一特定離子，在未進入電場前，加入氣體碰撞或令其自然碎裂成質量小之離子，再經電場依碎裂離子之能量而分離，可用以說明所選擇特定離子之反應機構和離子結構。此即為此型儀器最早設計的目的，即用以測量選定離子之分析質量離子動能光譜 (mass-analyzed ion kinetic energy spectroscopy, MIKES)，亦即可得到類似串聯質譜中，子代離子圖譜之功能。

四、應用與用途

質譜儀已廣泛應用於定性與定量分析，除了提供有助於鑑定的各種數據，如化合物的分子量，其次則是分子式，也可由質譜圖顯示之斷裂模式提供各種官能基之訊息，再與各種不同層析分離儀器，如 GC、SFC、LC、CE 等連結，可進行混合物分析。若接上各種不同的離子源，則於定量方面之應用，可分為兩大類，一為有機、生化之分子物種之定量測定，一是對無機物，即有機和生化樣品中元素的濃度測定。因此，其應用範圍包括各種領域中複雜物質的成分定性與定量測定。如藥物的新陳代謝物，植物中之生物鹼，高分子中添加物含量，環

境污染物之測定。由於質譜儀所需樣品量少，靈敏度高，因此將成為科學家和工程師們愈來愈普遍應用的一種技術。

參考文獻

1. H. Wolnik, *Spectra*, **9**, 37 (1983).

2. J. Roboz, *Introduction to Mass Spectrometry Instrumentation and Techniques*, Interscience Publications, 26 (1968)

3. J. T. Watson, *Introduction to Mass Spectrometry*, New York: Raven Press, 75 (1985).

作者：李茂榮先生為美國佛羅里達大學碩士，現任國立中興大學化學系副教授。

飛行式質譜儀

Time of Flight Mass Spectrometer (TOF-MS)

關鍵字：飛行式質譜儀

Keywords：time of flight mass spectrometer

一、基本原理

待測物於離子源 (ion source) 離子化後，被電場推出進入無場飛行管 (field free drift tube)，並獲得一定動能 (大小由外加電場決定， $qeV = mv^2/2$)。由於各離子質量不同，因此各離子的飛行速度不同，質量大者速度慢；質量小者速度快，故其到達偵測器的時間不同，而藉由各離子由離子源飛過無場飛行管到達偵測器的時間，即可求得該離子的 m/z 值。飛行式質譜儀與其他質譜儀如四極式、磁場式質譜儀相較，飛行式質譜儀具有結構簡單之優點，且其於測定過程無須進行磁場或電壓的掃描，因而能進行快速測定，又因其儀器設計上僅需少數離子聚焦元件，所以具有較高的穿透率，意即能讓大部份的離子通過無場飛行管到達偵測器，此外，飛行式質譜儀並無分析質量上限的限制，這是其他質譜儀所無法達到的特點。然而，雖然飛行式質譜儀具有如此多的優點，亦有其先天上的缺陷，即其質量解析度易受到離子生成時的時間分佈 (temporal distribution)、空間位置分佈 (spatial distribution) 及初始動能分佈 (initial kinetic energy distribution) 之影響，若不能有效克服這些影響因素，將造成其質量解析度在實際應用上偏低的現象。

如圖 1(a) 所示，時間分佈係因離子在離子源產生時，生成時間不同所致，若在質量、帶電荷、生成位置及動能皆相同的情況下，則各離子將以其生成的時差到達偵測器，造成質量解析度降低。一般而言，解決此誤差的方法為降低加速電壓或增加無場飛行管的長度，因為飛行式質譜儀的解析度可以用 $m/\Delta m (= t/2\Delta t)$ 來表示，在生成時差 (Δt) 不變，而增加其飛行時間 (t) 的情況下，故可提高其質量解析度。另外，於離子化時，採用脈衝式的離子化法，如電漿脫附 (plasma desorption) 離子化

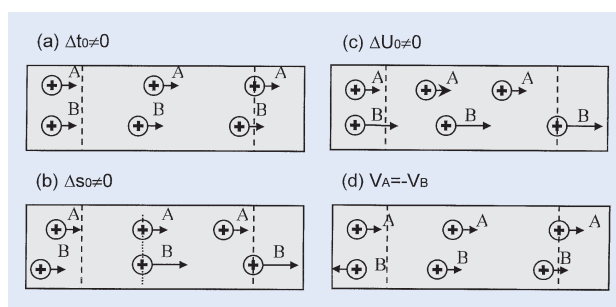


圖 1. 離子生成時的時間分佈、空間位置分佈以及初始動能分佈對質量解析度的影響⁽¹⁾。

法、雷射脫附 (laser desorption) 離子化法等，盡量縮短離子生成時的時間差 (Δt)，也能有效地提高解析度。

空間位置分佈的影響如圖 1(b)，若質量、帶電荷及動能皆相同的離子同時生成，僅其生成位置不同，則生成位置在靠近離子源出口的離子 (A) 因受加速距離較短，其獲得之動能較生成位置遠離離子源出口的離子 (B) 小，所以其進入無場飛行管的飛行速度較慢，因此，A、B 兩離子會在空間聚焦面 (space focus plane) 上交會，而後 B 離子則超越 A 離子到達偵測器，由於這種質量、帶電荷及動能皆相同的離子在不同的時間到達偵測器，因而使得訊號峰變寬，降低質量解析度。其克服方法可藉由降低加速電壓，使 A、B 兩離子能同時到達偵測器，然而，此方法將造成離子傳送效率不佳，直接影響其靈敏度 (sensitivity)，所以，一般都採用兩段式推出法 (two-stage extraction)，於第一段採用較低的加速電壓聚焦，而後，再於第二段使用較大的加速電壓將離子推出，進入無場飛行管，以提高質量解析度。另外，也可利用表面脫附的技術 (如雷射脫附等) 來降低空間位置分佈的影響，這是因為表面脫附技術所產生的離子是來自相同位置的樣品表面，而不像氣態樣品分子是散佈在三度空間的區域裡，

所以有較小的空間位置分佈。

至於初始動能分佈的產生，除了待測分子原有的動能 (特別是氣態分子) 外，還包括待測分子接受外來能量形成離子時，其中部份能量所轉變成的動能。而由於其動能分佈的不同，使得質量、帶電荷皆相同的離子縱然在電場加速後，仍然會有不同的總動能、不同的飛行速度，並在不同的時間到達偵測器，因而降低質量解析度，如圖 1(c) 所示。此變數雖然可藉由提高加速電場來降低其初始動能的影響，但最有效的方式則是藉由反射場 (reflectron) 或其它能量聚焦裝置來達到動能聚焦提高質量解析度的目的。反射場的功能如圖 2(b) 所示，當入射離子具有較大動能時，其進入反射場被減速、反射所需的距離較大、所需的時間較長，因此，適當調整反射場的電壓大小，即可校正使初始動能的差異，使質量、帶電荷皆相同的離子同時到達偵測器，提高質量解析度。

另一種情形如圖 1(d)，A、B 兩質量、帶電荷皆相同的離子在同一生成位置形成時，具有相同動能，但其運動方向不同，這種情況一般是發生在待測物為氣態分子時。圖中 A、B 兩離子運動方向相反，A 離子運動方向與電場方向平行，B 離子運動方向則與電場方向相反，因此 B 離子會先被減速至零後再反向加速運動，所以，雖然 A、B 兩離子進入無場飛行管的最終速度相同，但會有一段時間差，稱為反轉時間 (turn-around time)，其狀況類似時間分佈所產生的問題，可藉由增加無場飛行管的長度來加以克服。

目前，除了上述提高解析度的方法外，尚有多種技術用來提高飛行式質譜儀的質量解析度，例如時差聚焦 (time-lag focusing) 或稱遲滯推出 (delayed extraction) 及垂直加速 (orthogonal acceleration) 電場等，簡述如下：

1. 時差聚焦

時差聚焦技術 (或稱遲滯推出技術) 係指離子於離子源生成後，並不立刻施加推出電場，而是刻意延遲一段適當時間使各離子能以其初始動能沿著飛行管軸線向離子源出口端遠離或靠近，則離子生成時的初始動能分佈會轉變成空間位置分佈，如此

再經由兩段式推出法將其送入飛行管中，即可得到較佳解析度。值得注意的是：此技術之運用與待測離子的質量有著絕對的關係，延遲時間須視待測離子的質量加以適當調整。

2. 垂直加速電場

垂直加速電場是一種利用與樣品離子進行方向垂直的電場來加速待測離子的設計，可以有效地減少離子動能在飛行管軸線方向的動能分佈影響，得到良好的解析度，特別是當飛行式質譜儀與氣相層析儀或液相層析儀等儀器連接使用時，因為當待測物由層析管柱進入離子源時，沿著管柱軸線的方向具有較大的動能分佈，當其離子化後，若是直接沿著管柱軸線的方向推出並加速使其進入飛行管，則結果將因受較大動能分佈的影響而降低其解析度。相反地，若是利用垂直管柱軸線方向的電場來推出並加速待測離子，則可有效地降低其動能分佈的影響，因而得到較佳解析度的分析結果。

二、結構示意圖

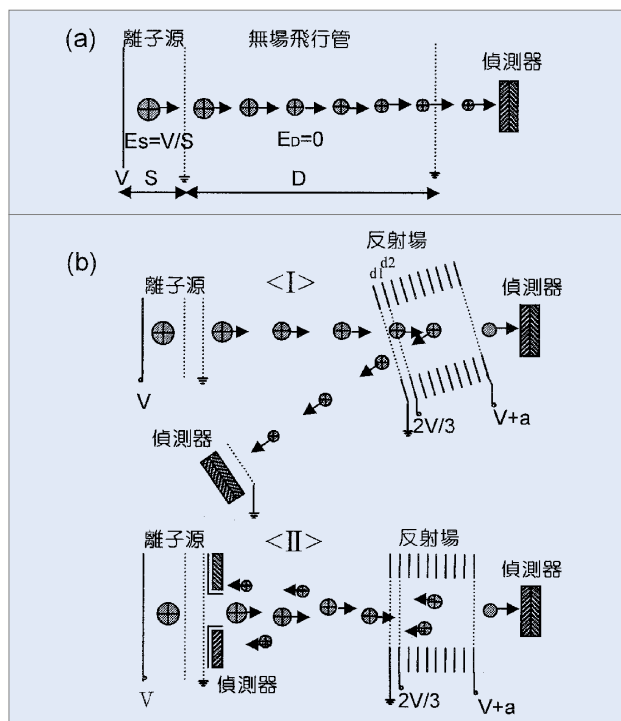


圖 2. (a) 為直線飛行式質譜儀的基本構造，(b) 則為反射飛行式質譜儀的結構，其中 <I> 為兩段式 Mamyrin 反射場，<II> 為同軸 (coaxial) 反射場⁽¹⁾。

飛行式質譜儀的基本構造很簡單，主要包括離子源、無場飛行管及偵測器等三部份，僅有少數的離子聚焦元件，圖 2(a) 為直線飛行式質譜儀的基本構造，圖 2(b) 則為反射飛行式質譜儀的結構，兩者基本上的差別只在後者具有反射電場的設計。此外，還需一套資料處理系統來收集、處理並儲存分析所得的圖譜結果。

三、儀器規格與特徵

目前商業化的儀器大致可以分成兩類：一是直線飛行式質譜儀；另一則是反射飛行式質譜儀，其他規格則因儀器配備而有所不同，例如，離子源的種類 (電子撞擊離子化法、電灑法 (electrospray) 或雷射脫附離子化法等)、飛行管的長度、是否具備反射場、碰撞室 (collection cell)、是否具有時差聚焦 (遲滯推出)、垂直加速電場等功能，又如果是採用雷射脫附離子化法，則其使用的雷射種類為何，功率多大，脈衝寬度多少等，都因各儀器設計不同而有所差異。

四、應用與用途

飛行式質譜儀目前已廣泛地應用在生化分析上，因其無分析質量上限的問題，所以可以分析動輒上萬分子量的生化分子樣品，包括測定其分子量、判定分子結構等，再加上各種應用技術的發展，諸如反射場、時差聚焦 (遲滯推出)、垂直加速電場，以及新離子化方法的開發 (例如電漿脫附離子化法、雷射脫附離子化法、基質輔助雷射脫附離子化法 (matrix-assisted laser desorption/ionization, MALDI)) 等，已然克服了質量解析度不佳的問題，特別是基質輔助雷射脫附離子化法，目前被廣泛地應用在商業化的飛行式質譜儀上，這主要是因為其不但能夠得到較高的質量解析度，也能夠提供

較好的離子化效率及較低裂解 (fragmentation) 程度的質譜圖。因此，飛行式質譜儀目前也逐漸應用到其他領域，如合成高分子的分析研究上。

飛行式質譜儀也可與其他質譜儀如四極式、磁場式質譜儀甚至飛行式質譜儀本身連接使用，進行串聯 (tandem) 質譜儀的研究，更有甚者，若飛行式質譜儀具有反射場及離子選擇裝置 (ion selector) 的設計，則只需配合離子源後裂解技術 (post source decay, PSD) 即可進行類似串聯質譜儀的研究。此外，飛行式質譜儀也可藉由電灑法等界面與液相層析儀結合，有效地對一些大分子進行分析研究，特別是對一些快速分離、訊號峰很窄的系統或是一些只能產生低價數帶電荷的大分子，而且其質量解析度也已經可以達到 $5000 m/\Delta m$ (FWHM)。另外，飛行式質譜儀也可與快速氣相層析儀結合，大幅提升分析樣品的速度，這是因為快速氣相層析儀所得到的訊號峰寬度非常窄 (一般小於 200 ms)，故需藉由飛行式質譜儀快速測定的特性 (每秒 500 張全圖譜)，以便能有效地收集訊號。

參考文獻

1. R. J. Cotter, *Anal. Chem.*, **64**, 1027A (1992).
2. R. J. Cotter, Ed., *Time-of-Flight Mass Spectrometry*; ACS Symposium Series, Washington, DC: American Chemical Society (1994).
3. C. Weickhardt, F. Moritz, and J. Grotemeyer, *Mass Spectrometry Reviews*, **15**, 139 (1996).
4. G. R. Kinsel, C. D. Mowry, P. J. McKeown, and M. V. Johnston, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc.*, **104**, 35 (1991).
5. J. Coles, and M. Guilhaus, *Trends Anal. Chem.*, **12**, 203 (1993).
6. M. Guilhaus, *J. Mass Spectrom.*, **30**, 1519 (1995).
7. D. Price, G. J. Milnes, *Int. J. Mass Spectrom. Ion Proc.*, **99**, 1 (1990).

作者：何國榮先生為美國密西根州大分析化學博士，現任國立臺灣大學化學系教授。

傅立葉轉換質譜儀

Fourier-Transform Mass Spectrometer (FT-MS)

關鍵字：傅立葉轉換質譜儀、傅立葉轉換離子迴旋共振質譜儀

Keywords：Fourier-transform mass spectrometer (FT-MS), Fourier-transform ion cyclotron resonance mass spectrometer (FT-ICR)

一、基本原理與結構

利用四極電場 (quadrupolar electric field) 和均勻磁場對離子的作用力，將離子侷限在超高真空之離子阱 (ion trap) 內，透過不同質荷比 (charge-to-mass ratio, m/z) 的離子各有其特定之迴旋運動頻率之特性，經由非破壞性之頻率偵測便可知離子阱內所含有之離子種類和相對含量。離子阱的構造、形狀不一，但是工作之基本原理則皆相同。最簡單而常見的離子阱結構是僅由六片互相絕緣之無磁性金屬板圍成的立方體空間，其中平行的任意兩片組成一組具有特定功能的電極。參閱結構示意圖 1，垂直於磁場方向的一組稱為阱極板 (trapping plates)，剩餘的兩組則分別構成訊號發射極板 (rf signal transmitter plates) 或又可稱為離子迴旋運動激發極板 (cyclotron motion excitation plates) 及訊號接收極板 (signal receiver plates)。

在傳統的電子碰撞游離應用上，通常會在一側阱極板上鑽一個小孔，以便於產生於其外側之電子進入離子阱空間將其內之氣態分子離子化。典型的操作方式是按照離子所帶之電荷極性，將阱極板施加相同極性之 $< 10 \text{ V}$ 之直流偏壓 (相對於其餘的兩組電極板)，而其餘的兩組電極板則僅施加幾近於零電位之直流偏壓，以達到改善訊號之目的。這些電極板間之電位差異在離子阱內形成一微弱的四極電場，電位最高處即是阱極板，電位最低處則是訊號發射及接收極板組。在通過離子阱之中心點的任意一個二維等位能剖面上，此中心點則是處於近似鞍點 (saddle point) 的位能狀態。若單單考慮此四極電場對於其中離子之作用力，則不難看出它在將相同極性離子推離阱極板之同時有把離子朝向訊號發射及接收極板組加速的效果。

均勻磁場對於一個運動中離子所施加之作用力

為 $\vec{F}_B = q \cdot \vec{v} \times \vec{B}$ ，即是離子運動速度與磁場之向量外積。因此，磁場的效應是將具有垂直於磁場方向動能的離子運動軌跡在圍繞 \vec{B} (習慣被定義成 \vec{z} 座標軸) 的方向上轉折成為封閉的圓週運動，或是螺旋狀的運動方式。離子所具有垂直於磁場方向的動能可能源於被游離前中性分子之熱運動，或是得自於前述之四極電場對於離子在 X-Y 平面上的加速效應。由此可知，若我們順著 \vec{B} 的方向來觀測離子的運動，將會發現磁場限制了離子在 X-Y 平面上的運動，使得其軌跡呈現簡單的圓週迴旋運動 (cyclotron motion) 模式。

若將四極電場效應嚴格地列入考量，我們將會看到由迴旋運動和在等位能面上繞行複合而成較複雜的磁子運動軌跡 (magnetron motion)，這一種運動方式在遠離中心位置處將會較為明顯。當離子在 \vec{B} 方向上的最大動能超過四極電場的位能井 (potential well) 深度時，這個離子雖受到磁場的限制而不會在 X-Y 平面上損失，但卻會因撞擊阱極板而損失掉。反之，若離子在 \vec{B} 方向上的最大動

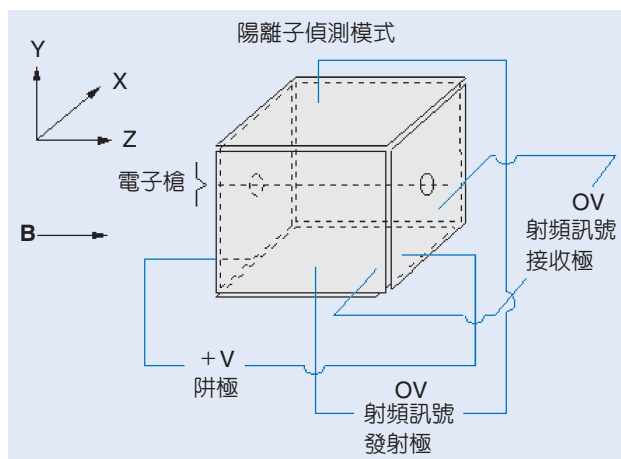


圖 1. 矩形 FT-MS 離子阱之構造圖。依慣例磁場之方向 B 定義為三維座標系之 Z 軸。

能不超過四極電場的位能井深度，這個離子不但因為受到磁場的限制而不會在 X-Y 平面上損失，也會因為四極電場位能井的限制而在磁場方向上作往覆的阱震盪運動 (trapping oscillation)。為了更明確地反映它的工作原理，此種儀器亦被稱為傅立葉轉換離子迴旋共振質譜儀 (Fourier-transform ion cyclotron resonance mass spectrometer, FT-ICR)。

綜合以上對於離子運動軌跡簡單的描述，一個能夠安定地被貯存於離子阱內的離子有三種主要的運動模式：阱震盪運動、迴旋運動及磁子運動。前面曾述及 FT-MS 是經由量測離子阱內離子的迴旋運動之頻率，來決定該離子之 m/z 比值，此一功能是由透過 $(m/z) \cdot \omega_c = (m/z) \cdot (2 \cdot \pi \cdot f_c) \approx q \cdot B$ 之定量關係式而達成。在此式中， ω_c 和 f_c 分別是該離子之迴旋運動角速度和頻率， q 是基本電荷， B 則是以 tesla (= 10,000 gauss) 為單位之磁場強度。然而，實際的操作過程並非如此簡單。前面我們也曾提到，FT-MS 對於離子的偵測是非破壞性的，要瞭解如何達成非破壞性的離子偵測，我們首先要介紹映像電流 (image current)。參閱結構示意圖 2，若有一個帶電粒子在訊號接收極板組之間上下來回振動，經由隔空 (through space) 的感應作用即會在連接這兩片訊號接收極板之電路上產生相位 (phase) 相反

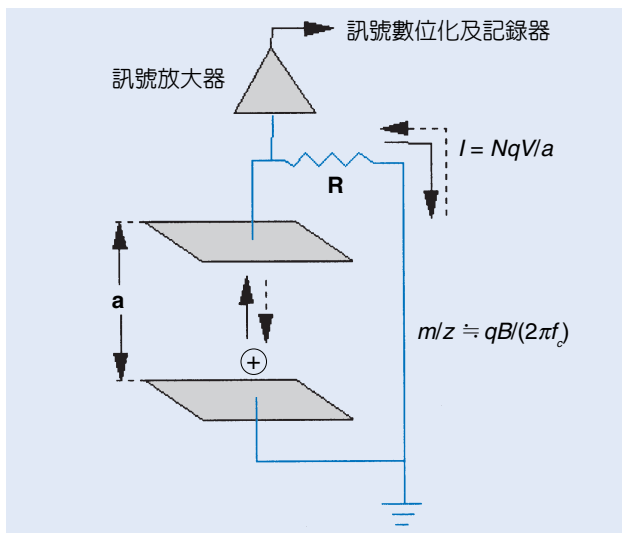


圖 2. 當一個帶電粒子以速度 V 在訊號接收極板組之間以頻率 f_c 上下振動，經由感應作用即會在連接這兩片訊號接收極板之電路上產生相位相反但相同震盪頻率的映像電流。

但相同頻率的映像電流。由此映像電流的頻率和振幅大小， $I = Nqv/a$ ，即可反應出產生此感應震動之電荷大小 N ，以及再透過 $(m/z) \cdot (2 \cdot \pi \cdot f_c) \approx q \cdot B$ 之定量關係式便可推算出其質荷比。

然而，具有相同質荷比的離子在均勻磁場中雖然有固定相同的迴旋頻率，但是在生成的過程中它們的運轉相位角常是漫無一致的，參閱結構示意圖 3，因而並不會產生自發性的映像電流。為了強迫具有相同質荷比的離子群進入同調 (coherent) 的迴旋運動，以達到產生映像電流的目的，我們透過訊號發射極板 (離子迴旋運動激發極板) 施加和離子迴旋運動頻率相同的射頻 (rf) 訊號 $E(t) = E_0 \cdot \sin(\omega t)$ 。此動作附帶地使得離子之動能和迴旋半徑增加： $E_k = (qE_0 t_0)^2 / 8m = (qBr)^2 / 2m$ ，在此式中 t_0 是射頻激發訊號作用的時間長度。

若離子從這激發力場得到過多的動能以至於其迴旋半徑超過了離子阱的內部的空間而撞擊到訊號發射或接收極板，即會導致此離子電荷被中和，因而達到排除該離子之效果，這種操作模式被稱為雙共振離子排除 (double-resonance ion ejection)。於是藉著控制激發程度之深淺，我們便可以選擇離子處於待偵測或是被排除的狀態。處於待偵測狀態的受激發離子除了達到產生映像電流而被偵測到之外，若是和存留在離子阱中之氣體分子碰撞，則可以經由動能至分子內能之轉換而使得離子發生裂解，此

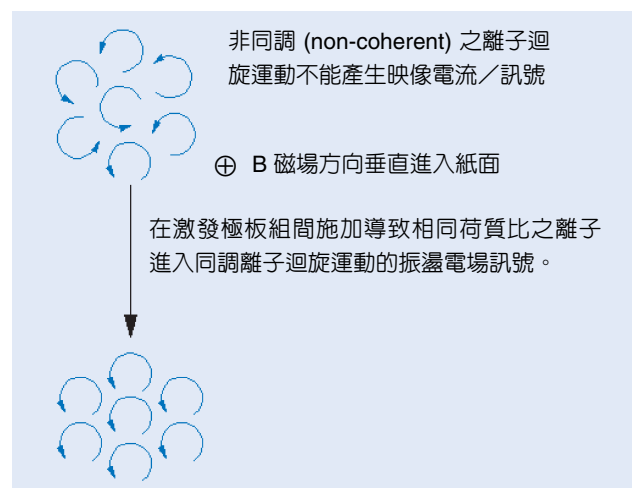


圖 3. 強迫相同荷質比之離子進入同調 (coherent) 之離子迴旋運動，如此便能在訊號接收極板組間產生映像電流/訊號。

即質譜術中熟知的碰撞誘導解離 (collisionally induced dissociation, CID) 技巧。裂解生成之子代離子仍然停留於離子阱內，可以重複地再利用適當的激發強度來作質荷比之量測或進一步的 CID。因此，在不需要增加硬體設備之情形下便可以達到多次串聯質譜分析之目的。

截至目前為止，以上的討論完全只針對單一質荷比的離子。至於傅立葉轉換在此儀器上的功能即是賦予它能夠同時偵測一個相當寬質量範圍的能力，因為限於篇幅並且現在的商品化儀器在這一功能上皆是自動化控制，故在此不再贅述。

二、儀器規格與特徵

目前商品化 FT-MS 之廠牌計有 IonSpec、Bruker-Spectrospin、Nicolet、Extrell 及 Finnigan 等，但由於公司併購之關係，實際上生產之公司只有三家。至於有興趣自己組裝系統的使用者，可洽詢 IonSpec Corp. 及 Odyssey Data Station (FT/MS, Madison, WI, USA)。全球約有 200 部此種質譜儀在使用中，約佔所有各類形質譜儀之 0.5%，然而發表於美國質譜學會年度會議中之研究報告，使用 FT-MS 所得到的成果近年來始終維持在 10% 以上。商品化之此型設備通常配備一具 3–9 tesla 之超導磁鐵，通常磁場愈強解析能力就愈好，按照使用之目的可選擇多種先進的離子源。它至今依然保持著最高質量解析度的記錄，在一般的使用條件下可例行性輕易地達到 $10^4 - 10^6$ 之質量解析度，在仔細操作下 10^8 之質量解析度亦常在文獻中被報導。FT-MS 本身之特性有非破壞性離子偵測、因而可反覆偵測離子藉以提昇靈敏度，無致傷害之高壓電、超高質量解析度，以及串聯質譜分析 (MSⁿ) 能力。超高質量解析度常需要在超高真空度之下才能夠達到，因此若是希望將需要在高壓力環境下才能工作之離子源 (例如電灑式游離 (electrospray

ionization)) 和 FT-MS 連結的話，往往需要多段的減壓抽氣 (differential pumping) 真空設備方能使得其發揮最佳的效能。

三、應用與用途

FT-MS 最主要的應用，是在需要超高解析度的質譜辨識能力時。此外，由於離子可以在離子阱內停留由數分鐘至數日之久，因此在和中性背景分子的反應動力學、反應平衡研究，及光學性質等方面的研究工作也佔有極重要的地位。至於它獨特的串聯式質譜分析與非破壞性離子偵測能力，在近年生化分子與聚合高分子之結構研究上佔有顯著的重要地位。相較於其它的質譜儀，FT-MS 是高價位且較不易操作與保養的機種，因而其普遍程度將遠低於其它型式的儀器。

參考文獻

1. 韓肇中，傅立葉轉換質譜術簡介，質譜分析術專輯，第四章，國科會精儀中心編印 (1992)。
2. 陳志鴻，FTMS 的原理簡介，化學，**48**, 63 (1990)。
3. M. V. Buchanan, ed., *Fourier Transform Mass Spectrometry, Evolution, Innovation, and Applications*, ACS symposium seires 359, American Chemical Society (1987)。
4. A. G. Marshall, and F. R. Verdun, *Fourier Transform in NMR, Optical, and Mass Spectrometry: A Users Handbook*, Amsterdam: Elsevier (1990)。
5. B. Asamoto, R. C. Dunbar, *Analytical Applications of Fourier Transform Ion Cyclotron Mass Spectrometry*, New York: VCR (1991)。
6. Alan G. Marshall, Editor, *Special Issue: Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry*, Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes, 157/158, Amsterdam, Netherlands: Elsevier (1996)。
7. C. L. Wilkins, ed., *Trends in Analytical Chemistry (Special Issues): Fourier Transform Mass Spectrometry*, 13 (1994)。

作者：韓肇中先生為美國史丹福大學化學博士，現任中央研究院原子與分子科學研究所副研究員。

快速原子撞擊質譜儀

Fast Atom Bombardment Mass Spectrometer (FAB-MS)

關鍵字：質譜儀、基質、快速原子撞擊法、離子化技術、原子槍

Keywords： mass spectrometer, matrix, fast atom bombardment, ionization method, atom gun

一、基本原理

質譜儀的快速原子撞擊法，於西元 1981 年，由英國曼徹斯特大學 Micheal Barber 教授首先提出。傳統的質譜儀離子化技術，如電子撞擊法 (electron impact)、化學游離法 (chemical ionization) 等，只適合在氣態環境下，進行樣品檢測，然而對於高極性、高分子量、易熱解離或低揮發性之化合物，在當時並沒有任何有效的離子化方法；為了克服這個困難，有幾種技術被提出來，包括：鈾 252 輻射光 (^{252}Cf radiation)、電場脫附法 (field desorption)、雷射脫附法 (laser desorption) 等，而快速原子撞擊法，是其中最成功、最廣泛被應用的技術；直到 1980 年代晚期，更溫和的離子化 (soft-ionization) 方式，如基質輔助雷射脫附法 (matrix-assisted laser desorption)、電灑法 (electrospray) 的發展，快速原子撞擊法的重要性才慢慢被取代。

快速原子撞擊法的基本原理，是利用原子槍 (atom gun) 產生快速原子束，聚焦於樣品目標區 (sample target)，樣品經原子束撞擊後，以濺灑方式 (sputtering mechanism) 產生一系列的離子，通過質譜儀的質量分析器，分析其荷質比 (m/z)；樣品的製備，通常是將分析物，以 1 : 4 的比率與基質

(matrix) 均勻混合，常用的基質有甘油、硫甘油或硝苯甲醇等，在整個離子化過程中，這些高黏滯性的液態介質，具有流動性，可以不斷地將新的樣品，提供至溶液表面，增加分析物檢測之再現性與靈敏度；與傳統的離子化技術比較，快速原子撞擊法所得的質譜圖，具有相當高比率的高荷質比訊號，這項特徵擴大了快速原子撞擊質譜儀的應用範圍，使其能夠有效地檢測，分子量較高之化合物，如抗生素、碳水化合物、聚合物或生物物質等；另外，圖譜中常伴隨出現的 $(\text{M}+\text{H})^+$ 質子化分子離子 (protonated molecular ion)，也提供了一個最直接、有用的明確訊息，幫助分析物結構之鑑定與分子量之確認。

二、儀器結構示意圖

快速原子撞擊質譜儀，離子源的組成，包括：原子槍、樣品探器、離子束、聚焦鏡片等，如圖 1 所示。快速原子束的產生，可分成幾個步驟，首先，在原子槍的離子源中，以陰極放電 (cathod discharge) 的方式，將中性的氬 (Ar) 氣體轉化成帶電荷的氬離子 (Ar^+)；其次，在高壓電場 (keV) 下，氬離子被加速並聚焦去除成高能的高速氬離子束；

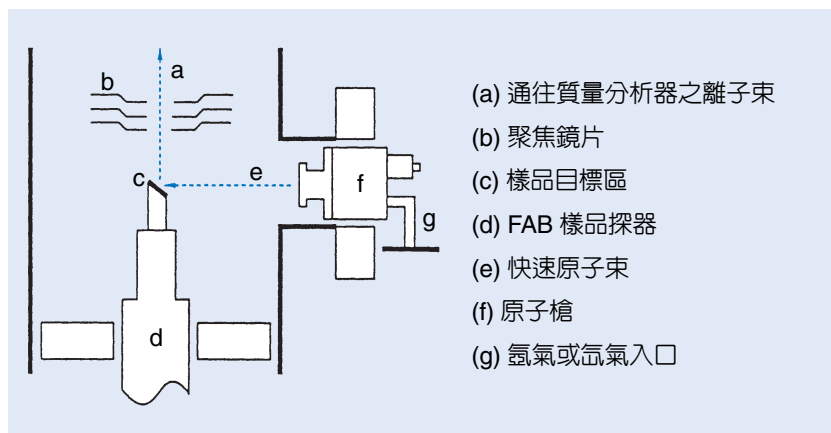


圖 1.
快速原子撞擊質譜儀—原子槍與樣品探器結構圖。

最後，這一快速離子束，通過原子槍的碰撞室 (collision chamber)，與碰撞室中高壓 ($10^{-3} - 10^{-4}$ torr) 的中性氬氣體，產生電荷交換 (charge exchange) 的現象，而形成快速原子束。

三、應用與用途

快速原子撞擊游離法，有下列幾項優點：

- (1) 樣品製備容易，不須經過煩瑣的衍生化過程；
- (2) 在凝態的環境下進行離子化，樣品不須具備高揮發性質；
- (3) 基質的流動，不斷更新樣品表面，使質譜圖訊號，可持續數分鐘，甚至數小時；
- (4) 明顯的質子化分子離子及其斷裂離子 (fragment ion) 訊息，有助於分子量與結構之鑑定；
- (5) 可同時搜集正、負離子質譜圖；
- (6) 提高質譜儀的質量測量範圍，至數千個道耳吞 (dalton)。

快速原子撞擊質譜儀的應用範圍非常廣泛，包

括生物、醫藥、化工、環境化學、材料科學等領域。實際的用途，如碳水化合物 (carbohydrate) 之結構鑑定、蛋白質序列分析 (sequence analysis)、藥物或新陳代謝物質檢驗、酵素反應之研究、染料、高分子聚合物、有機金屬化合物、抗生素或維生素等之鑑定分析。

參考文獻

1. M. Przybylski, *Fres. Z. Anal. Chem.*, **315**, 402 (1983).
2. M. Barber, R. S. Bordoli, R. D. Sedgwick, A. N. Tyler, *Nature*, **293**, 270 (1981).
3. M. Barber, R. S. Bordoli, G. J. Elliott, A. N. Tyler, J. C. Bill, B. N. Green, *Biomed. Mass Spectrom.*, **11**, 182 (1984).
4. M. Barber, R. S. Bordoli, R. D. Sedgwick, A. N. Tyler, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, **325** (1981).

