

# 毛細管電泳分離之運動現象

## The Ions Motion of the Capillary Electrophoretic Separation

鄒穎、楊瑞珍

Ying Chou, Ruey-Jen Yang

電泳分離操控技術為加入電位勢後，待量測之樣品間藉由彼此遷移率速率的不同，而達到成分分離的效果。移動邊界電泳法是最早被發展出來的技術，此方法在當時分離了血清，使得人們在往後的研究中有很大的突破。區間電泳法以移動邊界電泳法作為基礎的技術，其在系統環境充滿均勻的緩衝液進行分離；等速電泳法則利用兩緩衝液進行不連續分離之技術；等電點聚焦電泳法則利用背景溶液建立起 pH 值梯度，雙性電解液樣品因其位於等電點所受庫倫力為零而聚焦於此。本文將介紹以數值方式呈現上述方式之電泳分離現象。

The so-called electrophoretic separation is described as following: after applying an electrical potential, the sample ions will be separated because of the different mobility velocity. The first developed method was the moving boundary electrophoresis (MBE) which had success in serum separation. Moreover, the MBE technique had many contributions in the early biotech studies. By extending the concept of MBE technique and employing the uniform buffers to separating the sample electrophoresis, the zone electrophoresis (ZE) was developed. The isotachoporesis (ITP) technique is based on the separation in a discontinuity form between two buffer solutions and results in separation of samples. The isoelectric focusing (IEF) is a method that concentrates the ampholyte sample by the pH gradient introduced in the background ampholytes. This article will exhibit these electrophoretic separation methods by using a high resolution numerical scheme.

### 一、前言

電泳分離在現今是應用非常廣泛的一種技術。帶電粒子在直流電場的作用下，於液體中朝著與其自身電性相反的電極移動，稱之為電泳 (electrophoresis, EP)。若進一步將溶液種類、濃度改變或添加物質於其中，則可以操控帶電粒子與液體間交互作用，使粒子帶有不同電荷或特性改變而

有不同的遷移速率，使得在泳動過程中造成分離，此為電泳分離。西元 1937 年瑞典生化學家 Arne Tiselius 利用了此原理設計出世界上第一台電泳儀 Tiselius U 型管，並建立了移動邊界電泳法 (moving boundary electrophoresis, MBE)<sup>(1)</sup>，成功的分離了血清蛋白質，使人類在血清蛋白質的分析上有著重大的突破，並在 1948 獲頒諾貝爾化學獎。

在電泳分離的過程中影響電泳遷移速度的外界

因素可分為很多種類，例如：電場強度 (電位勢)、溶液的 pH 值、電滲流與焦耳熱等。由於移動邊界電泳法的溶液易受到焦耳熱產生密度變化，而使得區帶擾動，致使分離解析度下降及再現性不佳，且電泳儀的價格昂貴，不容易推廣，因而科學家們相繼進行改善，如此發展出多種新型分離技術。依照原理可區分為：區間電泳法 (zone electrophoresis, ZE)、等速電泳法 (isotachopheresis, ITP)、等電點聚焦法 (isoelectric focusing, IEF) 等<sup>(1-4)</sup>。以下將簡略地介紹這些方法，詳細內容將在文中說明。

- 區間電泳法：於相同的緩衝液中進行分離，應用在大型蛋白質、氨基酸 (amino acid) 的樣品分析，是目前應用最廣泛的電泳技術。
- 等速電泳法：使用不同的緩衝液，利用電泳運動率不同因而保持穩定一致的電泳速率和清晰的界面，有助於區帶的處理。
- 等電點聚焦法：利用兩性電解質在泳動路徑的電場中，自動形成的 pH 值梯度，使得分離物分別聚集在電等荷點 (isoelectric point) 處，並形成很狹窄之區間，如此達到分離的效果。

依電泳在液體或固體支持物中的不同也可區分成兩種分析方法：自由電泳與支持物電泳，其又可分為在濾紙、膠體或毛細管所進行的電泳分離技術等。

近年來各種新的分離技術不斷地開發，使得電泳分析應用在各種生物與化學學門當中，如血清 (serum)、蛋白質學 (proteomics)、免疫學 (immunology)、基因學、代謝學 (metabolomics) 與酵素 (enzyme) 等。由此可見，電泳分離技術在各類基礎研究中發揮了很大的影響力。

由於電腦科技在近年來開始迅速的發展，加上數值演算法的進步，因此以數值模擬電泳分離的應用也逐漸增加，如利用數值模擬解釋實驗過程之現象、以模擬輔助設計電泳分離產品等。本文將利用數值模擬方法來模擬毛細管中移動邊界電泳法、區間電泳法、等速電泳法和等電點聚焦電泳法之分離行為，並加以討論。

電泳分離的電腦數值模擬模型於西元 1980 年代被發展出來<sup>(1-6)</sup>，而由 Mosher 等人整理成著作<sup>(1)</sup>，近年來有許多利用不同的數值模擬方法在這方

面的研究。首先 Dose 與 Guiochon 利用網格大小最佳化來節省計算時間，但僅能用於強離子<sup>(7)</sup>。Schafer-Noelsen 確認了分離過程中含有弱離子<sup>(8)</sup>，大部分的計算時間則花費在求解非線性方程式中去計算 pH 值。Schwer 等人則延續 Dose 的理論確立了適用弱離子，但是其模擬被限制在氫離子或氫氧離子所占的 pH 範圍<sup>(9)</sup>。

由於積分形式之統御方程式轉換成微分形式是假設必須滿足連續 (可微分) 的條件，但是一般的傳統數值方法 (差分) 在遇到當物理量中具有不連續點或大梯度時則已經違反了此條件，因此會產生嚴重數值震盪。Ermakov 等人利用增加人工阻尼項 (artificial damping terms) 的方式在離散方程式中因此控制了數值震盪<sup>(10-12)</sup>，而且適用於高電場強度中的模擬區間電泳法和等速電泳法。此方法有效的改善了先前因為數值處理所產生的尖角，但在低電場強度中仍有數值耗散。Martens 等人評估了幾種上風法 (upwind schemes)，包含顯性 (explicit) 與隱性 (implicit)<sup>(13)</sup>、一階和高階的方法來模擬區間電泳法和等速電泳法。一階差分法抑制了震盪產生，但是在樣本相交的邊界地帶中卻含有數值耗散，高階差分法則有嚴重的數值震盪。

