

國立交通大學

應用化學研究所

碩士論文

以多通道偵測器觀察流動訊號在毛細管柱之時間

效應

Investigation of The Temporal Effect on Flowing
Signals of Capillary Tubing Using A Multi-Channel
Detector

研究生:趙士宗

指導教授:余 艇 博士

中華民國九十六年六月

以多通道偵測器觀察流動訊號在毛細管柱之時間效應
Investigation of The Temporal Effect on Flowing Signals
of Capillary Tubing Using A Multi-Channel Detector

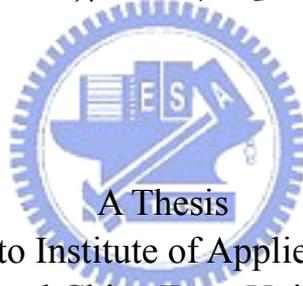
研究生：趙士宗
指導教授：余艇博士

Student：Shih -Tsung Chao
Advisor：Dr. Tiing Yu

國立交通大學

應用化學研究所

碩士論文



Submitted to Institute of Applied Chemistry
National Chiao Tung University
in partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of
Master of Science
In
Applied Chemistry
June 2007
Hsinchu, Taiwan, Republic of China.

中華民國九十六年六月

以多通道偵測器觀察流動訊號在毛細管柱之時間效應

學生：趙士宗

指導教授：余艇

國立交通大學應用化學研究所

摘要

對於流動型分析儀器的訊號，最近有文獻中提出時間效應的假說。所謂時間效應是指樣品在管路中流動時，由於樣品在管內的空間分佈狀態隨時間一直在改變，而傳統單通道偵測器收集到的訊號其實是樣品在管內不斷變化累積的結果，使得測量結果與樣品在管路內的空間分佈並不相同。

本研究之目的在於討論毛細管內流動訊號，是否有時間效應的存在，更進一步探討樣品推動力以及管柱內徑的大小，是否影響著時間效應的表現程度。

我們發展了一套多通道偵測系統，它能在流動注入分析系統中，獲得樣品在管路內的空間分佈狀態(空圖)，及記錄隨流析時間得到的訊號圖形(時圖)，對實驗所得波形各指標參數，包含不對稱因子、分散係數等進行比較，以及進行「空時疊圖」的波形比較，發現在內徑較大的毛細管確實存在著「時間效應」，而隨著管柱內徑的增大，此效應也愈趨明顯，證明傳統偵測器所得的波形呈現拖尾的原因，有部

份原因是由「時間效應」造成的，且毛細管內徑之大小是影響此效應的重要因素。



Investigation of The Temporal Effect on Flowing Signals of Capillary Tubing Using A Multi-Channel Detector

Student :Shih -Tsung Chao

Advisor : Tiing Yu

Institute of Applied Chemistry
National Chiao Tung University

Abstract

Signals of flowing type analytical instruments are subjected to a hypothesis of temporal effect that was proposed recently. This study tries to examine whether the temporal effect exists in flowing signals of capillary tubing. Furthermore, we discuss if this effect changes in different inside diameter tubing.

The temporal effect occurs while sample molecules are passing a fix-position detector. Because the spatial distribution of the sample in the flow tube changes with time, the recorded signal from a traditional single-channel detector is actually the accumulation result of the constant signal variation of the sample in the tube. Accordingly, the recorded signal as a function of time is different from the true spatial distribution of the sample in the flow tube.

We developed a multi-channel detection system that is able to scrutinize the spatial distribution of the sample and the peak shape recorded as a function of time simultaneously in flowing systems. By comparing peak shapes between spatial and temporal profiles, we explored that the temporal effect exists in tubes of large inner diameters. This effect increases as the inner diameter becomes larger. This study

confirms that the temporal effect is one of the factors responsible for the skewed flowing peaks. Additionally, inner diameter of the tube is an important factor affecting this effect.



謝誌

兩年的研究所生涯在此劃下了句點，當中伴著歡笑、淚水、失意與諸多的事物，相信這些點點滴滴在未來的日子裡，會編織成一段難忘且美麗的回憶。

首先誠摯地感謝恩師余艇，引領我進入了分析化學這個領域，一窺其奧妙的地方，並總是能在我實驗遇到瓶頸時，適時的提出建議與想法，讓我在實驗上能有所突破與進展；感謝白書禎教授，其新穎的理論令我深深著迷，使我對自己的研究更具熱忱；也感謝謝有容教授抽空前來參加口試，並提醒許多論文該注意的細節。

謝謝淑慧學姊，一直以來總是不厭其煩的幫助我，讓我能順利的畢業，感謝俊宏、凱傑學長在實驗上的幫助，也謝謝淑嫻學姊總是扮演實驗室的開心果，並感謝霆琪、鈺評、鈺君在口試時辛苦的張羅。也謝謝隔壁實驗室的大秉、哈比人、阿嚕咪、培真、阿爆、阿廖與阿琨，常大伙一起去玩，感謝許芳銘、猛男川、冷翰等球友不時的相約打球健身。在此也謝謝大學同學依蓉、腳黃、豬、小白、小龜、麻吉、山胞、坤哥等，多次的聚會與出遊讓我的研究所生涯更多采。

最後感謝我的爸媽，不時的噓寒問暖鼓勵與打氣，使得身處外地的我倍感溫馨。

2.3.4 其他空間波形參數.....	14
2.4 記錄波形方程式之推導	15
2.4.1 其他記錄波形參數.....	16
第三章 實驗.....	20
3.1 藥品.....	20
3.2 儀器裝置.....	20
3.3 儀器組裝.....	21
3.4 毛細管之處理.....	23
3.5 樣品的選擇與製備.....	24
3.6 緩衝溶液的配製.....	24
3.7 實驗參數測量.....	24
3.8 實驗流程.....	25
第四章 結果與討論(一)－以電滲流為流體之推動力	33
4.1 數據處理.....	33
4.2 樣品.....	34
4.3 數據與結果討論.....	35
4.3.1 空圖結果.....	35
4.3.2 時圖結果.....	35
4.3.3 綜合分析.....	35



第五章	結果與討論(二)–以針式幫浦為流體之推動力	41
5.1	波形指標參數.....	41
5.1.1	基本參數.....	41
5.1.2	不對稱因子 (Asymmetry factor) (A_f).....	42
5.1.3	時間效應因子 (Temporal effect factor) (T_{eff}).....	42
5.1.4	分散係數.....	42
5.1.4.1	求取空間波形質心位置的方法.....	43
5.1.4.2	以質心位置計算分散係數 (D).....	44
5.2	轉軸與疊圖.....	44
5.3	數據結果與討論.....	45
5.3.1	樣品定量.....	45
5.3.2	空圖結果.....	46
5.3.3	時圖結果.....	48
5.3.4	綜合分析.....	48
第六章	結論.....	77
	參考文獻.....	78
附錄A	符號定義表.....	81
A.1	實驗參數符號表.....	81
A.2	波形方程式參數符號表.....	81