作者：劉建忠先生為美國德州大學奧斯汀分校化學博士，現任私立東海大學副教授。

大氣壓離子化質譜儀

Atmospheric Pressure Ionization Mass Spectrometer (API-MS)

關鍵字：大氣壓離子化質譜儀、電灑游離法、大氣化學游離法

Keywords：atmospheric pressure ionization/ mass spectrometer, electrospray, atmospheric pressure chemical ionization

一、簡介

氣相層析／質譜儀 (gas chromatography/mass spectrometry, GC/MS) 已被廣泛地用於各類混合物之分析、鑑定。其先決條件是分析物必須具有熱穩定和高揮發性之特性，但大部份所欲分析之化合物 (藥物、天然物、環境污染物) 是低揮發性或不具揮發性之物質，其中亦有許多物質遇熱即分解，這些化合物皆無法利用氣相層析／質譜儀來做分析。液相層析分離技術 (liquid chromatography, LC) 是最為廣泛地被應用於分析對熱不穩定或不具揮發性物質。但一般常見之 LC 偵測器如可見光偵測器 (UV/Vis detector)、螢光偵測器 (fluorescence detector) 皆無法提供定性之資訊，因此液相層析／質譜儀是具有相當的實用性。

受到氣相層析／質譜儀連線成功的影響，以及樣品應用上的需要，液相層析儀和質譜儀連線的研究工作，在近年來快速地發展。許多液相層析／質譜儀的連線系統隨著科技的進步陸續被開發和應用，像是傳輸帶 (moving belt, MB)、直接液體注入 (direct liquid inlet, DLI)、分子束 (particle beam, PB)、熱灑法 (thermalspray, TSP)、電漿脫附法 (plasma desorption, PD)。但因這些介面操作複雜，對 LC 所使用之流動相成份有相當的限制且效果不

佳，故而減少了液相層析／質譜儀的靈敏度和其實用性，因此未能像氣相層析／質譜儀一樣地被廣泛應用。

近年來大氣壓離子化質譜儀 (atmospheric pressure ionization MS, API-MS) 突破了傳統液相層析／質譜儀介面之缺點，它具有極佳的靈敏度，儀器本身也較簡單且易於操作，所以廣泛地被應用於各樣化合物之分析、鑑定。本文僅介紹常見之大氣壓離子化質譜儀之兩種系統：電灑游離法 (electrospray ionization, ES) 和大氣壓化學游離法 (atmospheric pressure chemical ionization, APCI)，並簡單列舉其分析上之應用。

二、儀器原理與結構

電灑游離是最為普遍使用之液相層析／質譜儀介面。雖然研究電灑的現象為時已久，但是在 1968 年才由 Malcolm Dole⁽⁴⁾ 及其工作夥伴率先應用於樣品之離子化，然而他們當時並無質譜可用，因此在數據的解釋上發生了困難。一直到 1984 年，才由 Yamashita 和 Fenn 及 Aleksandrov 等人同時報導了電灑法和質譜儀結合的方法。隔年，Whitehouse 等人發表將電灑介面應用到液相層析質譜連線上。至於所謂的電灑游離法，就是在大氣壓

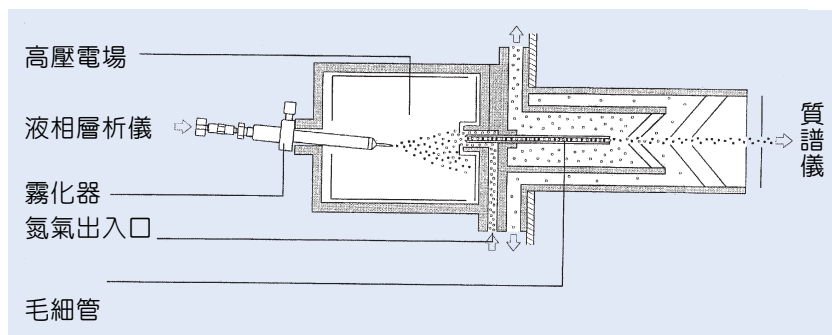


圖 1.
電灑／質譜儀界面結構圖。

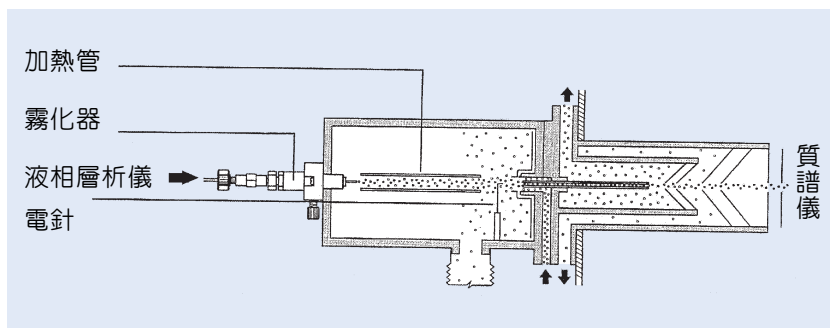


圖 2.
大氣化學游離法之構造。

下藉由外加的電場，將樣品溶液噴灑蒸發形成帶電荷的液滴，而將液相中帶一個或是多個電荷的離子轉移到氣相的一種游離法。因此電灑法的離子化方式不同於傳統的方式，不需要先將待分析物揮發成氣態分子後再被離子化，而是分析物先以離子的方式存在於溶液中，再以電場將分析物離子從溶液中分離出來。

1. 電灑游離法

圖 1 為電灑／質譜儀界面說明圖。經液相層析分離後之化合物和流動相 (mobile phase) 進入電灑界面之具有高電壓之毛細管 (約 3 kV)。與毛細管同軸的管中通入氮氣，組合成一個霧化器，此裝置分散 LC 流動相之液體使其霧化成微小的液滴以利電灑離子形成。關於電灑游離法的反應機制，目前雖然尚無定論，但一般對其離子化過程之描述如下：當樣品溶液經毛細管由液相層析系統進入電灑／質譜儀界面，其表面受高電場影響而進行電荷分離，當液表面累積足夠之電荷時，其庫侖斥力大於表面張力而噴灑出微小的帶電液滴，即是電灑現象。這些微小的帶電液滴隨著溶劑的蒸發而半徑逐漸減小，其表面電場隨之逐漸增大，當其超過 Rayleigh 極限 (Rayleigh limit) 時，液滴便分裂成更小的離子液滴，進而分析離子受液滴表面電場的影響，自離子液滴跳脫出來完成電灑離子化的過程。

2. 大氣化學游離法

大氣化學游離 (atmospheric pressure chemical ionization, APCI) 是另一種常見之液相層析/質譜儀界面，它是利用離子／分子反應之化學游離法，APCI 之構造請參見圖 2。其一般構造如同電灑器，但多了一個具有高電壓 (1 – 10 kV) 之電針

(corona discharge needle)。大氣化學游離器也是利用霧化器使流動相霧化而形成細小的液滴；且具高電壓之電針進行電暈放電而造成 LC 流動相之分子游離，進行離子／分子反應，進而形成分析物的離子。

電灑法和大氣化學游離法所產生之離子大都是分子離子 (molecular ion) 或是分子離子和其它分子結合之加成離子 (adduct ion)，分子離子本身並不受大氣壓離子化之作用而產生裂解。分子離子之裂解是發生於大氣壓離子化器和質量分析器 (mass analyzer) 之間的界面。於大氣游離室所形成之離子受到電場和壓力差之影響，經毛細導管引入於大氣游離室和質量分析器之間的真空區域。此毛細管兩端之電壓強度不同，固而離子受毛細導管之電壓差影響，加速發生碰撞而引致裂解 (collision-induced dissociation, CID) 樣品裂解之程度可經由毛細導管之電壓差來控制。

電灑游離法和大氣化學游離法對一般化合物的離子化效率都很高。一般液相層析常用之流動相如水、甲醇、乙腈等皆可用於液相層析／大氣游離／質譜儀。具有揮發性的有機酸 (甲酸、乙酸、…等等) 或有機鹼 (如：甲基胺、三乙基胺…等等) 亦可加入於流動相以提高待測物離子化效率。雖然電灑游離法和大氣化學游離法可用於高流速之液相層析系統，但其最佳化之流量約為 100 $\mu\text{L}/\text{min}$ 到 500 $\mu\text{L}/\text{min}$ 之間。所以直徑為 5 mm、2 mm 或 1 mm 之液相層析分離管柱最適合應用於液相層析／大氣游離／質譜儀。

三、應用

大氣壓離子化質譜儀已被廣泛應用於環境污染物、農藥、染料、天然物、藥物等化合物之分析和

鑑定。電灑游離法大都被應用於分析有高極性分子，而大氣化學游離法被應用於鑑定低極性或非極性分子。近年來各儀器商更推出桌上型液相層析質譜儀，價廉且容易操作。大氣游離質譜儀之發展拓展了分析化學家的「視野」。傳統液相層析之偵測器只能用於定量分析，質譜儀不但能提高定量分析之靈敏度更可提供待測物之定性資訊，提高分析、鑑定之精確度。

參考文獻

1. R. D. Voyksner, *Environ. Sci. Technol.*, **28**, 118 (1994).
2. M. Yamashita, J. B. Fenn, *J. Phys. Chem.*, **88**, 4451 (1984).
3. C. M. Whitehouse, R. N. Dreyer, M. Yamashita, J. B. Fenn, *Anal. Chem.*, **57**, 675 (1985).
4. P. Kebarle, L. Tang, *Anal. Chem.*, **65**, 972A (1993).
5. S. Chiron, S. Dupas, P. Scribe, D. Barcelo, *J. of Chromatogra. A*, **665**, 295 (1994).
6. C. Molina, M. Honing, D. Barcelo, *Anal. Chem.*, **66**, 4444 (1994).
7. R. B. Van Breemen, *Anal. Chem.*, **67**, 2004 (1995).

作者：傅明仁先生為美國西雅圖華盛頓州立大學博士，現任東吳大學化學系教授。

雷射脫附質譜儀

Laser Desorption Mass Spectrometer

關鍵字：質譜、基質、雷射脫附、基質輔助雷射脫附游離法

Keywords： mass spectrometry, matrix, laser desorption (LD), matrix assisted laser desorption ionization (MALDI)

一、基本原理

雷射脫附質譜儀自 1960 年間起，就陸續被用在無機、有機小分子的分析研究上。最常使用的雷射光的波長範圍從遠紫外光 (far-UV) 至遠紅外光 (far-IR)。經過幾十年在儀器及分析方法的改進，此技術已漸臻成熟。因此近十年來，雷射脫附質譜儀已成為在決定分子量及結構分析上的重要工具之一，並可較準確地提供如蛋白質、DNA 之類大分子分子量的數據。所以，目前此儀器已廣被應用在生化分析上。

雷射脫附質譜法主要可分為兩大類：直接雷射脫附 (direct laser desorption, 簡稱 LD) 質譜法與基質輔助雷射脫附游離 (matrix assisted laser desorption ionization, 簡稱 MALDI) 質譜法。LD 是讓雷射光束直接打在塗有樣品的樣品探針 (probe) 上；而 MALDI 則是將樣品與稱為基質的有機小分子化合物以一定比例充分混合後，讓雷射光束打在此混合物上，雷射光提供足夠的能量至樣品或基質以進行脫附游離反應。MALDI 的樣品製備中多添加了在雷射光波長範圍有共振吸收的基質，基質扮演 MALDI 中能量吸收的角色。因為基質的添加使得原本雷射脫附質譜法的質量偵測上限，由 2,000 Da 以下擴展至 500,000 Da 左右。

1. 雷射脫附

雷射脫附的過程，是指當整個分子在受到高能量的雷射光能量輸入後，瞬間 (picosecond) 由凝相 (condensed phase) 過渡到氣相。為何當高能量的雷射光束打在樣品時，樣品分子不致因為巨大能量的輸入而遭破壞？如何解釋樣品分子在此高能下，仍然能夠保持分子完整，而不致碎裂？這個過程至今仍是個謎。目前，所提出來的機構和解釋此過程的模型，都是嘗試解釋以上的兩個問題。根據現有已

提出的一模型，可以解釋成因為大部份的能量在經樣品分子吸收後，被吸收的能量提供為樣品分子的相轉移位能，因此樣品分子在大部份能量用在相轉移的瞬間，並不是處在一活潑、能量過剩的狀態，所以不致因為含有過高能量，而導致分解反應，無法保持樣品分子的完整性。但是，能量的輸入及相轉移的速度必須大過熱分解的速度，否則分子會被破壞。將分別針對 LD、MALDI 能量吸收的途徑不同而做討論。

(a) 直接雷射脫附

在 LD 中，因為沒有添加額外的基質，能夠扮演能量吸收的角色，只有樣品分子本身和乘載樣品入質譜的探針 (probe)。如果樣品本身可以在雷射光波波長範圍做有效吸收，則樣品分子將可直接從雷射光束吸收自身脫附所需的足夠能量，但是具有如此特性的，其分子大小通常不會太大，約在數百 Da 左右。如果樣品本身無法在特定雷射光波波長範圍做有效吸收，則能量來源需經由探針的金屬基層 (substrate)，在吸收有限的雷射能量後，以熱傳導的方式傳至樣品分子。但是能量傳遞的速度及所能提供的能量有限，這也造成此法無法脫附較大分子，導致 LD 的可偵測質量範圍受限。

(b) 基質輔助雷射脫附游離

在 MALDI 中，所選用的基質都是在特定的雷射光波長具有強共振吸收 ($10^3 - 10^4 \text{ Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$)。根據研究，基質和分析物樣品形成的共同結晶化的好壞與否，對結果有很大的影響，結晶的好壞可能和能量傳遞的效率有關。決定 MALDI 的結果的另一因素，是取決於適當的基質／分析物樣品的比例，也就是基質必須佔絕大部份。因而，基質能夠提供足夠的能量以供給周圍樣品分子進行脫附。因此，即使如蛋白質之類的大分子也可經由脫附的過程瞬間從固相到氣相，並能維持整個分子的完整性。

2. 離子的形成 (ion formation)

除了樣品分子需從固相脫附到氣相外，樣品分子須帶電荷才能夠由質譜儀偵測。除了本來就帶電荷的分子外，中性分子如何形成離子？氫質子 (proton) 的來源？都是在瞭解雷射脫附游離的過程中會遭遇的問題。但是，因為此過程複雜，所以其中有一理論就是以解釋游離過程為著眼點而提出假設的。即是使用光化學 (photochemistry) 和光游離 (photoionization) 反應來解釋此游離過程，但也僅適用在 UV 雷射。一般的極性有機分子在氣相的游離位能在 7.5 eV 至 9 eV 之間。以最常使用的 UV 雷射 (波長 337 nm) 為例，吸收一個光子所獲得的能量為 3.7 eV。因此，若要讓一有機分子游離，需要經過吸收兩個光子的兩次共振吸收到激態 (excited state)。在激態下，分子很容易得到或失去一個電子而形成自由基，自由基再進行一連串的離子/分子反應。

二、結構示意圖

圖 1 是 MALDI 的簡圖。主要是由五個部份組成：雷射、樣品游離室、TOF 管、離子偵測器，及訊號處理系統。雷射光源聚焦於樣品探針上，以提供足夠的能量讓樣品和基質分子脫附游離至真空 ($< 10^{-5}$ torr)。離子在外加高電壓下獲得足夠的動能，飛行經過一固定長度的 TOF 管，由離子偵測器 (通常是由兩個微孔道板式偵測器 (microchannel plate) 組成) 偵測放大後，經由訊號轉換器將各離子飛行時間轉換成荷質比 (m/z) 的圖譜。

三、儀器規格與特徵

1. 儀器規格

自從 MALDI 的方法被發展出來後，商業化的 MALDI 已有很多廠牌可供選擇，如 PerSpective BioSystem、Bruke、Finnigan/Thermo Bioanalysis、

Hewlett Packard 及 Shimadzu 等都有生產。綜觀這些廠牌的 MALDI/TOF，大部份是配備一 UV 雷射 (波長 337 nm，3 ns pulse width 的氮雷射)，但常用在 MALDI 的雷射還有 266 nm 的 Nd-YAG 雷射、波長 355 nm 的 UV 雷射、波長在 2.79 μm 、2.94 μm 及 10.6 μm 的 IR 雷射。而乘載樣品的探針可一次容納十個至一百個樣品，視各廠牌設計而定。TOF 質譜儀主要可分為兩類：直線式 (linear) 和反射式 (reflectron)。TOF 管長約在 1 公尺至 1.5 公尺之間。而 DE (delayed extraction) 即在起始脫附游離處所加之高電壓經延遲約 μs 後才打開，使得離子因在空間、時間及能量分佈的差異導致的低解析度得以改善，因此 DE 也漸成為某些型號的標準配備。直線型 TOF 質譜分析儀的最佳質量解析度約在 500 左右，而反射式可提高至上千。而據文獻報導，反射式加上 DE 可使質量解析度提高至 6,500。PSD (post source decay) 也常配備在具有反射式的 TOF 質譜儀，可將在 TOF 管飛行過程中因內能過高而產生的碎片離子 (即 metastable ions)，藉著在反射式中加上不同的電壓，將不同質量的碎片離子偵測出來。商業化 MALDI 一般靈敏度介於 picomole – fmole，質量精確度在 0.01 % – 0.05 %。最大可偵測質量範圍在 150 k – 500 k Da。

2. 特徵

MALDI 是屬於一種軟性 (soft) 的游離方法，即主要形成的分析物離子為分子離子 (即分析物分子和一氫質子結合而成的分子離子 (MH^+))，而 MNa^+ 和 MK^+ 也是經常在 MALDI 的圖譜中出現，二聚物離子也時常可被觀察到，碎片離子則很少出現。而較大分子如蛋白質，則常有帶兩個電荷 (doubly charged)、三個電荷 (triply charged) 的分子離子或帶有兩個電荷的二聚物 (dimer) 離子、帶有兩個電荷的三聚物 (trimer) 離子在 MALDI 中形

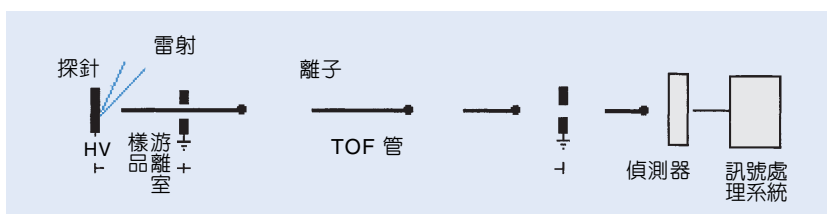


圖 1. MALDI/TOF MS 簡圖。

成。在低質量範圍，則大部份是由基質產生的離子。因為在樣品中大部份的組成分子為基質，而基質在雷射波長範圍具有強共振吸收，因此除了在低質量範圍有很強的基質離子峰外，與金屬鈉、鉀離子所形成加成物 (adduct) 分子離子峰強度也是很強，而如基質碎片離子、基質二聚物離子、三聚物離子，也是經常可以在 MALDI 質譜圖中觀察到。

MALDI 是一很方便、快速的分析方法，通常只須花大約五至十分鐘即可完成一個樣品的偵測，且僅需少量樣品 ($\sim 1 \mu\text{L}$)。且其在最佳狀況下，靈敏度可在低 fmole 的範圍，而最高質量範圍可至 500,000 Da。但為達到這種最佳狀況，基質的選用適合與否，還有基質和分析物的莫耳比例 ($100 : 1 - 5 \times 10^4 : 1$) 是扮演結果好壞的決定因素。基質一般都是具有不同官能基支鏈的芳香族羧酸，具有吸收在特定 UV 波長範圍的能力，及做為提供氫質子的來源。基質在 MALDI 中主要有三個功能：(1) 大量的基質將分析物分子隔開，防止分析物聚集，並形成良好的共同結晶化。(2) 做為提供樣品脫附能量的媒介。(3) 提供離子化的來源。一些添加物如 SDS (sodium dodecyl sulfate) 會干擾 MALDI 的結果，而如樣品中含有多種分析物，某些分析物即會受到抑制。

四、應用與用途

樣品的製備方法通常是取 $1 \mu\text{L}$ 的飽合基質溶液與分析物溶液之混合液體於樣品探針上，待混合溶液中之溶劑揮發後，即可送入質譜進行分析。新鮮的基質溶液有助於較佳的結晶化，利於得到較佳的 MALDI 結果。不同類型的樣品，其適用的基質也不同。sinapinic acid 常用在分析蛋白質、胜肽 (peptides)；2,5-dihydroxybenzoic acid (DHB)、 α -cyano-4-hydroxycinnamic acid 等常用在胜肽；

nicotinic acid、3-hydroxypicolinic acid、2,4,6-trihydroxyacetophenone 適用在低聚核苷酸 (oligonucleotide)，加入少量的酸有助於分析物的溶解能力，可改善 MALDI 的結果。MALDI 適用於決定大分子的分子量，因此大分子如蛋白質、胜肽、DNA 等生化分子，都可使用此法來分析。而如為了確定結構，需進行序列 (sequence) 的分析，可以先進行消化 (digestion) 或化學反應將大分子切成小段，再直接分析消化後的產物。因為 MALDI 可以直接做混合物的分析，所以消化後的序列片段不需經先純化的步驟，可直接由 MALDI 分析。常用 trypsin、carboxypeptidase Y 來消化大分子；而溴化氰 (cyanogen bromide) 是常用來切斷蛋白質分子的化學試劑。而如某些商業化機型所提供的 PSD 功能，分析從 PSD 所偵測出的碎片離子，也可用來定胜肽序列。MALDI 的另一應用是在高分子的分析，DHB 是常被採用的基質。高分子是屬於較難帶上電荷的分子，分析時可加入少量的過渡金屬離子如銀、銅離子，將有助於 MALDI 的分析。

參考文獻

1. A. Vertes, R. Gijbels, and F. Adams, *Laser Ionization Mass Analysis*, New York: John Wiley & Sons press (1993).
2. M. L. Gross, *Mass Spectrometry in the Biological Sciences: A Tutorial*, Netherlands: Kluwer Academic Publishers press (1992).
3. H. Ehring, M. Karas, and F. Hillenkamp, *Organic Mass Spectrom.*, **27**, 472 (1992).
4. F. Hillenkamp, M. Karas, R. C. Beavis, and B. T. Chait, *Anal. Chem.*, **63**, 1193A (1991).

作者：陳月枝女士為美國蒙大拿州立大學化學博士，現任慈濟醫學院醫學系助理教授兼運動員藥物檢驗中心分析一組組長。

感應耦合電漿質譜儀

Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometer (ICP-MS)

關鍵字：感應耦合電漿質譜儀、元素分析、同位素分析

Keywords： inductively coupled plasma mass spectrometer, elemental analysis, isotope analysis

一、基本原理

1. 基本操作原理

感應耦合電漿質譜分析法 (inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS) 是一種分析功能相當強的微量多元素分析及同位素分析技術，它結合了 ICP 絕佳的原子化和游離化的特性，以及質譜儀的高靈敏度和測定同位素比的能力。ICP 具有相當高的游離效率，但是又不會有過度激烈的游離，除了少數元素會產生二次游離而形成二價離子外，大部分的元素在電漿中主要都是形成一價離子，這個特性使它成為無機質譜儀 (inorganic mass spectrometry) 中相當理想的離子源。

ICP-MS 系統的操作原理可以圖 1 來說明。ICP-MS 的分析以溶液樣品為主，溶液樣品經由霧化器霧化而噴射進入在大氣壓力下操作的 ICP，樣品在電漿中進行氯化、原子化進而離子化，在典型的 ICP 操作狀況下週期表上的元素皆有相當程度的離子化。對於游離能較大的非金屬和金屬元素只有輕微游離，因此 ICP 較不適於非金屬元素的偵測。

因為 ICP 是在大氣壓力下操作，而質譜儀則

必須在低壓下進行操作，因此離子在作質量分析之前必須有效地被抽入一真空系統，現今所有 ICP-MS 都使用類似圖 1 的界面構造，伴隨著一束中性氣體的離子由取樣器 (第一個小孔) 被抽入真空系統，而在第一真空室裡形成超音速的噴出物 (supersonic jet)，這個超音速噴出物的中間部分再度因為壓力差而通過削減器 (第二個孔洞)，通過削減器之後則有一系列的離子透鏡 (ion lenses) 用來收集、聚焦和傳送離子束進入質譜儀中作測定。

雖然高解析度的雙聚焦質譜儀已經被使用在 ICP-MS 上，但是目前，大部分的 ICP-MS 均使用可得到單位質量解析度的四極式質量分析器 (quadrupole mass analyzer)，在電腦的控制下質量分析器可相當迅速的連續掃描，或是在選擇的 m/z 值上迅速地來回跳躍，因此幾乎可以在同一時間狀況下作多元素分析。當 ICP-MS 和非連續樣品輸入裝置，如流動注入式分析法 (FIA)、液相層析法 (HPLC)、氣相層析法 (GC)、雷射剝蝕 (laser ablation)、電熱蒸發法 (ETV) 等樣品輸入技術連接時，因為四極式質譜儀快速跳躍的能力，通常在作

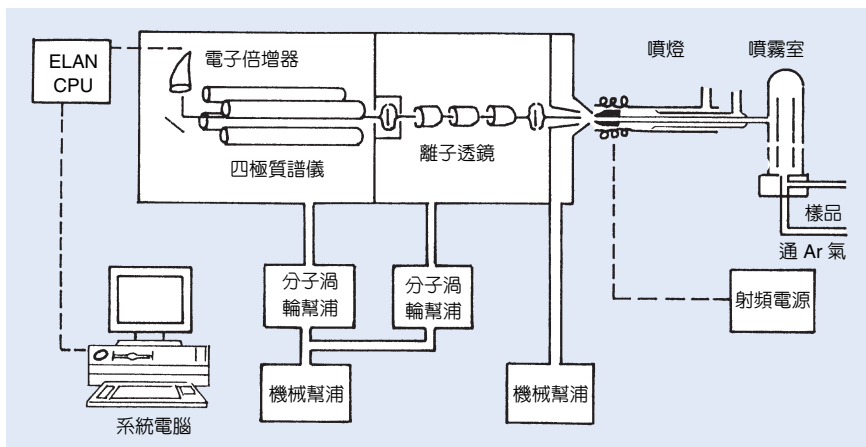


圖 1. 典型的 ICP-MS 儀器構造圖。

多元素分析時，也可以得到良好的時間相關訊號 (time dependent signal)。經過選擇 m/z 值的離子離開質量分析器後被偏折進入一電子倍增器作偵測。ICP-MS 通常使用管道式電子倍增器 (channeltron electron multiplier, CEM) 而在計算脈動型式下操作，當然離子電流的測量也是有可能的。

ICP-MS 最常用於液態試樣的分析，樣品先經霧化器霧化成煙霧質 (aerosol) 後，被送進 ICP 進行原子化及離子化。較常用的霧化器為氣動式霧化器及超音波霧化器，氣動式霧化器又可分為同心式及交叉氣流式，此霧化器使用較為普遍，而超音波霧化器因為有較高的霧化效率，並且具有去除溶劑裝置，因此可以提高靈敏度一階 (order)，而 As、Se、Ge、Hg 等元素可以氫化物 (hydride) 或蒸氣 Hg 的形態輸入 ICP 以增加元素的靈敏度。固態試樣可先溶解，再以前述液態樣品輸入方式送進 ICP，亦可不經溶解直接從固體轉換成蒸氣或泥漿，或者直接將粉狀固體送入 ICP 分析之。例如雷射剝蝕、電熱蒸發法、泥漿霧化法 (slurry nebulization) 都已經成功的和 ICP-MS 結合，可以直接分析固體樣品，而不需要樣品的溶解。近年來因為元素物種分析 (elemental speciation) 漸受重視，液相層析、毛細管電泳、氣相層析已可成功地和 ICP-MS 結合並應用於各種不同元素的物種分析。

2. 分析特性

ICP-MS 的分析訊號依其操作狀況而變，而金屬氧化物離子 (MO^+)、二價離子 (M^{2+}) 等可能之干擾物質的離子強度，同樣也依儀器的操作狀況而變，其中以霧化氣體流速和電漿功率的影響最大。通常對大多數元素而言，可以使用一個折衷的操作狀況進行分析，這對使用 ICP-MS 作例行性多元素分析有相當的重要性。

ICP-MS 有三個相當重要的分析特性，第一，ICP-MS 所使用的質譜偵測法具有絕佳的靈敏度因而可得到相當低的偵測極限，在分析複雜的真實溶液樣品時，大多數的元素都可以得到 0.1 ng/mL 的偵測極限、某些元素，甚至可得低於 0.01 ng/mL 的偵測極限。第二，ICP-MS 可以迅速地直接由溶

液樣品測定同位素比，此功能促進了穩定同位素追蹤研究和利用同位素稀釋法 (isotope dilution) 作元素分析的迅速發展。第三，ICP 的背景質譜非常簡單，由分析物元素所得到的質譜圖也相當簡單 (主要是 M^+ 離子)，因此有利於一般樣品及複雜樣品的分析。但無論如何，光譜性干擾還是無可避免。

除了上述三個獨特的優點外，ICP-MS 還具有一般 ICP 儀器所共有的優點：對多數元素而言，可由單一操作狀況得到最佳分析結果，有相當大的線性範圍 (4–5 階)、輕微的化學性干擾 (指元素間)、分析快速及不錯的精確度和穩定性等。

雖然 ICP-MS 具有相當好的分析功能，但使用者必須面對兩個很重要的問題：光譜性干擾及非光譜性干擾。光譜干擾 (或稱同質量干擾) 是因為分析物的同位素和樣品中共存元素 (或多原子離子) 的某一同位素質量重疊所造成，當光譜重疊干擾發生時，使用者可選擇沒有干擾的同位素進行分析，雖然這樣的選擇可能因為同位素分率的減少，而使靈敏度降低，但一般而言影響不大，或者可要求電腦校正質量重疊干擾，當然這個步驟會使分析時間增加。除元素間同位素同質量所造成的重疊干擾外，光譜干擾也可能因金屬氧化物或金屬氫氧化物離子及二價離子的重疊而造成，也可能是由氬 (Ar) 及氧與樣品基質元素所形成的分子離子所造成。

除了質量重疊問題，分析物的靈敏度可能依樣品溶液中的總溶質濃度而改變，這樣的現象通常稱為非光譜性干擾。任何物質當其濃度大到某一值時都可能造成非光譜性干擾。在分析高鹽量的樣品時，ICP-MS 可能必須遭遇另一個問題：因為在離子抽取的過程中必須將冷卻的取樣器表面伸入電漿，因而加速了鹽類在取樣器表面凝結與沈積的現象，而取樣器會因此受阻塞，造成訊號的漂移 (drift)，因為這兩個因素，通常在作 ICP-MS 分析時應儘可能要求鹽的總量不超過 0.1%，由於 ICP-MS 具有相當高的靈敏度，因此將分析樣品稀釋 (以減少鹽的總量%) 是可以接受的，除此之外，內標準法 (internal standard method)、標準添加法 (standard addition method) 和同位素稀釋法也都已經成功地應用在高鹽度樣品的分析，而不需要將樣品稀釋。

ICP-MS 在使用上雖然有如非光譜性干擾、光譜性干擾、取樣孔易堵塞等限制，但仍難掩它的優點，因此 ICP-MS 的發展，必是指日可待的。

二、結構示意圖

ICP-MS 的基本儀器構造如圖 1 所示，主要包含以下幾個部份：(1) 樣品輸入裝置，(2) 原子化及離子源 (即 ICP)，(3) 質量分析器 (mass analyzer)，一般以四極質譜儀為主，(4) 偵測器，通常使用電子倍增管來偵測離子並放大訊號。

三、應用與用途

1. 同位素測量

ICP-MS 最重要的功能之一是它可以直接由溶液測量微量元素的同位素比，這樣的功能至少有三種可能的應用，第一，ICP-MS 促進了營養學和生物醫學上的穩定同位素追蹤研究；第二，同位素比的訊息有助於地質學家判斷樣品來源及其地質歷史；第三，ICP-MS 可以應用同位素稀釋法作元素分析。

ICP-MS 在同位素測量上有分析迅速和操作簡單的優點，因為樣品是在溶液狀態及大氣壓力下處理，適合於需要分析大量樣品的應用；此外，ICP-MS 可以在 ppb (ng/mL) 的濃度範圍同時測定多種元素的同位素比，每次分析只需要 2–10 mL 的樣品，ICP-MS 同位素比的測定，雖然只有 0.1–1 % RSD 的精密度，但如此的精密度對大多數的應用而言已經適用。

2. 元素分析

很自然的，ICP-MS 另一個重要的應用就是元

素分析，因為 ICP-MS 同時結合了多元素分析和低偵測極限的優點，它可應用於所有 ICP-AES 和 ETAAS 可能的用途上，因此 ICP-MS 已經被廣泛地應用於各種樣品的微量元素分析。由已經發表的結果發現，ICP-MS 在元素分析上的應用至少可以歸納出下列幾個特性：(1) 對大多數元素而言，在複雜的基質中，要得到 0.1 ng/mL 的偵測極限是有可能的。(2) 如果將總溶解固體量保持於 0.1 % 或低於 0.1 %，則在分析時不需要使用基質相似的標準溶液。(3) 內標準的使用可以適當的彌補訊號漂動及基質效應的干擾。(4) 每一元素通常只需 1–10 秒的分析時間。(5) 在某些情況下，分子離子的干擾對樣品中少數元素的分析，可能會造成誤差。(6) 一般而言，只要分析者瞭解可能存在的問題，就算是在極低的濃度下，也可以得到不錯的精密度和準確性。

因為 ICP-MS 具有極強的分析功能，可以預見其將會在環境化學、半導體工業、臨床化學、藥物化學、海洋化學的研究與分析應用上有相當快速的成長，特別是當 ICP-MS 和其他非連續樣品輸入方式連接時，更可以擴展 ICP-MS 的分析能力。

參考文獻

1. R. S. Houk, *Anal. Chem.*, **58**, 97A (1986).
2. J. W. Olesik, *Anal. Chem.*, **63**, 12A (1991).
3. 江旭禎, *化學*, **48** (1), 50 (1990).

作者：江旭禎先生為美國愛荷華州立大學分析化學博士，現任國立中山大學化學系教授。

酸鹼度測定儀

pH Meter

關鍵字：酸鹼度測定儀、參考電極、指示電極

Keywords： pH meter, reference electrode, indicator electrode

一、基本原理

pH 是酸度的一種表示，而酸度乃因氫離子 (H^+) 所引起，這些氫離子的濃度是酸度的測量單位，而酸鹼度測定儀是用來測定酸度的儀器。酸鹼度測定儀配備一支指示電極 (indicator electrode) 及一支參考電極 (reference electrode)，指示電極所使用的是玻璃電極，而參考電極則是使用甘汞電極，當此兩支電極插入樣品溶液時，參考電極係用來維持樣品溶液之恆電壓 (constant potential)，而玻璃電極之感應乃因玻璃滲透膜之金屬離子 (Na^+) 與溶液之氫離子 (H^+) 間之離子交換 (ion exchange) 所引起的電壓變化， Na^+ (玻璃) + H^+ (溶液) \rightleftharpoons Na^+ (溶液) + H^+ (玻璃)。因此酸鹼度測定儀是藉由溶液中氫離子自由進入水解層玻璃薄膜後，而與膜上之鈉離子進行離子交換所得的結果。

1. 指示電極 (indicator electrodes)

對單一分析物之離子或離子團濃度發生改變時，理想指示電極必須具備快速回應性及良好的再現性。如薄膜電極 (membrane electrodes) 是決定 pH 值最方便的方法，是藉著測量被玻璃薄膜所隔開之兩種不同氫離子濃度間的電位，因所取得的數據資料通常都以 p 函數的形式來表示，例如 pH、pCa 或 pNO_3 ，故薄膜電極有時亦被叫做 p 離子 (p -ion) 電極。

酸鹼測定儀一般是使用玻璃電極，如圖 1 所示。其指示電極 (E_{ind}) 是由三種不同電位所造成，(1) 界面電位， $E_b = 0.0592 \log (a_1/a_2)$ ，其中 a_1 和 a_2 分別是分析液及標準液的活性係數；(2) $Ag/AgCl$ 之標準電位 ($E_{Ag/AgCl}$)；(3) 非對稱電位 (E_{asy})。其關係式由下式表示：

$$E_{ind} = E_b + E_{Ag/AgCl} + E_{asy}$$

$$= L + 0.0592 \log a_1$$

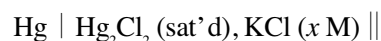
$$= L - 0.0592 \text{ pH}$$

2. 參考電極 (reference electrodes)

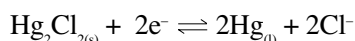
理想參考電極需擁有一穩定電位，此電位不被分析物溶液所干擾，除此之外，即使在小電流存在的情形下，亦要能維持穩定的電位，且參考電極的堅固性及容易組裝性也是相當重要的。

(1) 甘汞電極 (calomel electrodes)

甘汞電極可以下列方式來表示：

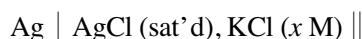


x 表示氯化鉀溶液的莫耳濃度，甘汞電極的電位視半反應而定，其反應式如下所示：

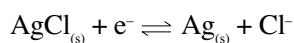


(2) 銀/氯化銀電極 (silver/silver chloride electrodes)

此系統電極與甘汞電極類似，將銀電極浸泡在飽和氯化銀的氯化鉀溶液中，方式如下：



半反應如下所示：



此電極平常是製備在飽和氯化鉀溶液中，在 25 °C 時所具有的電位為 0.199 V。

二、結構示意圖

酸鹼度測定儀是由參考電極和指示電極所組成，參考電極是使用甘汞電極當電極，指示電極是使用玻璃電極當電極，如圖 1 所示。

三、儀器規格與特徵

較早期的酸鹼度測定儀，其參考電極和指示電

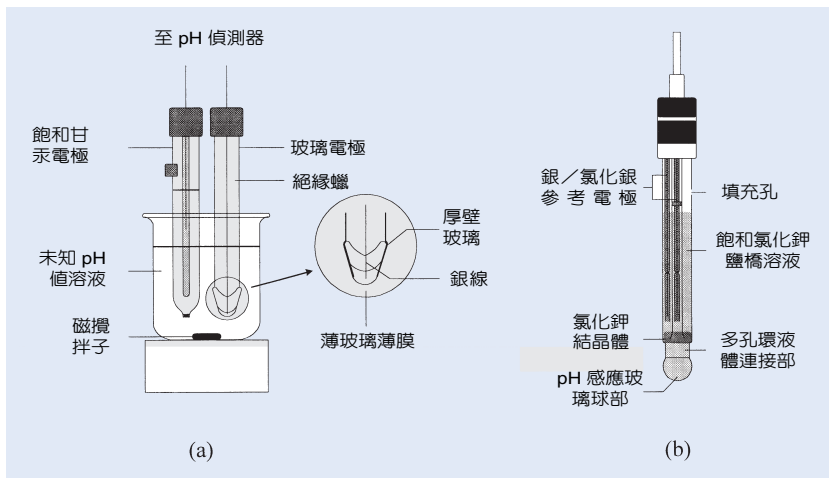


圖 1.
酸鹼度測定儀。

極是個別獨立的，如圖 1(a) 所示，但隨著科技的日新月異以及實驗上所需，目前商售 pH 測定儀都是將參考電極和指示電極合併成一體，如圖 1(b) 所示，如此在體積上不僅更為輕巧，且在測定溶液時將更為便利。然而在每次使用酸鹼度測定儀之前都必須先作校正，才能確實得到正確的測定結果。通常溫度會影響水及酸的解離度，進而影響到 pH 值，因此，一般的酸鹼度測定儀都利用溫度探棒來補償溫度差異所造成 pH 值的偏差。除此之外，對於部分非水溶液系統中 pH 值的測定，亦有不同功能的 pH 電極可供選擇利用。

四、應用與用途

酸鹼度測定儀最常被用來測定水溶液中的酸鹼度，不僅方便，操作亦相當簡單。除此之外，將其調整至電位測定模式，在電位滴定法上的應用更是廣泛，所得到的數據資料比任何使用化學指示劑得

到的結果將更具意義，特別是針對具有顏色的溶液或是混濁溶液中存在的未知物種，均能得到優異的測定結果。由於此儀器可準確地測定各種反應之滴定終點 (end-point)，因此將此儀器和電位沈澱滴定 (potentiometric precipitation titration)、錯合物形成的滴定 (complex-formation titration)、中和滴定 (neutralization titration) 和氧化還原滴定 (oxidation/reduction titration) 等方法結合使用，可有效偵測樣品中多種重要成份之含量等。

參考文獻

1. D. A. Skoog, D. M. West, F. J. Holler, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 5th ed. Sounders college (1988).
2. *Combined pH Electrodes*, Denmark: Radiometer Copenhagen.