Ikuta 及 Hirokawa 利用改善後的一階上風法使得區間電泳法能在高電場中模擬，但仍然遭受數值耗散<sup>(14, 15)</sup>。Sounart 等人使用了修正通量傳輸法 (flux correctly transport method) 來模擬區間電泳法、等速電泳法和等電荷聚焦法<sup>(16-18)</sup>。上述文獻為過去常用來模擬電泳分離行為的數值方法，然而，由於近年來微流體晶片中之電泳技術的發展需要，高準確度、高效率之數值技術也相繼被研究。時空守恒法 (space-time conservation element and solution element method, CESE method)<sup>(19, 20)</sup> 有別於傳統方法，具有獨特性，能針對物理場中不連續現象等問題具有高辨識率，並成功的應用於計算物理相關領域。本文將利用此高解析度之數值方法提高電泳分離技術的計算準確度及計算效率。

## 二、數學模型

電泳分離分析模式自 1980 年代被發展出來<sup>(1-6)</sup>，

已被廣泛應用，且詳細整理成著作。Mosher 等人所建立的這套統御方程式中包含了<sup>(6)</sup>：

- (1) 對系統中所有組成物質皆可以描述的非定常質傳方程式。
- (2) 描述溶液中酸鹼性離子需滿足帶電量守恆 (charge conservation equation)。
- (3) 系統電中性 (electro-neutrality) 的假設。
- (4) 離子解離結合的平衡分布關係式。
- (5) 用來計算離子的遷移率和電場強度關係式等。

上述統御方程式所構成的模型成為處理電泳行為的基礎，以下將詳細介紹這些方程式以及處理方法。

## 1. 解離方程式介紹

由於等電點聚焦須使用雙性電解液 (ampholyte，解離後能為酸性離子或鹼性離子)，在此解離模型以雙性電解液為主，單性解離模式亦涵蓋於此模型內。假設某一電解液 A 含有  $n$  個可解離的質子，即有  $n$  個解離反應，則其解離反應及相關參數之關係可定義如方程式 (1)<sup>(21)</sup>，當  $A_i$  離子含  $j$  個可解離的質子，其解離度  $\alpha_i$  為：

$$\alpha_i = \frac{C_i}{C} = \frac{[\text{H}^+]^{-(n-i)} \prod_{l=1}^{n-i} K_l}{1 + \sum_{j=1}^n [\text{H}^+]^{-j} \prod_{l=1}^j K_l}, \quad i \neq n \quad (1)$$

$$\alpha_i = \frac{1}{1 + \sum_{j=1}^n [\text{H}^+]^{-j} \prod_{l=1}^j K_l}, \quad i = n$$

其中  $C$  和  $C_i$  分別代表電解液 A 和  $A_i$  之總濃度， $K_l$  是對應之解離平衡常數。

為了簡化問題，我們不針對每一物種每一離子態作計算，而是利用單一的平均有效參數，例如：有效電荷 (effective charge)  $Z_{\text{eff}}$  和有效遷移率 (effective mobility)  $\omega_{\text{eff}}$ ，其定義分別如方程式 (2) 及 (3)：

$$Z_{\text{eff}} = \sum_{i=0}^n (v-i) \alpha_{n-i} \quad (2)$$

此處  $v$  是電解液經過所有  $n$  個解離過程後之淨電荷量。

$$\omega_{\text{eff}} = \frac{1}{Z_{\text{eff}}} \sum_{i=0}^n (v-i) \omega_i \alpha_i \quad (3)$$

上述方程式中  $\omega_i$  是離子態  $A_i$  之遷移率。

## 2. 傳輸模型及電中性條件介紹

定義酸性濃度  $C_n^a = [\text{A}] + [\text{HA}_n]$ 、鹼性濃度  $C_m^b = [\text{H}^+\text{B}_m] + [\text{B}_m]$ ，由非定常質傳方程式可表達為：

$$\begin{aligned} \frac{\partial C_n^a(x,t)}{\partial t} &= -\frac{\partial}{\partial x} [Z_n^a \omega_n^a(x,t) C_n^a(x,t)] \\ &\quad + D_n^a \frac{\partial^2 C_n^a(x,t)}{\partial x^2}, \quad n = 1, 2, \dots, N \\ \frac{\partial C_m^b(x,t)}{\partial t} &= -\frac{\partial}{\partial x} [Z_m^b \omega_m^b(x,t) C_m^b(x,t)] \\ &\quad + D_m^b \frac{\partial^2 C_m^b(x,t)}{\partial x^2}, \quad m = 1, 2, \dots, M \end{aligned} \quad (4)$$

其中在單元時  $Z_n^a = -1$ 、 $Z_m^b = +1$  代表正負離子帶電荷，在本文中所做的模擬都忽略電滲流 (EOF) 產生之效應。 $E(x,t)$  代表電場強度。 $D_n^a$  與  $D_m^b$  代表離子擴散係數，並可利用能斯特-愛因斯坦方程式 (Nernst-Einstein equation) 表達： $D = (RTm)/F$ ，其中  $R = 8.314/\text{mol} \cdot \text{K}$ ，是萬用氣體常數 (universal gas constant)， $T$  代表絕對溫度，一般使用室溫 298 K， $m$  為離子遷移率， $F = 96500 \text{ C/mol}$  為法拉第常數 (Faraday constant)。

氫離子在所有解離反應中會產生或消耗質子，在電泳分離中扮演極重要的角色，此外，水解也會增減溶液之氫離子或氫氧離子。因此在溶液中的每一處均需要滿足電中性關係式 (electroneutrality condition)：

$$[\text{H}^+] - \frac{K_w}{[\text{H}^+]} + \sum_{i=1}^N (Z_{\text{eff}})_i C_i = 0 \quad (5)$$

其中， $[\text{H}^+]$  為氫離子濃度， $K_w$  為水的解離常數。利用 Newton-Raphson 方法解上述方程式，即可得到溶液中 pH 值之分布。在電泳分離過程中，電子遷移速度為局部之電場強度 ( $\mathbf{E}_\lambda$ ) 所決定，因此需要利用電導 (conductivity) 建立電場強度，而電導 ( $\sigma$ ) 的計算關係式為：

$$\sigma = F \left[ [\text{H}^+] \omega_{\text{H}} + \frac{K_w}{[\text{H}^+]} \omega_{\text{OH}} + \sum (Z_{\text{eff}})_i C_i \right] \quad (6)$$