A.3 實驗所得波形指標參數符號表.....	82
附錄B 公式推導詳細過程.....	82



圖目錄

圖 1 樣品受到層流和擴散的影響	5
圖 2 空間與時間效應	6
圖 3 空圖和時圖的定義	7
圖 4 流動注入系統的基本參數	17
圖 5 空時疊圖	18
圖 6 起始變異係數	19
圖 7 實驗裝置示意圖(電泳系統).....	27
圖 8 實驗裝置示意圖(幫浦推動).....	28
圖 9 燈源的放射圖譜波長和濾片的有效穿透波長範圍	29
圖 10 黃色四號色素(Tartrazine)的結構與紫外/可見吸收光譜圖	30
圖 11 毛細管固定卡匣.....	31
圖 12 毛細管的處理	32
圖 13 濃度 100 mg/L 的 Tartrazine 之電泳實驗—單通道偵測系統所得 到的時圖結果.....	37
圖 14 管徑 100 μm ; 流速 0.019 cm/s 之空圖	38
圖 15 管路位置 22.5 cm ; 流速 0.019 cm/s 之時圖	39
圖 16 管路位置 22.5 cm ; 流速 0.019 cm/s 之空時疊圖	40
圖 17 積分法求波形面積的示意圖	52

圖 18 不對稱因子的定義	53
圖 19 空間波形的質心位置	54
圖 20 轉軸示意圖	55
圖 21 內徑 250 μm ，濃度對吸收值之檢量圖	56
圖 22 五個管路位置的波形面積圖	57
圖 23 五個管路位置的平均波形面積圖	58
圖 24 管徑 100 μm 不同流速的空圖	59
圖 25 管徑 100 μm 不同流速的空圖(續)	60
圖 26 管徑 180 μm 不同流速的空圖	61
圖 27 管徑 180 μm 不同流速的空圖(續)	62
圖 28 管徑 250 μm 不同流速的空圖	63
圖 29 管徑 250 μm 不同流速的空圖(續)	64
圖 30 管徑 100 μm 不同流速的時圖	65
圖 31 管徑 180 μm 不同流速的時圖	66
圖 32 管徑 250 μm 不同流速的時圖	67
圖 33 內徑 100 μm 之空時疊圖	68
圖 34 內徑 180 μm 空時疊圖	69
圖 35 內徑 250 μm 空時疊圖	70
圖 36 流速對時間效應因子關係圖	71

圖 37 流速對分散係數關係圖72

圖 38 流速、分散係數、時間效應因子關係圖73



表目錄

表 1 內徑 100 μm 的空圖波形指標參數	74
表 2 內徑 180 μm 的空圖波形指標參數	74
表 3 內徑 250 μm 的空圖波形指標參數	75
表 4 三種管柱內徑相關指標參數	76



第一章 緒論

1.1 流動注入分析與古典理論

1975 年 Ruzicka 和 Hansen [1] 提出流動注入分析法 (Flow Injection Analysis, FIA)，該系統整合了加入樣品、試劑、混合反應、送入偵測器等過程，達到自動化分析。

觀察流動注入分析系統所得的訊號波形時，可以發現波形呈現不對稱，並且有拖尾(tailing)的現象。根據 Kolev [2] 整理相關的波形理論及相關教科書 [3~4]，認為產生波形拖尾的主要原因是樣品進入管路後會發生分散(dispersion)的現象，而此現象主要是由於層流(laminar flow)造成的 [5~7]。在理想狀態下，樣品注入後在管路內會以塞狀流(plug flow)的形式在管內移動，樣品區帶向兩側的擴散速率相等，最後濃度分佈會呈現對稱的高斯分佈(圖 1(a))。然而，真正流動時，流體受到管壁摩擦作用影響，在管路中心樣品摩擦力小，流速大，而靠近管壁的樣品摩擦力大，流速慢，導致管內流速呈現拋物線或彈頭型分佈，造成沿線的濃度分佈(longitudinal distribution)為一「不對稱」的波形，此樣品區帶流過偵測器後便被記錄到一個拖尾波形(圖 1(b))。

另外也有相關文獻提到流體流動時接觸到的硬體，包括管路、接頭、注入閥、偵測器光徑，因為彼此形狀大小不同產生的流體變化，

進而影響到濃度分佈的對稱性，造成所得波形不對稱[8~10]。

以往推導流動分析的數學模型都從高斯分佈方程式開始，再進一步與實驗結果比較來修改參數，通常根據 Fick's law 的物理擴散並配合高斯方程式為基礎結構，並加上其他修正，例如：指數修正高斯 (Exponential Modified Gaussian, EMG)[11~14]；或多項式修正高斯 (Polynomial Modified Gaussian, PMG)[15~17]。

1.2 空間與時間效應

由 Pai 於 2002 年發表的文獻 [18] 中指出：在流動注入分析系統中，影響波形變化的因素有兩個，一個是空間效應(spatial effect)，另一個則是長期以來被忽略的時間效應(temporal effect)。

圖 2 說明空間效應和時間效應對偵測器所收集到之訊號的影響。空間效應如圖 2(a)，假設樣品在流經管路過程中分佈狀態不隨時間而改變，樣品由於管路或其他作用力影響導致空間分佈不均勻，即波形呈現不對稱狀態，在經過偵測器收集訊號後，會得到一個僅左右方向相反，但訊號強度分佈相同的不對稱波形(方向相反是因為管路尾端的樣品先抵達偵測器，而管路頭端的樣品後抵達偵測器)。這時我們稱這種樣品產生波形不對稱的原因是空間效應。

時間效應如圖 2(b)，假設樣品在管路內呈現對稱分佈，在流動時

向兩邊對稱擴散，樣品在管路內的狀態隨時間一直在改變(濃度、寬度、波峰位置)，在經過偵測器收集訊號後，還是會得到一個不對稱的波形。這時我們稱這種樣品產生波形不對稱的原因是時間效應。然而，在真實情況下(如圖 2(c))，空間效應和時間效應會一同影響樣品，造成波形呈現不對稱分佈。

1.3 空時差異

Pai 指出，由傳統偵測器所得的波峰圖形並非樣品在管路內的真實分佈，這是由於傳統偵測器在收集訊號的同時，樣品在管內的空間分佈狀態隨時間一直在改變，使得測量結果與樣品在管路內瞬間的空間分佈有一定差異 [18~20]，這個差異我們稱為空時差異。Pai 認為，這種差異普遍地存在於採用傳統單通道偵測器的流動型系統內，不僅是流動注入分析系統，在層析系統中也應該存在這種現象，並在 2003 年提出相關的研究 [21~23]。因此推斷以往的波形理論在忽略空時差異的情況下，如果從實驗結果來推測樣品在管路內的變化將會產生誤差。

在這裡我們先定義：固定一個單通道偵測器的位置，隨時間來擷取樣品通過偵測位置的訊號，所得的圖形稱為時圖，傳統的偵測器都屬於單通道偵測器。如果使用多通道偵測器，可以同時偵測大範圍的