作者：古琇文先生為國立臺灣大學化學碩士，現任行政院原子能委員會核能研究所分析組聘僱工程師。

導電度計

Conductivity Meter

關鍵字：電導、比電導、當量電導

Keywords：conductance, specific conductance, equivalent conductance

一、基本原理

對溶液施加一定電力以造成離子移動，並量測所有離子移動所產生電流的總和，稱為電導 (conductance)。影響電解質溶液中電導值的因素，包括溶液中離子數目、電荷數目與該離子在電力下的移動速度。由於所有離子都會對電導值產生貢獻，因此電導法在分析上並不具有選擇性。

電導 (G) 是電阻 (electrical resistance, R) 的倒數，單位為 ohm^{-1} 或 siemens。此值與截面積 (A) 成正比，而與長度 (l) 成反比。即

$$G = \frac{1}{R} = \frac{kA}{l}$$

其中 k 值稱為比電導 (specific conductance)，單位為 $\text{ohm}^{-1} \text{cm}^{-1}$ 。

稀薄溶液中的離子當量電導 (equivalent conductance, Λ)，是指取一克當量溶質在二個相距 1 cm 電極間量測，所得到的電導值。

$$\Lambda_i = 1000 k/C_i \text{ 或}$$

$$k = 10^{-3} \sum Z_i C_i \Lambda_i$$

C_i 是每 cm^3 的當量濃度

Z_i 是正離子價數

離子在溶液中的移動會受四個因素影響：

1. 電力 (electrical force) 是電極電位與離子電荷的乘積，會驅動離子向相反電荷之另一端電極移動。
2. 摩擦力 (frictional force) 是離子於電場中所受之阻力。
3. 電泳效應 (electrophoretic effect) 是由於電位梯度而使電解質的運動產生遲滯現象。
4. 鬆弛效應 (relaxation effect) 由非平衡狀態趨向平衡狀態。

在無限稀薄溶液中，離子間的作用力趨近零，

此時溶液的總電導是所有陰、陽離子電導的總和，即

$$\Lambda_0 = \lambda_+^0 + \lambda_-^0$$

其中， λ_+^0 與 λ_-^0 分別是陽離子與陰離子的當量離子電導，這時候只有前二個因素會影響電導；然而如果是在非無限稀薄溶液中，當量濃度逐漸增加時，則必須同時考慮上述四個效應，而當量電導則會隨濃度增加而降低。

二、結構示意圖

圖 1 是測定電導的基本示意裝置。電導量測的設備，主要包括一個交流電源、一個電阻橋 (resistance bridges) 與一個電池槽 (cell)。使用交流電源的目的，是為了消法拉第電流效應、避免引起化學反應。通常最適當的交流電源，是可以產生 1000 Hz 信號的成音發振器 (audio oscillators)。對於較不精細的實驗，一般 60 週 (cycle) 的電流與 110 - 10 V 的電壓也可以使用，只是法拉第效應會使量測的準確度降低。

量測電導的電阻橋通常是採用惠士敦電橋 (Wheatstone bridge) 設計 (圖 2)，但是此一設計，並不適用於過高阻抗 (非水溶液系統) 與過低阻抗 (溶

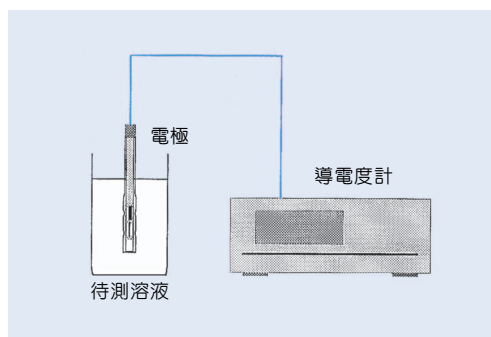


圖 1. 基本電導測定裝置。

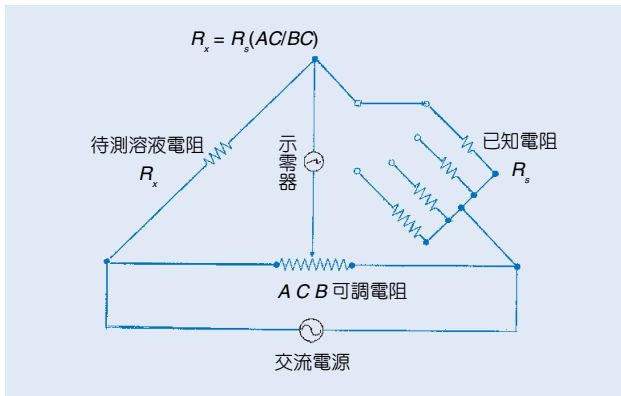


圖 2. 惠士敦電橋。

融鹽類系統) 時的電導。圖 3 是用來測定電導的二種常見電極，構造簡單，主要由一對固定距離的電極組成。這二片電極通常作成平面狀，以增加有效接觸面積與電容 (capacitance)，並降低法拉第電流。

三、儀器規格與特徵

測定電導可使用的電極種類眾多，主要是依據測定的條件 (如樣品體積、阻抗大小與偵測方式等) 決定合適的系統。操作導電計時，須注意之事項有：

1. 電池常數測定

電池常數 (cell constant) 是指長度 (l) 與截面積 (A) 的比值 (l/A)，即 k/G 。通常此一常數很少直接測定，而是利用氯化鉀、氯化鈉等已知比電導值的溶液，進行間接測定後換算。

2. 溫度效應

測定電導時的溫度係數大約是 $2\%/^{\circ}\text{C}$ ，因此實驗必須在恆溫槽等控溫條件下進行。

3. 干擾

常見干擾主要來自樣品離子濃度過高或過低、電極表面遭受污染與未作溫度校正。

四、應用

由於電導法不具選擇性，因此在分析上的直接應用並不多。量測溶液電導的主要應用有二類：直接電導測定與滴定終點測定。

1. 直接電導測定可以利用於水質中總電解質濃度分析，與作為離子層析儀 (ionic chromatography)

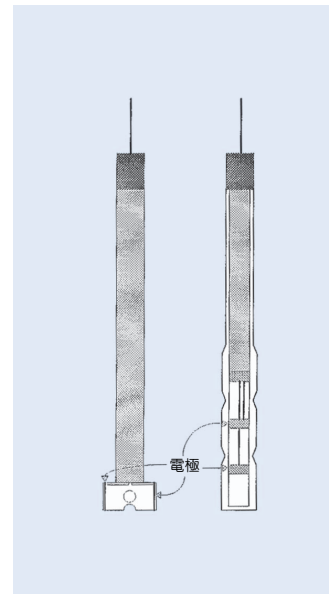


圖 3. 導電度計電極結構。

等儀器的偵檢器。目前在液相層析 (LC)、流動注入分析 (FIA) 等流動系統中，作為連續偵測的導電偵檢器種類繁多、偵測範圍廣泛 ($0.01 - 1000\ \mu\text{S}$)、反應時間短 ($0.2\ \text{sec}$)，而且又可以作定溫偵測與背景校正。

2. 包括酸鹼中和滴定、沉澱滴定與錯合反應滴定等滴定終點測定。如果反應物 (例如氫離子與氫氧離子) 的離子電導度比其反應產物 (例如水分子) 的電導度更高時，電導法是很合適的終點測定方法。此時，其當量終點必須由當量點前後 (各三、四點) 之線性曲線外插相交後取得。影響電導滴定方法準確度的重要因素之一，是當反應溶液中的總電解質濃度過大時，電導度的些微變化量並不容易讀出。

參考文獻

1. D. A. Skoog, *Principles of Instrumental Analysis*, 3rd ed., New York: Holt-Saunders (1985).
2. *CDM 83 Conductivity Meter Operating Instructions*, Denmark: Radiometer- Copenhagen.
3. 行政院原子能委員會核能研究所, 行政院原子能委員會核能研究所環境實驗室標準作業程序書, INER-OM-0064, 桃園龍潭 (1995).

作者：劉古典先生為國立台灣大學化學研究所博士班研究生，現任行政院原子能委員會核能研究所薦任助理研究員。

電位滴定儀

Potentiometric Titrator

關鍵字：電位滴定、指示電極

Keywords：potentiometric titration, indicator electrode

一、基本原理

在滴定反應中，滴定劑加入反應槽中與反應物作用，依據反應物或滴定劑濃度的變化可求出當量點，進而算出反應物的含量。由 Nernst 方程式可知，物質濃度的變化與電位有一定關係。因此如在反應槽中裝置指示電極 (indicator electrode) 來感應反應物或滴定劑的濃度，利用滴定劑體積對溶液之電位做圖，可得一滴定曲線如圖 1。圖中縱座標為電位，橫座標為滴定劑體積。如果電極反應是可逆，且滴定反應是對稱時，則滴定曲線將具有 S 狀特徵性曲線，曲折點即是滴定終點。如將此曲線微分 (以 $\Delta U/\Delta V$ 對 V 做圖)，可得到一尖峰圖，斜率的最大值 (尖峰頂) 即滴定終點。

反應槽中除指示電極外尚需參考電極，一般常用的參考電極有飽和甘汞電極及 Ag/AgCl 電極。指示電極則視反應之種類而定，例如氧化還原反應可用白金當指示電極，酸鹼滴定可用玻璃電極，錯合滴定可用離子選擇性電極等。

二、結構示意圖

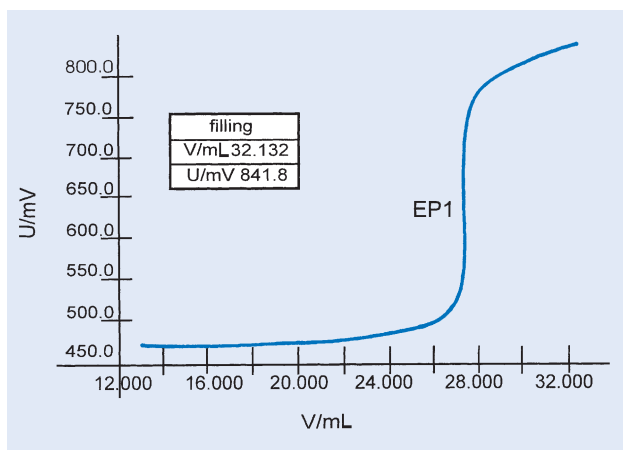


圖 1. 電位滴定之滴定圖形。

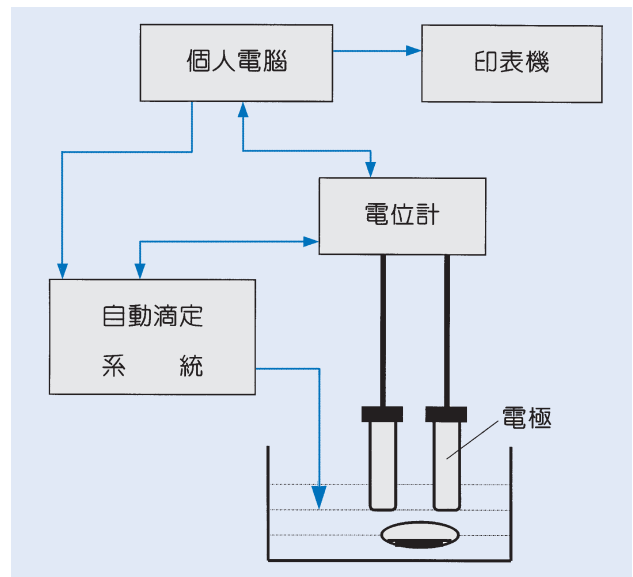


圖 2. 自動電位滴定儀結構圖。

圖 2 是自動電位滴定儀之結構示意圖，主要單元包括滴定槽，自動滴定系統、電位計、個人電腦及印表機等。自動滴定系統內是利用馬達來輸送滴定劑注入滴定槽中，而馬達輸送的快慢則由溶液之電位差來控制。當滴定劑加入後及加入前之電位差很小時，馬達之輸送較快，當電位差愈來愈大時，則馬達之輸送愈來愈慢 (即滴定劑注入量愈來愈少)。自動電位滴定儀除了可自動控制滴定劑之注入快慢外，亦可預設滴定終點。當溶液之電位達到預設之電位時，滴定即停止。

目前商業化之自動電位滴定儀皆有個人電腦，除了可控制電位計及滴定系統外，亦可同時處理及貯存數據及資料，並由印表機列印出。

三、儀器規格與特徵

電位滴定儀之型式頗多，由傳統之手動滴定、半自動滴定至市售之自動滴定等。自動滴定儀配置有個人電腦，可輸入樣品之體積或重量、滴定劑濃

度及其他滴定條件。在完成滴定程序後，可列出滴定曲線、分析數據及分析結果等，分析精確度遠較傳統之指示劑滴定法為高，對於繁重之例行工作有極大幫助。

不同廠牌之自動電位滴定儀，規格上皆大同小異，大部份皆將滴定系統與電位計合併成一個系統，再配合電腦及輸出系統來處理數據及列印。較早期無電腦配備之系統則將滴定、電位計及列印結合成一體，終點的判斷及數據的計算需人為處理。

四、應用與用途

利用指示劑滴定法，由於指示劑會消耗少量之滴定劑，因此所得到的終點並非真正的當量點。而利用電位滴定时，電極測量電位時並不需消耗滴定劑或待測物，所得之終點較能代表當量點。電位滴定法的另一優點是當指示劑之變色不易判別時，可利用電位法來完成。但對於反應速率太慢的反應則不適用電位滴定法，不論這種反應是電極本身的感度，滴定劑與待測物之間的反應，或是中間物的續發反應等。

電位滴定法的應用範圍包括 (1) 水相中 pH 滴定，(2) 非水相滴定，(3) 沈澱滴定，(4) 錯合物滴定，(5) 氧化還原滴定等。表 1 簡單介紹幾種工業上可利用電位滴定法分析之物質。

參考文獻

1. E. P. Sergeant, *Potentiometry and Potentiometric Titrations*, New York: Wiley (1984).
2. D. A. Skoog, D. M. West and F. J. Holler, *Fundamentals of Analytical Chemistry*, 6th ed., Chapter 17. Philadelphia: Saunders College Publishing (1992).
3. *Application Bulletin*, Metrohm Instrument Co. Swiss.
4. *Titration Applications*, Mettler Instrument Co. Switzerland (1995).

作者：黃榮茂先生為國立台灣大學化學博士，現任行政院原子能委員會核能研究所分析組副研究員。

表 1. 工業上可利用電位滴定法分析之物質。

	待測物	滴定劑	工業上
水相	強酸	NaOH	一般
	NH ₄ Cl	NaOH	一般
	草酸	NaOH	一般
pH	鹽酸+醋酸+4-硝基酚+氯化銨	NaOH	一般
	P 鹼度與 M 鹼度	HCl	水質
	果汁中甲醛值	NaOH	食品
滴定	White Liquor	HCl	製紙
	過氧值	Na ₂ S ₂ O ₃	食品
	皂化值	HCl	食品
非水相	溴指標	BrO ₃ ⁻ /Br ⁻	石油
	總酸值	TBAOH	石油
	總鹼值	HClO ₄	石油
	硝化值	環己胺	塑膠、火葯
	環氧值	HClO ₄	塑膠
	菸醯胺	HClO ₄	醫葯
沈澱	氯離子	AgNO ₃	水質
	NaCl	AgNO ₃	食品
	Cl ⁻ +Br ⁻ +I ⁻	AgNO ₃	一般
	SO ₄ ⁼	Pb(ClO ₄) ₂	一般
	Ag	硫代乙醯胺	電鍍、照相
	Ag	KBr	貴重金屬
錯合物	Ca/Mg	EDTA	水質
	EDTA/NTA	CuSO ₄	清潔劑
	金屬	EDTA	電池
	Ni (逆滴定)	EDTA	電池
氧化還原	偶氮化	NaNO ₂	一般、食品
	H ₂ O ₂	KMnO ₄	一般
	過硼酸鹽	KMnO ₄	清潔劑
	Fe(II)	KMnO ₄	一般
	COD	(NH ₄) ₂ Fe(SO ₄) ₂	水質
	I ₂	Na ₂ S ₂ O ₃	一般
	維生素丙	KI ₃	醫葯、食品
	Sn(II)	KI ₃	電鍍、電池
滴定	氧化度	KMnO ₄	水質
	H ₂ O	Karl Fischer	一般
		試劑	

伏特安培儀

Voltammeter

關鍵字：伏特安培儀、循環伏特安培儀、剝除伏特安培儀

Keywords：voltammeter, cyclic voltammeter, stripping voltammeter

一、基本原理

伏特安培儀 (簡稱伏安儀) 主要乃是考慮一工作電極 (working electrode)，藉其上電位改變觀察通過此電極的電流，從電流－電位曲線圖進一步探討分析物性質的一系列電分析方法，為了增加電極的極化 (polarization) 能力，通常工作電極均為微電極 (micro electrodes)，電極表面積不超過幾平方厘米。

伏安法乃是由極譜法發展出來的，因此極譜法一般仍被認為屬於伏安法的一種，不同之處乃在極譜法通常使用滴汞電極 (dropping mercury electrode, DME)，或其他液態金屬電極為工作電極，而伏安法則是使用固體電極。

當一可變電位激發訊號 (potential excitation signal) 加於一電化槽中 (electrochemical cell) 的工作電極時，此激發訊號會導致特定的電流反應，伏安儀最常見的四種激發訊號波形分別為線性掃描 (linear scan)、微分脈衝 (differential pulse)、方形波 (square wave) 及三角波 (triangular wave)，如圖 1 所示。

我們僅就循環伏特安培儀及剝除伏特安培儀原理分述如下。

1. 循環伏特安培儀 (cyclic voltammeter, CV)

循環伏安儀乃利用可逆快速電位掃描 (reversible rapid potential scan) 方法，對一靜止溶液之固定工作電極 (stationary working electrode)，以三角波形電位激發 (圖 1(d))，觀察電流變化情形，以 $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 樣品溶液為例，圖 2 為 $6 \times 10^{-3} \text{ M K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ 在 1 M KNO_3 溶液中之循環伏安圖，在此系統中，鉑電極為工作電極，飽和甘汞電極 (saturated calomel electrode, SCE) 為參考電極，首先電位從 $+0.8 \text{ V}$ 開始，掃描至 -0.2 V ，隨即再由 -0.2 V 回掃至 $+0.8 \text{ V}$ ， $+0.8 \text{ V}$ 及 -0.2 V 稱之為開關電位 (switching potential)，即在此電位掃描方向反轉。循環伏安圖的重要參數分別為：陰極波峰電位 (cathodic peak potential, E_{pc})、陽極波峰電位 (anodic peak potential, E_{pa})、陰極波峰電流 (cathodic peak current, i_{pc}) 及陽極波峰電流 (anodic peak current, i_{pa})。波峰電流強度受溶液濃度及掃描速率影響 ($i_p \propto C_o^* \sqrt{v}$)，在同一濃度溶液中，電位掃描速率愈快， i_p 亦愈大，如圖 3 所示，對一可逆電極反應， $i_{pc}/i_{pa} \sim 1$ ，而波峰電位差 ΔE_p 在室溫下理論上應為 $59.2/n \text{ mV}$ (根據 Nernst 方程式)，所測溶液之還原電位，或稱半電位 (half-potential, $E_{1/2}$) 則為兩波峰電位的中間點 ($E_{1/2} = E_{pc} -$

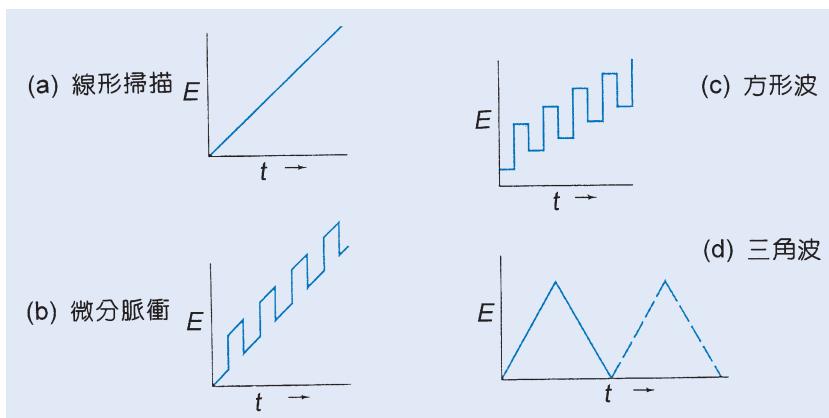


圖 1. 伏特安培儀之電位激發訊號。

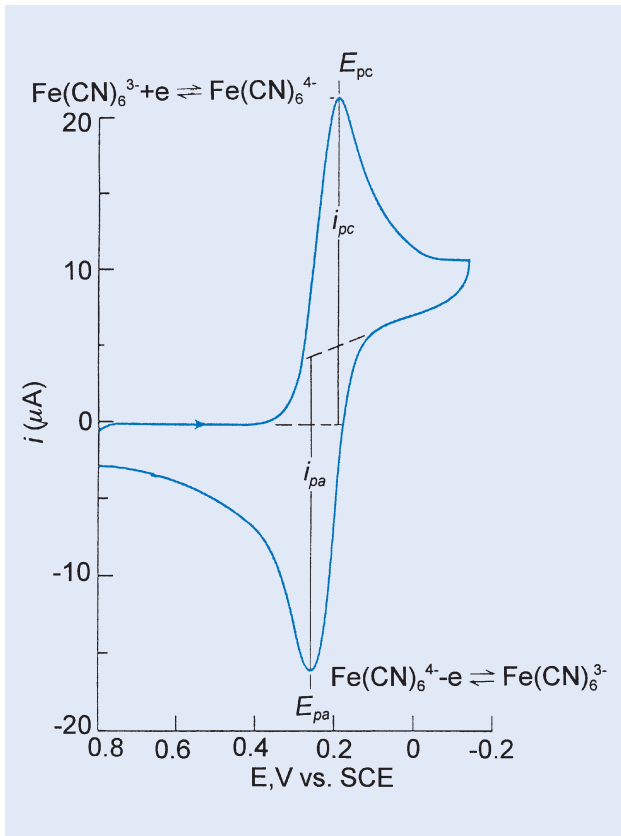


圖 2. $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$ 溶液 ($6 \times 10^{-3} \text{ M}$) 之循環伏安圖， $m = 1.0 \text{ M KNO}_3$ 。

$\Delta E_{p/2} = E_p + \Delta E_{p/2}$)，由於 E_p 會隨掃描速率改變而有移動現象，亦即 ΔE_p 會隨掃描速率加快而變大，如圖 3 所示，因此 ΔE_p 常與理論值有出入，所幸此變化並未影響 $E_{1/2}$ 之準確性。

2. 剝除伏特安培儀 (stripping voltammeter, SV)

剝除伏安法乃是利用大量電解 (bulk electrolysis) 將分析物自溶液中先行濃縮，使之沉澱於一水銀電極內 (通常為懸滴汞電極 (hanging mercury drop electrode, HMDE))，稱之為電沈澱步驟 (electrodeposition)，待此步驟完全後，再利用伏安儀 (通常為線性掃描伏安儀，圖 1(a)) 重新將沈澱物自電極溶解，稱之為剝除，剝除伏安儀因而得名，可分為陽極剝除法 (anodic stripping) 及陰極剝除法 (cathodic stripping)。在陽極剝除法中，微電極在沈澱步驟當作陰極，將金屬離子還原成金屬到電極內，而在剝除步驟裡，微電極則當作陽極，再將金屬氧化成離子狀態，在陰極剝除法中，則電極

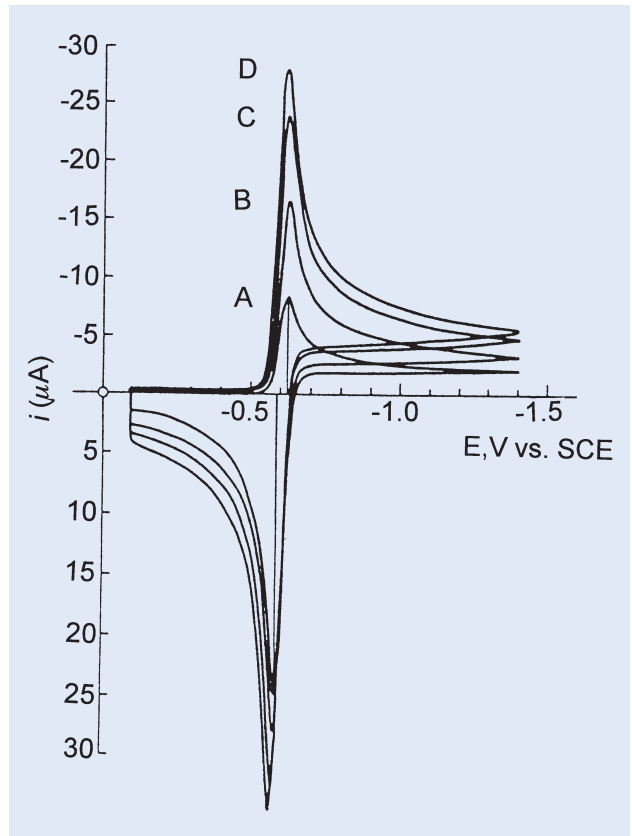


圖 3. 不同掃描速率之循環伏安圖，A. 20 mV/s ；B. 50 mV/s ；C. 100 mV/s ；D. 200 mV/s 。

的功能正好相反。

剝除伏安儀的特色，也就是有別於其他伏安儀之處，乃在多了個電沈澱步驟，使得在剝除步驟中，溶液濃度較原來為高 (通常在 $10^2 - 10^4$ 倍以上)，因此所測伏安電流較不會受到電荷效應及殘留雜質電流的影響，增加分析結果的準確度。圖 4 說明了陽極剝除伏安儀的原理，電沈澱步驟是藉加 E_d 電位於一攪拌溶液中進行， E_d 通常比樣品中最難還原的金屬離子的還原電位小幾百毫伏 (mV)。由於微電極表面積小，此步驟所需時間遠比溶液完全電解所需時間為短。隨樣品不同通常在 60 秒至 30 分鐘不等，電流基本上維持不變 (i_d)，在此步驟金屬沈澱的莫耳數為 $i_d t_d / nF$ ，由於電解並未完全，因此待測樣品及標準樣品 (必須做) 電沈澱條件 (攪拌速率、 t_d 及溫度) 必須相同，以達高準確度，如使用之工作電極為 HMDE，此步驟完成時，停止攪拌溶液，但繼續加 E_d 電位約 30 秒，稱之為休息期 (rest period)，讓溶液靜止不動，以便汞齊

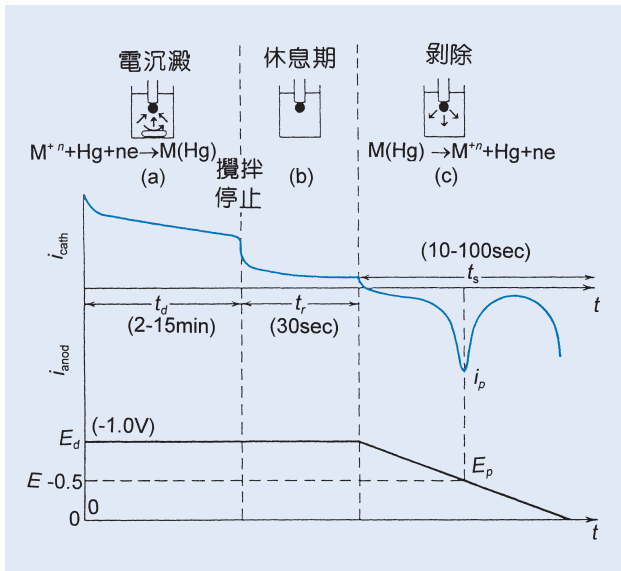


圖 4. 陽極剝除法原理，Cu²⁺ 離子分析。

(amalgam) 內金屬濃度更加均勻，最後剝除步驟則是藉往正電位方向作線性電位掃描而完成金屬分析。

二、結構示意圖

伏特安培儀的設備裝置主要分為兩部份，電位計／電流計 (potentiostat/galvanostat) 及電化槽 (electrochemical cell)，簡單裝置圖如圖 5 所示。不同型式伏安儀所需的特定激發電位波都可由電位計／電流計控制，非常方便，電化槽由三個電極浸置於含支援電解質 (supporting electrolyte) 之樣品溶液中所構成，三個電極分別為：(a) 工作電極，如前所述，伏安儀用的工作電極為微電極，其功能前面已有詳細說明，常用工作極有水銀電極 (如 DME

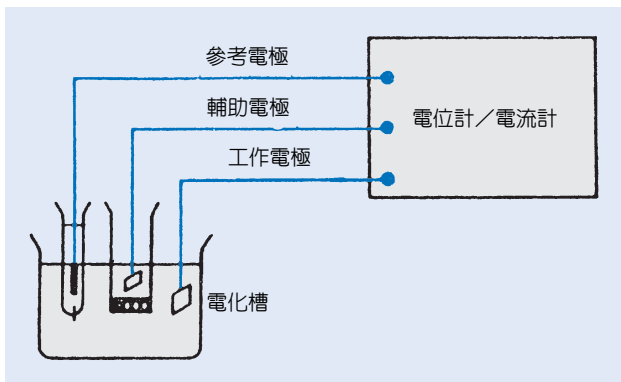


圖 5. 簡單伏特安培儀裝置。

及 HMDE)、鉑電極、黃金電極及玻璃碳電極。(b) 參考電極 (reference electrode)，在水溶液中通常使用飽和甘汞電極，在整個實驗過程中，參考電極電位維持不變。(c) 輔助電極 (counter electrode)，通常為鉑絲 (或片)，目的乃為了在溶液中幫助直流電源與工作電極間的導電，因此通常置於參考電極與工作電極之間，本身並不影響工作電極電位的量測。支援電解質在水溶液中通常為鹼族金屬鹽類，僅用以控制離子強度，並不參與反應。在循環伏安儀實驗裡，樣品濃度一般維持在 $\geq 10^{-3}$ M，而剝除法安儀，因有前濃縮 (preconcentration) 步驟，可偵測到樣品濃度 10^{-6} 至 10^{-9} M。

循環伏安儀的好處是操作方便，尤其測量還原電位，快速且準確，但如果樣品溶液氧化還原過程為完全不可逆，則無法獲得可逆波， $E_{1/2}$ 值只能以理論推測 ($E_p \pm 0.0592/n$ V)，結果將不十分可靠，剝除法安儀的最大好處，便是能分析極稀溶液，為其他電化學技術所無法作到的，但缺點便是僅適用於能被汞所汞化的金屬。

三、儀器規格與特徵

用伏安儀的量測主要限制於工作電極，不同微電極在不同的溶液條件都有其特定的電位適用範圍，圖 6 為鉑、汞及碳電極在不同電解質溶液的電位範圍，在確定實驗所需的電位掃描範圍後，必須慎選合適電極方能獲得可靠的結果。

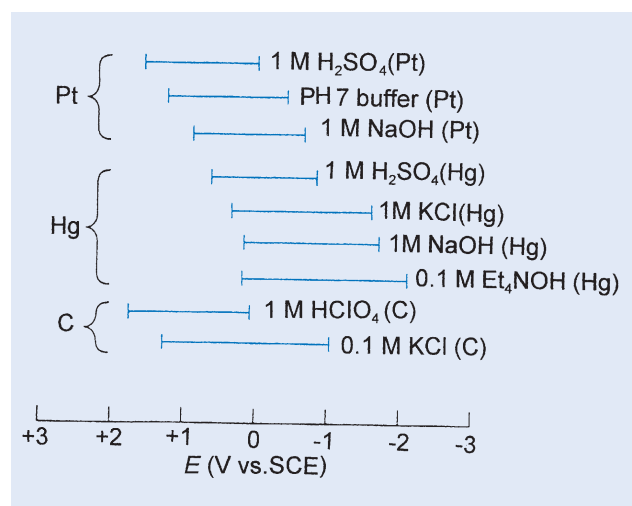


圖 6. 不同電解質溶液電極之電位範圍。

四、應用與用途

循環伏安儀主要用來量測氧化劑或還原劑之還原電位，在探討氧化還原反應之反應機構 (mechanism) 及反應速率上，特別是有機物、過渡金屬錯合離子及生化系統，也是常被使用的重要工具之一。剝除伏安儀一般則是用來偵測極稀溶液之金屬離子，如 Bi、Cu、In、Pb 及 Zn，不管是單一金屬，或是不同金屬混合物，都可適用。

參考文獻

1. D. A. Skoog and J. J. Leary, *Principles of Instrumental*

Analysis, 4th ed., Saunders College Publishing (1992).

2. A. J. Bard and L. R. Faulkner, *Electrochemical Methods*, New York: Wiley (1980).

3. R. N. Adams, *Electrochemistry at Solid Electrodes*, Marcel Dekker (1969).

4. J. A. Plambeck, *Electroanalytical Chemistry*, Wiley-Interscience (1982).

5. P. H. Rieger, *Electrochemistry*, Prentice-Hall (1987).

作者：葉玉堂先生為紐約州立大學石溪分校化學博士，現任東海大學化學系教授。

高效能薄層分析儀

High Performance Thin-Layer Chromatography (HPTLC)

關鍵字：高效能薄層分析儀

Keywords：high performance thin-layer chromatography

一、基本原理

薄層分析法 (thin-layer chromatography, TLC) 可能是所有層析分析法中最簡易的一種。分析時把樣品點在一張塗有靜相的鋁片或玻璃片 (即薄層分析片, TLC 片) 的一端, 將之置入已放入少量動相溶劑 (不得超過樣品位置高度) 的密閉容器中。動相將會因毛細現象而在靜相薄層中移動, 樣品點中的分析物被動相溶解而跟著移動, 並因和靜相的作用力不同而有不同的移動速度造成分離。當動相移動到預定距離時, 停止分析, 取出薄層分析片, 加以呈色或以光譜儀來定性及定量。由於薄層分析法簡單且迅速, 故常被用在快速粗驗樣品組成、幫助選擇高效能液相層析法動相溶劑等方面。其定性方式是利用樣品和動相在 TLC 片上移動之距離的比值 (R_f) 來判斷 (如圖 1 所示)。

$$R_f = (\text{分析物移動之距離}) \div (\text{動相移動之距離})$$

兩分析物 (兩者之間的 R_f 值差為 ΔR_f) 在 TLC 之分離解析度 R_s 可以下式表示：

$$R_s = (\text{動相移動之距離}) \times \Delta R_f \div (\text{兩樣品點之平均寬度})$$

表 1. 三種液體層析分析方法之比較。

	薄層分析法	高效能薄層分析法	高效能液相層析法
薄層片大小	20 × 20 公分	10 × 10 – 10 × 20 公分	管柱長：5 – 25 公分
實際分離長度	10 – 15 公分	3 – 6 公分	5 – 25 公分
靜相粒子大小	20 微米	5 微米	3 – 10 微米
靜相粒徑分佈	10 – 60 微米	極微	極微
理論板高	~30 微米	~12 微米	2 – 5 微米
總理論板高	< 600	< 5000	~10000
須要樣品體積	1 – 5 微升	0.1 – 0.2 微升	0.1 – 100 微升
偵測極限值 (微克ng)	紫外光：1 – 5 螢光：~.05	紫外光：0.1 – 0.5 螢光：0.005 – 0.01	紫外光：0.1 – 0.5 螢光：0.005 – 0.01

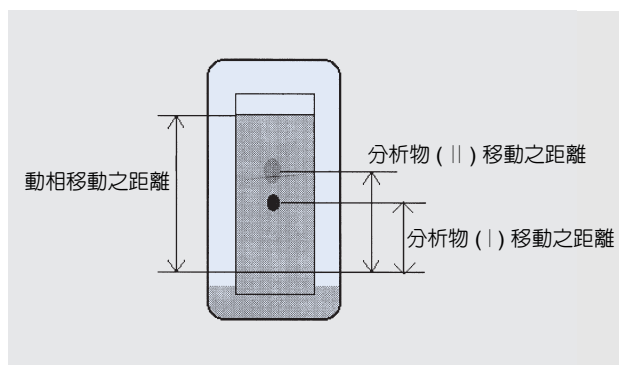


圖 1. R_f 值計算方法示意圖。

傳統薄層分析因靜相粒子顆粒較大 (直徑約 20 μm) 且粒徑分佈較廣 (~50 μm) 使毛細現象不均勻而增加樣品點之擴散作用以致分離效率較低。後來所發展的高效能薄層分析法 (high performance thin-layer chromatography, HPTLC) 就針對此點加以改進, 使用特別純化過的微小 (直徑約 5 – 15 μm) 且粒徑分佈均勻的靜相粒子, 使其分離效率大量增加而近似高效能液相層析法。表 1 為此三種層析分析方法特性之比較。1960 年代也已經發展出與氣相層析儀、液相層析儀連線, 利用兩個以上的分離機制使分離更完全。

二、展開方式

1. 一維展開

把 TLC 片底端樣品點以下部份浸在動相中，動相受毛細現象而在 TLC 片上向另一端上升移動，適用於一般的分析。

2. 圓形展開

(1) 由內向外 (circular) 如圖 2 所示，將分析物點在圓形 TLC 片之圓心周圍，而動相則由圓心由內向外展開，使點被橫向拉長而壓扁，使原本會重疊的兩點分開，適於分離 R_f 值小的分析物。

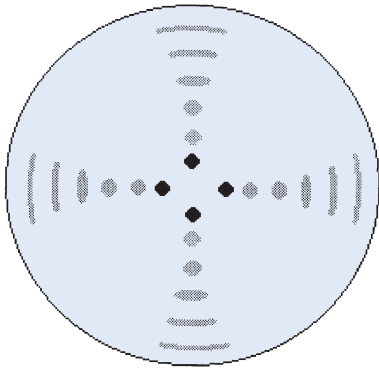


圖 2. 圓形展開(由內向外)。

(2) 由外向內 (anticircular) 如圖 3 所示，將分析物點在圓周邊緣，動相則由圓周邊緣由外向內展開。這種展開方式適於分離 R_f 趨近 1 的分析物，是 TLC 中最快的展開方式，也是 TLC 中樣品容許量最大的。

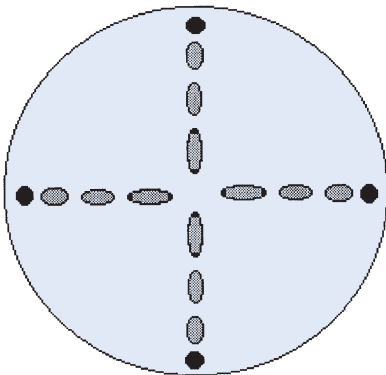


圖 3. 圓形展開(由外向內)。

3. 二維展開

二維展開如圖 4 所示，分析物被點在一片正方形的 TLC 片的一角，以相同於一維展開的方式，作初次的分離；第一次展開完後，取出 TLC 片，待溶劑揮發，將 TLC 片轉 90 度，以第一次分出的各點連線為起跑線，再用第二種溶劑為移動相，相同於一維展開的方式作第二次的分離。這種展開方式就如同先將分析物混合物粗分為數組，再把各組內的數種物質分開，所以解析效果較好。