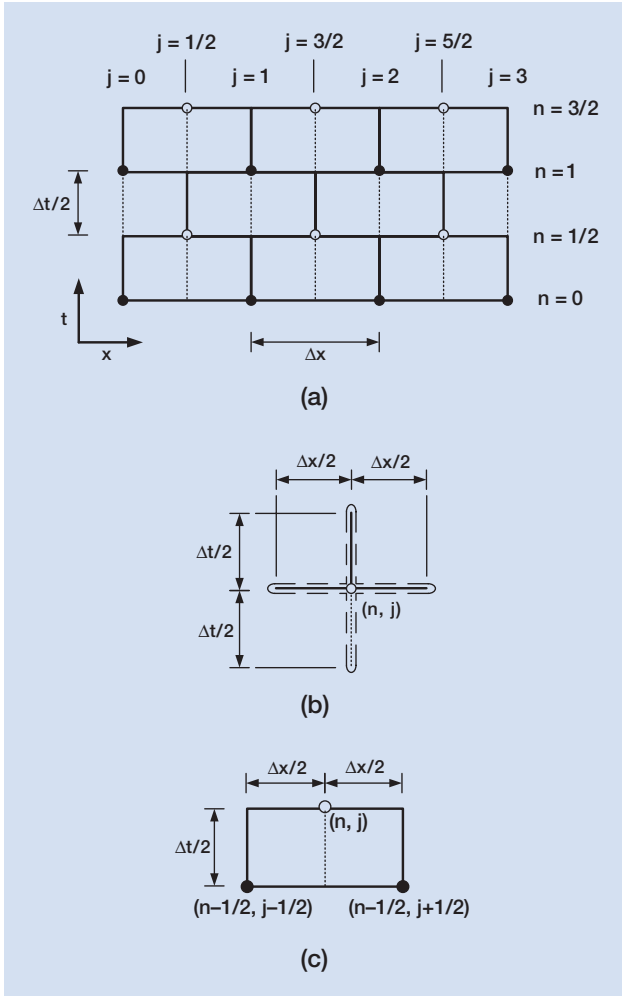


圖 1. 時空守恆法網格結構、解元及守恆元示意圖。(a) 交錯式網格結構，(b) 格點  $(n, j)$  上之解元，(c) 格點  $(n, j)$  上之守恆元。

上式中， $\omega_H$  及  $\omega_{OH}$  分別為氫離子及氫氧離子之遷移率，經由歐姆定律 (Ohm's law)，可建立局部電場強度、電流密度 ( $\mathbf{J}$ ) 及電導 ( $\sigma$ ) 之關係式為  $\mathbf{E}_\lambda = \mathbf{J}/\sigma$ ，並且電泳遷移速度可經由關係式 得到  $\mathbf{V}_e = (\omega_{eff}) \mathbf{E}_\lambda$ 。

### 三、數值方法

時空守恆法為一嶄新之數值方法<sup>(19, 20)</sup>，利用各物理量在時間與空間上均保持守恆、局部及全計算域都需遵守物理通量守衡的概念，以建構出偏微分方程式之求解方法。此研究將利用時空守恆法求解

電泳分離之傳輸方程式，以求高解析、高精確之暫態數值解，作為了解、評估電泳分離現象，以輔助設計相關實驗之便利工具。

時空守恆法之網格為交錯式結構 (staggered mesh system，圖 1(a))，使用時空守恆法前，需將偏微分方程式整理成守恆型態，將方程 (4) 式以矩陣方式陳列，如下式：

$$\frac{\partial G}{\partial t} + \frac{\partial E}{\partial x} = 0 \quad (7)$$

其中  $G = C_i$ ， $E = [V_{e,i} C_i - D_i (\partial C_i / \partial x)]$ 。令座標  $x_1 = x$  及  $x_2 = t$  為一個二維之尤拉 (Euclidean space) 空間 ( $E_2$ )，解元 (solution element，圖 1(b)) 內之變量則以一階泰勒展開求得，因此可得變量  $G^*$  與  $E^*$  如下式：

$$\begin{aligned} G^*(x, t; j, n) &= (G)_j^n + (x - x_j)(G_x)_j^n \\ &\quad + (t - t^n)(G_t)_j^n \\ E^*(x, t; j, n) &= (E)_j^n + (x - x_j)(E_x)_j^n \\ &\quad + (t - t^n)(E_t)_j^n \end{aligned} \quad (8)$$

定義向量  $\mathbf{h} = (E, G)$  及  $S(V)$  為  $E_2$  時空區域  $V$  之邊界，再利用高斯散度定理 ( $\oint_{S(V)} \mathbf{h} \cdot d\mathbf{s} = 0$ )，即可建立定義之守恆元 (conservation element，圖 1(c)) 上通量守恆關係式，將偏微分方程式離散為：

$$\begin{aligned} \Delta x (G)_j^n &= \left[ \frac{\Delta x}{2} (G)_{j-1/2}^{n-1/2} + \frac{(\Delta x)^2}{8} (G_x)_{j-1/2}^{n-1/2} \right] \\ &\quad + \left[ \frac{\Delta t}{2} (E)_{j-1/2}^{n-1/2} + \frac{(\Delta t)^2}{8} (E_t)_{j-1/2}^{n-1/2} \right] \\ &\quad + \left[ \frac{\Delta x}{2} (G)_{j+1/2}^{n-1/2} - \frac{(\Delta x)^2}{8} (G_x)_{j+1/2}^{n-1/2} \right] \\ &\quad - \left[ \frac{\Delta t}{2} (E)_{j+1/2}^{n-1/2} + \frac{(\Delta t)^2}{8} (E_t)_{j+1/2}^{n-1/2} \right] \end{aligned} \quad (9)$$

此後，利用簡單的加權方式可得到相關之空間導數  $(G_x)_j^n$  及時間導數  $(G_t)_j^n$ ，作為下次計算之初值，如此循序求解。

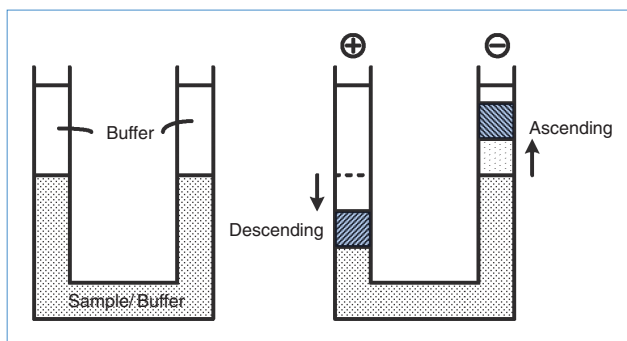


圖 2. Tiselius U 型管示意圖。

## 四、結果與討論

本節內容為使用時空守恆法模擬四種電泳分離的方法，分別是移動邊界電泳法、區間電泳法、等速電泳法及等電點聚焦法。在每小節會先簡介各方法的原理，之後利用時空守恆法模擬的條件以及所得到的結果，並與傳統數值方法做比較。以下所使用的物理化學常數皆參照表 1。