樣品分佈，所得的圖形稱為空圖（圖 3）。

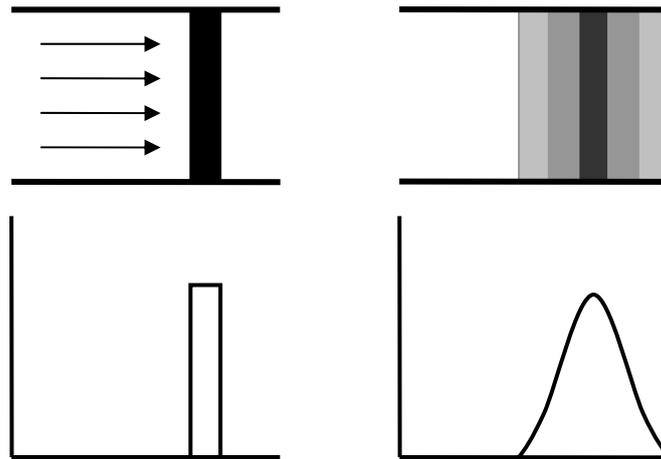
1.4 研究動機與目標

由 Yu 等所做之研究[19]可知，在流動注入分析系統中，分析物在管中會產生明顯的分散現象，導致在通過偵測器的同時，其分佈狀態劇烈改變，空時差異非常明顯。根據以往毛細管電泳的實驗結果來看，其樣品波形窄，分散現象明顯比一般流動注入分析系統要來的小，而毛細管電泳系統和流動注入分析系統的差別，在於管路粗細的不同以及樣品的推動力不一樣，因此本研究首先觀察毛細管電泳時間效應存在與否，進一步以「推動力」及「管柱內徑」作為變更參數，探討其對時間效應的影響。

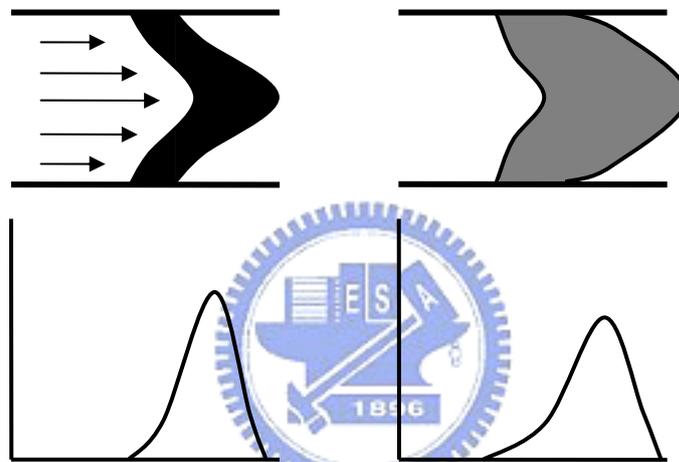
為了要證明樣品在管路內的空間分佈與由單通道偵測器所得的波形有所差異，本實驗室設計一種新的偵測系統—多通道偵測系統，可同時得到大範圍的觀測視窗(長達 21 公分)以取得樣品在管路中的空間分佈，也可以隨時間來收集樣品通過偵測位置的訊號。

總結本研究的目標為：分別設計一套簡單的毛細管電泳以及幫浦推進系統，利用多通道偵測系統來得到空圖和時圖，並進一步測量相關波形參數，以便比較不同內徑的毛細管，其時間效應程度的差異。

(a)



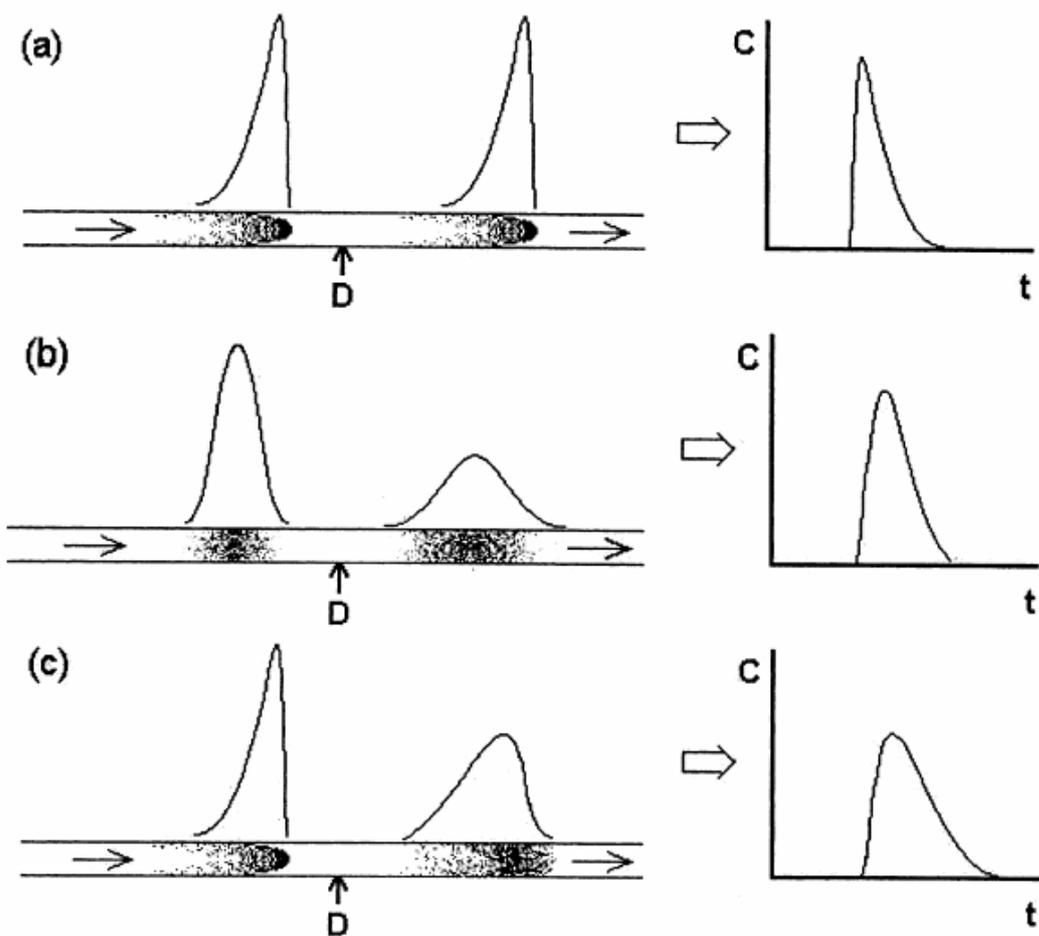
(b)



Principles of Instrumental Analysis, 5th Chapter 33 835

圖 1 樣品受到層流和擴散的影響

上層實心圖是樣品在管路內的濃度分佈，下層圖是偵測器收集的濃度訊號對時間作圖。(a)樣品在管內被塞狀流(plug flow)帶動，樣品區帶僅受擴散(diffusion)影響向兩側等速擴張，最後呈現濃度分佈對稱。(b)左圖流體受到管壁摩擦力影響，樣品因此受到層流影響，在管內濃度分佈不對稱，右圖除了受層流影響，樣品還會擴散，最後偵測器得到一個不對稱的波形。[4]



J. Chromatogr. A 950 (2002) 271-279

圖 2 空間與時間效應

左圖為質量分佈圖，右圖為偵測器收集的圖譜(D：偵測器，C：
 樣品濃度，t：時間) (a)空間效應(b)時間效應(c)真實情況[18]