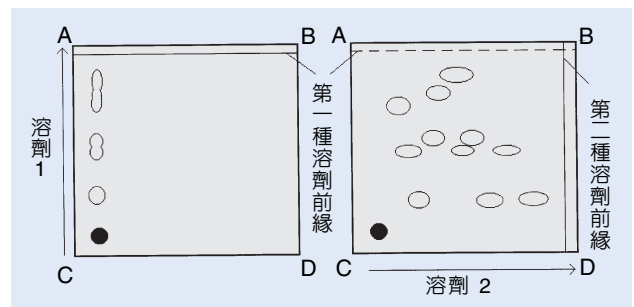


圖 4. 二維展開示意圖。

4. 多重展開

可分為兩種，多用於分析 R_f 值小於 0.5 的分析物。

(1) 使用相同溶劑：當溶劑跑完一固定的距離，完成第一次的一維展開後，取出 TLC 片放在空氣中 5-10 分鐘，待溶劑揮發，再以相同的溶劑，依相同的方向作第二次的展開；如此可重複多次，直到達成所需要的分離。假設每次展開之平均 R_f 值 (1R_f) 約略不變，經 n 次展開後之總 nR_f 值計算法為：

$$^nR_f = 1 - (1 - ^1R_f)^n$$

(2) 使用不同的溶劑：此法和前法相似，但每次展開使用不相同的溶劑，又稱為逐步展開。所使用溶劑之極性須逐步增加或減小以利分離不同極性之分析物。

5. 連續展開

將 TLC 片置於展開槽中，TLC 片上端則須要暴露於空氣中，當溶劑前緣到達容器外時，溶劑可以不斷地揮發掉，使因毛細現象而移動的動相不會停止移動，使分離得以不斷的進行。

三、顯影方式

1. 物理方式 (屬非破壞性)

(1) 光學法

a. 吸收光

分析物能吸收可見光，呈現出其互補色。或分析物本身能吸收紫外光，使用片上摻有螢光或磷光物質的 TLC 片，當照射紫外光時，分析物就呈現出暗點；分析物量愈多，此點就愈暗。

b. 放射光

分析物本身會放出螢光，或以放射性同位素取代原物質中的某些元素，使之具放射性。

(2) 其它方法

a. 親水或疏水性

一般 TLC 片的靜相為親水性，被水潤溼後呈透明狀，分析物若為疏水性，就無法被潤溼而呈現白色。也可用水溶性的色素來潤溼 TLC 片，使 TLC 片未被分析物佔據的部分呈現出顏色。

b. 酸鹼性質

利用分析物本身的酸鹼性質，展開後噴灑或浸酸鹼指示劑而呈色。

c. 碘處理

完成展開後，將 TLC 片放進裝有碘晶體的密閉容器中，放置數分鐘後，碘蒸氣會吸附在 TLC 片上，使沒有被分析物覆蓋的部分呈現出紫色，有分析物的部分則依然維持白色。這種方式適用於大部分的分析物，但碘蒸氣放在空氣中很容易因昇華而消失，所以呈色後應立即作記號。

2. 化學方法

將分析物加以衍生化，如酯化、氧化還原、水解、鹵化等，使分析物上多了能吸收紫外光或放出螢光的官能基，以利光譜儀的偵測。為防止因溶劑過多而降低靈敏度，也為減少因純化步驟造成的損失，一般多是直接在 TLC 片上進行衍生化。衍生化的時機，則可在分離前、分離時或分離後進行衍生化。

分離前，點片時先滴一滴衍生化試劑，再滴上分析物溶液，之後可再滴試劑，以確定試劑是過量的。或用預浸法先將試劑固定在 TLC 片上，待乾後，再進行展開。分離時，把試劑溶在動相中，一

邊展開一進行衍生化。分離後，完成展開後，利用噴灑法、薰蒸法、浸泡法等方式進行衍生化。

四、定性方式

如前所述，定性時可用 R_f 值為依據，但 R_f 值受 TLC 片材質、展開槽中移動相蒸氣量、溫度等許多實驗條件的影響很大。所以定性上多是在 TLC 片上同時點有分析物及一標準品，兩者一起展開，經由比對分析物與標準品的 R_f 值來定性。

五、定量方式

1. 把分析物從 TLC 片上移下再測定

將 TLC 片依分析物各點切下，用溶劑把分析物從 TLC 片上溶下來，然後測溶液的濃度。這種方法必須用肉眼去界定各點的邊線，把分析物移下來時又必須考慮分析物各點與 TLC 片的鍵結強度差異，比較耗時間且較不靈敏，目前較少使用於定量。

2. 直接在 TLC 片上測定

利用直接定量法時，必須注意下列幾點，(1) 點片時，所有分析物及標準品起始點的面積都必須一樣；(2) 分析物及標準品都必須用同一種移動相、在同一片 TLC 片上、用同一種展開條件展開；(3) 標準品的濃度必須與分析物的濃度很相近，才能確保分析值是落在檢量線的最佳線性範圍內；(4) 分析物和標準品的 R_f 值最好一樣，而且最好是在 0.3—0.7 之間。

偵測的方法，包括光譜法及放射性偵測法。

(1) 光譜法可分為穿透式及反射式兩種。

a. 穿透式：看光照射 TLC 片後所穿透過的光，強度較反射式大，但受 TLC 片本身的厚度影響很大；此外，所選的波長受限於玻璃及靜相材質，所以只能選用 320 nm 以上的波長。

b. 反射式：看光照射 TLC 片後所反射或放出的光，強度雖較穿透式弱，但反射光受 TLC 片厚度影響較小，且選用的波長範圍從紫外光到近紅外光都可測。若是以螢光的形式偵測，更可由選擇激發光或放射光的波長，來提高選擇性及靈敏度。

(2) 放射性偵測法，分析物本身為放射性物質時，可用蓋格計數器算計濃度。

計算的方法，又有點面測量法及密度法兩種。

- (1) 點面測量法 (spot-area measurement)：展開後點的面積平方根直接和物質的重量之對數成正比，比例常數隨不同物質而異。經由計算點的面積，就能得到物質的重量。
- (2) 密度法 (densitometry)：一般用的定量方式為密度法，即利用儀器掃描 TLC 片，計算吸收光或放出的螢光量，以強度為縱座標位置為橫座標作圖，便能得到如管柱層析法的光譜圖，以積分儀計算圖上波 (peak) 的面積。從標準品濃度對波的面積作圖，可得一檢量線；經由計算分析物波的面積，比對到檢量線，便能得到分析物的濃度。

六、儀器設備

1. TLC 片

一般薄層色層分析常用的靜相材質為 Silica gel，適用於大部分的分析物；Alumina 也很常用，它又有酸性、鹼性及中性三種形式，當需要用到較酸的吸附劑時，Alumina 就比 Silica gel 有用多了。其它的吸附劑還有 Kieselguhr、Celite、Cellulose、Polyamide、Sephadex 等。有時，為了偵測上的需要，會添加特殊的物質，如紫外光指示劑之類。將上述的靜相固定在玻璃片、鋁片或塑膠片上，一般的靜相厚度大約是 0.1–0.25 mm。

2. 點片機

為使 TLC 能有好的分離效率，又能用於定量，點片時所點的點必須非常小，所點的量要固定。機械點片機能以二維的座標精確定位，並且每一次點的樣品量都能固定。目前商業化的點片機種類很多，所點的樣品面積可小至 0.05 mm²，直徑可小於 1–2 mm。另外，有時為了增加定量的靈敏度，點片時會點成線狀而不用點狀，如 DESAGA TLC-Applicator AS30 可點出 0–100 mm 長的線。有些點片機可同時點很多個樣品點，如 ais 的 TLC Multi-Spotter 就可同時點 18 個樣品。

3. 展開槽

在 TLC 片放進展開槽之前，有時會先把移動相放進槽中，使展開槽充滿移動相的蒸氣，並達分佈平衡，形成已飽合的展開槽，以提高再現性；甚至也有先將 TLC 片懸掛在展開槽內，與蒸氣達平衡後再放下來，浸在動相中進行展開。但也有人比較喜歡用未飽合的展開槽或 TLC 片，因為在展開槽中或 TLC 片上沒有充滿移動相蒸氣的情況下，移動相在 TLC 片上展開時會因揮發而加速移動，以提高 R_f 值。除了最常用的單槽式展開槽，下列幾種展開槽也常被使用。

(1) 雙槽式 (twin-through chamber)

如圖 5 所示，玻璃槽的下端中有一凸起，將展開槽分成兩邊。用這種展開槽，就可同時間，在幾乎完全相同的條件下，完成兩個 TLC 片的展開。另外，雙槽式更常用於 TLC 片的預處理，即先把點上分析物的 TLC 片放在其中一槽，移動相則放在另一槽，待整個展開槽及 TLC 片都與移動相的蒸氣達平衡後，再小心地將展開槽傾斜，使移動相流到放 TLC 片的那一邊，再開始作展開。也就是說，展開槽充滿移動相的蒸氣後，不須再冒著破壞平衡的險打開蓋子才能放進 TLC 片。

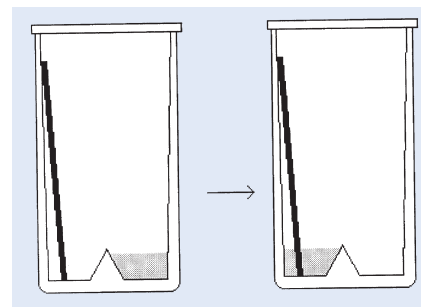


圖 5. 雙槽式展開槽。

(2) 三明治室 (sandwich chamber)

把一片玻璃片及一片 TLC 片放在一起，中間用一個厚約數毫米的 U 形物體將兩片隔開，其形狀就像三明治，兩片中夾著 U 形物體。放置時，是將 U 形物體的開口朝下放進裝有移動相的容器中，玻璃片會因毛細現象將更多的移動相吸上來，加速蒸氣在展開槽中的平衡。

(3) Vario-KS 式展開室

屬於水平式展開槽，含有多個展開槽，所以可以同時進行多個、多種展開條件展開。

(4) U 型展開室

適用於圓形展開。TLC 片上點有分析物的那一面朝下，由一支用步進馬達推動的注射針將動相以固定的速度推到 TLC 片的中央進行展開。展開室的底部作成 U 型，以減小展開室的體積，減少移動相的用量，但又能保持 TLC 片能與移動相蒸氣達飽合。

(5) SB/CD 展開室 (short-bed continuous development chamber)

這種展開室是用於連續式展開。移動相可以以固定又快的速度在 TLC 片上移動，移動的距離又小，所以擴散現象很小，可增加靈敏度。

(6) 自動多重展開儀 (automatic multiple development)

1984 年發展出的自動多重展開儀，點片後放入一般的展開槽中，儀器使會依所設定的動相組成表 (program)，依順調配出極性不同的動相，並自動跑完一連串的展開步驟，以完成一整個多重展開。

4. 偵測儀器

一般 TLC 用的偵測儀器會包括光源、光學系統、分光儀、一個或數個光敏偵測器、讀取系統及一個能移動 TLC 片使之通過偵測器的工具，一般還會配有一個積分儀。

七、應用

HPTLC 的應用範圍很廣，如利用 HPTLC 分離

出 PTH-胺基酸衍生物以定出蛋白質中胺基酸的順序、分析農作物產品中具毒性的黴菌、空氣中的多苯環芳香烴化合物、血漿中的脂質、止痛藥中的阿斯匹靈及咖啡因等等。另外，在臨醫學上，檢查血液中的藥物是很例行的分析工作，而氣相層析儀或液相層析儀一次都只能分析一個樣品，分析一批樣品下來，常必須花上很長的時間；HPTLC 則可同時一次分離多個樣品，而又能有近於液相層析儀的解析度及選擇性，很適合用於這種樣品繁多的醫院實驗室。

參考文獻

1. J. M. Bobbitt, A. E. Schwarting, R. O. Gritterm 原著，吳廷源，李俊智，鄭寶樹，黃倉敏譯，色層分析法概論，再版，臺北：臺北市科學出版事業基金會出版部 (1980)。
2. R. Stock, C. B. F. Rice, *Chromatographic Methods*, 3rd ed., London: Chapman and Hall and Science Paperbacks (1974).
3. B. Fried, J. Sherma, *Thin-Layer Chromatography: Techniques and Applications*, 3rd ed., New York: Marcel Dekker, Inc. (1994).
4. C. F. Poole, S. A. Schuette, *Contemporary Practice of Chromatography*, New York: Elsevier (1984).
5. H. Jork, W. Fuk, W. Fischer, H. Wimmer, *Thin-Layer Chromatography, Reagent and Detection Methods Volume 1a*, VCH Verlagsgesellschaft (1990).
6. H. Jork, W. Fuk, W. Fischer, H. Wimmer, *Thin-Layer Chromatography, Reagent and Detection Methods Volume 1b*, VCH Verlagsgesellschaft (1994).

作者：桂椿雄先生為美國楊百翰大學分析化學博士，現任國立成功大學化學系副教授。
周生郁先生現為國立成功大學化學所碩士班學生。

氣相層析儀

Gas Chromatography

關鍵字：氣相層析、載流氣體、填充管柱、毛細管柱

Keywords： gas chromatography, carrier gas, packed column, capillary column

一、基本原理

層析法是將混合物中的成份藉由流動相的攜帶流經固定相 (或稱靜止相)，因樣品成份有不同的移動速率而將之分離。在氣相層析法中惰性載流氣體即為流動相，至於固定相是將高分子液態薄膜滯留在細粉的表面上或是均勻地塗佈在毛細管壁上。分析物經過管柱的移動速率是由流動相和固定相之間分配比來決定，混合物中的成份在固定相遲滯愈久，則會花較長的時間流出管柱，因此能將各成份分離。

二、結構示意圖

圖 1 是氣相層析儀器的示意圖，通常載流氣體是儲存於壓縮氣體鋼瓶中的惰性氣體，藉由壓力調節器和氣體控制閥將載流氣體通入可溫控的樣品注射器內，此注射器的溫度可足夠將所注入載流氣體中的樣品氣化後，再導入連接於注射器的層析管柱內。管柱的出口附有一偵測器偵測由管柱溶析出來的各化合物，此偵測器是不可以偵測到載流氣體的訊號。各化合物的層析訊號經由數據記錄器而製作

成感度對應於時間的層析圖譜。

三、儀器規格與特徵

氣相層析儀的基本組件可分為氣體供應源、樣品注入系統、管柱形式、管柱溫控烘箱及偵測器，分述如下：

1. 氣體供應源

載流氣體必須是惰性氣體，包含氦、氬、氮、氫及二氧化碳等氣體。不同的偵測器選用不同的載流氣體。氣體供應組裝包含有壓力調節器、壓力計及流量計，此外，載流氣體系統常含分子篩以去除水份及其它不純物。

2. 樣品注入系統

樣品注入系統在氣相層析分析是一重要部份，因為不好的注射技術會導致較差的管柱解析度以及定量結果，因此樣品注入於管柱口須能代表原混合物的成份。注射於層析中的樣品量須符合管柱的容量以防止固定相超過負荷而造成管柱解析效率的退

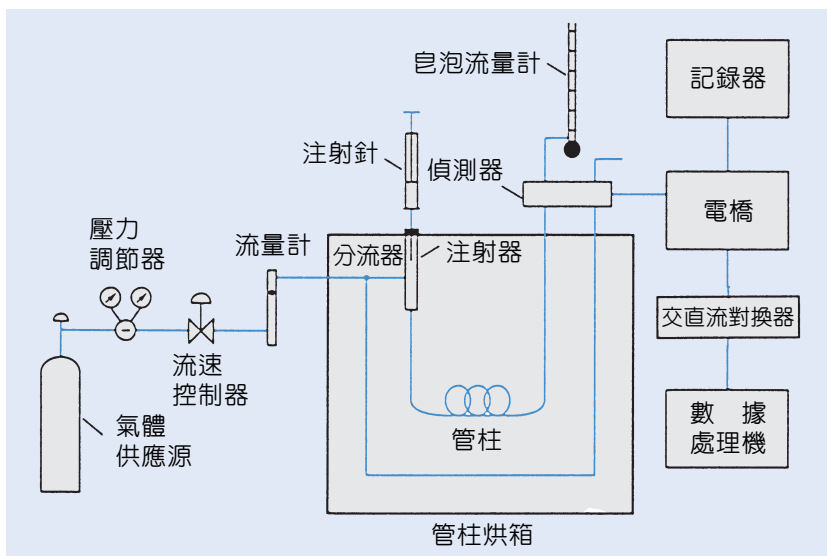


圖 1. 基本的氣相層析儀裝置圖。

化。

樣品注入系統目前較常用的有 (1) 已知體積的樣品迴路利用旋轉閥將氣體注入管柱；(2) 樣品先以吸附劑吸附，再以熱脫附方式將樣品注入氣相層析儀；(3) 利用微量注射針將液態或氣態樣品經由矽膠密封墊片注入位於管柱頂部可加熱的樣品入口處。對於定量分析而言，樣品注射有好的再現性才能得到好的精密度。

3. 管柱形式

氣相層析管柱可分為填充管柱和毛細管柱兩種形式。管柱的固定相必須可將支持物表面完全覆蓋且是均勻厚度的薄膜，而該支持物是愈具鈍性愈好，此薄膜必須在執行分析過程中的最高溫度時仍具有不被分解或蒸發之熱穩定性，通常固定的分子和支持物表面的分子必須產生化學鍵的作用或使用物理產生類似高分子的薄膜固定在適當的位置上，具有一個鈍性的表面須要消除所有支持物上面的活性部位。表 1 為典型的層析管柱特性的比較。

4. 管柱溫控烘箱

對於精密的分析工作，管柱的溫度是一個重要的變數，因此須將管柱溫度控制在十分之幾度的範圍內，盤繞的管柱通常置放於恆溫烘箱中，最佳的溫度是依樣品成份的沸點而定，對於沸點範圍較廣的樣品，在層析過程中需要使用連續地或逐步地增加管柱溫度以增進其解析程度。

5. 偵測器

一般理想的偵測器具下列特性：(1) 適當的感度，(2) 好的穩定性和再現性，(3) 廣的線性範圍，(4) 溫度範圍可從室溫至 400 °C，(5) 短的感應時間，(6) 可信度高且易操作，(7) 對各種分析物質有一致的感應，或是對於一種或多種分析物質可作選擇性的感應，(8) 樣品不被破壞。目前較常使用的偵測器有熱傳導性偵測器、火焰離子化偵測器、電子捕捉偵測器、氮磷偵測器、火焰光度偵測器、電解導電感應偵測器、光離子化偵測器及質譜儀等，但沒有一種偵測器具有上述所有的特性。

表 1. 氣相層析管柱特性比較表。

	管柱之類型			
	毛細管柱			填充管柱
	FSOT*	WCOT*	SCOT**	
長度 (m)	10-100	10-100	10-100	1-6
內徑 (mm)	0.1-0.53	0.25-0.75	0.5	2-4
效率 (板數/m)	2000-4000	1000-4000	600-1200	500-1000
樣品大小 (ng)	10-75	10-1000	10-1000	10-10 ⁶
相對壓力	低	低	低	高
相對速度	快	快	快	慢
化學惰性	最佳	—————→		最劣
可撓性	是	無	無	無

* 熔化石開管管柱；+ 管壁塗層式開管管柱；** 撐體塗膜開管管柱 (也稱為多孔層開管 PLOT)。

四、應用與用途

氣相層析具有分離和分析的功能，其中層析圖的滯留時間可做為定性鑑定，而尖峰高度或面積可做為定量分析的資料。

1. 定性分析

氣相層析圖可用於鑑定有機化合物的純度，由圖譜上額外的尖峰可顯示污染物的存在，此技術亦可用於評估純化程序的效率。層析圖上尖峰滯留時間可用於鑑定混合物的成份，利用標準品可確認混合物中可疑的成份，作法是添加標準品於混合物中，當其層析圖沒有出現新的尖峰，但原尖峰變大，則可確認此成份；若同時用不同管柱及不同溫度分析且有重覆效應，則此鑑定可更加的信服。

2. 定量分析

層析定量法是根據一個或多個標準物比較分析尖峰的高度或面積，只要層析條件控制得宜，尖峰高度或面積應與濃度呈線性關係。一般定量分析可分為 (1) 利用標準品作校正：配製欲分析物一系列的不同濃度標準品，由標準品層析尖峰的高度或面積與濃度作一函數圖形，理論上，由數據作出的圖形應是通過原點的直線，根據此函數圖形即可作為定量分析用；(2) 利用內標準品定量：使用此方法時，內標準品的尖峰須與樣品中所有成份的尖峰完

全分開，才能得到良好的效果，但亦須靠近欲分析物的尖峰；將內標準品注入標準溶液和樣品中，所得到分析物層析尖峰高度或面積相對於內標準品尖峰高度或面積的比值作為分析參數。

參考文獻

1. D. A. Skoog and J. J. Leary, *Principles of Instrumental*

Analysis, 4th ed., Saunders College Publishing (1991).

2. F. W. Karasek and R. E. Clement, *Basic Gas Chromatography-Mass Spectrometry : Principles and Techniques*, Elsevier (1988).

作者：盧正權先生為美國加州大學 Irvine 分校化學博士，現任工業技術研究院化學工業研究所研究員。

低壓液相層析儀

Low Pressure Liquid Chromatography (LPLC)

關鍵字：低壓液相層析儀、凝膠過濾層析法、離子交換層析法、親和式層析法

Keywords：low pressure liquid chromatography, gel filtration chromatography, ion exchange chromatography, affinity chromatography,

一、基本原理

一般所謂低壓液相層析儀 (LPLC)，管柱壓 (back-pressure) 往往低於 100 psi，與高效液相層析儀 (HPLC) 最大的不同點，是在於 LPLC 系統的層析管柱和低壓溶劑運送裝置。其基本組件主要是一個簡單溶劑運送泵、自行裝填的層析管柱 (填充的粒子直徑約在 50–200 μm 範圍)、紫外光/可見光偵檢器和記錄器，由於此層析系統主要是應用在樣品的製備和純化，所以通常在記錄後會接一個溶析液分液收集器 (fraction collector)，以便將分離或純化後的溶析液，在一定的時間間隔中，將其收集以便做更進一步的處理。

LPLC 目前使用上有三種主要方法，茲分述如下：

1. 凝膠過濾層析法 (gel filtration chromatography)

此法又稱為尺寸排除層析法 (size exclusive chromatography)，主要是依據樣品分子的尺寸大小，而將樣品分離。裝填的凝膠主要成分是具有有一定規則孔洞大小的 polyacrylamide 或 agarose beads，其主要作用是使樣品中比孔洞小的分子能進入到孔洞中滯留，使小分子溶析的速度減慢，而其中比孔洞大的分子因無法進入到孔洞中而被所謂排除在孔洞外，它們以流動相的速度，快速通過管柱，而將大小分子彼此分離或純化。在此種層析技術中，分析物與固定相之間要沒有化學或物理的交互作用。事實上，應盡量避免有此種交互作用的發生，否則會降低其管柱效率。

此種技術主要是用來分離蛋白質，估算蛋白質的分子量，樣品的去鹽化 (desalting) 或淨化之用，以便能做更進一步的處理。如圖 1 所示，為一典型的利用凝膠過濾層析法，將不同蛋白質以其分子量

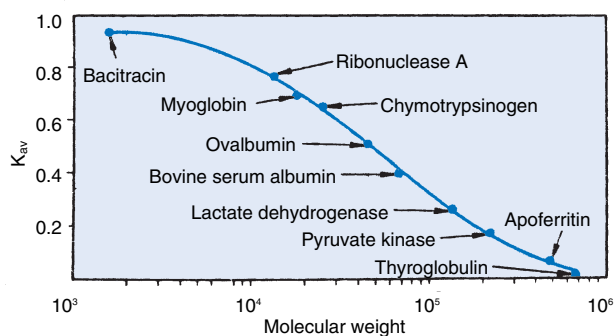


圖 1. 已知分子量蛋白質與其在管柱中分配係數所做成之分配曲線⁽²⁾。

和分配係數 (K_{av}) 所做成之分配曲線，由此曲線可以估算未知分子量的蛋白質。

2. 離子交換層析法 (ion exchange chromatography)

利用相反電荷間相互吸引而將樣品分離，離子交換樹脂上帶有正電荷或負電荷之官能基，與樣品中帶有相反電荷的分子相吸引。這些被吸引的樣品，再因改變流動相的離子強度，而被溶析下來，而達到分離或純化的效果。此種技術已被廣泛的使用在濃縮稀釋的生物大分子、淨化有機溶劑和分離環境中之毒物上。由於在使用離子交換層析法時，流動相的離子強度需要改變，所以一般都使用鹽類緩衝液，以梯度溶析法將含有不同離子強度的分析物溶析出來。一般常見的離子交換樹脂，用於陰離子交換上的是 diethyl aminoethyl (DEAE)，而用在陽離子交換的是 carboxymethyl (CM)。

3. 親和式層析法 (affinity chromatography)

利用蛋白質或生物大分子與激素 (enzyme)、抗原或抗體間具有高度選擇鍵結特性，而達到分離或

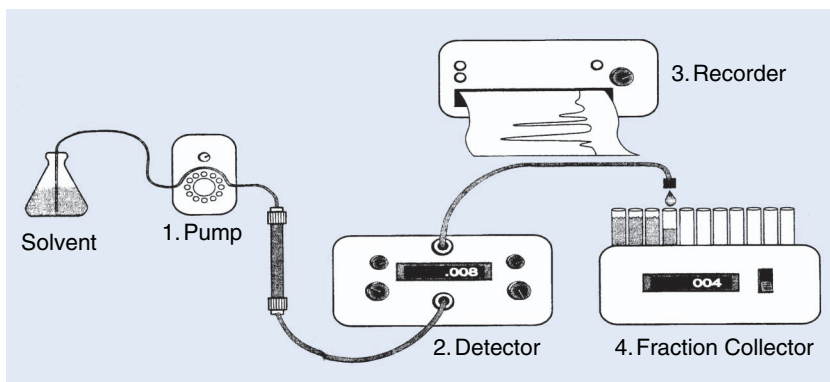


圖 2. 典型的低壓液相層析系統。

純化的效果。在 polyacrylamide 或是 agarose 所製備的凝膠上，加上具有活性的基團 (ligand)，此種方法對於純化或濃縮蛋白質具有絕佳的效果。如同離子交換法，典型的親和層析法也需使用梯度溶析法將被鍵結的分析物溶析下來。填入管柱中的親和性媒質 (affinity media) 可分為：

- (1) 群體特性媒質 (group-specific media)。能將一群具有相似特性生化大分子與其他不相同的混合物分離，而不只是對單一大分子作用。如具有肝磷脂 (heparin) 基團的媒質，能對含有 β -pleated sheet domain 的蛋白質產生親和作用，所以能用來純化脂蛋白、脂蛋白脂激素、生長因子及一些對核酸具有分解能力之激素。
- (2) 活性媒質 (activated media)。在媒質中具有活性的官能基直接與蛋白質或其他基團結合 (coupling)，例如溴化氰活化基團 (cyanogen-bromide activated matrix) 便是一典型例子。
- (3) 反應性媒質 (reactive group media)。媒質能與蛋白質或其他生化大分子中的官能基反應形成共價鍵結 (covalent bonding)。

二、結構示意圖

一套基本的低壓液相層析系統，如圖 2 所示，由四個主要組件構成。

溶劑運送泵 (pump) 將溶劑運送到層析管柱上，將管柱中要分離或純化的樣品溶析出管柱，再送到偵檢器和記錄器，最後再將溶析液，在一定時間間隔中，以分液收集器收集，以便做進一步的處理。

三、儀器規格與特徵

茲將兩個主要組件：泵 (pump) 和偵檢器 (detector) 說明如下：

1. 泵

目前被大量使用在 LPLC 上的泵系統為一種蠕動式泵 (peristaltic pump)，此類泵具有穩定、簡潔和便宜的特性，其能提供很慢的流動相流速，以適應低壓層析技術。與一般 HPLC 泵的最大不同處，在於蠕動式泵不直接與被傳送的液相溶劑相互接觸，因此任何與運送溶劑管線 (tubing) 相容的溶劑都可使用此類泵，而提高 LPLC 的應用性。目前在市面上使用比較普遍的管線材質主要有 silicone、Viton 和 Tygon，其中又以 silicone tubing 使用最為廣泛，因其價錢便宜且壽命較長。表 1 例舉這三種材質管線與流動相溶劑間的相容關係。

在購買蠕動式泵時應注意以下幾點：

- (1) 可同時使用的管線數目，一般而言單一管線的蠕動泵便可以使用，但若同時提供多管線的

表 1. 管線材質與溶劑間的相容關係。

溶劑	Silicone	Viton	Tygon
醇類 (methyl, ethyl)	Y	Y	N
烷基類	N	Y	Y
含鹵族碳氫化合物	N	Y	N
生物緩衝液：Tris, Tris-HCl, MOPS, HEPES, etc.	Y	Y	Y
稀鹽酸	Y	Y	N
硝酸	N	Y	N
磷酸	N	Y	N
硫酸	N	Y	N
磷酸鈉鹽	Y	Y	Y

泵，則可同時使用在多個層析管柱上而增加樣品處理效率。

- (2) 流速範圍及其再現性。
- (3) 穩定性，能否提供低流速如 50 mL/hour 的流速。

2. 偵檢器

紫外／可見光 (UV/Vis) 偵檢器為目前使用最為廣泛的偵檢器，主要是依據此類輻射被樣品吸收。其中又以固定波長式偵檢器 (fixed-wavelength detector) 最為流行，一般都將波長設定在 254 nm 上。在這個波長上，汞光源燈提供最強的輻射線性光源。

螢光偵檢器 (fluorescence detector) 有時也被使用，主要用在能夠激發螢光的樣品或其衍生物上。例如經過衍生化後的胺基酸、類固醇或維生素，其優點為具有很高的靈敏度和選擇性，但缺點是能激發的樣品種類不多，衍生的方法也有限。在購買偵檢器時要注意以下幾點：

- (1) 偵檢器可使用的波長範圍。

- (2) 靈敏度範圍。

- (3) 偵測極限和雜訊 (noise) 大小。

- (4) 操作時的溫度範圍，能否置於冷房 (cold room) 中使用。

四、應用與用途

低壓液相層析法目前已被生化學家和化學家大量使用，主要是用來純化蛋白質、DNA/RNA、胜鈦類、抗體、荷爾蒙、脂蛋白、類固醇、有機毒素等。由於其使用方便且價格便宜，在工業界、製藥界以及各研究機構的實驗室中已被大量使用，其目的是用來做樣品的初級製備、分離或純化。

參考文獻

1. P. F. Bailey and K. C. Patt, *The LPLC Handbook*, Isco, Inc. press (1992).
2. T. G. Cooper, *The Tools of Biochemistry*, NY: John Wiley and Sons (1977).

作者：丁望賢先生為美國紐約州立大學化學博士，現任國立中央大學化學系副教授。

高效能液相層析儀

High Performance Liquid Chromatography

關鍵字：高效能液相層析儀

Keywords：high performance liquid chromatography

一、基本原理

高效能液相層析儀的基本原理主要還是源自於層析法 (chromatography) 以及氣相層析儀的基本理論。藉由混合物中各成份對於不同靜相 (stationary phase) 物質與動相 (mobile phase) 之間移動速率的不同而達到分離效果的一種分離設備稱之。其操作的方式是將含待測物之樣品溶於溶劑中，然後注入一利用幫浦 (pump) 帶動之溶劑流 (solvent stream) 中，使之通過一填充有固態分離物質之管柱，藉由待測物在溶劑 (前述之動相) 與固態分離物質 (前述之靜相) 中移動速率之不同分離不同待測物，上述設備的組合稱之為液相層析儀。之所以稱之為「高效能」，其主要目的在於與早期發展之以「玻璃管柱」的層析法有所分別，故稱之為「高效能液相層析法」。

分離管柱是提供待測物分離之最主要區域，可以稱之為「高效能液相層析法」的「心臟」，其分離的主要方式分為四種：

1. 分配層析法 (partition chromatography)

矽凝膠或矽酸是分配層析法最常用之固體分離物，由於此物質吸水性甚強，故靜相為親水性，動相則為純溶劑或溶劑的混合物充當之，其目的在於使動相與靜相間有明顯的極性差異而不互溶，藉極性的相互吸引達到分離的效果。使用此法時極性與沖提強度是關鑑的兩大因素。

2. 吸附層析法 (adsorption chromatography)

吸附層析法所使用之靜相是細顆粒固體的表面，當溶質與沖提溶劑進入分離管柱後，由於兩者吸附力之不同，相互競爭固體表面的吸附位置，而造成滯留時間之不同，達到分離的效果。基本上矽凝膠是液體／固體層析法最常用之吸收劑。另外配

合改變溶劑的沖提強度 (eluent strength)，使用梯度沖提法可以達到更好的分離效果。

3. 離子交換層析法 (ion-exchange chromatography)

離子交換層析法中最常用之分離物質是離子交換樹脂，通常其使用之溶劑是水，而被分離之物質是離子，離子交換發生在溶液與所接觸之分離固體間同符號離子的互換過程，由於合成之交換樹脂多含有大量離子官能基作為離子交換之用，藉此陰陽離子互換的過程達到分離的效果。

4. 排除或膠化層析法 (exclusion or gel chromatography)

排除層析法 (或稱為膠化層析法)，待測物分子或離子滯留在管柱內的時間取決於該分子或離子穿透在分離物質 (膠狀物) 中孔隙位置的程度決定，大的分子或離子無法完全進入內部，而較小的分子或離子則可以自由進出該孔隙，因此較大的分子很快穿過管柱，小分子則滯留在後，此種藉待測物分子或離子穿越孔隙之方式稱之為排除層析法。

除了上述四種分離基本理論之外，一套良好的高效能液相層析儀尚需其他組件的配合，主要的部份包括：

1. 動相及動相儲存器與溶劑處理系統

基本上前述及分配、吸附與離子交換層析法等是待測物與動相之間的靜電交互作用，所以待測物之滯留時間與溶劑有相當的關係，而排除層析法，則與動相是非相互作用的，因此較不受溶劑影響。分離過程中待測物、動相、靜相三者之間的交互作用力需予平衡，通常以相對極性來表示該種特性，一般來說碳氫化合物極性 < 醚類 < 酯類 < 酮類 < 醛類 < 醯胺類 < 醇類 < 水，因此要在合適的

時間得到良好的分離效果必須慎重考量待測物、動相、靜相三者之間的極性。

動相儲存器的主要功能在於長時間供給溶劑予高效能液相層析儀使用，由於溶劑中通常會溶解空氣(氧和氮)故須利用脫氣器(degas)予以去除，以避免造成干擾。另外就是所謂等位沖提與梯度沖提分離技巧的使用，亦可以大幅提高分離效率。

2. 幫浦

幫浦的選擇條件，必須考慮耐壓、避免產生脈衝、足夠的流速範圍、流動之再現性良好、耐腐蝕性等，通常幫浦的型式有：往復式、位移式、氣動式等各有其優、缺點，在購置儀器設備時可以納入考量的重點。

3. 樣品注入系統

主要考量重點在於提供一再現性良好且不會產生壓降之樣品注入系統，目前使用之系統多以樣品注入閥或線圈的型式，體積的變化可供多重選擇且準確性高，是較佳的選擇。

4. 層析管柱

層析管柱的選擇條件如下：管柱長度、分離物質之成分及粒子大小、分離板數高、溶劑消耗率低等條件。另外再配合引導管柱(guard columns)之使用，用以清除溶劑中微細粒子，必要時亦須考慮管柱是否需要加溫以符合分析條件。

5. 偵測器

理想的偵測器通常要求能有下列特性：

- (1) 具相當之靈敏度。
- (2) 有良好的再現性與穩定性。
- (3) 對待測物的反應呈線性。亦即具穩定之反應性。
- (4) 反應時間短，並受流速變化影響小。
- (5) 容易操作且可信度高。
- (6) 對待測物屬特定性反應或通用性。
- (7) 對待測物為非破壞性。
- (8) 價格低廉。

一般常用於高效能液相層析儀的偵測器可以分

為三類：

- (1) 依照動相與待測物之特性而使用之偵測器。
- (2) 依照動相之特性而使用之偵測器。
- (3) 將動相汽化去除後再依照動相之特性而使用之偵測器。

目前較常應用於高效能液相層析儀的偵測器有：

- (1) UV/可見光偵測器(UV/visible detector)，
- (2) 螢光偵測器(fluorescence detector)，
- (3) 折射率偵測器(refractive-index detector)，
- (4) 電化學偵測器(electrochemical detector)。

其他類型之偵測器尚有紅外線偵測器(infrared detector)、質譜偵測器(mass-spectrometric detector)等，上述各偵測器各有其優、缺點，使用者可以依待測物之特性、分析方法與欲達到之分離程度選用適當之偵測器配合分析。

二、結構示意圖

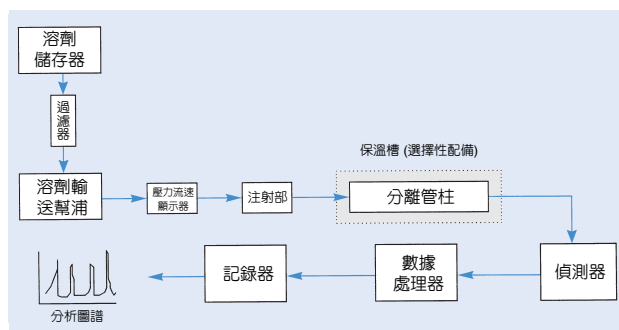


圖 1. 高效能液相層析儀各部示意圖。

高效能液相層析儀基本上是由圖 1 所示之各部份所組合而成，在操作上只要了解各部份之主要功能，基本上並不難，惟針對不同的待測物之特性如何選用適當的溶劑、流速、注入樣品的體積、分離管柱、分析條件以及偵測器以達到最佳的分離效果及分析圖譜則需靠經驗的累積或不斷的測試加以配合，以下簡述各部之主要功能：

- (1) 溶劑儲存槽：用以儲存分析時所需之溶劑。
- (2) 過濾器：用以過濾溶劑中之雜質，淨化用。
- (3) 輸送溶劑用幫浦：用以輸送溶劑用，可以定速或成梯度輸送。
- (4) 壓力及流速顯示器：用以指示系統內壓力及流

速控制用。

- (5) 注射部：用以注入樣品之用，可供選擇不同注入體積。
- (6) 分離管柱：用以提供樣品分離之區域，內含淨相填充物質。
- (7) 偵測器：配合待測物之特性所選用之不同偵測儀器，如 UV 或螢光偵測器。
- (8) 數據處理器：用以處理偵測器所傳送之信號。
- (9) 記錄器：用以記錄偵測器所傳送之信號。
- (10) 分析圖譜：經分離管柱分離後之各成份所出現之分析圖譜。

三、儀器規格與特徵

目前商業上所銷售之高效能液相層析儀無論式樣及功能均相當完備且多樣化，但基本上均少不了如圖 1 之各部份。因此使用者在選擇上除了滿足本身在分析工作上之需求外，可以作適當之調配以發揮儀器之最大效益，當然選購同廠牌整套之設備在使用上及維護保養上有其方便性，或有使用者以「組合」方式，分開選購不同廠牌之各部份加以組合使用亦未嘗不可，然此時應特別注意：

1. 前述高效能液相層析儀各部份為分開購買，各別議價，應特別注意。
2. 注意廠商之維護與保養之能力。
3. 組合型之設備應特別注意各部之間系統相容性或界面連接的問題。
4. 最後仍以滿足本身分析工作及方法為主要的考量。

由於高效能液相層析儀的使用與待測物有相當之關係，故偵測之範圍亦與之有關，在此不作各偵測器之間的比較，僅列舉表 1 部份參數以供參考。

四、應用與用途

高效能液相層析儀基本上是層析法的沿續，隨著科技的進步，在靜相分離物質顆粒大小的大幅減小、動相儲存器及溶劑處理系統的改進、幫浦系統

表 1. 高效能液相層析儀常用偵測器之特性比較。

型式	反應性	雜訊程度	線性範圍	樣品槽體積 (uL)
1. UV/可見光	選擇性	10^{-4} a.u.	10^4-10^5	1-8
2. 螢光	選擇性	10^{-7} a.u.	10^3-10^4	8-25
3. 折射率	一般性	10^{-7} r.i.u.	10^3-10^4	5-15
4. 電化學	選擇性	10^{-2} u.S/cm	10^3-10^5	0.5-5

註：a.u.：吸光度單位，r.i.u.：折射率單位。

的變化、管柱及管柱填充物之更新、偵測器之多元化等條件的配合之下，已始得高效能液相層析儀的適用範圍大為擴充。以下謹概述數種適用之範圍：

- (1) 脂溶性維他命、膽固醇 (steroids)、脂質 (lipids) 分析。
- (2) 水溶性維他命、碳氫化合物、酸類分析。
- (3) DNA 族群：如核酸 (nucleic acids)、核苷 (nucleotides) 以及 RNA/DNA 等之分析工作。
- (4) 蛋白質家族：胺基酸、蛋白質、胜肽 (peptides)。
- (5) 臨床藥物監測、毒物學、法醫學等之分析工作，例如毒品、麻醉藥劑、新陳代謝。
- (6) 環境監測及工業上制程之控制等，如環境中之胺基甲酸鹽農藥等之分析工作。

基本上高效能液相層析儀在上述各項領域之分析工作中均不失為定性及定量工作之利器，也是近二十年來發展最為快速之分析儀器。

參考文獻

1. M. C. McMaster, *HPLC A Practical Users Guide*, 1st edition, Florissant: VCH (1994).
2. Sandie Lindsay, *High Performance Liquid Chromatography*, 2nd edition, London: Wiley (1992).
3. W. H. A. Niessen and J. van der Greef, *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry Principles and Applications*, 1st edition, New York: Dekker (1992).