### 1. 移動邊界電泳法

在電場的作用下，由於粒子帶有不同的電荷或特性改變而有不同的遷移速率，使得粒子在遷移過程中造成分離。西元 1937 年瑞典生物學家 Arne Tiselius 利用此種原理設計出世界上第一台電泳儀

Tiselius U 型管，並建立了移動邊界電泳法成功地分離血清。此項成就在 1948 年獲頒諾貝爾化學獎。在此先模擬 U 型管兩邊管道中緩衝液及混合樣品分離的情況，如圖 2 所示。加入電場後，圖中箭頭所指方向表示管道中邊界移動方向，左邊稱為下降邊界區，右邊稱為上升邊界區。利用時空守恆法模擬兩邊管道中樣品分離時邊界移動的情形，文中所模擬的管道長度皆取 4 cm，採用的樣品為 10 mM 的組氨酸 (histidine) 及 5 mM 的離氨酸 (lysine)，緩衝液使用 2 M 的二甲胍酸 (cacodylic acid) 和 1 M 的 tris，所加入的電流密度為 3000 A/m<sup>2</sup>(<sup>1</sup>)。圖 3(a) 與 (b)、圖 4(a) 與 (b) 分別為下降邊界區、上升邊界區在時間  $t = 0$  s 及  $t = 480$  s 時，樣品分離時得到的結果，實線與虛線分別代表組氨酸與離氨酸所描繪的濃度曲線，打點線代表導電率，從圖 3 與圖 4 中可看出，加入電場後離氨酸所帶遷移率為系統中最大，因此分離後其移動速率較快，所以先移動至前方。

### 2. 區間電泳法

區間電泳法 (zone electrophoresis, ZE) 是一種在生物學與生物化學中廣泛應用的電泳分離操作技術。圖 5 為區間電泳法的分離示意圖。圖中劃著斜線部分為樣品混合區，其系統環境中則充滿連續緩

物質	化學式	pK <sub>1</sub>	pK <sub>2</sub>	遷移率 (Mobility) [10 <sup>-8</sup> m <sup>2</sup> · V <sup>-1</sup> · s <sup>-1</sup> ]
氫離子 (Hydrogen ion)	H <sup>+</sup>	—	—	36.3
氫氧離子 (Hydroxide ion)	OH <sup>-</sup>	—	—	20.5
氯離子 (Chlorine ion)	Cl <sup>-</sup>	—	—	7.91
鈉離子 (Sodium ion)	Na <sup>+</sup>	—	—	5.19
蟻酸 (Formic acid)	CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub> HCOOH	3.76	—	5.66
醋酸 (Acetic acid)	CH <sub>3</sub> COOH	4.75	—	4.24
醋酸鹽 (Acetate)	(C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> O <sub>2</sub> ) <sup>-</sup>	4.76	—	4.24
丙酸 (Propionic acid)	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> COOH	4.87	—	3.71
丙氨酸 (β-Alanine)	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>2</sub>	3.3	—	3.6
苯胺 (Aniline)	C <sub>6</sub> H <sub>7</sub> N	4.8	—	3.25
吡啶 (Pyridine)	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N	5.18	—	3
離氨酸 (Lysine)	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	8.95	10.53	2.95
Tris	C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>3</sub>	8.3	—	2.41
組氨酸 (Histidine)	C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> N <sub>3</sub> O <sub>2</sub>	6.04	9.17	2.02

表 1. 室溫 25 °C 之下各離子物理化學參數<sup>(1)</sup>。

圖 3. 下降邊界區濃度分佈圖。(a) 與 (b) 分別代表時間  $t = 0\text{ s}$  及  $t = 480\text{ s}$  分布曲線。

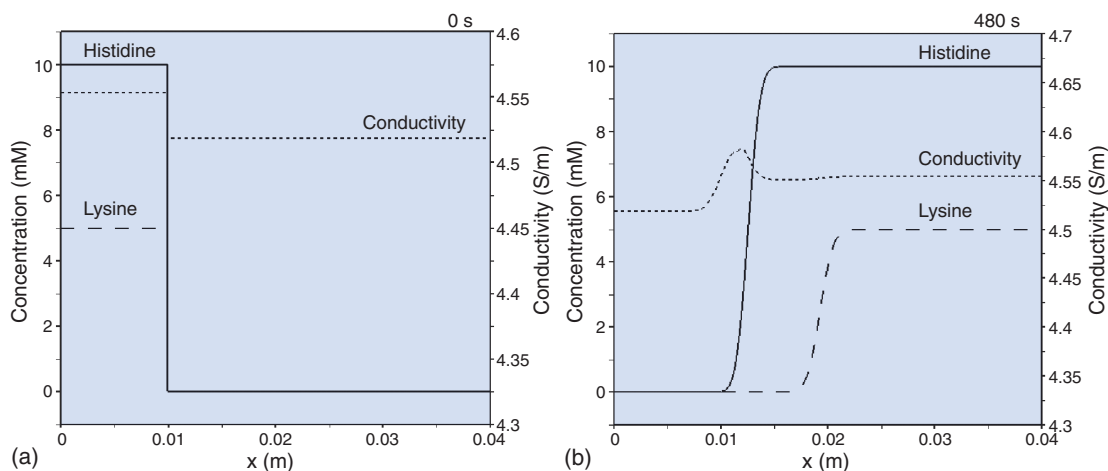
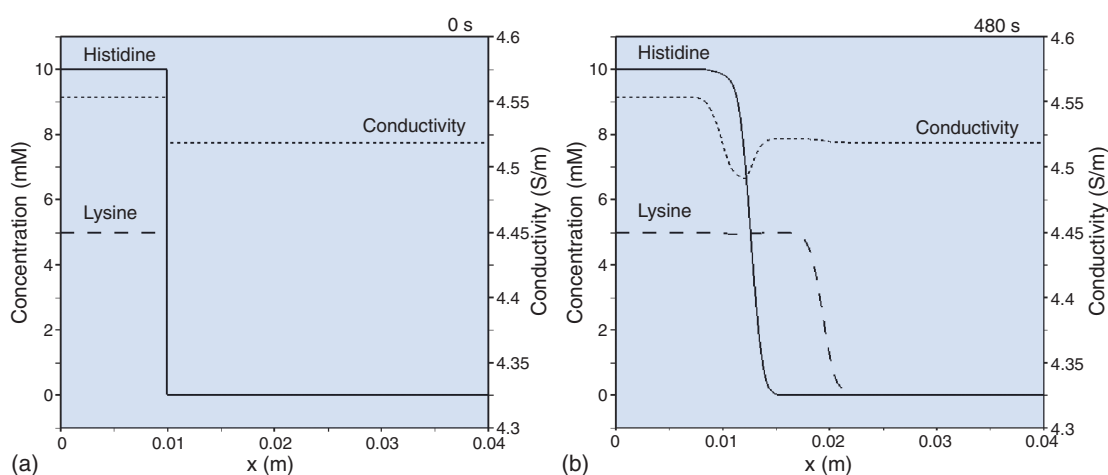