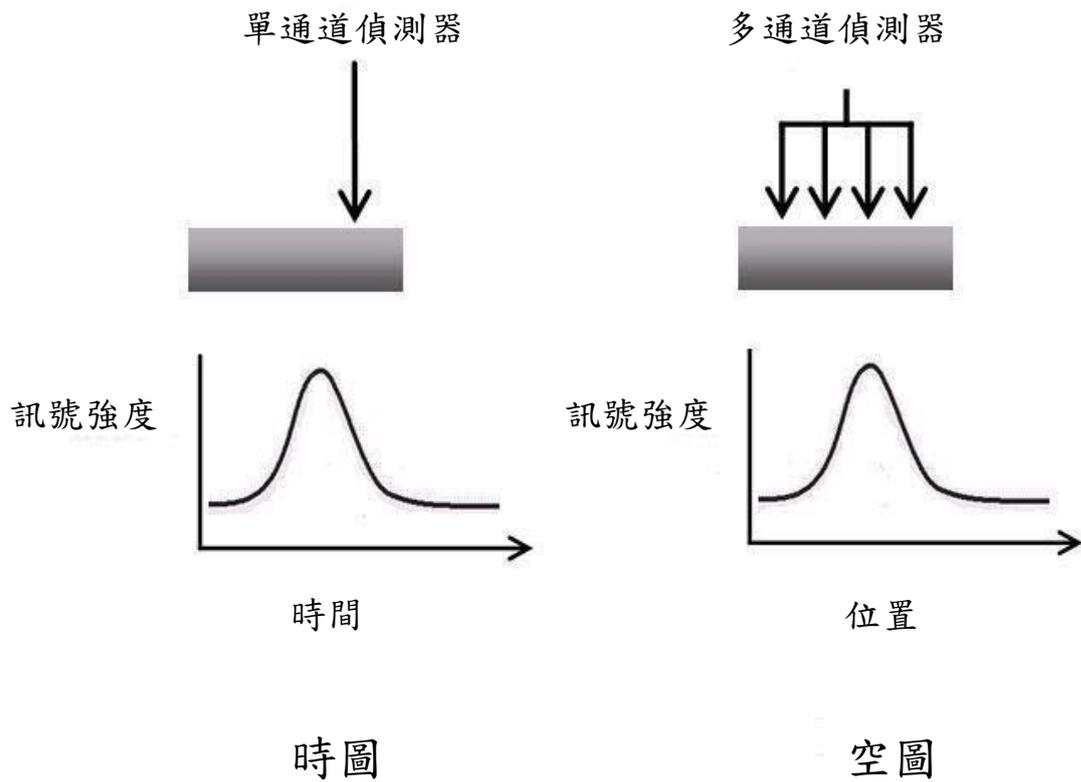


圖 3 空圖和時圖的定義

時圖的橫座標單位是流析時間，空圖的橫座標單位則是空間(管路位置)。

第二章 流動注入分析法的波形方程式推導

在進行研究前，我們需要詳細地了解時間效應的理論基礎以便設計實驗，首先回顧 Pai 等人在 2007 年所發表的文獻 [20]，該論文以時間效應的概念為基礎，推導出一條適用於流動注入分析法的波形方程式。

2.1 流動注入分析系統的基本參數

在推導公式前，我們需要先定義典型的流動注入分析系統中所包含的實驗參數(如圖 4)，參數陳列如下：

(a) 樣品體積 (V_s , mL)

(b) 樣品濃度 (C_0 , mM)

(c) 管路截面積 (a , cm^2)



樣品流經管路的截面積，可由管內半徑 (r) 求得，即 $a = \pi r^2$ 。

(d) 載液流量及線性流速 (Q , mL/s ; u , cm/s)

指幫浦輸出的流量，如果將此流量除上管路截面積，則可以得到樣品質量中心在管路中受載液推動的平均移動速度，假設管路截面積不大，此速度可視為一維方向上的流速，故稱為線性流速 (u)，即 $u = Q / a$ 。

(e) 總管路體積及長度 (V_{total} , mL ; L_{total} , cm)

指樣品從未注入前的質量中心到達偵測器所經的總體積，它包含一半的樣品體積 (V_s)、管路體積 (V_c) 與一半的偵測器體積 (V_d)，其公式為 $V_{total} = 0.5 V_s + V_c + 0.5 V_d$ 。如果將總管路體積除上截面積即可得總管路長度 (L_{total})， $L_{total} = V_{total} / a$ 。

(f) 樣品到達時間 (t_p , s)

樣品質量中心從注入前到達偵測器所需的時間，它相當於總管路體積除上載液流量，即 $t_p = V_{total} / Q$ ；或是總管路長度除上流速，即 $t_p = L_{total} / u$ 。



根據以上參數之說明，有兩點要特別注意，第一，在實驗中可以直接測量到的參數是流量 (Q) 與體積 (V)，體積包含管路體積、樣品注入體積，幫浦流出的載液體積等，然而在進行公式推導時使用的是一維方向上的參數，因此需要將體積與流量除上截面積換算成長度與流速。第二點要注意的是在實驗參數中的流量 (Q) 是測量一段時間內由幫浦推出的載液體積，再將載液體積除上所花的時間即可得之，所以此值指的是系統的平均流量。

2.2 空時差異的理論基礎

在理想狀態下，樣品注入管路內受載液推動，樣品區帶向兩側的

擴散速率相等，樣品擴張的程度可用標準偏差 (σ) 表示 [18~20]，假設管路截面積不大，只需考慮樣品在一維方向上的擴散，而樣品濃度分佈可用高斯方程式來呈現，如下所示：

$$C(L) = \frac{A_L}{\sqrt{2\pi\sigma_L(L_p)}} e^{-\left(\frac{L-L_p}{\sqrt{2}\sigma_L(L_p)}\right)^2} \quad (2.1)$$

其中 A_L 為空間軸上的波形面積(mM-cm)，它與樣品注入量成正比，在擴張的過程中為定值； L_p 為波峰頂點所在的位置；而擴張程度會隨樣品在管路中移動距離開根號 (\sqrt{L}) 成正比，即 $\sigma_L = \mu_L \sqrt{L}$ ， μ_L 為空間軸上的擴張係數，將此式帶入公式 2.1 可得



$$C(L) = \frac{A_L}{\mu_L \sqrt{2\pi L_p}} e^{-\left(\frac{L-L_p}{\mu_L \sqrt{2L_p}}\right)^2} \quad (2.2)$$

此方程式的各項參數經過軸換算後，可以得到一條投射在時間軸上的波形方程式。

$$C(t) = \frac{A_t}{\mu_t \sqrt{2\pi t_p}} e^{-\left(\frac{t-t_p}{\mu_t \sqrt{2t_p}}\right)^2} \quad (2.3)$$

上式中的 A_t 、 μ_t 、 t_p 為時間軸上的波面積、擴張常數和樣品到達偵測器的時間。過去認為時間軸可藉由長度除上流速互換 ($t = L / u$)，而將此公式視為記錄波形方程式，實際上這是一種邏輯上的誤解，因為標準偏差會隨樣品在管內移動的距離改變，換句話說，標準偏差是時間的函數，並非定值。因此 Pai 將公式 2.3 中根號內 [18~20]，從原