作者：盧正權先生為美國加州大學 Irvine 分校化學博士，現任工業技術研究院化學工業研究所研究員。

大小排除層析

Size-Exclusion Chromatography (SEC)

關鍵字：大小排除層析、膠質過濾層析、膠質穿透層析

Keywords： size-exclusion chromatography, gel filtration chromatography, gel permeation chromatography

一、基本原理

大小排除層析是液相層析之一種類型，一般亦稱為膠體層析 (gel chromatography)，包括有膠體過濾層析 (gel filtration chromatography, GFC) 及膠體滲透層析 (gel permeation chromatography, GPC) 等二類。排除層析法經常用於分析分子量大於 10,000 的高分子量試樣。由於儀器裝置要求簡易，僅需要一般的液相層析或高效能液相層析所用的幫浦、偵檢器 (紫外—可見光或折射率)，配合適當的大小排除層析管柱，即可進行分析研究。大小排除層析法之分離乃根據分子的大小，小分子容易進入層析管柱靜相的小孔洞中，逗留較長時間。而大分子則輕易地自靜相顆粒旁流過，因此較大型分子先行通過管柱。如圖 1 所示。在孔隙中的平均滯留時間決定於分析物分子的實際大小。此技術廣用於生物化學及聚合物分子的分析及純化等工作。

膠體過濾層析首先由瑞典學者 Flodin 及 Porath

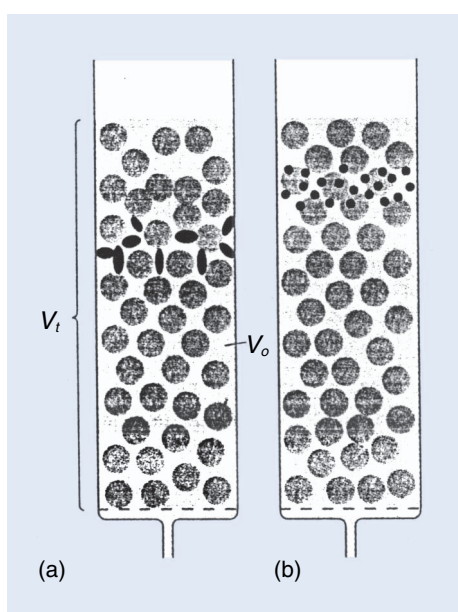


圖 1. 大小排除層析管柱固定相與分析物之關係。

等以多糖類膠體，如 Sephadex、Agarose 等，作為分析蛋白質的管柱填充物為開端。通常 GFC 指以高極性膠體，水或其他極性溶劑等沖提液之層析分離，分析物為醣類、蛋白質及核酸等生物體聚合物質。然而因多糖類性質較軟，不適用於有機溶劑溶解的高分子，並未引起高分子工業界太多的注意。直到 Waters 公司將苯乙烯—二乙烯基苯共聚物的多孔洞樹脂管柱靜相上市後，才開始有高分子合成領域的分析應用，此稱為膠體滲透層析法。其與 GFC 不同處在於 GPC 係使用疏水性管柱填充物及非極性有機溶劑。因工業界應用方面，聚合物分子量的分布，關係著產品性質的良窳，對於管柱分離效率的要求更形重要。隨著高效能液相層析技術的進步，高壓幫浦、高效率分離管柱的上市，使 GPC 技術益形活躍。目前的 SEC 填充物已用混合不同孔徑大小的膠體，可適用於分析大分子量範圍的分析物，且具有良好的分子量線性。

大小排除層析的分離方法，完全取決於分析物形體大小，不同於其他層析分離法之處，為分析物與靜相之間並未涉及化學或物理作用力，且應儘量避免，因其將降低管柱效率。

二、決定分子量分布

對大小排除層析管柱填充物而言，可應用的分子量範圍，可藉如圖 2 的校準曲線表示。分子量對滯留體積 (V_R) 作圖，縱座標為分子量之對數值。排除極限 (exclusion limit) 指一物種其分子量若超過此值，則無滯留性質，即圖 2 所示之 A 峰。穿透極限 (permeation limit) 乃指分子量若低於此值，則溶質分子能滲入孔隙，滯留體積最大，即圖中 D 峰。若分析物分子量由排除極限遞減，則經層析分離之溶質，滯留時間遞增。於此校準圖中，在選擇性穿透區內出現個別的溶質峰線，如圖之 B 與 C

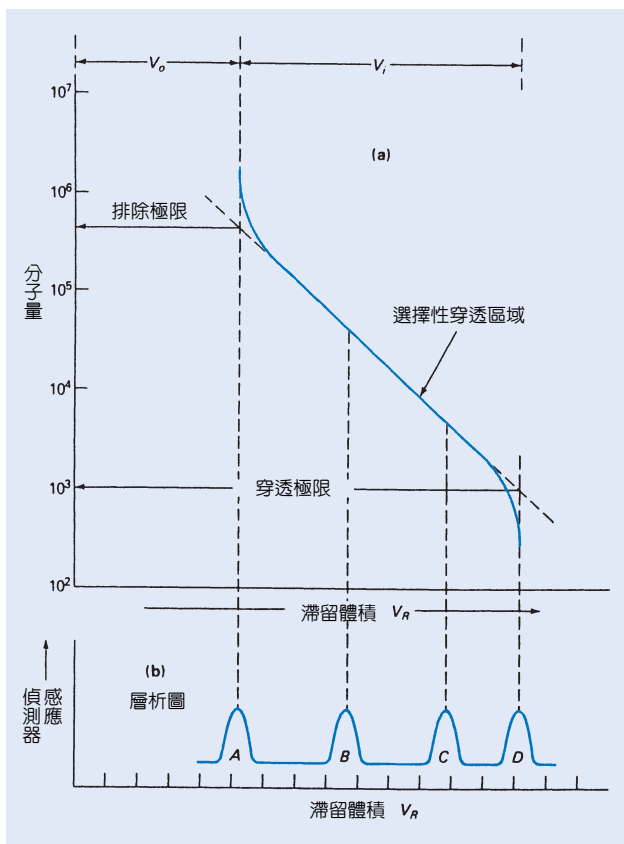


圖 2. 大小排除層析管柱的校準曲線。

峰。而此分子量的校準圖可向管柱製造商取得，亦可由標準品層析圖獲得。

三、大小排除層析管柱規格與特徵

大小排除層析管柱之填充物有二種類型：聚合物顆粒和以矽膠或多孔性玻璃為基質的粒子，直徑均為 $5-10 \mu\text{m}$ 。而以矽膠具有較硬的性質易於充填較穩定，可適用多種有機溶劑，但其缺點為易吸附溶質分子。為減少吸附，其表面常用有機試劑修飾。而聚合物管柱填充物則包括：苯乙烯-二乙烯苯共聚合物、聚丙烯醯胺 (polyacrylamide) (Bio-Gel P 系列，Bio-Rad 公司製造)、葡聚糖 (dextran) (商品名 Sephadex；Pharmacia 公司製造)、瓊脂 (agarose) (Sephacrose；Pharmacia 公司及 Bio-Gel A 系列產品)。填充物顆粒小，可得較佳解析度，但流速較小。表 1 列出一些種類及適用的分子量範圍。理論板數一般可達到每公尺約 4-7 萬以上。流析液使用的 pH 為 2-9 之間，有些管柱可耐 pH 2-12 的流析液，層析流速則依管柱差異甚大，需

視管柱供應商使用說明而定。管柱直徑由 2 毫米至 20 毫米，長度 5 至 60 公分均可選購。

四、大小排除層析可選用之偵檢器

大小排除層析屬液相層析之一分支，故液相層析可用之偵檢器大部分皆可應用。傳統偵檢器如紫外-可見光、傅立葉轉換紅外光、折射率等之外，其它如由聚合物特性發展而來的黏度計、密度、動態表面張力偵檢器等。雷射光源應用於散射光度計以分析線形或分支聚合物。食物中蛋白質含量分析，也有應用氮化學發光偵測之研究。質譜法於生物高分子之分析應用已屢見不鮮，新近之感應耦合電漿質譜法應用於以大小排除層析分析含金屬酵素之研究亦已見發表。因此可視分析物質之需求，選擇最適切之偵檢器從事研究。

五、應用

大小排除層析法的主要應用，是快速測定聚合物之分子量分布，包括生物體及人工合成物質。未知試樣的滯留體積是與具有相同化學特性的標準化合物的滯留體積相比較，從而獲知未知物分子量。但仍必須小心地解釋所得數據，因為即使分子量一致，但形體相異，仍顯示不同的層析特性。分析蛋白質須使用較高離子強度的流析液 ($> 0.05 \text{ M}$)，避免其因靜電引力吸附於膠體上。膠質過濾層析的一個有用的應用，是從低分子量物質及鹽類溶液中將高分子量物質分離純化。膠質穿透層析的應用實例之一，是分離生物組織中的蛋白質成分。

大小排除層析法之優點如下：(1) 分析時間短，再現性高；(2) 層帶狹窄，解析度、靈敏性均佳；(3) 因溶質不與靜相作用，樣品不會損失，管柱效率較不易劣化。缺點是：(1) 因層析圖的時間窗窄，只能容納有限數目的層帶；(2) 不能應用於同樣大小的樣品，如異構物。一般來說，分子量至少相差 10% 以上方有合理的解析度。

參考文獻

1. Theodore Provder, *Chromatography of Polymers: Characterization by SEC and FFF*, Washington DC: American Chemical Society (1993).
2. P.L. Dubin, *Aqueous Size-Exclusion Chromatography*,

Amsterdam: Elsevier (1988).

3. M. G. Barth, B. E. Boyes, C. Jackson, *Anal. Chem.*, **68**, 445R (1996).

4. 美國 Phenomenex 公司產品型錄.

作者：陳威希先生現國立台灣大學化學所博士班研究生。
劉春櫻博士現任國立台灣大學化學所教授。

表 1. 大小排除層析管柱填充物。

商品名	適用分離分子量範圍	最大耐壓 (cm H ₂ O)	pH 穩定性
Dextran : Sephadex 系列 (Pharmacia 公司)			
G-75	$3 \times 10^3 - 80 \times 10^3$	160	
G-100	$4 \times 10^3 - 150 \times 10^3$	96	
G-150	$5 \times 10^3 - 300 \times 10^3$	36	2-10
G-200	$5 \times 10^3 - 250 \times 10^3$	16	
Agarose : Sepharose 系列 (Pharmacia 公司)			
4B	$60 \times 10^3 - 20 \times 10^6$	60	4-9
6B	$10 \times 10^3 - 4 \times 10^6$	90	
Agarose : Bio- Gel 系列 (Bio-Rad 公司)			
A-0.5 m	$1 \times 10^3 - 0.500 \times 10^6$	> 100	
A-1.5 m	$2 \times 10^3 - 1.5 \times 10^6$	> 100	4-13
A-5.0 m	$4 \times 10^3 - 5 \times 10^6$	> 100	
Polyacrylamide : Bio-Gel 系列 (Bio-Rad 公司)			
P-60	$3 \times 10^3 - 60 \times 10^3$	100	
P-100	$5 \times 10^3 - 100 \times 10^3$	100	4-13
P-200	$30 \times 10^3 - 200 \times 10^3$	75	
P-300	$60 \times 10^3 - 400 \times 10^3$	60	
Dextran / Bisacrylamide : Sephacryl 系列 (Pharmacia 公司)			
S-200	$5 \times 10^3 - 300 \times 10^3$	300	
S-300	$10 \times 10^3 - 800 \times 10^3$	300	3-11
S-400	$20 \times 10^3 - 2000 \times 10^3$	300	
Controlled-Pore Class : Glycophase CPG 系列 (Pierce Chemicals 公司)			
75	$3 \times 10^3 - 30 \times 10^3$	37-74	
120	$7 \times 10^3 - 100 \times 10^3$	74-25	
170	$10 \times 10^3 - 400 \times 10^3$		
240	$20 \times 10^3 - 1000 \times 10^3$		

離子層析儀

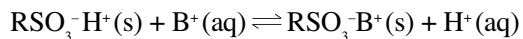
Ion Chromatography (IC)

關鍵字：離子層析儀、交換容量、抑制作用

Keywords：ion chromatography, exchange capacity, suppression

一、基本原理

離子交換層析主要是利用離子在裝填有離子交換樹脂之管柱中，由於各種離子與離子交換樹脂之作用力不同而達到分離及分析的目的。離子交換樹脂一般是以苯乙烯 (styrene) 及二乙烯基苯 (divinylbenzene) 所合成的共聚物，再經磺酸化而成強陽離子交換樹脂，或經胺基化成為陰離子交換樹脂。離子交換樹脂的作用是可逆的，其反應及分配係數如下例：



$$K_d = \frac{C_s}{C_M} = \frac{[\text{RSO}_3^- \text{B}^+]_s}{[\text{B}^+]_{aq}}$$

分配係數大表示離子很容易被樹脂吸附。一般而言高價離子比低價離子較容易被吸附，同一族的離子則離子半徑大的較容易被吸附。

以離子交換層析法來分離無機離子很早就在實驗室內被應用，但分離出後直接流經偵檢器之連續偵測儀則至 1975 年才被發展出，其原因有二：(1) 一般的離子交換樹脂孔隙很多，孔隙內皆有交換基 (exchange site) 存在。離子進入孔隙內與在表面二者離子交換之速率差異相當大，因此波峰較寬而使得分離效果變差。(2) 無機離子大部份無色，無法以 UV/VIS 來檢測所有的離子，檢測離子最佳的偵檢器是導電度計，但在流洗過程中常需使用高導電度之強電解質流洗液，因此欲在高導電度之流洗液中檢測出微量的分析物就變得相當困難，除非將流洗液之導電度抑低或使用低導電度之流洗液。

1975 年美國 Dow 化學公司三位工程師解決了以上之困難而發展出離子層析儀。其所使用的離子交換樹脂亦是苯乙烯-二乙烯基苯之共聚合物，但在磺酸化過程中控制條件使其只在樹脂表面磺酸化，如此得到的陽離子交換樹脂之交換容量

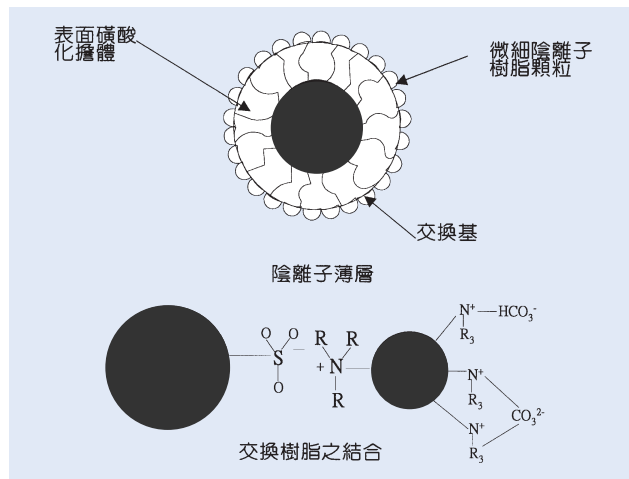


圖 1. 離子層析儀之陰離子交換樹脂。

(exchange capacity) 較低 (~0.02 meq/g)，可應用於陽離子之分離。將此種低容量陽離子交換樹脂 (10-20 μ) 與細小之陰離子交換樹脂 (約 1000 Å，可乳化成或研磨篩選) 混合時，細小的陰離子交換樹脂會很強地吸附在陽離子交換樹脂表面而成為陰離子交換樹脂，如圖 1 所示。由於交換基只在表面，因此可得到寬窄小之波峰圖。至於流洗液導電度之抑制 (suppression) 則是在分離管下端接一抑制管。分析陽離子時，抑制管為高容量之陰離子交換樹脂 (OH⁻ 型態)。當流洗液 (稀 HCl) 流經抑制管時，Cl⁻ 會被吸附而產生低導電度之 H₂O，而分析物流經時則產生金屬氫氧化物，由此亦可了解以導電度計作為偵檢器時，陽離子的分析只限於鹼金屬及鹼土金屬 (氫氧化物為可溶性)。分析陰離子時，抑制管為高容量之陽離子交換樹脂 (H⁺ 型態)。當流洗液 (NaHCO₃ 或 Na₂CO₃) 流經抑制管時，Na⁺ 會被吸附而產生低導電度之 H₂CO₃，而分析物流經時則產生 HX (X 表示陰離子)，由此亦可了解當 HX 的解離度很小時 (例如 H₂S、HCN、H₃BO₃ 等)，通過導電度計時就無法測得信號。

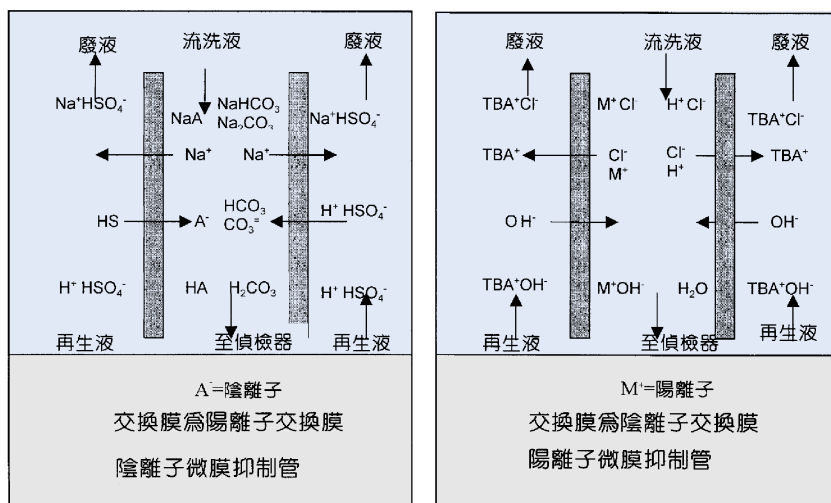


圖 2. 離子交換膜之抑制機制。

以高容量離子交換樹脂來抑制流洗液之導電度雖可解決高背景之問題，但因吸附飽和後必需停機再生而使分析中斷，且分析物流經抑制管亦會使波峰變寬。經不斷改良後利用離子交換膜可選擇性透過離子的特性而解決上述的困難，如圖 2 所示。再生液流經交換膜的外層而流洗液則流經內層。最近更進一步改良免去再生液之配製，其原理是將流經偵檢器之流洗液引回流經微膜抑制管之外層，並在外層之薄膜兩邊加上陰陽電極。當輸入一定電壓時，流洗液之水分子會電解生成 H^+ 及 OH^- ， H^+ 再透過陽離子交換膜進入內層並中和流洗液使生成 H_2CO_3 ，同理分析陽離子時，電解流洗液生成之 OH^- 會透過陰離子交換膜而進入內層並中和流洗液生成 H_2O 。

二、結構示意圖

離子層析儀之構造 (圖 3) 與液相層析儀類似，主要部份包括流洗液容器、高壓泵、樣品注射器、分離管、抑制管 (有些廠牌不使用)、導電度計及數據處理系統。由於離子層析儀需使用強酸或強鹼之流洗液或再生液，因此系統之材質以耐高壓之聚合物為佳。

三、儀器規格與特徵

目前商業化的離子層析儀型式頗多，主要的差異在於系統的材質、耐壓程度、系統的功能及抑制管的使用等，有些型式的儀器不使用抑制管而是使用導電度較低的流洗液如 phthalate、tartrate 等，使

用抑制管之型式大部份利用離子交換膜的方式以再生液來抑制，有些甚至改良成以電解的方式來產生再生液。至於材質上有些系統使用耐腐蝕之鈦合金，有些則使用可耐高壓之聚合物，目前有些塑膠

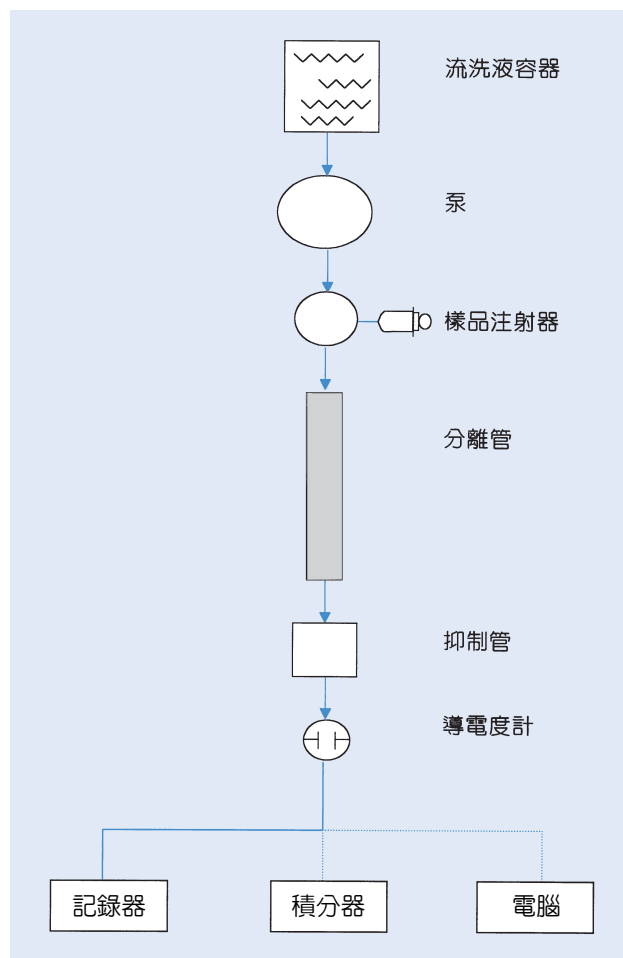


圖 3. 基本離子層析儀裝置圖。

管已可耐壓至 3000—4000 psi。

在系統的功能上，簡單型的系統只配備導電度計，以分析陰離子及鹼金屬、鹼土金屬等陽離子。功能較多之系統則配備可分析 S^{2-} 、 CN^- 等弱酸之電位計，分析過渡元素之可見光分析儀，分析有機醇類之脈衝式電位計及可分析有機酸之分離管等。至於數據的處理及樣品的注射方式與一般的層析儀大致相同，可分手動注射、自動注射及使用記錄器、積分儀及個人電腦等以處理數據。

四、應用與用途

離子層析儀主要用於分析水溶液中的陰陽離子。以導電度計檢測時可分析 pK_a 小於 7 之無機酸及有機酸或 pK_b 小於 7 之氨及有機氨，以及鹼金屬及鹼土金屬離子和過渡金屬離子 (post-column 反應方式) 等。以安培計或脈衝安培計檢測時可分析 S^{2-} 、 CN^- 、醇類、碳水化合物、酚類、胺類及聯胺等。基本上離子層析儀之結構與液相層析儀大同小異，因此只要更換偵檢器及分離管亦可執行液相層析儀之工作。

離子層析儀近年來由於不斷的研究發展，其應用範疇極為廣泛，尤其在環境分析研究方面之成效最著，如工業廢水之分析、空氣污染、水質分析、土壤分析、食品分析、電廠相關水質分析、海水分析…等。由於離子層析儀只能分析液體樣品，因此對於固體樣品必須配合一些前處理步驟如消化、萃取、灰化、燃燒吸收、裂解吸收等將欲分析物溶於水中使成離子狀態才能進行離子層析。

參考文獻

1. J. F. Fritz, *Anal. Chem.*, **59**, 335A (1987).
2. H. Small, *Ion Chromatography*, New York: Plenum press (1989).
3. D. T. Gjerde and J. S. Fritz, *Ion Chromatography*, 2nd ed. New York: Huethig (1987)
4. R. E. Smith, *Ion Chromatography Applications*, FL: CRC press (1987).
5. P. R. Haddad and P. E. Jackson, *Ion Chromatography, Principles and Applications*, New York: Elsevier (1990).

作者：黃榮茂先生為國立台灣大學化學博士，現任行政院原子能委員會核能研究所分析組副研究員。

超臨界流體層析儀

Supercritical Fluid Chromatography (SFC)

關鍵字：超臨界流體、層析儀

Keywords：supercritical fluid, chromatography

一、基本原理

處於密閉容器中之液態物質，會和其氣態物質共存，而由一界面來分離此兩相，此界面是由於兩相之密度不同而產生。如果此容器同時受壓及受熱，液相物質會減少密度，氣相物質則因受壓而增加密度。當達一定之溫度及壓力點時，這兩相物質之密度相同成為一均勻相而無法分別液態或氣態物質，這個點就被定義為臨界點；此點的溫度及壓力就被稱作臨界溫度及臨界壓力。超過此點之均勻相流體就是超臨界流體；即圖 1 中陰影部份。

超臨界流體之一般物理化學性質均介於液體與氣體之間，且同時具有液體與氣體的特性。表 1 為此三種狀態物質的一些物理性質之比較。因其擴散性質相似於氣體，故當裝此種流體之容器體積擴充時，此流體可如氣體般擴散而佔滿所有空間；又因此種流體其分子間之距離近似液體，因此具有類似液體分子間之作用力，使其對物質溶解能力相似於液體。

超臨界流體之壓力和其密度之關係如圖 2。圖中兩座標軸分別代表折合壓力 (reduced pressure) 及

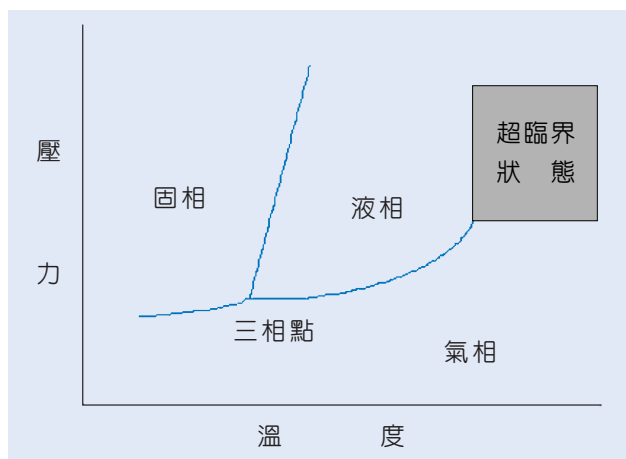


圖 1. 物質之三相圖。

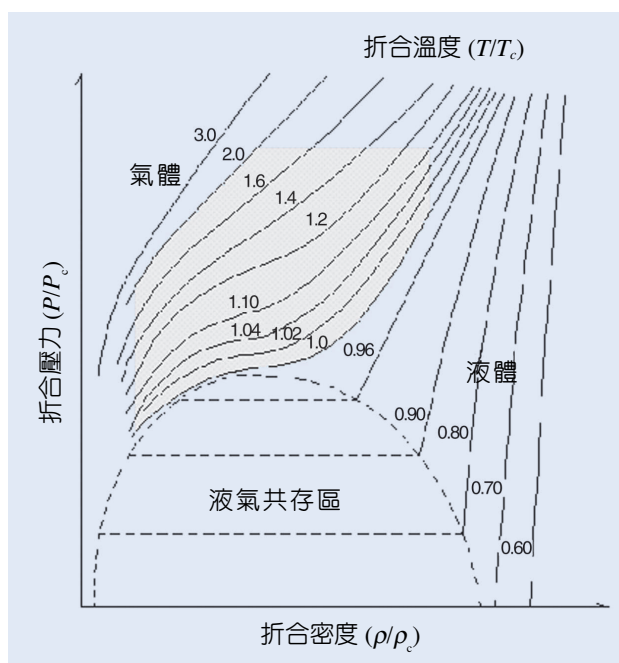


圖 2. 超臨界流體之密度及壓力相關圖。

折合密度 (reduced density)，其定義為流體之壓力和其密度分別除上其臨界壓力和密度；圖中各曲線代表在不同折合溫度 (reduced temperature) (定義如上) 之密度變化。如圖中所示，超臨界流體之密度受壓力和溫度影響密切，且非線性。圖中陰影部份，只要溫度或壓力稍為改變，折合密度即有很大的變化。所以只要稍微改變溫度或壓力即可迅速改變超臨界流體的密度，亦即改變超臨界流體的溶解能力。

而根據 1968 年 Giddings 實驗室依據 1964 年 Hildebrands 所提出之溶解參數 (solubility parameter) 公式來推導的超臨界流體溶解能力方程式：

$$\delta_{scf} = 1.25 P_c^{1/2} \left(\frac{\rho_{scf}}{\rho_l} \right)$$

式中之 δ_{scf} 代表超臨界流體之溶解參數， P_c 為流體

表 1. 氣體、超臨界流體、液體的一般物理性質。

	密度 (g/mL)	黏度 (g/cm-s)	擴散係數 (cm ² /s)
氣體	$(0.6-2.0) \times 10^{-3}$	$(0.5-3.5) \times 10^{-4}$	0.01-1.0
超臨界流體	0.2-0.9	$(2.0-9.9) \times 10^{-4}$	$(0.5-3.3) \times 10^{-4}$
液體	0.8-1.0	$(0.3-2.4) \times 10^{-2}$	$(0.5-2.0) \times 10^{-5}$

之臨界壓力， ρ_{scf} 是指超臨界流體之密度，而 ρ_l 則為此流體液態時的密度。由此方程式可知超臨界流體之「溶解能力」受兩個因素影響。方程式前半端因和 $P_c^{1/2}$ 有關，此乃為物質之本性，因其和分子間之距離及作用力有關，故被稱為化學效應；後半段端方程式因流體密度 (ρ_{scf}) 可用機械來控制流體壓力及溫度而得，就被稱為機械效應。當兩物質之溶解參數相似，才可互溶；故而在作超臨界析法時，可藉逐漸改變移動相之壓力或溫度，來改變移動相之溶解參數，而達成分離溶解參數不同之混合物。

常被使用之超臨界流體列於表 2。其中氟氯碳氫化合物是最早被使用之超臨界流體。**n-butane** 及 **n-pentane** 類化合物可用於中分子量碳氫化合物之分離。一般目前最常被採用之超臨界流體為 CO_2 ，主要的原因有：臨界溫度僅 31.1 °C，適合分離易受熱分解的天然物；臨界壓力適中 (約 72.8 atm)，又不可燃，無毒、化性穩定、安全性高且便宜。唯因其極化性不大無法分離高極性之化合物為其缺點，因此 N_2O 及 NH_3 被用來作高極性之物質分離，唯這些物質化學性質較活潑，故使用受限。為了改善 CO_2 無法分離高極性物質之缺陷，目前常以添加極性溶劑 (如甲醇或水等) 於 CO_2 中，來改善其溶解能力。

由表 1 知超臨界流體之擴散係數比液態大，因

表 2. 常用之超臨界流體及其臨界參數。

超臨界流體	臨界溫度 T_c (°C)	臨界壓力 P_c (ATM)	臨界點密度 ρ_c (g/mL)
CO_2	31.1	72.8	0.468
N_2O	36.4	72.5	0.452
CF_3Cl	28.8	38.7	0.580
CF_2Cl_2	111.7	39.4	0.557
n-butane	152.0	37.5	0.228
n-pentane	196.6	41.7	0.554

此質量傳遞阻抗比液體小而近似氣體，即質量傳遞較快；若作為層析法移動相時，當應用在填充管柱其分析速度較液相層析法快；又因超臨界流體之黏度比液體小而與氣體相近，也就是說超臨界流體具有像氣體般之滲透力，使分析管柱頭尾之壓降較液相層析低，故能使用較長的分析管柱如毛細管柱層析法，可以提高層析分離之解析能力。

超臨界流體具有類似氣體之擴散性及液體之溶解能力，所以做為層析法移動相時不須使用高溫，適於分析因熱不穩定性、較高分子量、揮發性較低，以至傳統氣相層析法無法或不易分離之混合物；且因有較液相層析高之分析效率及可使用氣相層析之偵檢器，所以可分析組成成份較複雜、不吸收紫外光及不放射螢光，而不適宜液相層析儀分析之混合物。

二、結構示意圖

超臨界流體的儀器結構簡圖示意於圖 3，其主要結構分別取自於氣相層析儀及液相層析儀。取自高效能液相層析儀的有高壓針筒式或往復式幫浦、高壓樣品注入器及部份偵檢器。取自氣相層析儀的有烘箱及部份偵檢器。分離用之層析管柱則是充填式或毛細管開管式均可使用。

三、儀器規格與特徵

目前商業製造的超臨界流體層析儀器有數個廠牌，除使用分離層析管柱種類不同 (充填式或毛細管開管式) 外，其餘差異不大；此外，上述之超臨界流體層析儀多同時具有超臨界流體萃取之功能，但此部份各廠牌設計差異較大，且不在本文範圍之內，故不予討論。其規格與特徵討論於下。

1. 高壓幫浦及烘箱

由微電腦控制之高壓針筒式或往復式幫浦，可

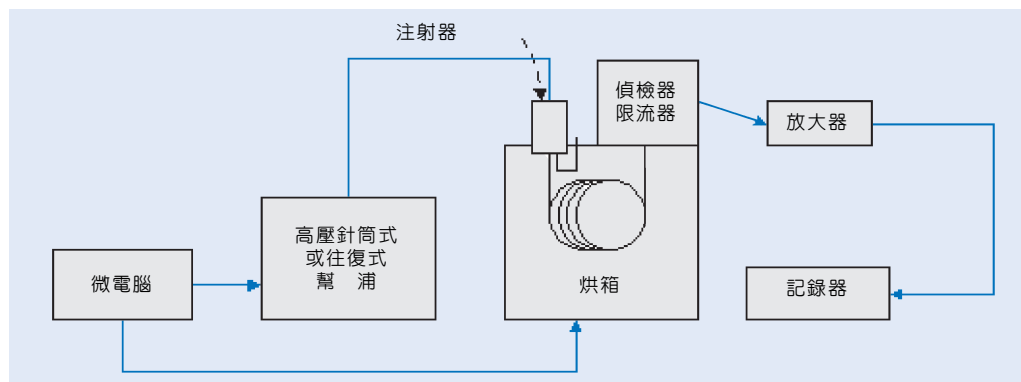


圖 3. 超臨界流體層析儀之簡圖。

將移動相輸送入裝於亦受微電腦控制溫度之烘箱中的分離管柱內，此管柱之溫度必須高於移動相之臨界溫度。一般移動相在進入管柱前多為液態，當進入烘箱後因溫度提升而成超臨界流體，且由改變烘箱溫度或幫浦壓力來控制超臨界流體之密度以達分離之目地。

2. 樣品注入器

為了使樣品能夠在高壓的超臨界流體狀態下注入管柱，液相層析儀使用之樣品注入閥，被引用在超臨界流體層析設備上。為了確保樣品在注入閥中不致於因受烘箱溫度影響使溫度升高而改變其密度或甚至汽化，此閥門必須加以冷卻，以確保樣品注入量的再現性。當樣品分析使用毛細管柱超臨界流體層析法時，因樣品的注入量必須極為微小（最多約 20 nL），因此注入方式上必須採用分流法 (split injection)。常用的分流法有兩種：第一種為體積分流法，即在注入閥之管柱入口端加裝一個分流管，以一定的分流比例將樣品注入分離管柱中，其它部份的樣品則經由分流管的限流器流入大氣中；這種注入法設備較簡單及便宜，但分流管的限流器容易發生阻塞而改變分流比例為其缺點。另一種為時間分流閥，即將注入閥以機械設備快速操作注射時間（約 0.01 秒），使裝填於注入閥中之樣品僅有小部份進入分離管柱，其餘部份即進入廢液瓶中；此法沒有上述方法的缺點，但價格較昂貴。