圖 4. 上升邊界區濃度分佈圖。(a) 與 (b) 分別代表時間  $t = 0\text{ s}$  及  $t = 480\text{ s}$  分布曲線。



衝液 (continuous buffer system)，圖 5(a) 代表整個系統的初始狀態，當直流電場加入後，由於樣品間遷移率的不同因而達成樣品分離效果，如圖 5(b) 所示。與移動邊界電泳法所不同處在於，區間電泳法並不需要在混合樣品注入區不間斷的提供混合樣品，有助於降低成本。而其樣品分離區間在分離後僅含有單種樣品，並無樣品混合情形。

利用時空守恆法來模擬區間電泳的分離情形，所使用的條件如下<sup>(12, 14)</sup>。首先假設毛細管有效長度為 20 cm，我們預計觀察樣品在位於 10 cm 處的分離狀況 (觀測點)，毛細管的內徑為 50  $\mu\text{m}$ ，混合樣品區的初始長度為 0.5 cm，且座落於離陽極 0.5 cm 處。文中所要分離的樣品含有兩種單元鹼樣品，分別為 1 mM 的苯胺 (aniline) 及 1 mM 的吡啶 (pyridine)。系統環境中採用的緩衝液為 12 mM 的 tris base 和 20 mM 的醋酸 (acetic acid)。模擬中所施

加的電流為 5  $\mu\text{A}$ ，圖 6 為整個系統所有成分的濃度分布情形；圖 7 為待分離樣本之放大濃度分布曲線，在圖中標號 1、2、3 與 4 分別代表吡啶、苯

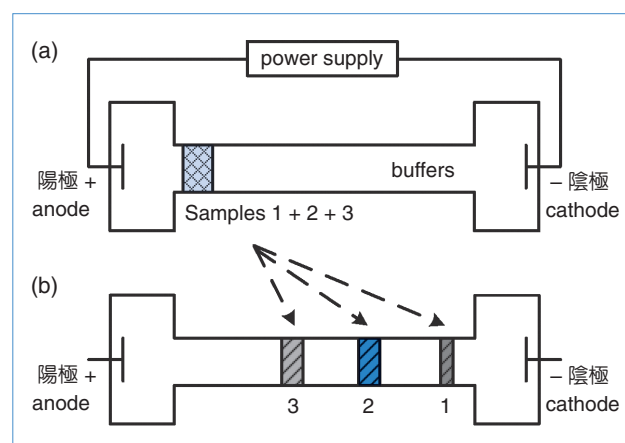


圖 5. 區間電泳法示意圖。(a) 起始狀態，(b) 分離後。

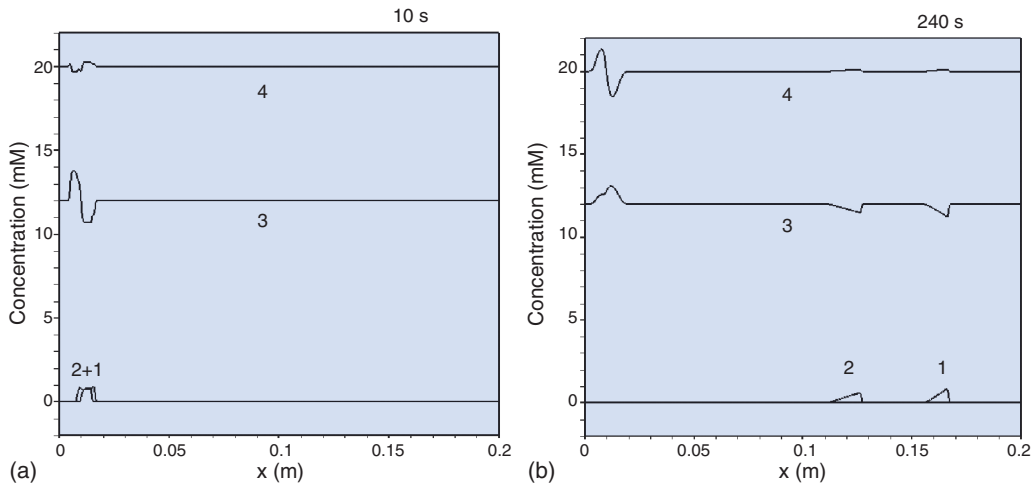


圖 6. 區間電泳法， $5 \mu\text{A}$  電流下全系統濃度分布圖 ( $\Delta x = 1 \times 10^{-4} \text{ m}$ ， $\Delta t = 5 \times 10^{-3} \text{ s}$ )，其中 1：吡啶、2：苯胺、3：tris、4：醋酸，(a) 與 (b) 分別代表時間 10 s 及 240 s 分布曲線。

胺、tris 與醋酸。由圖可以看出當加入直流電場後，由於遷移率不同而使得遷移速度不同，樣品隨著時間的經過因此而達成分離的狀態。

### 3. 等速電泳法

等速電泳法 (isotachopheresis, ITP) (希臘文中 iso = equal、tacho = speed、phoresis = migration) 目前已經在電泳分離技術中佔很重要的一部分，可以用來分離多種生物學上的問題，例如：基因學、蛋白學與代謝學等。等速電泳法是將區間電泳法作為基礎更進一步發展的技術。前述之區間電泳是在系統環境為均勻緩衝液系統下進行分離，由於電場強度在固定電流下和導電率成反比關係，而導電率在系統中為離子濃度與遷移率所組成的關係式 ((6) 式)。因此可以知道電場強度受到離子濃度與遷移

率的影響。等速電泳法即是利用此種概念，在不連續的緩衝液系統 (discontinuous buffer system) 中形成不連續的電場強度，而進行電泳分離的操控技術。

圖 8 為等速電泳法的分離示意圖，上部代表混合樣品分離過程，下部為相對應的電場強度示意圖。均勻混合的樣品被夾帶在兩種不同的電解液中，分別是前端電解液 (leading electrolyte, LE) 和後端電解液 (terminating electrolyte, TE)，前端電解液必須在系統中具有最高的遷移率，而後端電解液在系統中具有最低的遷移率。圖 8(a) 為系統初始狀態，當提供電位勢 (electric potential) 後，使得前端電解液產生較低的電場強度，後端電解液產生較高的電場強度，因而形成不連續的電場強度。由於混合的樣品間亦各自具有不同的遷移率，因此產生出不同的遷移速度開始分離。在圖 8(b) 中表示出