本代表時間 t_p 時的標準偏差值，改成會隨時間 t 而變化的標準偏差值，根據以上概念，可得到偵測器所記錄的波形方程式，如下所示：

$$C(t) = \frac{A_t}{\mu_t \sqrt{2\pi t}} e^{-\frac{(t-t_p)^2}{\mu_t^2 2t}} \quad (2.4)$$

此方程式稱為空時扭變高斯方程式 (Temporally Convoluted Gaussian Equation，簡稱為 TCG)，它並未包含任何物理不對稱因素，如：流場、樣品注入方式、管路結構等。

由公式 2.3 和 2.4 做圖可得到兩個波形，這兩組波形之波峰位置分別定義為 t_p 與 t_p^* ，將兩圖重疊後(圖 5)，可以發現兩者波峰位置不同 ($t_p \neq t_p^*$)，Pai & Chiao 將兩者差距定義為時移 (temporal shift) [24]，符號為 Φ 。值得一提的是公式 2.3 的圖形呈現對稱分佈，而公式 2.4 的圖形則是不對稱且有拖尾的現象，較為吻合傳統流動注入分析系統所得之波峰形狀。

2.3 標準偏差 (standard deviation)的推導

前面已提到樣品在管內的擴張程度可用標準偏差 (σ_L , cm) 表示，在流動注入分析系統中，會影響樣品擴張的原因有很多種，例如：起始條件 (initial condition)、縱向分散(Longitudinal dispersion)、分子擴散 (molecular diffusion)、管路缺陷 (defect of manifold)等因素，要定量這些因素對擴張的影響時，可以採用變異係數 (variance) (σ^2) 的

方式將個別因素的影響相加 [25~26]，再開根號求得整體標準偏差，因此，變異總和 (σ_L^2) 可表示為：

$$\sigma_L^2 = \sigma_{initial}^2 + \sigma_{dispersion}^2 + \sigma_{diffusion}^2 + \sigma_{manifold}^2$$

由於在流動系統中，縱向分散現象遠比分子擴散現象來的明顯，因此可忽略後者的影響，此外管路缺陷產生的作用較為複雜，可能引起非一維方向上的擴散，並且難以定量，因此在這邊暫時不考慮其影響。最後只考慮兩項因素對波形擴張的影響。

$$\sigma_L^2 = \sigma_{initial}^2 + \sigma_{dispersion}^2 \quad (2.5)$$

接下來會分別介紹如何計算「起始條件」和「縱向分散」變異係數的方法。



2.3.1 起始條件變異係數

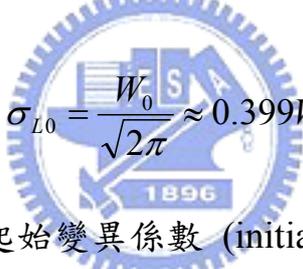
在流動注入分析系統中，通常使用較大量的樣品體積，樣品注入管路後會形成一個柱狀 (histogram-shape) 的樣品區帶，隨後會逐漸擴張成平台狀 (plateau)，最後趨近高斯分佈，因此樣品體積對波形初始狀態的影響不可忽略。在管路中的柱狀樣品區帶，其起始區帶寬度 (initial zone width, W_0 , cm) 等於樣品體積除上管路截面積，即 $W_0 = V_s / a$ ，將起始區帶寬度乘上樣品初濃度就可得到樣品在空間軸上的面積，即 $A_L = W_0 \times C_0$ ，面積相當於樣品注入的總質量，我們可以將這

個樣品在管路中變化的情形畫在一張「濃度對長度」的圖形上(圖 6(a))。

為了要定量起始狀態的影響 [20]，我們將柱狀的樣品區帶轉換為一個具有相等面積的高斯分佈(圖 6(b))，並假設樣品注入前的濃度等於初濃度，即 $C(0) = C_0$ ，將此條件代入公式 2.1 可得

$$C(0) = \frac{A_L}{\sqrt{2\pi}\sigma(0)} = C_0$$

$\sigma(0)$ 即為起始標準偏差，定義其符號為 σ_{L0} (cm)，再代入空間軸上的面積公式 $A_L = W_0 \times C_0$ ，上式經過整理後可得起始標準偏差


$$\sigma_{L0} = \frac{W_0}{\sqrt{2\pi}} \approx 0.399W_0 \quad (2.6)$$

將上式結果平方，即為起始變異係數 (initial variance)。

2.3.2 縱向分散變異係數

利用「Fick's Law」的擴散理論 (diffusion theory)，可將樣品在流動狀態下，受分散作用的波形擴張率 (band broadening rate)

$(d\sigma_{dispersion}^2 / dt)$ [27]表示為

$$\frac{d\sigma_{dispersion}^2}{dt} = 2D$$

其中 D 為縱向分散係數 (Longitudinal Dispersion Coefficient)，單位 cm^2/s ，而「2」表示樣品移動的前、後兩端皆有分散現象在同時作用。

將上式兩邊積分後可得 $\sigma_{dispersion}^2 = 2Dt$ ，代入 $t = L/u$ ，則可算出隨距離變化的縱向分散變異係數。

$$\sigma_{dispersion}^2 = 2DL/u \quad (2.7)$$

2.3.3 結合「起始條件」和「縱向分散」的空間波形方程式

將上面算出的兩項變異係數 (公式 2.6 和 2.7) 代入公式 2.5，則可得到隨樣品移動距離而變的總變異係數，將此結果開根號，則為標準偏差。因此，當樣品到達偵測器時 ($L = L_{total}$)，標準偏差為：

$$\sigma_L(L_{total}) = \sqrt{\sigma_{L0}^2 + 2DL_{total}/u} \quad (2.8)$$

將上式帶入公式 2.1，可得到包含「起始條件」和「縱向分散」的空間波形方程式。

2.3.4 其他空間波形參數

(a) 空間軸上的擴張係數 (expanding coefficient on the L coordinate)

(μ_L , cm^{1/2})

當波形沿著管路擴張時，其擴張程度與樣品在管路中移動距離開根號 (\sqrt{L}) 成正比，即 $\sigma_L = \mu_L \sqrt{L}$ ，其中 μ_L 為空間軸上的擴張係數，可由公式 2.8 推得為 $\mu_L = \sqrt{2D/u}$ 。

(b) 質量中心到達偵測器的波高 (peak height) (h , mM)