3. 限流器

管柱的尾端一般需加裝一個能維持管柱中移動相壓力及流速的限流器 (restrictor)。為了減少此系

統之分離死體積 (dead volume)，此限流器內之體積必需極為微小。圖 4 為一般常被使用的限流器。多為融矽毛細管柱 (fused silica tube) 製成。最早期曾有人使用雷射光所鑽的細孔形薄片 (1–3 μm)，但因為極易阻塞而目前已無人使用，故不在此文討論。

圖 4 中限流器可因其構造分為三大類，最早被使用是直接由內徑 5–20 μm 、長度為 5–50 cm 左右之融矽毛細管製成 (圖 4(a))。此類限流器構造最簡單，但是因為減壓區域過長，易因超臨界流體減壓膨脹而降低密度變成氣體，使溶解之物質沉澱，及溫度降下低於零度造成分析物中之水份於限流器尾部結冰而阻塞，故常必須加高熱使用。此類限流器對於較大分子量或具極性的物質無法應用，而限

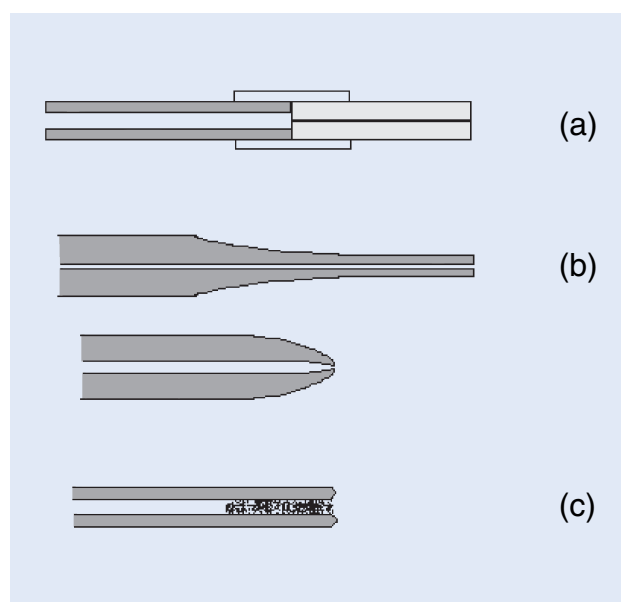


圖 4. 限流器的種類。

表 3. 曾發表過之超臨界流體層析法應用範圍。

低分子量聚合物	氟氯碳氫化合物	蠟質
多環芳香化合物	脂肪酸類	藥物
飽合或不飽合碳氫化合物	液晶類化合物	前列腺素化合物
煤及石油及其產物	三甘油脂類	食物成份或添加物
醇類化合物	衍生化之多醣類	香料
醛類化合物	除草劑、殺蟲劑	維他命
酮類化合物	胺基酸衍生物	昆蟲賀爾蒙
酯類化合物	層析用靜相	醣脂質
光學異構之多醣類或殺蟲劑	金屬鉗化合物	萜烯類化合物

制其使用範圍。第二類是將融矽毛細管柱尾端漸漸變細 (tapered) 而做成的限流器 (圖 4(b) 部份)。此類限流器的出口口徑約為 3–10 μm ，長度在 0.3–5 cm 之間，因為其減壓區域短，所以不易阻塞，應用範圍較廣；但因此限流管尾流速易受到分離管柱內移動相壓力之影響，在高壓時，流速變快，會使管柱分離效率降低。第三類是由在融矽毛細管尾端填入多孔性高分子物質，並和管壁交聯反應而形成的限流器 (frit restrictor)。多孔性高分子物質之孔隙大小受其組成成份影響，約在 0.05–1 μm 之間，長度則在 2–5 cm 之間。因為是多孔性物質，所以也較不易阻塞，應用範圍也較廣；唯分析較高分子量物質時，亦會漸漸阻塞而失效；另外當與質譜儀連線時，因限流器前後壓差過大，有時會使此多孔性物質，無法停留於限流器內而被推出，造成限流器失效。

4. 偵檢器

超臨界流體層析設備可使用傳統氣相層析所使用之偵檢器，如：火燄游離偵檢器 (flame ionization detector, FID)、氮磷偵檢器 (nitrogen phosphate detector, NPD)、傅立葉轉換紅外光偵檢器 (Fourier transform infrared absorption spectroscopy, FTIR)、電子捕捉偵檢器 (electron capture detector) 及質譜儀 (mass spectrometer, MS)；同時又可使用傳統液相層析儀所使用之偵檢器，如：紫外光偵檢器 (ultraviolet absorption detector, UV)、螢光偵檢器 (fluorescence detector)。因此，應用於分析時，藉著適當選擇偵檢器提高超臨界流體層析儀對分析不同

物質時之靈敏度與選擇性。樣品受檢時，如使用傳統氣相層析儀之偵檢器，則必須在氣態受檢，因此偵檢器必須位在限流器之後；如為液相層析儀之偵檢器，則樣品必須在液態受檢，因此偵檢器必須位在限流器之前，且需加以降溫，使超臨界流體移

動相轉為液體移動相，以利偵檢器偵測。

四、應用與用途

超臨界流體層析法應用範圍介於氣相層析法與液相層析法之間。目前為止，其應用之分析物種簡列於表 3 中；由表中所列之物質可看出其多應用在分析低揮發性、熱不安定、高分子量等氣相層析法所不能分離的物質，或是組成成份較複雜、無法被紫外光偵檢器或螢光偵檢器所偵測出等液相層析法所不能分離的物質。而超臨界流體的應用領域則在環境化學、藥物化學、生物化學、高分子化學及天然物化學的分析問題上。又因超臨界流體層析一質譜儀之分析技術目前也漸成熟，使此分析法更能補氣相層析法與液相層析法之不足。

參考文獻

1. Guthrie E. J. and Schwartz H. E., *J. Chromatogr. Sci.*, **24**, 236 (1986).
2. Vernon N. Reinhold, Douglas M. Sheeley, Jacob Kuei and Guor-Rong Her, *Anal. Chem.*, **60**, 2719 (1988).
3. Darryl J. Bornhop and John G. Wangsgaard, *J. Chromatogr. Sci.*, **27**, 293 (1989).
4. Ibanez E., Tabera J., Reglero G. and Herraiz M., *J. Agric. Food Chem.*, **43**, 2667 (1995).
5. Lafosse M., Herbreteau B. and Morinallory L., *J. Chromatogr. A*, **720**, 61 (1996).

作者：桂椿雄先生為美國楊百翰大學分析化學博士，現任國立成功大學化學系副教授。
沈桓儀先生為國立中正大學化學系學士，現為國立成功大學化學研究所研究生。

逆向流層析

Countercurrent Chromatography (CCC)

關鍵字：逆向流層析、液滴逆向流層析、快速逆向流層析、離心分配層析

Keywords：countercurrent chromatography, droplet counter-current chromatography, high speed CCC, centrifugal partition chromatography

一、基本原理

Ito 氏所發明的逆向流層析，其名稱係源自於逆向流分佈 (countercurrent distribution, CCD) 和液相層析 (liquid chromatography, LC)，為一種無固態支撐物之液、液分佈層析法，其分離管柱係由液態固定相與不互溶的液態流動相所組成，儀器設備大致與一般 LC 相同，只是要維持液態固定相的機械設計較為複雜與多元。其分離之機制不同於固態固定相層析法中，只以溶質在界面間分佈的差異為限，而是包含了動、靜兩相中全體積分佈的差異，故 CCC 有較大的樣品容量，所以在 CCC 中靜相與流動相的體積 (V_s 與 V_m) 是重要的參數，一般以 $V_s / (V_m + V_s)$ 來定義滯留係數 (S_f)，當 S_f 值越高時，要達到合理解析的兩分析物所需要的分配係數差值要求也越低，但是低效率是 CCC 之一缺點 (理論板數值小於 5000)，因為單純的分配機制是不足與傳統固液間複雜機制相比擬，而相對地，再現性卻是其另一優勢。另外，此技術比一般液相層析法還具備樣品回收率高、沒有非可逆性的吸附、分離條件不受 pH 限制、對樣品較不易變性、固定相與動相可以逆轉互換；同時固定相便宜、易更換，以及易添加對掌試劑和錯合試劑等優點。

二、結構示意圖

隨著維持液態固定相的方法不同，而有各種的管柱安排，儀器其餘部份大致與 HPLC 相似。而根據發展的演變，有下列三大類設計：

1. 液滴逆向流層析 (droplet counter-current chromatography, DCCC)

以重力為動相帶動樣品分子的主要驅動力。

(1) 重力液滴逆向流層析 (gravitational DCCC)

1970 年 Tanimura 及 Ito 兩氏藉由與固定相形成不互溶之動相液滴，帶動樣品分子連續分配在兩相之間。通常由 200 至 600 支的垂直玻璃管柱 (內徑 2 或 2.7 公釐) 所組成，其間以鐵弗龍 (PTFE) 毛細管串連。操作幫浦時可視液滴特質而有上升 (ascending) 及沈降 (descending) 兩種模式。除正丁烷-水溶劑系統外，一般兩溶劑系統較少使用，因兩相極性差異太大，形成合適液滴不易，故常添加中等極性溶劑形成三或四溶劑系統較為適用。圖 1(a) 為構造簡圖。

(2) 離心液滴逆向流層析 (centrifugal DCCC)

1982 年 Murayama 氏及其同僚將離心力額外附加於重力之內，使得分離時間縮短，也擴大了適用的溶劑系統。圖 1(b) 為構造簡圖。

2. 腔室逆向流層析 (locular countercurrent chromatography, LCCC)

LCCC 可定義為一連串的小腔室所組成的管柱系統，其動相不須形成液滴，樣品容量也較 DCCC 多，但從旋轉封口 (rotary seal) 滲出溶劑的問題較大。此方法雖有旋轉腔室逆向流層析 (rotation LCCC)、迴旋腔室逆向流層析 (gyration LCCC) 和振盪腔室逆向流層析 (oscillation LCCC) 三種型態，但其應用並不普遍。

3. 離心逆向流層析 (centrifugal countercurrent chromatography)

維持液態靜相以離心力為主，因旋轉快速使得流速比 DCCC 或 LCCC 增快許多，並可利用逆流的方式，讓動相滯留而靜相析出。

(1) 旋轉圈繞儀器 (rotating coil instruments)

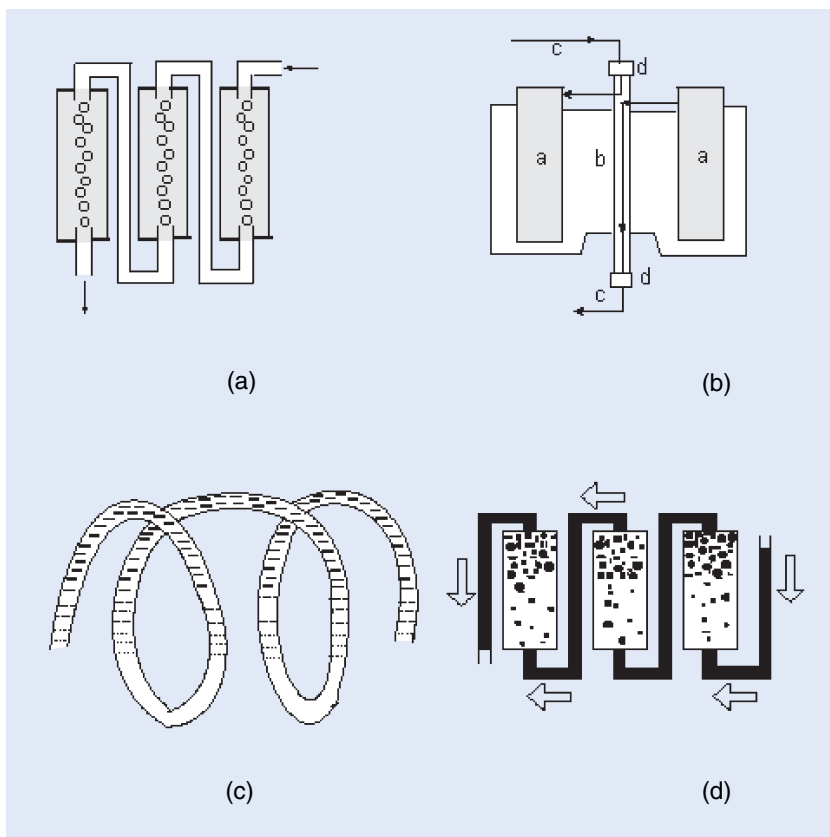


圖 1.
 (a) 液滴逆向流層析，(b) 離心液滴逆向流層析，(c) 動相在圈繞管柱內的平衡簡圖，(d) 動相在卡匣及連接管內的平衡簡圖 ((c) 及 (d) 圖內黑點表示動相液，白色部份為靜相液)。圖 (b) 中之 a. PTFE 分離筒盒內有 50 個小管柱，b. 旋轉座，c. 輸送管線，d. 旋轉封口。

1984 年 Ito 氏提出一系列依行星或非行星式旋轉的儀器設計，但其皆依複雜的離心場造成兩相，以形成混合及去混合區。圖 1(c) 為動相在圈繞管柱內的平衡簡圖。

(2) 卡匣式儀器 (cartridge instruments)

1983 年日本 Sanki 公司以小口徑 PTFE 連接管串連一連續卡匣，匣內靜相比上述圈繞儀器較易滯留，但連接管內只有動相，故效率較差。圖 1(d) 為動相在卡匣及連接管內的平衡簡圖。

三、儀器規格與特徵

因離心逆向流層析儀較為新式與實用，故以此類市售儀器討論為限。

1. 液動式裝置 (hydrodynamic apparatuses)

早先依 Ito 所設計的快速逆向流層析 (high speed CCC, HS-CCC) 而製造的儀器，其具旋轉圈繞的 PTFE 管柱 (內徑 2.6 公釐)，轉速為每分鐘 700 至 800 轉，且沒有複雜設計的旋轉封口，但管柱所纏繞的捲軸 (spool) 只有一個，故必須在 180

度方向置一重物與其平衡，每當重新更換溶劑系統時，得再增減重物，相當麻煩，後來以三個捲軸分別平衡置放即可免除此項不便。另也有雙捲軸，轉速 750 轉/分鐘，容量為 1000 毫升的產品。

本項儀器可藉由增加圈繞數，縮小管柱口徑或螺旋半徑增加理論板數。但最近 Ito 氏發展垂直軸圈繞行星旋轉離心式 (cross-axis coil-planet centrifugal) 的儀器，其捲軸與旋轉主軸互為垂直，並依相對位置而有眾多設計，今也有市售儀器且效率極高。

2. 液靜式裝置 (hydrostatic apparatuses)

卡匣式儀器只有日商 Sanki 公司生產，並稱此項技術為離心分配層析 (centrifugal partition chromatography, CPC)，其產品有分析型 (每分鐘 2000 轉及 2136 個卡匣單位) 及製備型 (5400 毫升) 等規格，而旋轉封口必須常潤滑，否則溶劑會從此滲出。

表 1 為此二種離心逆向流層析儀裝置之比較。

表 1. 液動式與液靜式離心逆向流層析儀裝置之比較。

	液動式	液靜式
儀器名稱	快速逆向流層析儀	離心分配層析儀
靜相滯留處	圍繞的鐵弗龍管柱內	不連續的卡匣內
靜相滯留度	視靜相種類而定	好
靜相注入量	依捲軸或管長而定	依卡匣數而定
效率	4 板數／圈；50 板數／毫升	1 板數／卡匣；20 板數／毫升
壓力	低；0.1—10 公斤重／平方公分	中等；2—70 公斤重／平方公分
維護	每 50 小時更換連接管	每 50 小時潤滑旋轉封口
其它	齒輪組噪音；無溫度控制	安靜；具溫控

四、應用與用途

DCCC 主要用途是在分離像糖苷 (glycosides)、單寧、生物鹼及抗生素之類的極性化合物，也包括來自植物體天然物及其衍生物。LCCC 儀器的出現壽命較短，其應用較少報導，除了分離鏡像異構物外，不出 DCCC 的範圍；HSCCC 及 CPC 在現今工業上及實驗室中是一項例行的製備級儀器，在天然物領域中，經粗略萃取及半純化的產物，已被成功地層析分離。例如：類黃酮 (flavonoids)、吡酮 (xanthenes)、單寧、樹脂腦 (lignans)、酚基酸、蔥的衍生物、單萜糖苷 (monoterpene glycosides)、雙萜 (diterpenes)、皂苷 (saponins)、生物鹼、類胡蘿蔔素、聚乙醇、抗生素、黴毒、海洋天然物、染

料、長鏈脂肪酸、無機物、藥物代謝物、細胞組成、胺基酸、胨肽、蛋白質、脂質等。

參考文獻

1. A. Marston and K. Hostettmann, *J. Chromatogr.*, **658**, 315 (1994).
2. J.-M. Menet, D. Thiebaut and R. Rosset, *J. Chromatogr.*, **659**, 3 (1994).
3. A. Berthod, *Instrum. Sci. Tech.* **23**, 75 (1995).
4. W. D. Conway, *Countercurrent Chromatography, Apparatuses, Theory and Application*, Weinheim: VCH Publishers (1990).

作者：陳建良先生現為國立臺灣大學化學所博士班研究生。

劉春櫻博士現任國立臺灣大學化學所教授。

平板凝膠電泳

Slab Gel Electrophoresis

關鍵字：平板凝膠電泳、去氧核糖核酸、蛋白質

Keywords： slab gel electrophoresis, DNA, protein

一、基本原理

電粒子在電場中，會因所受庫倫力大小的不同而使其在介質中的移動速度有所差異。利用這種原理進行分離的技術，稱為電泳分離法。而平板凝膠電泳是以膠體作為電泳介質，包括聚乙烯醯胺、瓊脂膠，及其他多種高分子聚合膠體。在電泳進行過程中，帶電粒子受到庫倫力作用而加速移動，直到庫倫力與粒子所受的摩擦力平衡後達到定速。由 Stokes 定律，粒子在介質中受到的摩擦力為：

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

其中 r 為粒子半徑， η 為介質的黏度， v 為粒子移動速率。而粒子在電場中所受庫倫力為：

$$F = qE$$

其中 q 為粒子帶電量， E 為電場強度。由上兩式可得：

$$v = \frac{qE}{6\pi r\eta} = \mu E \quad (\mu = \frac{q}{6\pi r\eta})$$

μ 稱為移動率 (mobility)。依據各物質移動率的不同，即可進行分離。移動率除了與粒子的荷質比有關外，也跟粒子大小有相當大的關係。在凝膠電泳中，膠體本身具有特定大小的孔洞，孔洞的大小與形成膠體的聚合物分子種類及分子量有關。這些孔洞具有分子篩的作用，對分子大小不同的物質會有程度不同的阻礙，造成其移動率的差異。在生化樣品的分離中，部分蛋白質或 DNA 分子的荷質比十分相似，無法造成足夠大的移動率差異，而凝膠能依據分子大小的不同篩選大小不同之分子，再加上凝膠介質具有抗對流的性質，可提供解析度極高的電泳分離結果，因此凝膠電泳廣泛的被使用在生化樣品中巨大分子的分析上。

在凝膠電泳發展的初期，所使用的凝膠介質為

澱粉，其後很快的被聚乙烯醯胺與瓊脂膠取代。以瓊脂膠所配得的膠體，其分子孔徑大於使用聚乙烯醯胺的凝膠。一般而言，使用的膠體濃度越高，所配得的凝膠分子孔徑越小。另外在聚乙烯醯胺的配置中，Bis 與催化劑的量、溫度的高低，以及聚合的方法，亦是控制孔徑大小的重要因素。由於其製備簡易，可提供高解析度之分離，現已成為應用最廣之膠體物質。目前也有許多新的凝膠物質被嘗試使用於電泳上，不過都不普遍。

二、結構示意圖

平板凝膠電泳裝置依其配置不同而可分為垂直式與水平式兩種，其簡圖分別如圖 1 及圖 2 所示。平板凝膠電泳裝置主要可分為緩衝液槽、凝膠平板、電極等幾個部份。凝膠平板的兩端分別置於緩衝液槽中，在凝膠平板上有可供樣品注入的凹槽。電極與高電壓電源供應器連接。

三、儀器規格及特徵

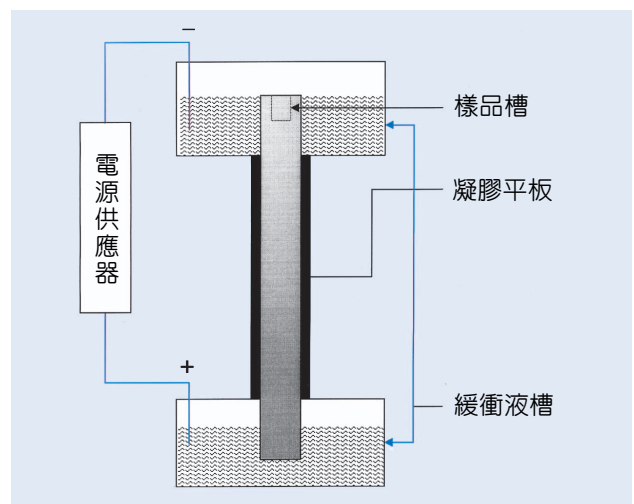


圖 1. 垂直式平板電泳側視圖。

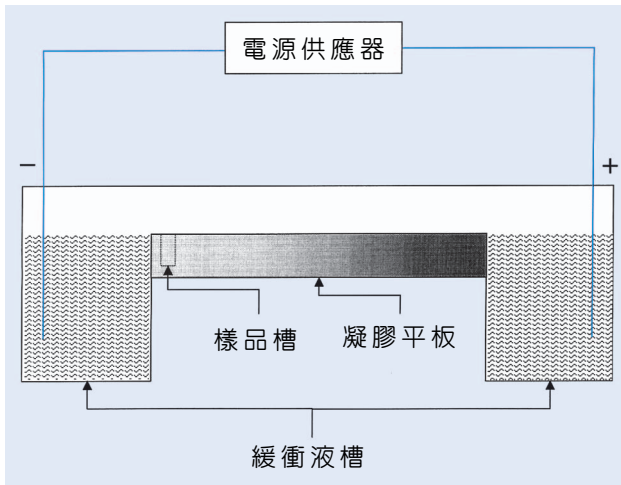


圖 2. 水平式平板電泳側視圖。

現在一般商業化的平板凝膠電泳儀器大致上都大同小異，主要的差異包括溫度控制裝置、脈動電壓供應器的有無，以及偵測器的不同。隨偵測方法的不同，儀器裝置有相當大的差異。為提高解析度，減少樣品用量，增加分離速度，超微小型之平板凝膠電泳設備已成為發展主流。

平板凝膠電泳的主要偵測方法有四種，分別為染色法、UV 吸收偵測、化學放射性分析，以及生物化驗法。以下分別簡述：

1. 染色法 (staining)

染色法是最常被使用的檢測方法，其方法為加入染色劑與試驗樣品反應結合，使樣品具較高的吸收度或螢光，能直接被觀測到。一般的染色劑在電泳進行前後加入都可以，而在取得電泳圖後，可利用去染色溶液 (destaining solution) 將染色劑去除，得到分離的產物。常用的染色劑包括 ninhydrin、Coomassie brilliant blue 及 Ponceau red。某些染色劑還可以從顏色的深淺判斷分析樣品的濃度，如在分析 DNA 上廣被使用的 acridine orange。

2. UV 吸收偵測 (ultraviolet absorption)

不使用任何染色劑，直接在 UV 的波長範圍偵測樣品的吸收度。由於蛋白質與 DNA 分子分別在 230 nm 以下與 260 nm 處 (部分具雜環之蛋白質在 280 nm 處) 有相當強的吸收峰，使用氬燈就可以得到很好的電泳圖。UV 吸收偵測的優點除了方法簡

易之外，從吸收的強度尚可提供樣品定量上的資訊。不過由於乙炔醯胺的單體在 UV 範圍也有相當的吸收度，使得電泳圖的背景值增高，限制了 UV 偵測的使用範圍。因此發展低 UV 吸收背景值之膠體亦是現在凝膠電泳研究上的重點之一。

3. 化學放射性分析 (radiochemical method)

利用放射性追蹤劑，在進行分離前將樣品標記，使樣品含有放射性元素，並利用放射性元素衰變放出的輻射偵測，其記錄方法又可分為液體閃爍計數 (liquid scintillation counting) 及自動放射攝影 (autoradiography) 兩種方法。一般常用的追蹤劑包括 ^{125}I (γ 射線)、 ^{32}P 、 ^{14}C 、 ^{35}S 、及 ^3H (β 射線)。這些追蹤劑對於樣品的性質改變微乎其微，不影響分離後的使用。若是直接用底片攝影取得電泳圖，稱為自動放射攝影。而液體閃爍計數是在另外加入閃爍劑，這些閃爍劑會吸收追蹤劑所放射出的 β 射線與 γ 射線，並放出可見波長範圍的光，可由光電倍增管收取訊號，偵測的靈敏度非常高。不過由於放射性物質之安定性及安全上的考量，此方法已漸為螢光方法所取代。

4. 生物化驗法 (biological assay)

生物化驗法是最複雜、也最耗費時間的檢測方法，但由於其高靈敏度及高選擇性，在實際應用上有相當大的價值。此法是利用加入試劑與樣品行生化反應，並由其變化檢測樣品內是否含某特定物質。常用的方法是將具有吸收螢光能力或生物螢光的物質引入酵素或抗體反應中，使樣品在進行反應後能被偵測到。

四、應用與用途

在目前而言，平板凝膠電泳是在生化分析上相當重要的一項技術，幾乎所有生化樣品的分離、分析、純化、鑑定，都依靠平板凝膠電泳進行。其特點包括分離效率高、裝置簡單，以及可處理大量樣品。一般而言，較大之 DNA 分子是利用瓊脂膠來分離，而較小之 DNA 片段，尤其是 DNA 序列，必須使用聚乙炔醯胺方能達到可接受之解析度。目前研究最廣的技術有利用聚合酶連鎖反應

(polymerase chain reaction, PCR) 與平板凝膠電泳技術偵測病變細胞、DNA 突變、特定基因尋找等。現今更由於人類基因計劃的展開，平板凝膠電泳已成為研究 DNA 序列的利器。目前最常用的方法是 Sanger 所提出，將螢光物質標記於 DNA 上，再利用平板凝膠電泳分離，並使用雷射激發螢光偵測已標記之 DNA，以快速得到 DNA 序列。值得注意的是毛細管凝膠電泳由於其速度快、樣品用量少、解析度佳等優點，已漸成 DNA 序列研究之新寵。而隨著分子生物學之發展，平板凝膠電泳更被用來純化由 DNA 再併合技術合成之蛋白質及重要之基因。在蛋白質分離方面，以使用 PAGE-SDS 最為普遍。

參考文獻

1. A. Chrambach, *Advanced Method in the Biological Sciences: The Practice of Quantitative Gel Electrophoresis*, Germany: VCH (1985).
2. T. J. Bruno, *Chromatographic & Electrophoretic Methods*, New Jersey: Prentice Hall, Englewood Cliffs (1991).
3. A. T. Andrews, *Electrophoresis: Theory, Techniques, and Biochemical and Clinical Applications*, Oxford: Clarendon Press (1986).

作者：陳鉉升先生現為國立台灣大學化學所碩士班學生。

張煥宗先生為美國愛荷華州州立大學化學博士，現任國立台灣大學化學系副教授。

毛細管電泳

Capillary Electrophoresis (CE)

關鍵字：毛細管電泳、電泳、電滲流

Keywords：capillary electrophoresis, electrophoresis, electroosmotic flow

一、基本原理

離子的電泳是指在電介質中，帶電粒子於電場作用下，以不同的速度向電荷相反方向之電極遷移的現象。利用這種原理的分離方式稱之為電泳技術。理論上，電泳分離的效率與電場的高低成正比的關係，但是受限於在高電場的作用下，會引起電介質中離子的自熱現象，此即為焦耳熱 (Joule heat) 效應的產生。這種熱效應會導致帶變寬的現象，降低了分離的效率，此為傳統的電泳分析法所遭遇的最大的問題。小內徑的管柱或者毛細管其表面積相對於體積的比率較大，比較能夠有效的分散焦耳熱，提供樣品在管柱中較為一致的溫度截面。因此，使用毛細管進行電泳時，可以得到極高效率的分離。

毛細管電泳技術包含數種不同的分離模式，是結合許多傳統的電泳和層析的技術發展而來。這些使用細微的毛細管作為管柱，而以各種電泳分離的模式，均可以在一台標準的毛細管電泳儀中執行。雖然毛細管電泳大部份的應用是使用液體作為分離的介質，但是也包括使用電泳的凝膠與層析的填充物作為分離的毛細管柱等的技術。以下六種分離模式為目前發展已趨成熟之毛細管電泳方法：

1. 毛細管區帶電泳法 (capillary zone electrophoresis, CZE)

毛細管區帶電泳法 (或自由溶液電泳) 是毛細管電泳的技術中，使用最普遍，也是發展最成熟的一種方法。毛細管區帶電泳的分離機制，是由於溶液中的各個分析物因所帶的電荷數和大小的差異，在外加電場的作用下，會產生不同的電泳動速率 (electrophoretic mobility)，即不同的移動速度而分離。同時，在一般使用之不經修飾的矽砂毛細管中，其管壁的矽醇官能基在緩衝溶液的介質中會解

離而帶有負電荷，此時溶液中過量的正離子則聚集於管壁附近而形成電雙層。在外加電場的作用下，位於電雙層外圍的擴散層之正電荷離子，會吸附周圍的水分子而驅使整體溶液往負極的方向移動，產生電滲流 (electroosmotic flow, EOF) 的現象。各個離子在其電泳動和電滲流速率的雙重作用下，會具有不同的淨移動速率，所以能產生分離的效果。一般而言，電滲流的速率要比分析物中的正離子或者負離子快了許多，因此其淨電泳速率的向量和均為一致的方向 (即向陰極流動)，所以可以同時分析這兩種離子。

2. 毛細管凝膠電泳法 (capillary gel electrophoresis, CGE)

毛細管凝膠電泳法是目前所有分析技術中，具有最高分離效率的一種，其分離的理論板數可以高達每米數百萬的範圍。膠體被使用作為電泳的分離介質，主要是因為膠體本身具有分子篩的性質。它的分離機制，是因為形成的凝膠本身具有特定的孔徑大小，當分析物經由充滿孔洞的凝膠介質時，由於溶質大小的差異，在移動時會受到不同程度的阻礙，而產生不同移動速率，及達到分離的效果。

3. 微胞電動力毛細管層析法 (micellar electrokinetic capillary chromatography, MECC)

在 MECC 中，主要的分離機制是利用溶質在微胞與介質溶液之間的分配作用而產生分離的效果。這項技術最大的特點是使毛細管電泳法除了用在離子型物質的分離之外，同時能夠應用在中性物質的分析。自此以後，各種型式的界面活性劑與緩衝溶液修飾劑相繼的研究發展，使得毛細管電泳法的選擇性大為提高。因此，毛細管電泳法的應用領域也更為廣泛。

在 MECC 的系統中，通常是將離子型的界面活性劑加入緩衝溶液中，當其濃度超過臨界微胞濃度時，界面活性劑的單體會聚集在一起而形成微胞。這些微胞具有疏水性的內核和帶有電荷的極性表面，它們在介質溶液中能夠提供一個類似層析法靜相作用的流動相，所以這個微胞相又稱之為準靜相 (pseudostationary phase)。溶質依據本身疏水性的不同，在微胞相與水相之間產生分配作用而達到分離。MECC 除了使用在中性物質的分析外，亦可提高離子性物質分離的選擇性。這些結合荷質比、疏水性之差異和微胞表面的電荷作用力之不同，均能夠影響分析物的分離。

4. 毛細管電層析法 (capillary electrochromatography, CEC)

在毛細管電層析法中，是使用類似於液相層析中的填充物於毛細管柱中。將平均 2 到 10 μm 大小的特殊塗佈或鍵結化學官能基之顆粒填充到毛細管柱內，利用這些特殊填充物與溶質間的作用，而產生分離的另外一種機制。在電場的作用下，電滲流的產生是由於填充粒子的表面所造成的結果，而非由毛細管壁的解離所發生。而毛細管填充管柱在層析法中的發展，已經有很長的一段時間，如果填充管柱的裝配與使用能夠很容易的完成，這種型式的管柱可能會廣泛的被利用。

5. 毛細管等電聚焦法 (capillary isoelectric focusing, CIEF)

在毛細管中，等電聚焦電泳的分離可在具有凝膠介質或者自由溶液中進行。一些具有不同等電位的兩性物質，例如：蛋白質、胺基酸和各種藥物等，都可以利用等電聚焦的方式分離。在這技術中，須於毛細管柱的正極端置入酸性的溶液 (陽極液)，而管柱的負極則置入酸性的溶液 (陰極液)，當樣品與兩性電介質溶液導入毛細管中會形成一個 pH 梯度。在外加電場的作用下，這些兩性的分析物在介質中會移動至其等電點的位置而停止，此時它們的淨電荷為零；在達到穩定狀態下，分析物會被聚焦在一個很窄的區帶。在等電聚焦的步驟以後，這些分析物區帶可以再藉由其他方式驅動，例

如以壓力驅動或是電泳的流析方式，使其流經偵測器而分析之。

6. 毛細管等速電泳法 (capillary isotacho-phoresis, CITP)

等速電泳法在各種領域中，是使用相當廣泛的一種分離技術。它主要的特色是使用不連續的緩衝溶液系統，使樣品成分聚集在前導端 (leading) 和終端 (terminating) 組成的緩衝溶液中，而以相等的速度移動，各個成分再依據電泳速率的不同而形成連續的樣品區帶。其它毛細管電泳的分離模式則是使用單一的緩衝溶液系統，而且樣品的區帶會連續的改變形狀和其相對位置。因此在毛細管等速電泳中，其電泳圖和一般的毛細管電泳模式會有很大的不同，它包含一系列的階梯圖，而每一個階梯則代表一個樣品區帶。這些區帶的偵測可以由吸收光度、導電度或者電位梯度的改變來分析。

二、結構示意圖

毛細管電泳最大的好處之一是它僅需要簡單的儀器設備即可操作。一個基本的毛細管電泳裝置如圖 1 所示。毛細管的兩端分別置入插有電極的緩衝溶液槽中，再將電極與高電壓電源供給器及地線相連，偵測器一般則置於毛細管的後端直接作線上檢測。其它的配備則包括有自動取樣器、多重注入裝置、樣品/毛細管溫控裝置、多重偵測器、分液收集器和微電腦操作控制及資料擷取系統等。

三、儀器規格與特徵

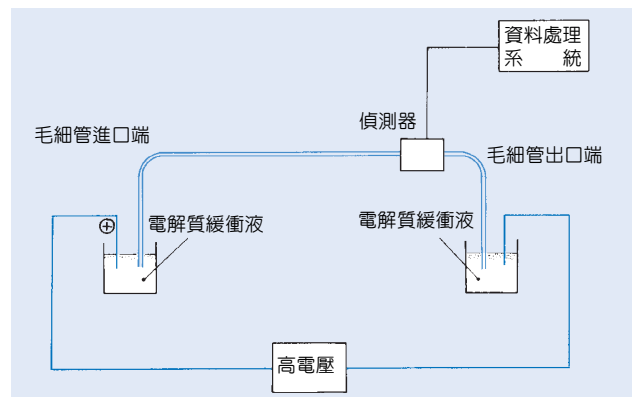


圖 1. 基本的毛細管電泳裝置圖。

表 1. 毛細管電泳偵測器的種類與偵測極限。

偵測方法	偵測極限*(molarity)	優缺點
紫外光—可見光吸收法	$10^{-5} - 10^{-8}$	<ul style="list-style-type: none"> · 普遍性 · 光譜掃描提供定性資訊
螢光法	$10^{-7} - 10^{-9}$	<ul style="list-style-type: none"> · 靈敏 · 樣品經常需要衍生化
雷射—誘導螢光法	$10^{-10} - 10^{-12}$	<ul style="list-style-type: none"> · 極靈敏 · 樣品經常需要衍生化
安培法	$10^{-10} - 10^{-11}$	<ul style="list-style-type: none"> · 靈敏 · 僅有對電活性分析物具選擇性 · 需要特定的電子工學及毛細管修飾
電導法	$10^{-7} - 10^{-8}$	<ul style="list-style-type: none"> · 普遍性 · 需要特定的電子工學及毛細管修飾
質譜法	$10^{-8} - 10^{-9}$	<ul style="list-style-type: none"> · 靈敏 · 提供結構上的資訊 · 偵測界面複雜
吸收光、螢光、安培之 間接偵測法	$10^{-5} - 10^{-7}$	<ul style="list-style-type: none"> · 普遍性 · 靈敏度略低於直接偵測法
其他的偵測方法： 折射率、同位素輻射、原子吸收光譜、拉曼光譜、化學放光等。		

註※：濃度偵測極限除因不同樣品基質與分析物而不同外，偵測器組裝之方法亦是重要變因，故此表數值僅為參考。

目前商業化的電泳儀型式頗多，主要的規格差異在電源供應器、樣品注入器、溫控裝置與偵測器等。傳統上，毛細管電泳分析法使用的線上偵測方法，只需要將熔矽毛細管外層包覆的聚亞胺去除一小段，即可以作為偵測視窗，這種偵測方式普遍的使用在光學的偵測器上。可應用於毛細管電泳的各種偵測方法，其偵測極限與優缺點如表 1 所列，而市售的電泳儀則以紫外光—可見光偵測器為多，一些高級的機種，則配備有雷射—誘導螢光偵測器。另一方面，電泳—質譜之連線則是未來儀器開發的重點，目前已有儀器商提供商業化的機種。

四、應用與用途

毛細管電泳可廣泛地應用於各種生化、環境、醫藥與臨床的分析工作上。和傳統的電泳相比，最主要的特色有：分離速度快、高分離效率及所需樣品非常微量。在毛細管電泳中，分離的效率可高達每米數百萬理論板數，而且樣品與溶劑的消耗量很少，是其他的分析方法所不及的。

CZE 可應用的範圍很廣，包括離子分析、物種分析、胺基酸分析、胜肽鑑定與光學異構物分析等，且可進行蛋白質的純度鑑定、變體篩選及構形研究。CGE 主要應用於分子生物學和蛋白質化學，如寡聚核苷酸純化、DNA 序列分析、PCR 產物分析，以及原蛋白和 SDS 結合蛋白的分離。MECC 的應用範圍包括胺基酸、核酸、維生素、芳香烴化合物及藥物分析等。CIEF 可測定蛋白質等電點、異構體分離及稀薄生物溶液分析。CITP 可用來進行 CZE、MECC 或 CGE 的預濃縮。

參考文獻

1. David N. Heiger, *High Performance Capillary Electrophoresis- An Introduction*, Hewlett-packard Company press (1992).
2. S. F. Y. Li, *Capillary Electrophoresis: Principle, Principle, and Application*, Amsterdam: Elsevier (1992).
3. Celia Henry, *Analytical Chemistry*, **68**, 747A (1996).