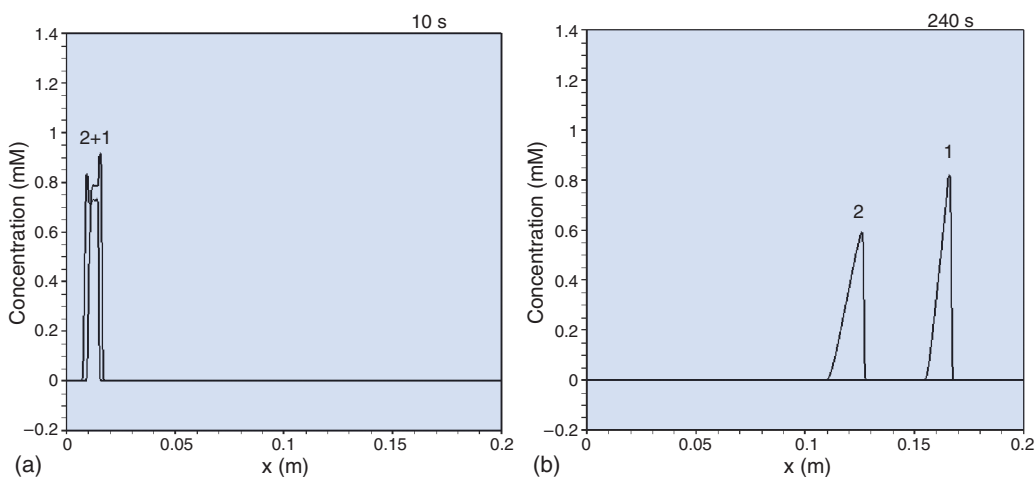


圖 7. 區間電泳法， $5 \mu\text{A}$  電流下 樣品濃度分布圖 ( $\Delta x = 1 \times 10^{-4} \text{ m}$ ， $\Delta t = 5 \times 10^{-3} \text{ s}$ )，其中 1：吡啶、2：苯胺。(a) 與 (b) 分別代表時間 10 s 及 240 s 分布曲線。

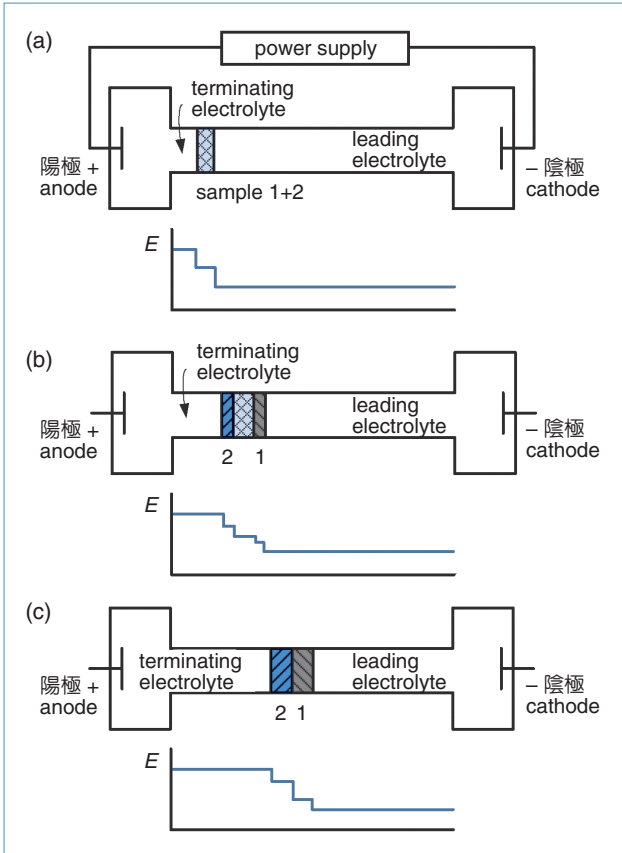


圖 8. 等速電泳法示意圖。

樣品 1 速度大於樣品 2，因此在分離後位於樣品 2 前方，但其速度並不會超過前端電解液，樣品 2 雖然速度較慢，但其速度快於後端電解液，此時樣品間並未完全分離。圖 8(c) 表示分離已經完成，而所有區間都會與前端電解液所產生的速度相同進行移動。由上述可知，建立等速電泳區之溶液其離子

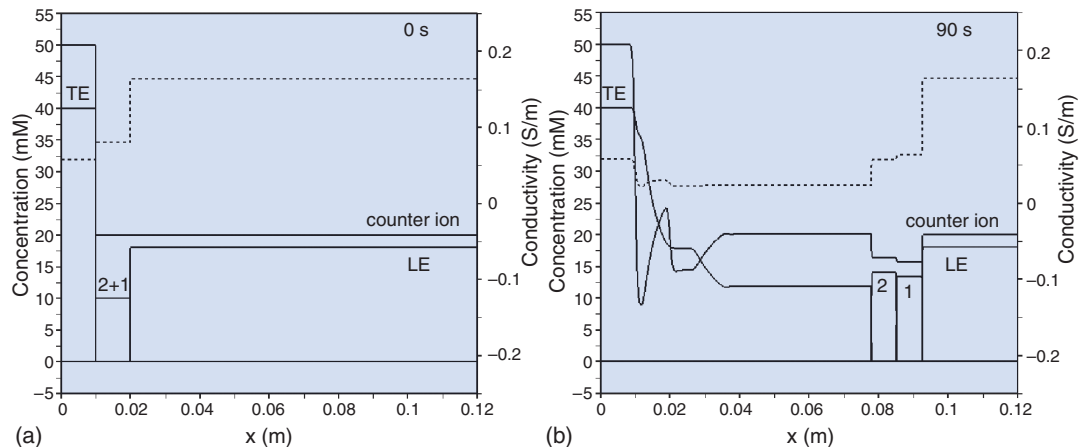
遷移率必須滿足下列條件：

$$|\omega_{TE}| < |\omega_{sample2}| < |\omega_{sample1}| < |\omega_{LE}| \quad (10)$$