當 $L = L_{total}$ 時，可由空間波形方程式算出波峰的高度，即波高 (h)。

$$h = \frac{A_L}{\sqrt{2\pi(\sigma_{L0}^2 + 2DL_{total}/u)}} \quad (2.9)$$

2.4 記錄波形方程式之推導

從 2.2 節知道，管路內的空間分佈波形並非記錄器得到的波形，但是 Pai 利用數學步驟可將空間波形轉換成記錄波形。首先將公式 2.1 的空間波形方程式轉換到時間軸上：

$$C(t) = \frac{A_t}{\sqrt{2\pi\sigma_t(t_p)}} e^{-\left(\frac{t-t_p}{\sqrt{2}\sigma_t(t_p)}\right)^2} \quad (2.10)$$

$$\text{其中 } \sigma_t(t_p) = \sqrt{\sigma_{L0}^2/u^2 + 2Dt_p/u^2}$$

其中的 A_t 、 t_p 、 $\sigma_t(t_p)$ 等參數會對應空間軸上的參數，兩者的關係是 $A_t = A_L/u$ ， $t_p = L_{total}/u$ ， $\sigma_t(t_p) = \sigma_L(L_{total})/u$ 。傳統上將上式視為觀測方程式，根據Pai的說明 [18~20]，其實它只是以時間為軸的空間波形方程式。接著將公式 2.10 內原本只隨 t_p 而變的標準偏差變成時間 (t) 的函數，如此就可以得到記錄波形方程式，此方程式稱為空時扭變高斯方程式。

$$C(t) = \frac{A_t}{\sqrt{2\pi\sigma_t(t)}} e^{-\left(\frac{t-t_p}{\sqrt{2}\sigma_t(t)}\right)^2} \quad (2.11)$$

$$\text{其中 } \sigma_t(t) = \sqrt{\sigma_{L0}^2/u^2 + 2Dt/u^2}$$

2.4.1 其他記錄波形參數

(a) 儀器感受係數 (Instrument sensitivity) (η , abs/mM)

樣品經過偵測器後得到的是相對強度的訊號而非真實濃度，對一個濃度為 C_0 的樣品，經過偵測器測量後得到的吸光值是 S_0 ，兩者的關係可以表示為 $S_0 = \eta \times C_0$ ，其中 η 為儀器感受係數，會隨著不同的儀器而變。

(b) 表觀波峰位置 (t_p^* , s)

由於記錄波形並非樣品到達偵測器時的空間波形，為了要與 t_p 區別，稱觀測到的波形最高點所對應的時間為 t_p^* 。

(c) 波高 (h^* , abs)

記錄波形最高點所對應的吸收值



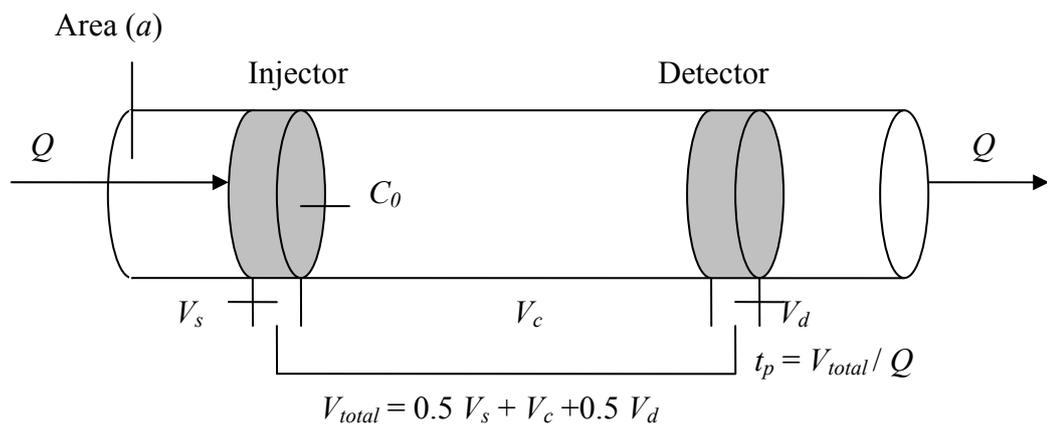


圖 4 流動注入系統的基本參數

此圖說明一個流動注入分析系統，管路截面積為 a (cm^2)，在注入閥內有初濃度為 C_0 (mM)、體積為 V_s (mL) 的樣品，受到幫浦以流量 Q (mL/s) 推動。其總管路體積相當於一半的樣品體積 (V_s)，加上管路體積 (V_c) 與一半的偵測器體積 (V_d)。而樣品質量中心到達偵測器的時間 t_p (s)，可由總管路體積除上流量求得[20]。

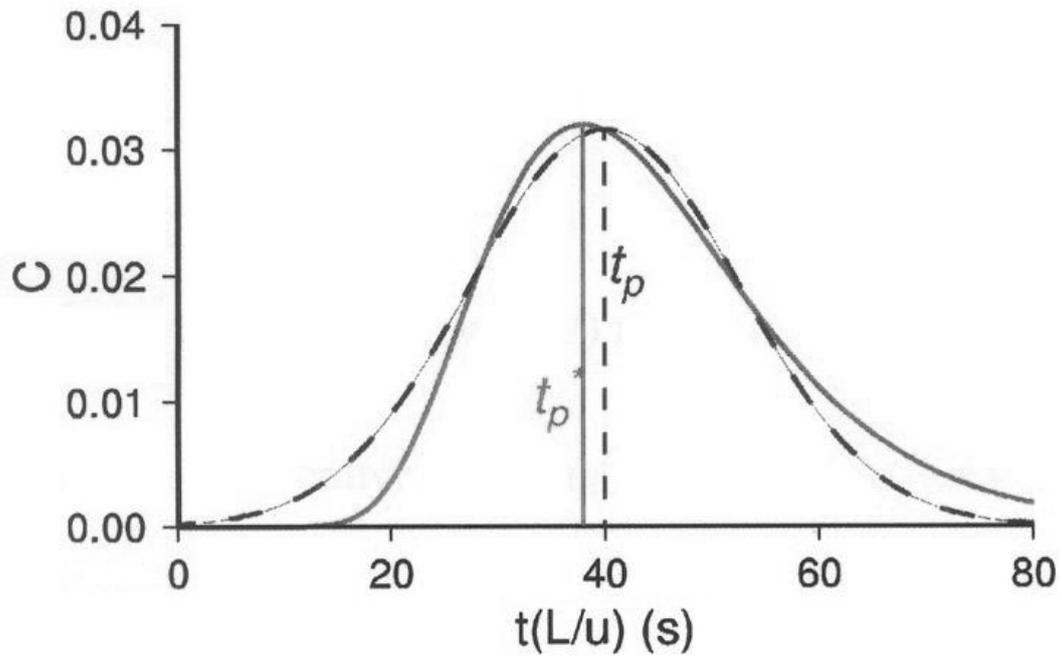
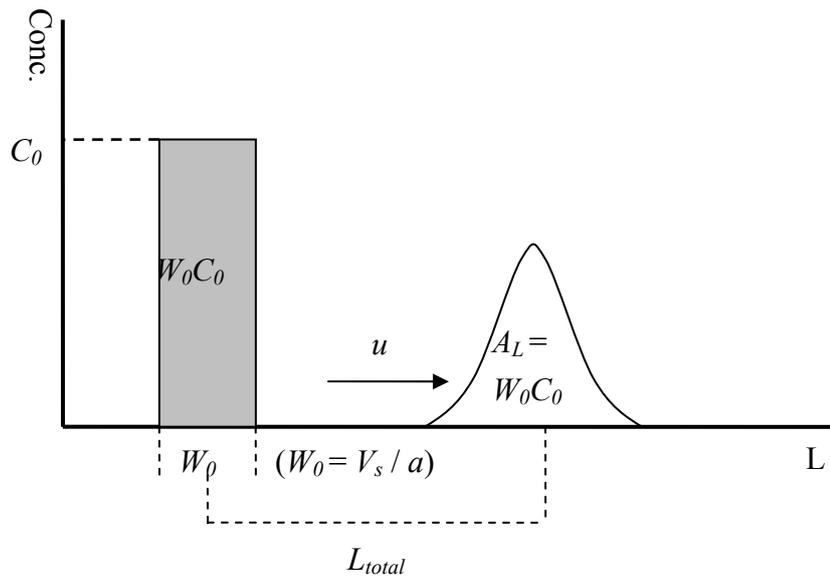