作者：李盈壕先生為國立台灣大學化學博士，現任伊默克化學科技公司品管部副理。

場流分離儀

Field-Flow Fractionation (FFF)

關鍵字：場流分離儀、沉降場、流場、電場、熱場

Keywords：field-flow fractionation, sedimentation field, flow field, electrical field, thermal field

一、基本原理

在靠近的兩平行板中間液體的流動是層流 (laminar flow) 時，其液體的流速是以拋物線的形狀流動。在兩平行板正中間位置的液體流速最大，而靠近兩平行板位置的液體流速最小，如圖 1 所示。場流分離技術是以薄層 (小於 0.05 公分) 靠近的兩平行板做為分離槽，且在兩平行板間拋物線流動液體的垂直方向上外加適當的場來達成分離的目的，因外加的場使樣品中的各成分在與平行板垂直的方向上移動，且移動至不同的位置，在此不同的位置即不同的流速下而分先後順序的流出以完成分離，外加場的選擇是根據樣品的物理性質而定，外加場的種類、大小及液體的流速是決定分離作用的主要因素。

在分離的機制上場流分離技術是結合了層析和場驅動技術 (如電泳、離心等) 的要素，場流分離技術像層析技術是一種流析 (elution) 的技術，另一方面也像場驅動技術需要場或坡度來達成分離的作用。

場流分離技術雖如層析技術是一種流析的技術，但它不使用如層析技術中的固定相，故有時被稱為單相的層析技術，且場流分離儀有簡單幾何形狀的分離槽及可計算外加場的大小，故從已知樣品的物理參數 (parameter) 可精確的計算出其滯留時

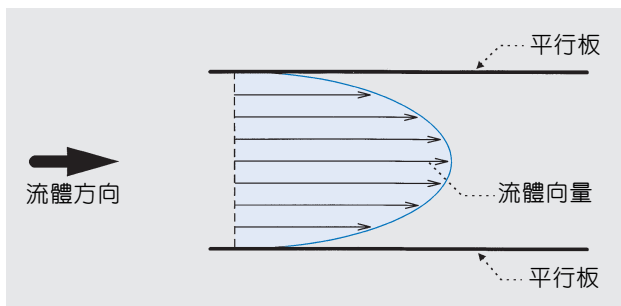


圖 1. 兩平行板間流體拋物線流速側面圖。

間，也可從樣品的滯留時間及已知的一些物理參數，而推算出樣品未知的物理性質，這種從樣品的物理性質、滯留時間與外加場之間互相可計算推導的關係是一般層析技術較不易或無法辦得到的特性。

目前較常使用於場流分離技術中外加的場為：沉降場、流場、熱場和電場，現分述於下：

1. 沉降場場流分離儀 (sedimentation field-flow fractionation, SdFFF)

沉降場包含了重力場及離心場，基本上是以樣品的大小、密度、分子量和沉降係數做為選擇性分離的基礎，重力場可以利用分離槽放置不同的角度而調節重力場的大小，離心場可由改變旋轉軸的長短及轉速來選擇離心力的大小。

2. 流場場流分離儀 (flow field-flow fractionation, FIFFF)

流場基本上是以樣品的大小和擴散係數做為選擇性分離的基礎，流場是以流體的流動在平行板的垂直方向上來完成，流體流速的大小可用來調節流場的大小。

3. 熱場場流分離儀 (thermal field-flow fractionation, ThFFF)

熱場基本上是以樣品的熱擴散因子 (thermal diffusion factor, α) 和熱擴散係數做為選擇性分離的基礎，上下兩平行板之間的溫度差可用來調節熱場作用力的大小。

4. 電場場流分離儀 (electrical field-flow fractionation, EIFFF)

電場基本上是以樣品的電泳移動速率

(electrophoretic mobility, μ) 和擴散係數做為選擇性分離的基礎，電場的大小可用兩平行板間的電位差來調節。

外加的場可以不受樣品及載體 (carrier) 的影響而獨立的操作、設定或用程式的變化以利分離作用解析度及 (或) 分離速度選擇的最適化。

在操作上，場流分離技術可分為三種方式：

(1) 正常式的場流分離技術 (normal FFF)

適用於約小於1微米 (μm) 之樣品，在此樣品中，較大的樣品受場的作用力較大，而較靠近平行板的位置，所以流速較慢而比小的樣品慢流出。

(2) 立體式的場流分離技術 (steric FFF)

適用於約大於 1 微米 (μm) 之樣品，此時樣品的立體效應決定分離的作用，即流出的先後順序，較大的樣品其中心因立體效應而離平行板的位置較遠 (較靠近平行板的中間位置)，即位於流速較快的位置，所以比小的樣品快速的先流出。

(3) 上層式的場流分離技術 (hyperlayer FFF)

此種操作是結合場及其它作用力，使不同大小的樣品集中於不同的垂直位置，且遠離平行板而完成快速的分離，可變換條件而使大或小的樣品先快速流出。

正常式的與立體式的場流分離技術之間的轉折點，可利用改變實驗的條件而在轉折點的大小上做有限度的增加或減少的移動，目前上述三種操作方式中，以前兩項即正常式的及立體式的操作使用較多。

二、結構示意圖

場流分離技術的分離槽 (channel)，除離心場的

是彎成圓形以利離心力之作用外，其餘都是直的、長方形、薄的分離槽 (小於 0.05 公分)，基本的整個場流分離儀類似液相層析技術的裝置如圖 2 所示，外加場的種類、大小及液體的流速是決定分離作用的主要因素。

三、儀器規格與特徵

場流分離儀的分離槽主要是由長方形薄的 Mylar 或鐵弗龍切空製成，分離槽的厚度大都小於 0.05 公分，寬度從 0.5 公分至 3.0 公分，長度從 5.0 公分至 40 公分，外加的場與分離槽之間的界面則依外加不同的場而有所不同，其中以重力場最簡單，只須將分離槽液體的流軸與重力成垂直即可，流場以多孔性的陶瓷物質做界面，熱場以銅板做界面，電場以白金電極做界面。目前已有商業化的場流分離儀，其中以使用離心場、流場、及熱場的外加場為主，外加的場可以設定或用程式控制變化。固定外加場的大小做分離時，可不需使用電腦控制但對大小分布廣的樣品較耗時，此種樣品較適合利用程式設定來變化場的大小做快速的分離，目前已有軟體可提供分離預測的功能，當輸入樣品的物理參數及場的大小，可預測分離時間及解析度，或輸入所需的解析度及樣品的物理參數，可預知所需場的大小，偵測器目前以紫外光及可見光為主。

四、應用與用途

場流分離儀適用於大分子的應用，且應用的範圍很廣 (分子量從 10^3 至 10^{21})；而傳統的氣、液相層析儀則較適用於小分子的應用，因此兩者在功能

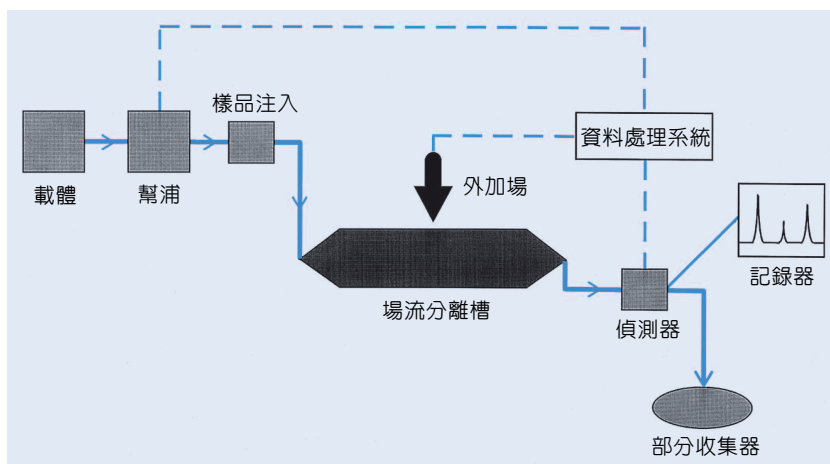


圖 2.
基本的場流分離儀裝置圖。

上主要是互補的而非互相競爭。此外，場流分離儀不但可以依不同樣品而選擇使用不同的場及變化場的大小來達成分離的作用，且可用來測量大分子、膠體或顆粒的一些物理性質如：分子量、直徑、密度、擴散係數、熱擴散因子、電荷等。場流分離儀可應用的範圍很廣如：金屬、礦物、香料、膠體、水溶性合成及生物之大分子、蛋白質、高分子、病毒、乳劑、血球、細胞等，且此技術很溫和對脆弱或易碎的樣品如生物樣品的傷害較小。

參考文獻

1. J. C. Giddings, *Unified Separation Science*, John Wiley & Sons (1991).
2. J. C. Giddings, *Separation Science and Technology*, **19**, 831 (1984).

作者：傅傳博先生為美國猶它大學分析化學博士，現任朝陽科技大學應用化學系所副教授。

流動注入分析儀

Flow Injection Analyzer (FIA)

關鍵字：流動注入分析法、分散度

Keywords：flow injection analysis, dispersion

一、基本原理

流動注入分析法簡單而言是一種將以前實驗室內之單槽分析法經改良而成之連續分析法，基本原理是利用蠕動泵來輸送試劑，經注入樣品後使其混合，並流經一段路程使部份或充份反應，再流經偵檢器來檢測生成物。由於它是一種連續分析，因此在分析速度上比單槽法加快了許多，對於繁重的例行分析工作如程序控制、污染調查、產品檢驗等有莫大幫助。

不論是樣品或生成物在管中流動時皆會產生分散現象，其分散的程度可由分散度 D (dispersion) 表示之： $D = C_0/C_{max}$ 。其中 C_0 表示樣品之原始濃度， C_{max} 表示樣品流經整個系統到達偵檢器中測得之最大濃度。因樣品在管中流動皆會產生分散現象，因此 $C_{max} \leq C_0$ 。分散度的大小與注入樣品體積、管長、流速等有關。 $D = 1-3$ 時稱為低度分散 (limited dispersion)，適用於測定 pH、導電度、pCa、pNO₃ 等。 $D = 3-10$ 時稱為中度分散 (medium dispersion)，適用於樣品需與試劑反應才能檢測之情況，如最常使用之顯色反應。 $D > 10$ 時稱為高度分散 (large dispersion)，適用於需充份混合之滴定反應。

二、結構示意圖

流動注入分析儀之裝置如圖 1 所示，基本組件包括：

1. 幫浦

運送一定速度的液體，使其通過內徑約 0.5—1.0 mm 之一定長度鐵氟龍細管，最常使用的幫浦為蠕動泵，流速約 1—6 mL/min，蠕動泵有單線 (single channel) 及多線 (multi channel)，多線泵可同時連接多條管線。

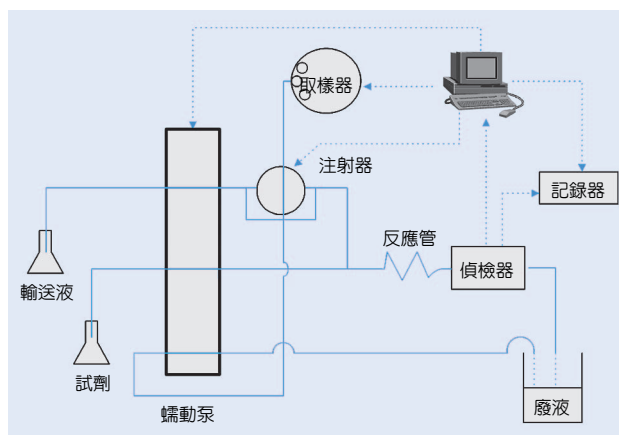


圖 1. 基本的流動注入分析儀裝置圖。

2. 注射器

能反覆地將正確量的小體積溶液樣品注入到輸送液中。最常用的注射器為 Kel-F 製之旋轉式樣品注射器。

3. 反應管

樣品在一定長度的管內分散並與輸送液反應，生成物再流經小體積之偵檢器流動槽中並檢測記錄之。反應管一般為 0.5—1.0 mm 內徑之鐵氟龍細管，長度可視情況調整。

4. 偵檢器

可檢測溶液樣品之偵檢器如 UV-Vis、AA、ICP、電化學、螢光分析儀等皆可作為 FIA 之偵檢器。一般最常用之偵檢器為 UV-Vis 偵檢器。

FIA 典型的記錄器是 X-T 記錄器，輸出信號形成波峰狀，高度與分析物的濃度成正比例關係。從樣品注入點到波峰高點所經過的時間即是產生化學反應或樣品流經管長的時間。一個設計優良的 FIA 系統，時間 T 約為 5—20 秒，所以通常一分鐘內至少可以分析 2 個樣品。在前一個波峰通過頂點而快

接近基線時再次注入樣品，如此即可得到連續的波峰圖如圖 2。一般一個樣品以注入三次來求其平均值，由高度及標準檢量線求出分析物的濃度。

三、儀器規格與特徵

FIA 可以說是一種半自動化 (或自動化) 之分析法，除了分析快速是其最大優點外尚有其他幾項重要特點：(1) 試劑用量少：試劑在很小內徑的管線內流動，每分析一個樣品所消耗的試劑不超過 0.5 mL，(2) 污染少：由於試劑、樣品等都在密閉的管內流動，可降低外界所引起的污染，又因不需使用量瓶、吸管等容器，亦可消除容器造成的污染，(3) 精確度高：屬於自動化分析，人為誤差相對降低，精確度一般可至 1%。

FIA 可採購零件自行組裝，可變性相當大，費用亦不高。商業化產品種類頗多，大都以微處理機來控制系統的運作及數據處理。簡單介紹幾種機型如下：

1. Tecator FIAstar 5010, 5020

有二組獨立之四線泵、泵及注射器由盤面控制，微處理機可自動計算、再校正及顯示結果。偵檢器為可見光分光儀，自動取樣器可裝填 40 個樣品。

2. Tecator Aquatec 系統

針對分析氨、亞硝酸鹽、硝酸鹽、磷酸鹽及氯離子而設計，注射器可自動化或人工操作。偵檢器為可見光分光儀，數據由微處理機運算。

3. FIAtron 系列

包括 FIA-Valve2000、FIA-Valve2500、FIA-ZYME、FIA-LITE 等，主要區別在於樣品注射器及偵檢器之不同。FIA-ZYME 偵檢器為電化學偵檢器，用於葡萄糖、果糖、蔗糖、乳糖、澱粉、酒精等之分析。FIA-TRODE 偵檢器為離子選擇性電極 (ISE)，可分析 pH、NH₃、CO₂、NO₂、SO₂ 等。FIA-LITE 偵檢器為 Vis。

4. FIAtron Process FIA

用於程序控制，泵屬於氣動式，偵檢器有

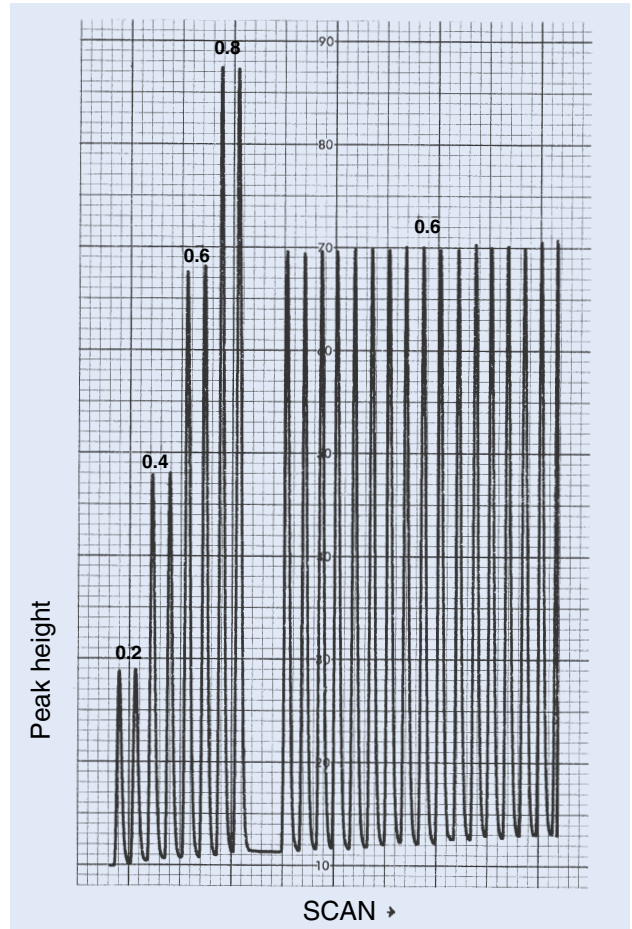


圖 2. 0.2—0.8 ppm Cr (VI) 標準溶液吸收波圖及 0.6 ppm Cr (VI) 連續注射十七次之吸收波圖。

UV/Vis、ISE 或螢光分析儀。樣品流速為 2—200 mL/min，體積較大。其他如 Lachat Quikchem System IV、CEC MultiFolw、Chemlab 等大致上皆大同小異，有些有附加恆溫槽及兩相分離裝置。

四、應用與用途

FIA 發展至今已有相當多技巧存在，簡單敘述如下：

1. 單線 FIA 系統

這是最簡單的系統，適用於樣品不需經其他反應而直接偵測者 (例如測 pH 或以離子選擇性電極測定等) 或用於樣品只需與輸送液反應即可偵測者。

2. 雙線或多線系統

適用於樣品必需與兩種或兩種以上的試劑反

應，而這些試劑必需在測定前短時間內才能混合者，例如磷酸根的測定。

3. 簡單的停一流 (stopped-flow) 系統

適用於必須增長樣品在管內的滯留時間以提高靈敏度的反應。此系統中需有定時器來準確控制幫浦的停止及啟動。當樣品帶在反應管中停止流動時，樣品帶的分散也同時停止 (分子的擴散例外)，此方法可以增加反應時間而提高測定的靈敏度，另外也可以利用此系統做反應速率的測定。利用定時器將樣品帶停留在偵檢器之流動槽中；如果反應已經完成，則記錄器顯示出一水平直線；如果反應仍繼續進行，則記錄器之感應會往上升；反之如果反應是衰減時，則記錄器之感應會往下降。由上升或下降之斜度可以預測樣品與試劑之反應速率。

4. 平行 FIA 分析

此系統中樣品經分裂而進入兩條或多條平行反應管中，反應管的內徑如完全一樣時，則不同的反應管長即代表不同的反應時間。此系統可以用來測定不同反應速率的物質，例如磷、矽與鋁酸鉍的顯色速率不同，可利用此種系統同時定量之。平行 FIA 分析只是 FIA 同時測定系統 (FIA simultaneous determination system) 中的一種。同時測定系統 Lague de Castro 等人已有詳細論文發表。

5. FIA 滴定

利用樣品帶的高度分散可作為 FIA 的滴定。樣品與試劑混合後再流經混合槽 (約 0.5–1.0 mL，內有攪拌子攪拌)，經混合槽之分散反應後再流經偵檢器，由記錄器所得之波峰寬可作為定量之依據。

6. 合併帶法 (merging zone method)

此方法是試劑只與樣品帶混合，而不與輸送液混合，其優點是可以節省試劑的消耗量。此系統中必需利用定時器來控制蠕動泵或利用同步雙注射器，使樣品與試劑能正確地混合。前者是試劑停止不流動，在遇到樣品帶時才流動，樣品帶通過後又回復停止狀態，此種停一流的進行可利用定時器來控制兩個蠕動幫浦的轉動。後者是樣品帶與試劑帶

以同樣流速會合而進入反應管中，此種系統可利用同步的兩個注射器來控制。

7. FIA 掃描法

在利用 dithizone (溶於四氯化碳中) 萃取鉛時，萃取效率與 pH 值的關係可利用此系統快速地獲得。緩衝溶液利用自動滴定儀來調整 pH 值，其輸出訊號則接至 X-Y 記錄器的 X 軸；樣品經 FIA 萃取系統萃取後，有機相流經可見光光譜儀之流動槽內，吸收度之輸出訊號則接至 X-Y 記錄器的 Y 軸，如此可快速地得到 pH 值對萃取效率的影響。

8. 溶劑萃取、氣體擴散及透析

FIA 溶劑萃取由 Karlberg 及 Bergamin 等人各自發展出。有機相連續地加於輸送液 (或樣品帶中) 而形成有機相與水相互隔之形態，在反應管內萃取後有機相與水相於相分離器中分離，有機相再流經偵檢器而連續檢測出。此系統最重要的關鍵在於有機相與水相的分隔必需有相當好的規則性，以及有機相的回收率要高，且其中不能含有水相，如此才能得到高靈敏度及低標準偏差的結果。氣體擴散及透析之裝置與萃取法類似。氣體擴散法是氣體由一流體中經過薄膜而進入另一流體中，而透析法則是低分子量的物質經透析膜與高分子量的物質分離後再由偵檢器檢測出。

除了以上所舉的幾個例子，FIA 技巧還有許多已被發展出，例如 FIA—氫化物產生器、FIA—離子交換管 (或氧化還原管)、FIA—標準添加法、FIA—濃度分散應用等等，在此無法一一詳述，可參考 Ruzicka 及 Shpigun 所發表的回顧論文。

參考文獻

1. J. Ruzicka and E. H. Hansen, *Flow Injection Analysis*, 2nd ed. New York: Wiley (1988).
2. B. Karlberg and G. E. Pacey, *Flow Injection Analysis - A practical Guide*, Amsterdam: Elsevier (1989).
3. Zhaolun Fang, *Flow Injection Separation and Preconcentration*, New York: VCH (1993).
4. J. Ruzicka and E. H. Hansen, *Anal. Chim. Acta*, **179**, 1 (1986).

作者：黃榮茂先生為國立台灣大學化學博士，現任行政院原子能委員會核能研究所分析組副研究員。

超臨界流體萃取儀

Supercritical Fluid Extractor (SFE)

關鍵字：超臨界流體、萃取儀、連線分離

Keywords：supercritical fluid, extractor, on-line separation

一、基本原理

超臨界流體由於具有類似氣體之擴散性及液體之溶解能力，使其滲透速度比液體快且同時具有氣體所無之溶解能力。因此用於萃取時萃取速度比液體快而有效，尤其是溶解能力可隨流體溫度、壓力、密度而變。因此，除了可利用改變不同之超臨界流體組成以改變其溶解能力外（正如同使用不同之液體溶劑），亦可簡單的只改變超臨界流體之溫度、壓力或密度，來控制其萃取結果，使萃取步驟簡化許多（不需配製許多不同性質之溶液）。

同時超臨界流體萃取 (SFE) 需使超臨界流體萃出液減壓，即可使超臨界流體溶劑自然揮發（此時系統會因此而被冷卻下來）達到濃縮的目的；不像傳統萃取必須將溶劑加熱蒸發再濃縮，以至可能被分析物損失或改變性質。此種性質使超臨界流體萃取法除正常單獨使用外，並可與其它分析儀器直接連線。目前 SFE 已可與其他儀器如：氣相層析儀 (GC)、高效能液相層析儀 (HPLC)、薄層層析 (TLC) 及超臨界流體層析 (SFC) 直接連線。這對微量分析而言，可降低樣品使用量，更可減少樣品前處理過程所需用的溶劑及簡化樣品前處理步驟，所以可減少樣品在分析過程中受污染或損失之機會，並可達到省時（約在數十分鐘內作好萃取）省事之效用。

超臨界流體之性質如表 1 所示，超臨界流體其密度近於液體，因此具有類似液體之溶解能力；而

表 1. 超臨界流體與氣體及液體之性質比較。

動相	密度 (g/mL)	黏度 (m ² /s)	擴散係數 (cm ² /s)
氣體	$(0.6-2.0) \times 10^{-3}$	$(0.5-3.5) \times 10^{-4}$	0.01-1.0
超臨界流體	0.2-0.9	$(2.0-9.9) \times 10^{-4}$	$(0.5-3.3) \times 10^{-4}$
液體	0.8-1.0	$(0.3-2.4) \times 10^{-2}$	$(0.5-2.0) \times 10^{-5}$

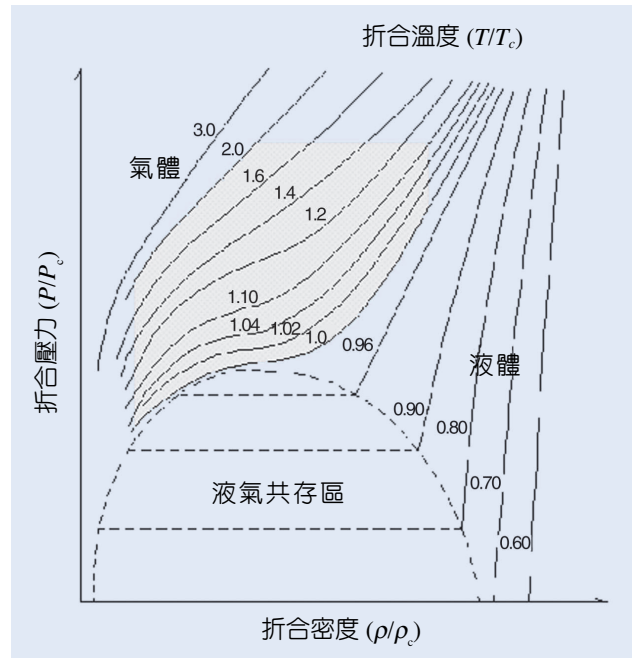


圖 1. 超臨界流體之密度及壓力相關圖。

其黏度，擴散性又較接近氣體，所以質量傳遞又較液體快。

超臨界流體對分析物之溶解能力，與其密度及被分析物之揮發性有關，超臨界流體之壓力和其密度之關係如圖 1。圖中兩座標軸之單位為折合壓力 (reduced pressure) 及折合密度 (reduced density)，其定義為超臨界流體之壓力和其密度除上其臨界壓力和密度；圖中之溫度亦為折合溫度 (reduced temperature)。如圖中所示超臨界流體之密度受壓力

表 2. 常用之超臨界流體。

超臨界流體	臨界溫度 T_c (°C)	臨界壓力 P_c (atm)	臨界密度 ρ_c (g/mL)
CO ₂	31.1	72.8	0.468
N ₂ O	36.4	72.5	0.452
CF ₃ Cl	28.8	38.7	0.580
CF ₂ Cl ₂	111.7	39.4	0.557
n-Butane	288.9	48.3	0.228
n-Pentane	196.6	41.7	0.554

和溫度之密切影響；可看出在陰影部份 (最佳超臨界流體操作區)，溫度或壓力只要稍為改變，折合密度即有很大的改變，所以只要稍微改變溫度或壓力即可迅速改變超臨界流體的密度，亦即改變超臨界流體的溶解能力。此部份即為超臨界流體層析法常用之部份。

1964 年 Hildebrands 提出以溶解參數來描述物質間之溶解現象，其定義為：

$$\delta = \left(\frac{\Delta E}{V} \right)^{\frac{1}{2}}$$

式中 δ 表示物質之溶解參數， ΔE 為此物質在壓力為零時之蒸發能， V 則是其莫耳體積。一般溶劑和溶質之 δ 必須相近，才會互溶。而 1968 年 Giddings 根據上式推導的超臨界流體溶解能力方程式是以溶解參數 (solubility parameter) 來表示：

$$\delta_{scf} = 1.25 P_c^{\frac{1}{2}} \left(\frac{\rho_{scf}}{\rho_l} \right)$$

式中指之 δ_{scf} 代表超臨界流體之溶解參數， P_c 為流體之臨界壓力， ρ_{scf} 則是指超臨界流體之密度，而 ρ_l 則為此流體液態時的密度。由此方程式可知超臨界流體之「溶解能力」受兩個因素影響。方程式前半端因和 $P_c^{\frac{1}{2}}$ 有關，此乃為物質之本性，因其和分子間之距離及引力有關，故稱為化學效應；後半段方程式則被稱為機械效應，此乃因流體密度 ρ_{scf} 可用機械來控制。當兩物質之溶解參數相似，才可互溶；故而在作超臨界層析法時，可藉逐漸改變移動相之壓力或溫度，來改變移動相之溶解參數，而達成分離混合物之效應。

其中氟氯碳氫化合物是最早被使用之超臨界流體、n-butane 及 n-pentane 類化合物可用於中分子量碳氫化合物之分離。一般最常被採用之超臨界流體為 CO₂，主要的原因有：臨界點適中，臨界溫度僅 31.1 °C，適合分離易受熱分解的天然物；臨界壓力適中 (約 72.8 atm)，又不可燃，無毒、化性穩定且安全性高；但因其極性不大無法分離高極性之化合物為其缺點，因此 N₂O 及 NH₃ 曾被用來作高極性之物質分離，唯這些物質化學性質較活潑，故使用率不高。

為了改善 CO₂ 溶解能力有限之缺陷，目前常以添加適當有機化合物於 CO₂ 中，來改善此其溶解能力。一般添加的有機溶劑體積或莫耳比約為超臨界流體量的 1-10 %。然而，超臨界流體本身的臨界點性質會隨添加不同種類的修飾劑或不同的添加量而呈非線性改變，以及改變萃出物在超臨界流體中的溶解度，使混合的超臨界流體物性趨於複雜，不易使用。因此要針對特定的超臨界流體萃取系統來選擇適當的修飾劑並不容易。通常修飾劑選擇的原則是：選取添加對於萃出物有較高溶解度且極性相當的有機溶劑為先，至於修飾劑添加量只有靠實驗來決定。常用的修飾劑添加方式有三種：使用預先混合好一定比例修釋劑的鋼瓶、直接將一定量的修釋劑加在樣品上，及使用雙幫浦系統添加修飾劑等。

超臨界流體對不同的基質會有不同的萃取效果。目前由於對於整個萃取的機制仍不甚瞭解，其可能原因推測有：混合超臨界流體會與萃出物互相競爭不同基質上的活性位置，促使萃出物脫附出來之效果不同；以及混合超臨界流體對改變基質結構，使基質膨脹，使超臨界流體更容易深入基質內溶出萃出物之效果不同等等。

二、結構示意圖

圖 2 為超臨界流體萃取設備之簡單結構示意圖。圖中標示 (a) 的部份代表樣品萃取槽，(b) 則是萃出物回收槽，(c) 為超臨界流體之回收槽，(d) 是超臨界流體萃取加壓幫浦，(e) 表開關閥門，(f) 是超臨界流體之壓力及萃取流速控制閥門，(g) 則代表加熱區，最後，(h) 代表冷卻區。

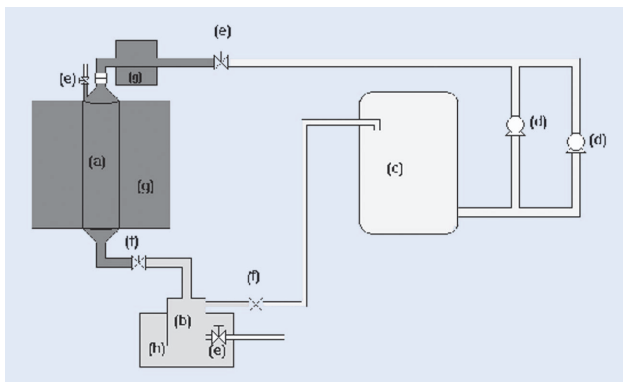


圖 2. 超臨界流體萃取設備示意圖。

三、儀器規格及特徵

一般商業化超臨界流體萃取設備可從小於數毫升之實驗室級到數百升之工業用之間，因此設計上對控壓及控溫之方式、溫度及壓力之範圍、安全之要求均相差很多。話雖如此，所有超臨界流體萃取方式均極相似。一般可分兩段萃取：首先，靜態萃

取方式 (static extraction mode)，又可稱為 steady state extraction，類似於使用溶劑作靜置萃取。將預熱之超臨界流體 (g) 直接對萃取槽內部樣品加壓及加溫，同時封閉萃取槽通道閥門 (f)，進行靜態萃取。待壓力在萃取槽平衡一段時間後以建立萃取物從基質進出之途徑，再將通道閥門 (f) 打開，將萃取物沖入處於低溫的收集裝置中 (b)。此時超臨界流體因降溫而回復液態及因降壓而成氣體並揮發而進入回收槽 (c)，並將萃出物留在收集槽中 (b)。繼之，以動態萃取方式 (dynamic extraction mode)，又可稱為 non-steady state extraction。即維持萃取槽末端之閥門 (f) 通暢；但須保持萃取槽內之壓力，並控制超臨界流體以一定之流速通過萃取槽內部。由於這種動態方式是不斷以新鮮的超臨界流體來繼續進行萃取 (如同使用多次的溶劑作連續重複萃取)，一般來說在相同的萃取時間內，此種萃取方式之效率，遠較靜態萃取方式來得高，唯一的缺點是必須

表 3. 主要的超臨界流體萃取之應用範圍。

萃取分析物	樣品基質	超臨界流體	萃取時間 (min)
生物及天然物樣品及工業生產樣品之純化			
脂肪	肉類、香腸、乳類	CO ₂	30-60
維生素K	幼兒粉末狀的食物,飼料	CO ₂	15-20
萜類、醛類、酯類、醇類	檸檬皮	CO ₂	20-30
香精	花、花的種子	CO ₂	20-50
啤酒原料	啤酒花	CO ₂	30-50
咖啡因	咖啡豆	CO ₂ /微量水	30+50
尼古丁	煙草	CO ₂	~30
docosahexaenoic acid (DHA)	動物油脂	CO ₂	~90
eicosapentaenoic acid (EPA)	動物油脂	CO ₂	~90
中藥成份	藥材	CO ₂	~90
三酸甘油脂		CO ₂	~50
藥物	藥物反應的產物	CO ₂	~60
環境樣品和其它固體分析			
農藥	土壤	CO ₂ /MeOH, CO ₂ /EtOH	35-50
三氯六環類化合物和其它農藥	土壤、腐殖酸、蔬菜類	MeOH	~120
PAHs、PCBs	土壤、飛灰、底泥、紡織品燃燒灰爐空氣懸浮粒子和柴油重油等燃燒的煙粒	CO ₂ , N ₂ O, CO ₂ /MeOH, N ₂ O/MeOH, 乙烷	1-60
多氯戴奧辛	底泥	CO ₂ /MeOH	~30
Anthraquinone	紙、三夾板、鋸屑	CO ₂	~20
油類碳氮化合物	底泥中之石塊	CO ₂	15-30
重金屬離子	土壤、水中	CO ₂ /鉍合劑	20-50
樹脂及高分子			
O-, S-, N-PACs, PAHs, PCBs alkane	聚尿樹脂泡棉	CO ₂ , CO ₂ /MeOH	10-30
O-,N-PACs、PAHs	XAD-2 吸附粒子	異丁烷, CO ₂ /MeOH	30-45
農藥、PAHs	Tenax 吸附粒子	CO ₂	~15
高分子添加物	聚乙烯	CO ₂	~120
離子界面活性劑	反應器底渣、土壤	CO ₂ /MeOH	~30

使用較多的超臨界流體。這種兩者前後互相搭配之萃取方式最被常用，不僅可提升萃取效率，亦可節省超臨界流體之使用量。

萃出物收集的方式可分為兩類：第一類為使用吸附劑吸附，而後再使用有效之脫附法：如熱脫附(thermal-desorption) 或溶劑脫附等。這類收集法必須仔細選擇適當的吸附劑，而且尚須考慮該吸附劑是否有合適的脫附方法。第二類為溶劑收集，其又可分為密閉式和開放式兩種。由於超臨界流體萃取必須以流速控制閥門，來保持萃取時萃取槽及傳輸管線內的壓力，所以其出口會因壓差大而產生一噴射氣流。因此若使用開放式收集法，通常會有萃取物以及收集溶劑的流失，尤其是對高揮發性物質。可是此法設備簡單、費用低，所以被廣泛使用；另一種密閉式收集法，則是在一密閉容器內使用 back pressure 的方式分段降壓，因而可降低因壓差大所噴射出之氣流，並將萃取物收集在一密閉容器內，可避免揮發性高之萃取物之流失。此法之回收率較開放式收集法要來得好，但因需要一高壓收集槽而且設計較為複雜，通常費用較開放式高數倍至數十倍。

四、應用與用途

超臨界流體萃取之應用範圍極廣，表 3 簡略列出已知的超臨界流體萃取之應用範圍。尤其當 CO₂ 超臨界流體萃取法應用在食品及天然物加工時，因 CO₂ 無毒、萃取過程迅速、完全且不須加高熱，使得超臨界流體萃取目前多應用食品及化妝品相關產業。超臨界流體萃取在環境分析上之應用，也因可大量減少萃取時間及溶劑使用(減少廢溶劑再污染)而愈來愈受到重視。

參考文獻

1. Brignole E. A., *Fluid Phase Equil.*, **29**, 133 (1986).
2. Rizvi S. S. H., Benado A. L., Daniels J. A. and Zollweg J. A., *Food Technol.*, **40**, 55 (1986).
3. Lopezavila V., Dodhiwala N. S. and Beckert W. F., *J. Chromatogr. Sci.*, **28**, 468 (1990).
4. Rein J., Cork C. M. and Furton K. G., *J. Chromatogr.*, **545**, 149 (1991).
5. Monserrate M., Olesik S. V., *J. Chromatogr. Sci.*, **35**, 82 (1997).