以下利用時空守恆法模擬等速電泳，所使用的條件如同文獻 12 與 13，假設毛細管有效長度為 12 cm，觀測點位於 9 cm 處，毛細管內徑為 50  $\mu\text{m}$ ，樣品區的初始長度為 1 cm，且座落於離陽極 1 cm 處。所採用的前端電解液為 18 mM 氫氧化鈉 (sodium hydroxide) 以及 20 mM 醋酸，後端電解液為 40 mM 丙氨酸 ( $\beta$ -alanine) 以及 50 mM 醋酸，所欲分離的兩種單元鹼樣品分別為 10 mM 的苯胺及 10 mM 的吡啶加上 20 mM 醋酸，其中醋酸在系統中是為反離子，文中所用來模擬的電流為 5  $\mu\text{A}$  (電流密度 = 2545  $\text{A}/\text{m}^2$ )。圖 9(a) 與 (b) 初始狀態及  $t = 90 \text{ s}$  時，利用時空守恆法模擬所得結果，使用的網格是  $\Delta x = 50 \mu\text{m}$ ，實線從右至左分別為前端電解液與混合樣品、後端電解液及反離子的濃度分布曲線，虛線為電導率所畫出的曲線。圖 9(a) 為系統初始狀態，當加入直流電場後，樣品間因為彼此的遷移率不同，而使得遷移速度不同，因而開始分離，但此時尚未分離完成，可看出開始分離後速度較快的樣品並不會超過前端電解液的區間，而速度慢的樣品也會比後端電解液的速度還要快，最後各區分離完成 (圖9(b))，且以相同速度移動，亦即表示在定常時各部分滿足下式：

$$v = |\omega_{LE}| \cdot \mathbf{E}_{LE} = |\omega_1| \cdot \mathbf{E}_1 = |\omega_2| \cdot \mathbf{E}_2 = |\omega_{TE}| \cdot \mathbf{E}_{TE} \quad (11)$$

圖 9. 等速電泳法，5  $\mu\text{A}$  電流下全系統濃度分布圖 ( $\Delta x = 1 \times 10^{-5} \text{ m}$ ,  $\Delta t = 2 \times 10^{-3} \text{ s}$ )，其中 LE：氫氧化鈉 (NaOH)、1：吡啶、2：苯胺、TE：丙氨酸、反離子：醋酸。



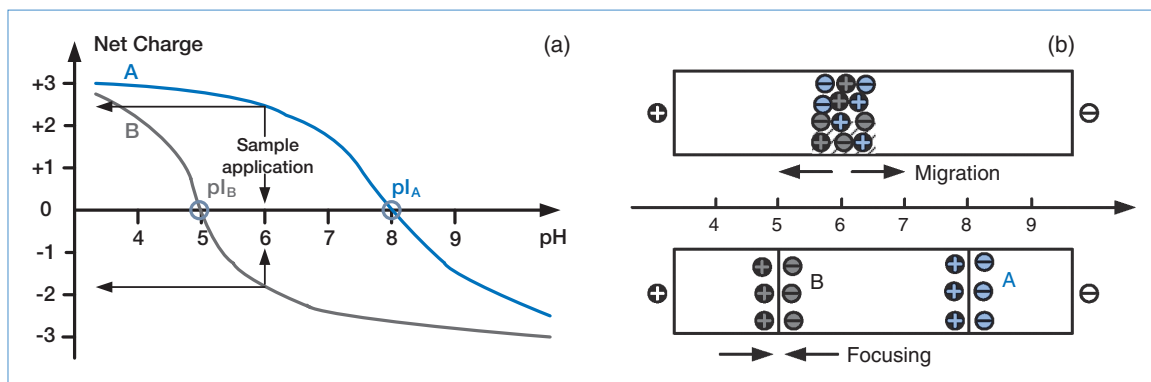


圖 10. (a) 雙性物質 A 及 B 之電荷曲線圖，(b) 管道內施加電壓後，電荷聚焦示意圖。

#### 4. 等電點聚焦電泳法

等電點之分離對象為雙性物質 (ampholyte)，此物質會隨著所處環境之 pH 值不同而帶有不同電性及電量，如氨基酸。圖 10(a) 所示，雙性物質 B 處於 pH = 5.0 時，將不帶電，其庫倫力為零，此處亦稱樣品 B 離子之等電點 (pI)。此外，當 pH 值小於 pI 值時帶正電，pH 值大於 pI 值時帶負電，此為雙性物質之特性。將含有雙性樣品物質 A 與 B 之電解槽兩側施加一電壓時，如圖 10(b)，雙性背景溶液相互作用下會建立一 pH 值梯度，由於庫倫力作用，使得樣品 A 與 B 離子遷移至其所屬之等電點位置，並聚焦於此，達成電泳分離效果。

利用時空守恆法模擬單一様品聚焦於 10 種雙性電解液建立之 pH 梯度內，其相關物質性質請參考文獻 17，所模擬之聚焦過程於 1 cm × 100 μm 之平面管道，施加電場強度為 200 V/cm。網格切割之 Δx 為 1 μm，亦即有 1000 個網格分布於管道內。圖 11(a) 至 (c) 呈現 10 種雙性背景電解液及單一様品雙性電解液於通電後 5 秒、15 秒及 110 秒後暫態濃度分布，圖 11(d) 為 pH 值隨時間改變之分布。圖中顯示通電後，背景溶液受到庫倫力開始向其等電點 (pI) 遷移，逐漸形成階梯狀之 pH 值分布，而樣品液初始聚焦於管道之兩端側，隨時間增加逐漸往中間移動聚集，最後當達到穩定狀態時，所有樣品液聚集於一峰狀區間內如圖 11(c)，並座落於 x = 0.5 cm 位置。此外，聚焦後的樣品液濃度升至 1.5 mM，相較原濃度 (0.16 mM) 提升約 90 倍，如此大大地增加量測訊號。

#### 五、結論

本文介紹電泳分離的數學模型及物理機制，說明四種電泳分離的技術，包括移動邊界電泳法、區間電泳法、等速電泳法及等電點聚焦電泳法，並利用時空守恆法模擬呈現，此數值法能克服傳統的數值方法在捕捉不連續的介面處會產生嚴重的數值震盪，或是數值擴散等缺點，能提供一可靠、有效率之數值解作為輔佐實驗或微電泳晶片設計之用。

電泳是一門廣大的領域，在電泳分離方面目前主要可分為四大類，在本文都提供概略的介紹，此外，電泳技術還包括溫度梯度電泳聚焦技術 (temperature gradient focusing, TGF) 與電泳堆疊 (stacking) 等<sup>(4, 22)</sup>。將含有樣品離子的區域經過濃縮的步驟使得所帶濃度提高，稱之為樣品堆疊。堆疊在毛細管電泳中是一門重要的方法，結合本文之區間電泳法與等速電泳法，且作些改變就可營造出不同的堆疊效果，以提供更廣泛之應用。

#### 參考文獻

1. R. A. Mosher, D. A. Saville, and W. Thormann, *VCH*, Weinheim (1992).
2. D. A. Saville and O.A. Palusinski, *AIChE Journal*, **32**, 207 (1986).
3. O. A. Palusinski, A. Graham, R. A. Mosher, M. Bier, and D. A. Saville, *AIChE Journal*, **32**, 215 (1986).
4. J. L. Beckers and B. Petr, *Electrophoresis*, **21**, 2747 (2000).
5. R. A. Mosher, D. Dewey, W. Thormann, D. A. Saville, and M. Bier, *Analytical Chemistry*, **61**, 362 (1989).
6. R. A. Mosher, P. Gebauer, J. Caslavská, and W. Thormann, *Analytical Chemistry*, **64**, 2991 (1992).