圖 5 空時疊圖



轉軸後的空間分佈曲線(黑色虛線)，波峰位置 t_p^* ，與紀錄波形(灰色實線)，波峰位置 t_p ，可以看出兩者不相等，其時間差距稱為「時移」，由Pai & Chiao 推導的公式計算得之[24]。

(a)



(b)

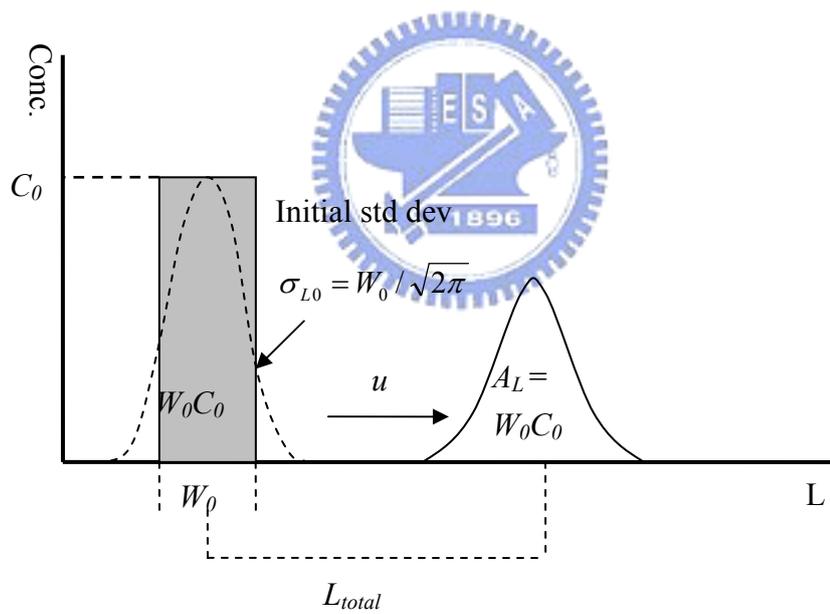


圖 6 起始變異係數

圖(a) 樣品區帶注入管路後隨著移動距離變成高斯分佈，其面積守恆。圖(b) 樣品起始區帶轉換為一個高斯分佈[20]。

第三章 實驗

3.1 藥品

Tartrazine(黃色四號合成色素), dye content approx. 90%, 購自於 SIGMA(Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA)。

實驗用水為經過 Millipore(Bedford, MA, USA) Milli-Q 處理的 18.2MΩ 去離子水。

3.2 儀器裝置

(a) 針式幫浦(Syringe pump)



ISCO Model 260D(Lincoln, NE, USA), 容量為 266.05 mL, 可選擇定壓力或定流量模式操作, 最高輸出壓力為 7500 psi, 最高輸出流量為 107 mL/min。

(b) 電源供應器

Spellman CZE1000R, 購自於 Spellman(Spellman High Voltage Electronics Corporation, Hauppauge, New York, USA)。

(c) 數據處理系統

SIC Chromatocorder12, 購自於 SIC(System Instruments Co., Ltd)。

(d) Hamilton 微量注射針筒

容量 1 ml, 購自於 Hamilton(Hamilton Company, Nevada, USA)。

(e) 管路 (Tubing)

內徑分別為 100、180、250 μm ，外徑分別為 357、340、360 μm ，材質是二氧化矽 (fused-silica)，在表面外層塗附上聚醯亞胺 (polyimide)，購自於 Polymicro (Polymicro Technologies Incorporated, Phoenix, AZ, USA)。

(f) 多通道偵測系統

光學盒由虹光精密工業股份有限公司(竹科工業園區研新一路 20 號)提供；435 奈米窄帶濾波片，穿透波長中心 435 nm，波峰寬度約 50 nm，穿透度約等於 90 %，由裕群光電科技股份有限公司(桃園縣龍潭鄉中豐路 618 號)製作；向量調整機台委託彥宏開發科技有限公司(台北縣新莊市化成路 63 巷 71 號)設計製造。

3.3 儀器組裝

本實驗採用自行設計並組裝的儀器裝置，並依照實驗需求可架構成兩套系統，第一套為毛細管電泳系統，第二套為幫浦推進系統，並搭配多通道偵測器來收集樣品訊號，此系統可由實驗中獲得空圖與時圖的資訊，實驗裝置組成如圖 7、8。

(a) 多通道偵測系統

整個系統包含多通道偵測器、濾波片與向量調整機台。多通道偵

測器從虹光公司提供的光學掃描器拆解下來，以掃描器的燈管與內部光學盒作為本實驗所需之光源與多通道偵測器，光學盒視窗寬度為 21 公分，連接光學盒與個人電腦之線路以及操作界面由虹光公司的楊得志先生設計。

光源之放射光譜與濾波片之穿透波長範圍如圖 9 所示，光源強度在 435 nm 左右最強，故需選擇在 435 nm 有吸收的樣品。並將濾波片固定在光學盒的視窗上以過濾光源的其他放射波長。

向量調整機台分為三個部份，第一個部份上架設光源，第二個部份為管柱卡匣，第三個部份上架設光學盒(含濾波片)，三個部份可分別調整彼此間的距離與高度，並調整光源射入光學盒的角度。



(b) 管柱卡匣

在本實驗中，因毛細管有別於一般鐵氟龍管柱，它的管柱內外徑過於細小，為了能有效地觀察其訊號，必須有平滑的夾板固定管柱，此外也須將燈源、管柱、偵測器三者間距離盡量縮小，以增大訊號，故本實驗訂製毛細管柱卡匣(如圖 11)，除了上述基本需求外，本卡匣也提供各項微調，以便調整燈源、管柱、偵測器三者間相對位置。

(c) 樣品注入

本實驗採用高度差(3 公分)進樣，進樣時間：管柱內徑 100 μm 為 30 秒；管柱內徑 180 μm 為 10 秒；管柱內徑 250 μm 為 4 秒，最後以

面積校正的方式使每次進樣的量盡量相等。

(d) 載液的推動

毛細管電泳系統中，即以電滲流作為載液的推動力；在幫浦推動系統中，為了避免染料污染針式幫浦，分別使用針式幫浦輸送實驗用載液(去離子水)；注射針筒則使用於推送訊號校正用的染料溶液。