作者：桂椿雄先生為美國楊百翰大學分析化學博士，現任國立成功大學化學系副教授。
林維炤先生為國立成功大學化學研究所博士候選人，現任私立嘉南藥理學院講師。
沈桓儀先生為國立中正大學化學系理學士，現為國立成功大學化學研究所研究生。

熱卡計

Calorimeter

關鍵字：熱卡計、熱量

Keywords：calorimeter, heat

一、基本原理

「熱卡計」是度量物質在發生物理或化學變化時所伴隨產生之熱量的裝置。由熱力學來看，熱量是指某系統於兩狀態間以熱的形式進出的能量變化。由於熱量會隨系統變化途徑而異，熱量並不是狀態函數 (state function)。因此，熱量值是會隨著熱卡計的度量設計理念差異而有所不同。依據操作狀態，熱卡計可分為：

- (1) 恆溫熱卡計 (isothermal calorimeters)
 - (2) 絕熱熱卡計 (adiabatic calorimeters)
 - (3) 定溫環境熱卡計 (isoperibol calorimeters)
 - (4) 絕熱掃描熱卡計 (adiabatic scanning calorimeters)
- 等多類。而依據度量方法與儀器設計原理的不同，熱卡計又可分為三類：
- (1) 溫差熱卡計 (temperature-changing calorimeters)
 - (2) 補償熱卡計 (compensation calorimeters)
 - (3) 熱交換熱卡計 (heat-exchanging calorimeters)

二、儀器規格與應用

茲就上述三種依據度量方法與儀器設計原理分

類的熱卡計，舉例說明如下：

1. 溫差熱卡計

在溫差熱卡計的裝置中，熱量變化通常是經由熱卡計內已知熱容 (heat capacity) 或比熱係數 (specific heat) 的物質之溫度變化來換算熱量，其關係式為 $Q = K\Delta T$ 。其中， Q 為熱量， K 為熱容， ΔT 為溫差。常見的溫差熱卡計之設計原理與應用略述如下：

(1) 絕熱高壓熱卡計 (adiabatic bomb calorimeter)

圖 1(a) 所示，為一個測量燃燒熱之絕熱高壓熱卡計的裝置。中間置放待測物質之高壓反應槽內的空隙充滿高壓氧氣，反應槽則浸泡在已知重量的水中。在此，水即已知比熱係數的物質。水槽與外槽間為絕熱裝置。在電子點火器點燃之前和之後，水槽內的水溫是連續的被記錄，圖 1(b) 顯示水溫隨時間變化的曲線。由水溫的變化，即可換算出燃燒熱。

(2) 絕熱熱卡計 (adiabatic calorimeter)

圖 2 所示，為一個測量熱容 (heat capacity) 之

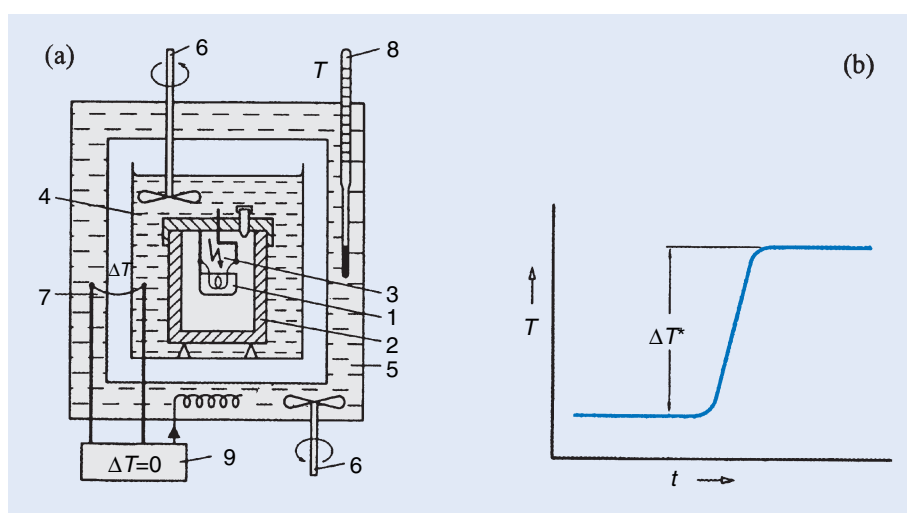


圖 1.

(a) 絕熱高壓卡計的裝置：(1) 樣品槽，(2) 高壓反應器，(3) 點火鎢絲，(4) 水，(5) 絕熱層，(6) 攪拌器，(7) 溫差感應器，(8) 溫度計，(9) 溫控器；(b) 量測曲線， $Q = K\Delta T^{*(1)}$ 。

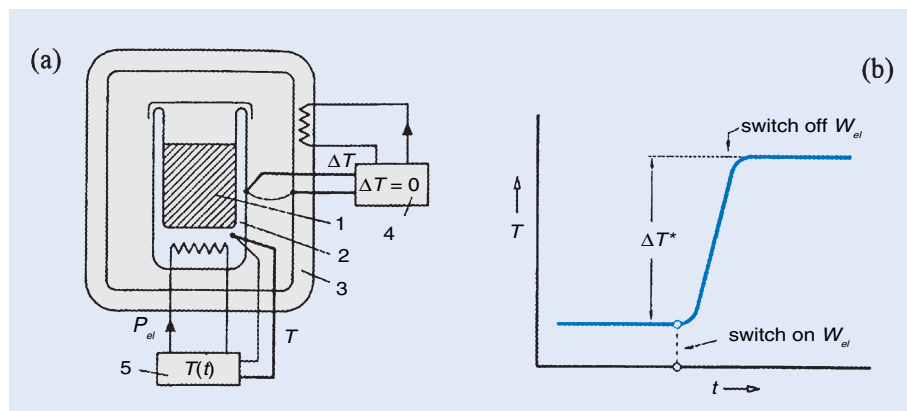


圖 2.

(a) 絕熱熱卡計的裝置：(1) 樣品，(2) 樣品槽與加熱器，(3) 絕熱層，(4) 溫差感應與控制器，(5) 功率控制器；(b) 量測曲線， $C = W_{el}/\Delta T^{*(1)}$ 。

絕熱熱卡計的裝置。與上述絕熱高壓熱卡計不同的是熱量在此系統中並非未知數，通常利用電力產生已知功率 W_{el} 轉成熱量，再利用公式 $C = W_{el}/\Delta T$ ，由測量所得的溫差 (ΔT) 求出熱容值 C 。

2. 補償熱卡計

在補償熱卡計的設計裡，熱量不是由溫度變化來度量，而是由溫度變化對系統的影響抵銷所需的電能或相變化能來度量熱量。

(1) 電能補償熱卡計

圖 3(a) 顯示一個測量溶解熱的電能補償熱卡計。保溫反應瓶裡裝有攪拌器、控溫器及一個高靈敏度之熱電偶。控溫器除了與熱電偶相連接以隨時記錄系統溫度外，其本身包含加熱與冷卻的控溫裝置。當反應為放熱反應時，控溫器會利用冷卻功能以維持系統恆溫。而當反應為吸熱反應時，控溫器則利用加熱功能以維持系統恆溫。把冷卻與加熱所需的電能隨時間變化的曲線記錄下來，如圖 3(b)，

其面積的積分值即反應熱。

(2) 絕熱掃描熱卡計 (adiabatic scanning calorimeter)

在此裝置中 (圖 4)，絕熱裝置可減少系統熱量的流失。此外，反應槽內溫度不再是恆溫，而是程溫 (temperature program) 的設定，通常是一定的升溫速率。視測量溫度範圍而定，若是常溫以上，控溫器可以只有加熱，而不再需有冷卻功能。當吸熱 (或放熱) 反應發生時，為了維持已設定的系統溫度，控溫器就需要增加 (或降低) 加熱功率。由隨時間的電能變化曲線，積分而得反應熱。絕熱掃描熱卡計常被用來精確的度量物質的絕對熱容及熔融熱。

3. 熱交換熱卡計

前述兩類熱卡計的設計，系統與周遭的熱交換量會盡量被減至最低，甚至絕熱，以使系統的溫度變化達到最大值。在熱交換熱卡計中，系統變化的熱量則經由系統與周遭熱交換量而定，所得熱量值

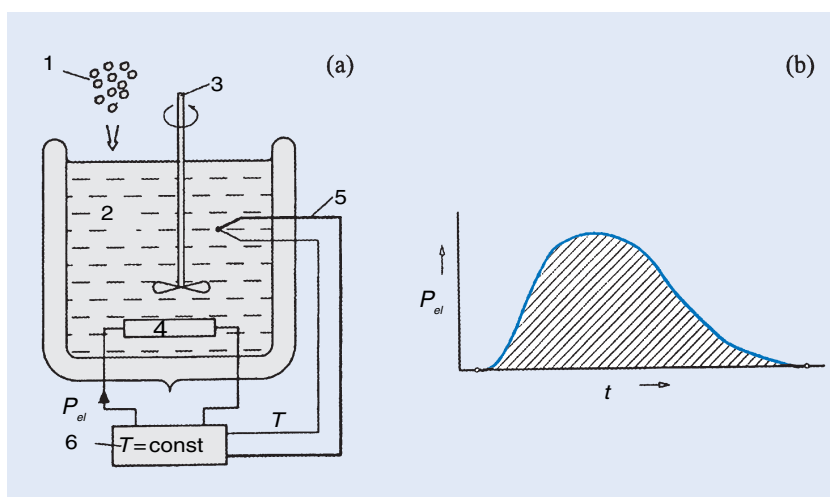


圖 3.

(a) 電能補償熱卡計的裝置：(1) 樣品 (鹽類)，(2) 水，(3) 攪拌器，(4) 電子加熱器，(5) 溫度計，(6) 溫控器；(b) 量測曲線， $Q = \int P_{el}(t) dt^{(1)}$ 。

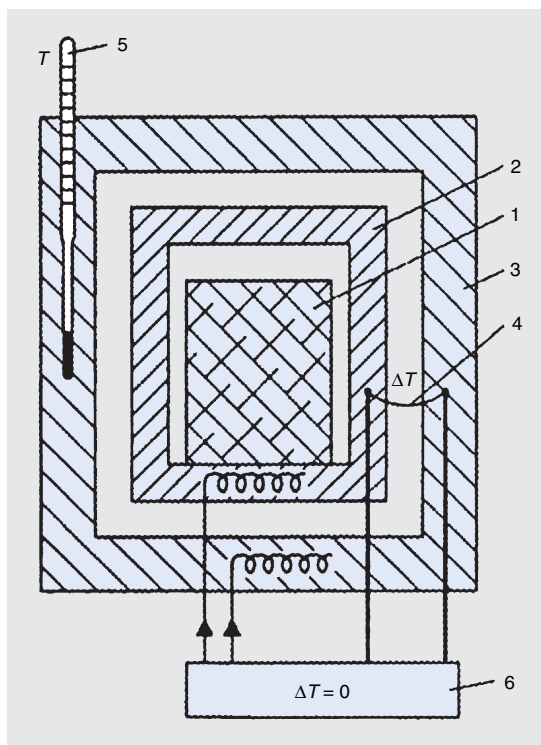


圖 4. 絕熱掃描熱卡計的裝置：(1) 樣品，(2) 樣品槽與加熱器，(3) 絕熱層，(4) 溫差感應器，(5) 溫度計，(6) 程溫控制器⁽¹⁾。

正比於熱交換強度與熱流速率。最常見的熱交換熱卡計為熱流型微差掃描卡計 (heat-flux DSC)，將併入「微差掃描卡計」一起介紹。

參考文獻

1. Vincent B. F. Mathot ed., *Calorimetry and Thermal Analysis of Polymers*, Munich, Vienna, New York: Hanser Publishers (1994).
2. A. Turi ed., *Thermal Characterization of Polymer Materials*, Academic Press (1981).
3. E. L. Charsley and S. B. Warrington eds., *Thermal Analysis: Techniques and Applications*, Cambridge: Royal Society of Chemistry (1992).

作者：鄭淑芬女士為美國德州農工大學化學博士，現任國立台灣大學化學系教授。

微差掃描卡計

Differential Scanning Calorimeter (DSC)

關鍵字：微差掃描卡計、熱量

Keywords：differential scanning calorimeter, heat

一、基本原理

「微差掃描卡計」是熱卡計的一種，其系統的溫度是程溫設定。經由校正，物質在所設定的溫度範圍內，發生的物理或化學變化伴隨產生之熱量，得以精確測得。不同於前述的幾種熱卡計，DSC 的裝置除了待測物質 (或樣品) 外，都另使用在測試溫度範圍不會有任何熱變化的參比物 (reference)。由於度量設計方法的不同，常見的 DSC 儀器可以歸納為兩類：熱流 (heat-flux) 型與功率補償 (power-compensation) 型。雖然兩型 DSC 都需度量樣品與參考物質間的溫差以求得熱量，但熱流型是累積變化期間所有溫差以計算熱量，而功率補償型則是盡力壓抑溫差，以累積變化期間所需補償的電能來換算熱能。

近五年，市面上開始推出調幅 DSC (modulated DSC, 簡稱 MDSC)，其儀器設計與一般 DSC 的差異只是升溫方式與分析軟體。不同於一般 DSC 的線性程溫控制，MDSC 是在線性程溫程式上再加上正弦曲線式的溫度變化。由於線性與正弦曲線式程溫設定量測到的熱量分別對應於熱流與熱容變化，經由程式分析，可由單一實驗數據，區分重疊譜峰中所包含的可逆的 (如熱容) 與不可逆的變化產生之熱量值。

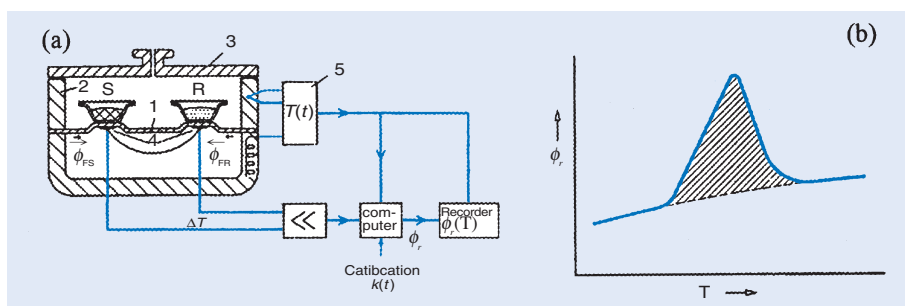
二、儀器規格與特徵

1. 熱流型 DSC

市面上銷售的熱流型 DSC 有兩種：圓盤 (disk) 狀與圓柱 (cylinder) 狀，前者適用於 1–20 mg 的少量樣品，後者則可測量較大量的樣品，在此將以較常見的圓盤狀設計做說明。在圓盤狀 DSC 的設計裡 (圖 1)，樣品槽與參比物槽是置放於一個金屬圓盤上。金屬圓盤的作用是傳熱與作為測溫熱電偶的一極，而整個圓盤是在單一加熱源的爐子裡。圓盤下方的熱電偶記錄樣品與參比物間的溫差。在穩定態下，爐子與樣品間及爐子與參比物間的熱流速率 (分別以 ϕ_{FS} 、 ϕ_{FR} 表示) 應該相等，溫差訊號為零。當穩定態受到樣品熱量變化的干擾，量測到的溫差正比於爐子與樣品間及爐子與參比物間的熱流速率之差，其列式如下： $\phi_r = \phi_{FS} - \phi_{FR} = -K\Delta T$ ，其中， ϕ_r 為反應熱流， K 為熱容。反應或相變化產生的熱量 $Q = \int_{t_1}^{t_2} \phi_r(t) dt$ ，其中 t_1 、 t_2 分別為反應或相變化開始與結束的時間。

熱容 (K) 其實是一個複雜的函數，或者說 ϕ_r 其實包含數個變數，約略可表示為： $\phi_r = -\Delta T/R - \beta (C_s - C_r) - C_s(d\Delta T/dt)$ ，其中， R 為熱阻 (heat resistance)， $\beta = dT_r/dt$ 即參比物的加熱速率， C_s 、 C_r 分別為樣品與參比物的熱容。若 $C_s \neq C_r$ ，上式第二項的貢獻，使得即使在穩定態， ΔT 也不為零，這是作 DSC 實驗看到的背景線。上式第三項則把溫差對時間變化的速率也考慮進去。由於

圖 1.
(a) 熱流型圓盤狀 DSC 的裝置：S = 樣品，R = 參比物，(1) 金屬圓盤，(2) 加熱爐，(3) 蓋子，(4) 溫度感應器，(5) 程溫控制器；(b) 量測曲線， $\phi_r = -K\Delta T^{(1)}$ 。



DSC 實驗量測到的 ΔT 對時間之譜峰，尤其是起始點及結束點往往不會是線性，第三項的貢獻是造成熱流型 DSC 的譜峰解析度不佳的原因之一。

取決於金屬圓盤與熱電偶的製作材質，熱流型 DSC 的適用溫度範圍通常在 -170 至 $700\text{ }^\circ\text{C}$ ，以及室溫至 $2000\text{ }^\circ\text{C}$ 。當然在不同測試溫度範圍，所選用的樣品與參比物容器之材質也有所不同。熱流型 DSC 的升溫速率最快可達 $100\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ 。

2. 功率補償型 DSC

市面上銷售的功率補償型 DSC (如圖 2(a))，樣品槽與參比物槽分別位於兩個小加熱爐中。圖 2(b) 顯示其控制電流環路，其中一組作為程溫設定之溫度控制，針對兩槽的平均溫度 $(T_s + T_r)/2$ 作溫控，另一組則作為抑制樣品與參比物之間溫差 $(T_s - T_r)$ 的功率補償。功率大小正比於溫差，列式如下： $\Delta P = K_1 \Delta T$ 。而熱流速率 $\phi_m = K_2 \Delta T$ 則需經由對控制器硬體與軟體的校正而求得。反應或相變化產生的熱量則由對時間積分求得， $Q = \int_{t_1}^{t_2} \phi_m(t) dt$ 。

目前市面上銷售的功率補償型 DSC 的適用溫度範圍約在 $-170 - 700\text{ }^\circ\text{C}$ 。由於其爐身小，升、降溫速率通常比熱流型 DSC 快，其最快升溫速率可達 $500\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$ 。

三、應用與用途

在過去的二、三十年裡，熱分析技術已廣泛地被應用到研究、開發與生產上，微差掃描卡計則是熱分析技術中最常被使用的儀器。其應用領域廣泛，測試樣品包括有機、無機化合物、高分子聚合物、半導體材料、超導材料、液晶材料、食品、醫藥及生物等。舉凡樣品在測試溫度範圍內產生的物理或化學變化，如熔融、分解、變質、相轉換等，只要伴隨有熱量的進出，皆可藉由 DSC 來決定其變化或反應產生的溫度、熱焓變化量 (ΔH) 以及動力學數據。市面上常見的 DSC，操作溫度範圍大部份在 -170 至 $700\text{ }^\circ\text{C}$ 間，尤其適合聚合物及低溫材料的研究。近十年，這方面應用的研究資訊及分析技術更伴隨著材料科學的蓬勃發展而日益成熟。DSC 可以提供瞭解低溫材料或聚合物的性質，包括玻璃轉換點 (T_g)、熔點 (T_m)、純度、熱容、反應

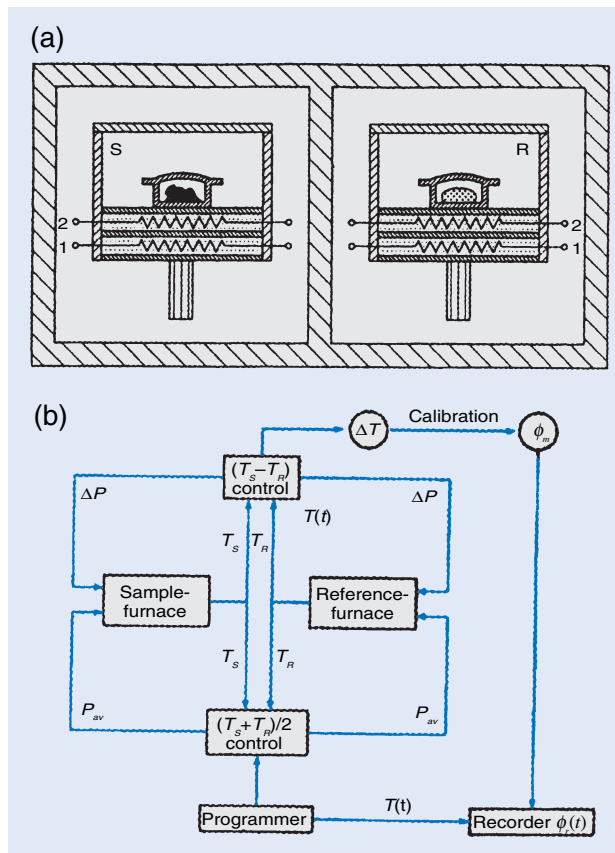


圖 2. (a) 功率補償型 DSC 的裝置：S = 樣品，R = 參比物，(2) 溫度感應器；(b) 控制電流環路， $\phi_m = -K\Delta T_{\text{calibrated}}^{(1)}$ 。

速率、反應程度、結晶、熔融熱、多種材料混煉或共聚時的相容性、氧化導引時間等。近五年，推出市面的 MDSC 則提供更簡便與精確量測材料熱容的技術，可以把複雜、重疊的相轉移譜峰分離。另一方面，高溫 DSC (操作溫度範圍在室溫至 $2000\text{ }^\circ\text{C}$ 間) 則適合金屬、陶瓷、觸媒、半導體、超導等高溫材料的研究。

參考文獻

1. Vincent B. F. Mathot ed., *Calorimetry and Thermal Analysis of Polymers*, Munich, Vienna, New York: Hanser Publishers (1994).
2. A. Turi ed., *Thermal Characterization of Polymer Materials*, Academic Press (1981).
3. E. L. Charsley and S. B. Warrington eds., *Thermal Analysis: Techniques and Applications*, Cambridge: Royal Society of Chemistry (1992).

作者：鄭淑芬女士為美國德州農工大學化學博士，現任國立台灣大學化學系教授。

中文關鍵字索引

X 光螢光光譜儀 X-ray fluorescence spectrometer (XRF) 10-13

二劃

二維核磁共振波譜 2-D NMR 38-39

三劃

大小排除層析 (分子篩選層析) size-exclusion chromatography 31, 104-106

大氣化學游離法 atmospheric pressure chemical ionization 71-73

大氣壓離子化質譜儀 atmospheric pressure ionization/ mass spectrometer 71-72

四劃

元素分析 elemental analysis 9-10, 12-13, 76-79

分子量 molecular weight 29, 31, 49, 52-53, 59, 61, 65, 69-70, 74, 76, 98, 104-106, 111-113, 117, 123-125, 128, 130

分子篩選層析 (大小排除層析) size-exclusion chromatography 31, 104-106

分散度 dispersion 126

化學位移 chemical shift 38-39, 42-43

化學游離法 (化學離子化) chemical ionization 50, 52-53, 57-60, 68, 71-73

化學發光 chemiluminescence 32-37, 105

比電導 specific conductance 82-83

毛細管柱 capillary column 95-96, 111-113, 120-121

毛細管電泳 capillary electrophoresis (CE) 36, 50, 60, 78, 120-122

火焰式原子吸收光譜儀 flame atomic absorption spectrometer (flame AAS) 1-3

五劃

去氧核糖核酸 DNA 34, 36, 48, 74, 75, 100, 103, 117-118, 122

四極矩質譜儀 quadrupole mass spectrometer 50-51, 54-55, 60

平板凝膠電泳 slab gel electrophoresis 117-119

生命期 lifetime 22-24

生物發光 bioluminescence 35-36

石墨爐原子吸收光譜儀 graphite furnace atomic absorption spectrometer (GF-AAS) 1-2

六劃

交換容量 exchange capacity 107

伏特安培儀 voltammeter 86-88

光子相關光譜 photon correlation spectroscopy 29, 31

全反射 X 光螢光光譜儀 total reflection XRF (TXRF) 10-13

同位素分析 isotope analysis 77

同時式 simultaneous 5-8, 10, 13, 128

自旋耦合 spin-spin coupling 38-39

七劃

串聯質譜法 tandem mass spectrometry 51, 57, 59

低壓液相層析儀 low pressure liquid chromatography (LPLC) 98

快速原子撞擊法 fast atom bombardment 50, 60, 69

快速逆向流層析 high speed CCC 114-115

抑制作用 suppression 107

沉降場 sedimentation field 123

八劃

固態核磁共振光譜學 solid state NMR spectroscopy 41

拉曼 Raman 25-27, 122

波長分散式 wavelength dispersive 10-13

近紅外光吸收光譜儀 near infrared absorption spectrometer 17

九劃

指示電極 indicator electrode 80-81, 84

流動注入分析法 flow injection analysis (FIA) 126
流場 flow field 123-124
紅外光吸收光譜儀 infrared absorption spectrophotometer
17, 19
飛行式質譜儀 time of flight mass spectrometer 60, 63-65

十劃

剝除伏特安培儀 stripping voltammeter 86-87
原子吸收光譜儀 atomic absorption spectrometer (AAS) 1-4
原子放射光譜儀 atomic emission spectrometer (AES) 4-6
原子槍 atom gun 69-70
核磁共振 nuclear magnetic resonance (NMR) 38-41, 43-45
氣相層析 gas chromatography 49-50, 52-53, 55, 60, 64-65,
71, 77-78, 90, 94-96, 101, 113, 129
能量分散式 energy dispersive 10-13
逆向流層析 countercurrent chromatography (CCC) 114-116
高效能液相層析儀 high performance liquid chromatography
(HPLC) 101-103, 111, 129
高效能薄層分析儀 high performance thin-layer
chromatography (HPTLC) 90

十一劃

參考電極 reference electrode 80
基質 matrix 13, 59, 65, 69-70, 74-76, 78-79, 105, 122, 130-
131
基質輔助雷射脫附游離法 matrix assisted laser desorption
ionization (MALDI) 74
液滴逆向流層析 droplet counter-current chromatography
114-115
異向度 anisotropy 22-24, 41
蛋白質 protein 24, 34-36, 40, 47, 70, 74, 76, 94, 98-100,
103-105, 114, 116-119, 121-122, 125
連線分離 on-line separation 129
連續式 sequential 1, 5, 6, 8, 94

十二劃

傅立葉轉換 Fourier transform 18-20, 38, 50, 60, 66-68,
105, 113
傅立葉轉換質譜儀 Fourier-transform mass spectrometer
(FT-MS) 60, 66

傅立葉轉換離子迴旋共振質譜儀 Fourier-transform ion
cyclotron resonance mass spectrometer (FT-ICR) 60, 67
場流分離儀 field-flow fractionation (FFF) 123-125
循環伏特安培儀 cyclic voltammeter (CV) 86
散射 scattering 11, 25-27, 29-31, 33, 41, 61, 105
散射光譜 light scattering spectrum 25-27, 29-31
紫外光/可見光吸收光譜儀 ultraviolet/visible absorption
spectrometer 14
萃取儀 extractor 128, 129
超臨界流體 supercritical fluid 110-113, 129-132
量子效率 quantum efficiency 22, 32
量子產率 quantum yield 22-23

十三劃

填充管柱 packed column 95-96, 111, 121
微差掃描卡計 differential scanning calorimeter (DSC) 136-137
感應耦合電漿原子發射光譜儀 inductively coupled plasma
atomic emission spectrometer (ICP-AES) 6-9
感應耦合電漿質譜儀 inductively coupled plasma mass
spectrometer (ICP-MS) 77
當量電導 equivalent conductance 82
跨越極化 cross polarization 41-43
載流氣體 carrier gas 2, 7, 59, 95
雷射脫附 laser desorption (LD) 63, 65, 69, 74-75
電子自旋共振 electron spin resonance (ESR) 45, 47
電子順磁共振 electron paramagnetic resonance (EPR) 44-
45, 48
電子撞擊法 electron ionization 50, 57-58, 69
電子撞擊離子化 electron impact ionization 52, 65
電位滴定 potentiometric titration 81, 84-85
電泳 electrophoresis 24, 36, 50, 60, 78, 82, 117-123
電場 electrical field 19, 25-26, 29, 50-51, 54, 57, 61, 63-67, 69,
71-72, 82, 117, 120-121, 123-124
電滲流 electroosmotic flow 120-121
電導 conductance 82-83, 122
電灑游離法 electrospray 60, 65, 68-69, 71-73
磁扇形質譜儀 magnetic sector mass spectrometer 60-61

酸鹼度測定儀 pH meter 80-81

十五劃

層析儀 chromatography 50, 52, 55, 60, 64-65, 71-72, 83, 90, 94-96, 98, 100-103, 107-113, 115-116, 124, 129

熱卡計 calorimeter 133-136

熱場 thermal field 123-124

熱量 heat 133-137

膠質穿透層析 gel permeation chromatography (GPC) 104-105

膠質過濾層析 (凝膠過濾層析) gel filtration chromatography (GFC) 98, 104-105

質譜 mass spectrometry 49-57, 59-78, 96, 102, 105, 113, 122

質譜/質譜儀 mass spectrometer/mass spectrometer 49

質譜儀 mass spectrometer 49-57, 59-75, 77, 79, 96, 113

十六劃

凝膠過濾層析 (膠質過濾層析) gel filtration chromatography (GFC) 98, 104-105

螢光 fluorescence 10-12, 22-24, 26-27, 31-32, 35-36, 71, 92-93, 100, 102-103, 111, 113, 118-119, 122, 126-127

螢光素 luciferin 33, 35-36

螢光酵素 luciferase 35-36

親和式層析法 affinity chromatography 98

選擇離子偵測法 selected ion monitoring 54-55

十八劃

離子化技術 ionization method 53, 69

離子交換層析法 ion exchange chromatography 57, 98, 101, 107

離子阱質譜儀 ion trap spectrometer 51, 57, 59-60

離子層析儀 ion chromatography (IC) 83, 107-109

離心分配層析 centrifugal partition chromatography 114-116

雙聚焦質譜儀 double-focusing mass spectrometer 50, 60-61, 77

二十一劃

魔角旋轉 magic angle spinning 40-42

英文關鍵字索引

2-D NMR 二維核磁共振波譜 38-39

A

affinity chromatography 親和式層析法 98

anisotropy 異向度 22-24, 41

atmospheric pressure chemical ionization 大氣化學游離法
71-73

atmospheric pressure ionization/ mass spectrometer 大氣壓離
子化質譜儀 71-72

atom gun 原子槍 69-70

atomic absorption spectrometer (AAS) 原子吸收光譜儀 1-4

atomic emission spectrometer (AES) 原子放射光譜儀 4-6

B

bioluminescence 生物發光 35-36

C

calorimeter 熱卡計 133-136

capillary column 毛細管柱 95-96, 111-113, 120-121

capillary electrophoresis (CE) 毛細管電泳 36, 50, 60, 78,
120-122

carrier gas 載流氣體 2, 7, 59, 95

centrifugal partition chromatography 離心分配層析 114-116

chemical ionization 化學游離法 (化學離子化) 50, 52-53,
57-60, 68, 71-73

chemical shift 化學位移 38-39, 42-43

chemiluminescence 化學發光 32-37, 105

chromatography 層析儀 50, 52, 55, 60, 64-65, 71-72, 83, 90, 94-
96, 98, 100-103, 107-113, 115-116, 124, 129

conductance 電導 82-83, 122

countercurrent chromatography (CCC) 逆向流層析 114-116

cross polarization 跨越極化 41-43

cyclic voltammeter (CV) 循環伏特安培儀 86

D

differential scanning calorimeter (DSC) 微差掃描卡計 136-
137

dispersion 分散度 126

DNA 去氧核糖核酸 34, 36, 48, 74, 75, 100, 103, 117-118,
122

double-focusing mass spectrometer 雙聚焦質譜儀 50, 60-
61, 77

droplet counter-current chromatography 液滴逆向流層析
114-115

E

electrical field 電場 19, 25-26, 29, 50-51, 54, 57, 61, 63-67,
69, 71-72, 82, 117, 120-121, 123-124

electron impact ionization 電子撞擊離子化 52, 65

electron ionization 電子撞擊法 50, 57-58, 69

electron paramagnetic resonance (EPR) 電子順磁共振 44-
45, 48

electron spin resonance (ESR) 電子自旋共振 45, 47

electroosmotic flow 電滲流 120-121

electrophoresis 電泳 24, 36, 50, 60, 78, 82, 117-123

electrospray 電灑游離法 60, 65, 68-69, 71-73

elemental analysis 元素分析 9-10, 12-13, 76-79

energy dispersive 能量分散式 10-13

equivalent conductance 當量電導 82

exchange capacity 交換容量 107

extractor 萃取儀 128, 129

F

fast atom bombardment 快速原子撞擊法 50, 60, 69

field-flow fractionation (FFF) 場流分離儀 123-125

flame atomic absorption spectrometer (flame AAS) 火焰式原
子吸收光譜儀 1-3

flow field 流場 123-124
flow injection analysis (FIA) 流動注入分析法 126
fluorescence 螢光 10-12, 22-24, 26-27, 31-32, 35-36, 71, 92-93, 100, 102-103, 111, 113, 118-119, 122, 126-127
Fourier transform 傅立葉轉換 18-20, 38, 50, 60, 66-68, 105, 113
Fourier-transform ion cyclotron resonance mass spectrometer (FT-ICR) 傅立葉轉換離子迴旋共振質譜儀 60, 67
Fourier-transform mass spectrometer (FT-MS) 傅立葉轉換質譜儀 60, 66

G

gas chromatography 氣相層析 49-50, 52-53, 55, 60, 64-65, 71, 77-78, 90, 94-96, 101, 113, 129
gel filtration chromatography (GFC) 膠質過濾層析(凝膠過濾層析) 98, 104-105
gel permeation chromatography (GPC) 膠質穿透層析 104-105
graphite furnace atomic absorption spectrometer (GF-AAS) 石墨爐原子吸收光譜儀 1-2

H

heat 熱量 133-137
high performance liquid chromatography (HPLC) 高效能液相層析儀 101-103, 111, 129
high performance thin-layer chromatography (HPTLC) 高效能薄層分析儀 90
high speed CCC 快速逆向流層析 114-115

I

indicator electrode 指示電極 80-81, 84
inductively coupled plasma atomic emission spectrometer (ICP-AES) 感應耦合電漿原子發射光譜儀 6-9
inductively coupled plasma mass spectrometer (ICP-MS) 感應耦合電漿質譜儀 77
infrared absorption spectrophotometer 紅外光吸收光譜儀 17, 19
ion chromatography (IC) 離子層析儀 83, 107-109
ion exchange chromatography 離子交換層析法 57, 98, 101, 107
ion trap spectrometer 離子阱質譜儀 51, 57, 59-60

ionization method 離子化技術 53, 69
isotope analysis 同位素分析 77

L

laser desorption (LD) 雷射脫附 63, 65, 69, 74-75
lifetime 生命期 22-24
light scattering spectrum 散射光譜 25-27, 29-31
low pressure liquid chromatography (LPLC) 低壓液相層析儀 98
luciferase 螢光酵素 35-36
luciferin 螢光素 33, 35-36

M

magic angle spinning 魔角旋轉 40-42
magnetic sector mass spectrometer 磁扇形質譜儀 60-61
mass spectrometer 質譜儀 49-57, 59-75, 77, 79, 96, 113
mass spectrometer/mass spectrometer 質譜/質譜儀 49
mass spectrometry 質譜 49-57, 59-78, 96, 102, 105, 113, 122
matrix assisted laser desorption ionization (MALDI) 基質輔助雷射脫附游離法 74
matrix 基質 13, 59, 65, 69-70, 74-76, 78-79, 105, 122, 130-131
molecular weight 分子量 29, 31, 49, 52-53, 59, 61, 65, 69-70, 74, 76, 98, 104-106, 111-113, 117, 123-125, 128, 130

N

near infrared absorption spectrometer 近紅外光吸收光譜儀 17
nuclear magnetic resonance (NMR) 核磁共振 38-41, 43-45

O

on-line separation 連線分離 129

P

packed column 填充管柱 95-96, 111, 121
pH meter 酸鹼度測定儀 80-81
photon correlation spectroscopy 光子相關光譜 29, 31
potentiometric titration 電位滴定 81, 84-85
protein 蛋白質 24, 34-36, 40, 47, 70, 74, 76, 94, 98-100, 103-105, 114, 116-119, 121-122, 125

Q

quadrupole mass spectrometer 四極矩質譜儀 50-51, 54-55, 60
quantum efficiency 量子效率 22, 32
quantum yield 量子產率 22-23

R

Raman 拉曼 25-27, 122
reference electrode 參考電極 80

S

scattering 散射 11, 25-27, 29-31, 33, 41, 61, 105
sedimentation field 沉降場 123
selected ion monitoring 選擇離子偵測法 54-55
sequential 連續式 1, 5, 6, 8, 94
simultaneous 同時式 5-8, 10, 13, 128
size-exclusion chromatography 大小排除層析 31, 104-106
slab gel electrophoresis 平板凝膠電泳 117-119
solid state NMR spectroscopy 固態核磁共振光譜學 41
specific conductance 比電導 82-83
spin-spin coupling 自旋耦合 38-39

stripping voltammeter 剝除伏特安培儀 86-87
supercritical fluid 超臨界流體 110-113, 129-132
suppression 抑制作用 107

T

tandem mass spectrometry 串聯質譜法 51, 57, 59
thermal field 熱場 123-124
time of flight mass spectrometer 飛行式質譜儀 60, 63-65
total reflection XRF (TXRF) 全反射 X 光螢光光譜儀 10-13

U

ultraviolet/visible absorption spectrometer 紫外光/可見光吸收光譜儀 14

V

voltammeter 伏特安培儀 86-88

W

wavelength dispersive 波長分散式 10-13

X

X-ray fluorescence spectrometer (XRF) X 光螢光分析 10-13

儀器總覽－化學分析儀器

發行人／黃文雄

發行所／行政院國家科學委員會精密儀器發展中心

新竹市科學工業園區研發六路 20 號

電話：(03) 5779911 轉 303, 304

傳真：(03) 5773947

編輯／伍秀菁・汪若文・林美吟

美術編輯／吳振勇

初版／中華民國八十七年十月

初版二刷／中華民國九十二年二月

行政院新聞局出版事業登記證局版臺業字第 2661 號

定價／單冊新台幣 300 元・全套新台幣 2200 元

郵撥戶號／0017343-1 國科會精密儀器發展中心

打字／志丞商業設計社 (03) 5617562

印刷／泰銘照像製版社有限公司 (06) 2910838

ISBN 957-02-2526-2 (套)

ISBN 957-02-2530-0

國家圖書館出版品預行編目資料

儀器總覽 = Introduction to instrumentation
/ 伍秀菁, 汪若文, 林美吟編輯. -- 初版. --
新竹市 : 國科會精儀中心, 民87
冊 ; 公分
含索引
ISBN 957-02-2526-2 (一套 : 平裝)

1. 精密機械工業 - 儀器 - 手冊, 便覽

471.026

87012756