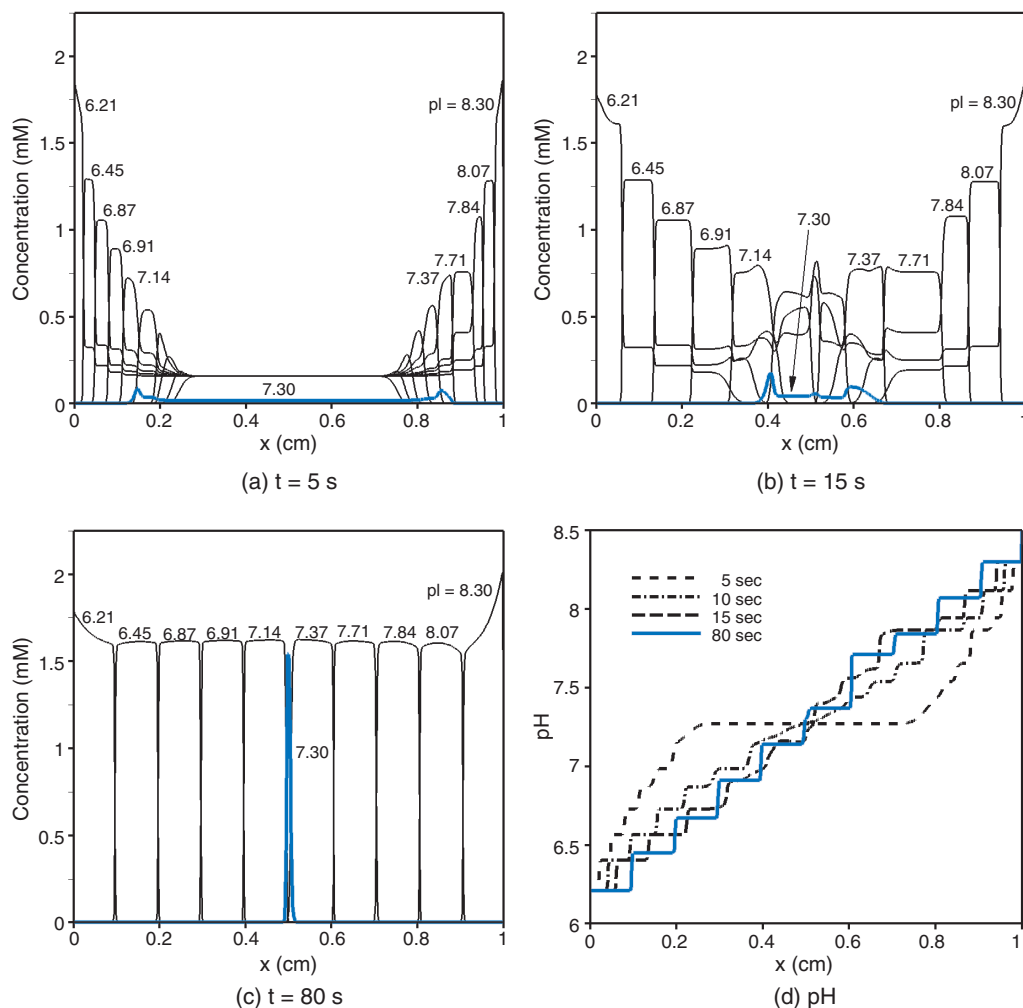


圖 11. 等電點聚焦電泳法，200 V 電壓下系統濃度及 pH 值隨時間變化分布圖 ( $\Delta x = 1 \times 10^{-5}$  m,  $\Delta t = 2 \times 10^{-3}$  s)。

7. E. V. Dose and G. A. Guiochon, *Analytical Chemistry*, **63**, 1063 (1991).
8. C. Schafer-Nielsen, *Electrophoresis*, **16**, 1369 (1995).
9. C. Schwer, B. Gas, F. Lottspeich, and E. Kenndler, *Analytical Chemistry*, **65**, 2108 (1993).
10. S. V. Ermakov, O. S. Mazhorova, and Y. P. Popov, *Informatica*, **3**, 173 (1992).
11. S. V. Ermakov, O. S. Mazhorova, and M. Y. Zhukov, *Electrophoresis*, **13**, 838 (1992).
12. S. V. Ermakov, M. S. Bello, and P. G. Righetti, *Journal of Chromatography A*, **661**, 265 (1994).
13. J. H. P. A. Martens, J. C. Reijenga, J. H. M ten Thije Boonkkamp, R. M. M. Mattheij, and F. M. Everaerts, *Journal of Chromatography A*, **772**, 49 (1997).
14. N. Ikuta and T. Hirokawa, *Journal of Chromatography A*, **802**, 49 (1998).
15. N. Ikuta, H. Sakamoto, Y. Yamada, and T. Hirokawa, *Journal of Chromatography A*, **838**, 19 (1999).
16. T. L. Sounart and J. C. Baygents, *Journal of Chromatography A*, **890**, 321 (2000).
17. H. Cui, P. Dutta, and C. F. Ivory, *Electrophoresis*, **28**, 1138 (2007).
18. J. W. Yu, Y. Chou, and R. J. Yang, *Electrophoresis*, **29**, 1048 (2008).
19. S. C. Chang, *Journal of Computational Physics*, **199**, 295 (1995).
20. S. C. Chang, X. Y. Wang, and W. M. To, *Journal of Computational Physics*, **165**, 189 (2000).
21. A. Chatterjee, *J. Micromech. Microeng.*, **13**, 758 (2003).
22. S. H. Shim, A. Riaz, K. Choi, and D. S. Chung, *Electrophoresis*, **24**, 1603 (2003).

- 鄒穎先生現為國立成功大學工程科學研究所博士班學生。
- 楊瑞珍先生為美國加州大學柏克萊分校機械工程博士，現任國立成功大學工程科學系特聘教授。
- Ying Chou is a Ph.D. student in the Department of Engineering Science at National Cheng Kung University.
- Ruey-Jen Yang received his Ph.D. in mechanical engineering from the University of California-Berkeley, USA. He is currently a distinguished professor in the Department of Engineering Science at National Cheng Kung University.