3.4 毛細管之處理

本實驗所使用的毛細管，內徑分別為 100、180、250 μm ，外徑分別為 357、340、360 μm ，長度皆為 47 公分，為了搭配多通道偵測器 21 公分的偵測窗口，必須將其外層塗附的聚醯亞胺，剝除長達 21 公分的長度，為了不傷及聚醯亞胺底下的玻璃管柱，有別於傳統火焰燒除的方式，改以濃硫酸加熱的方式來剝除塗附於其外的聚醯亞胺，詳細步驟如下段所述。

將毛細管(圖 12)待剝除的 21 公分聚醯亞胺暴露於空氣中，其餘部份皆纏繞上止瀉繃帶，各種管柱內徑的毛細管依序纏繞完之後置入中空玻璃管，將中空玻璃管一端以止瀉繃帶密封，於另一端注入濃度 18 M 的濃硫酸，注入完畢再將其密封，接著把整個中空玻璃管以 80 $^{\circ}\text{C}$ 隔水加熱的方式加熱約 30 分鐘，待聚醯亞胺剝除完畢後取出並以去離子水清洗即可。

3.5 樣品的選擇與製備

根據光源與濾波片的可用波長範圍，選擇黃色四號作為本實驗的樣品，其結構和吸收光譜如圖 10 所示。實驗樣品以去離子水配製成 10 mg/mL、3.3 mg/mL、2.0 mg/mL 三種不同濃度。

3.6 緩衝溶液的配製

緩衝溶液是由 3 ml 的 0.1 M 硼酸鹽和 4 ml 的 0.1 M 氫氧化鈉混合，然後稀釋到 20 ml，pH=10。使用前再稀釋 3 倍。

3.7 實驗參數測量

(a) 訊號對應之管路位置



要得到樣品在管路中的空間分佈波形，除了從每一個偵測點收集訊號，還需要知道偵測點對應的管路位置 (L)。故在實驗前在毛細管柱上，將 6 個已知位置、間距的點標上記號，將毛細管置入卡匣中測量標記點所對應的偵測點，經過換算即可將偵測點間距轉為長度單位，其後在實驗中固定毛細管柱，毛細管在感光耦合元件(CCD)上各個像素(pixel)偵測點位置也可經由換算得到其對應的管路位置 (L)。

(b) 線性流速 (u , cm/s)

在固定幫浦流量下，針對兩組不同時間點之波形的質心位置，分別找出其對應的時間，藉由質心位置差除上時間差，即為整個管路系

統的線性平均流速 (u , cm/s)。

(c) 多通道偵測器訊號之校正

在實驗中，多通道偵測器測量到的訊號可能會受到下列幾項因素的影響：(1)光源(燈管發出的光強度不均以及強度隨時間變化)；(2)毛細管(毛細管受卡匣固定擠壓後，其內徑不均)；(3)偵測器(偵測器上每一個偵測點對光線的靈敏度之差異)，造成訊號會有誤差存在，因此需要做吸收訊號校正。將固定濃度的染料充滿整個管路，以多通道偵測器測量吸收值，每個偵測點收到的訊號為光線通過管路後，到達偵測器上所得之結果，假設各點之吸收值相同，之後才能分析樣品訊號之變化，故將這些偵測點的吸收值平均，再除上每一點原本的吸收值，即可得到每一個偵測點的吸收校正因子，此因子可用於真實樣品吸收度之校正。

3.8 實驗流程

實驗裝置架設完畢之後，先調整燈源、管柱、多通道偵測器三者間的相關位置與角度，使得光源能順利通過管柱並進入偵測器，且依照電腦操作介面所顯示的訊號水平與強弱，進行第二步驟的微調，調整完畢後測量每個偵測點其所對應的管路位置，上述步驟完畢之後進行接下來的實驗。

電泳部分：(1)將緩衝溶液以超音波洗淨器充分震盪後充滿整條

毛細管，並檢查管路內是否有氣泡，若有則再震盪並重做實驗；(2)依實驗條件設定電源供應器電壓；(3)設定電腦操作介面；(4)注入樣品，並將儀器蓋上黑布避免受其他光源干擾；(5)開動電源供應器進行實驗並同時收集訊號；(6)從電腦操作介面上看到訊號恢復至原本狀態即表示樣品已流出管路，此時停止收集訊號；(7)進行吸光值校正。(8) 若該次實驗訊雜比(S/N)大於 50 且基線平穩則採用該數據，否則重複上面(1)~(7)步驟。

幫浦推動部分: 步驟同前文(1)~(8)，僅將載液改為去離子水，並將電源供應器改為幫浦操作，設定流量進行推動。



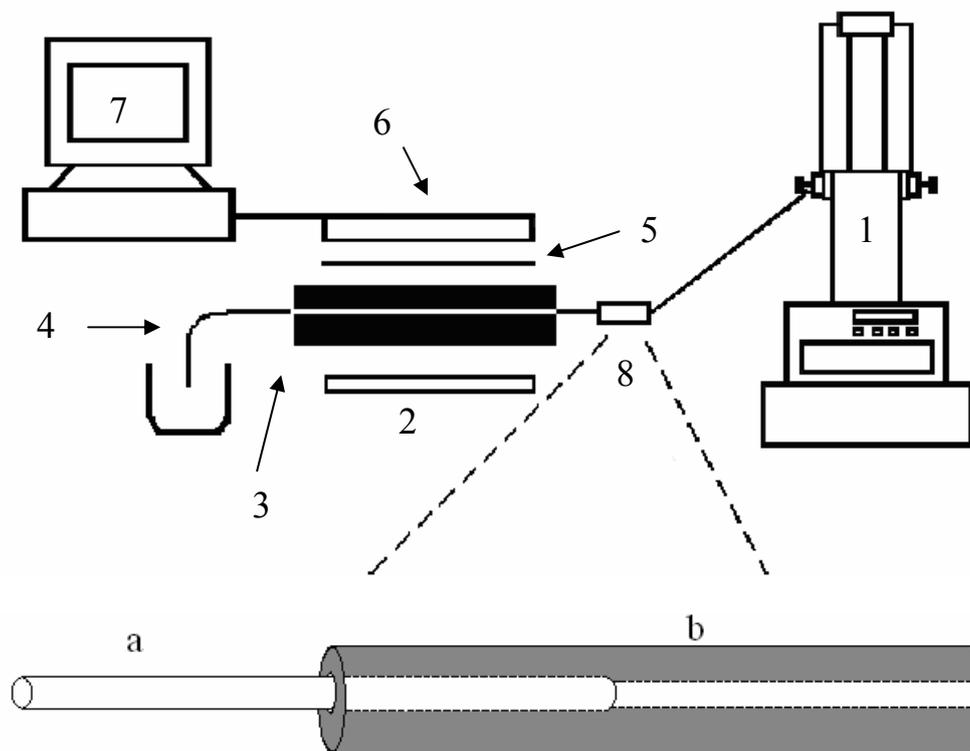


圖 8 實驗裝置示意圖(幫浦推動)

1：針式幫浦；2：燈管；3：管柱固定卡匣；4：測量管柱；5：
濾波片；6：多通道偵測器；7：個人電腦；8：毛細管與幫浦連接介
面(a:毛細管；b:鐵氟龍管柱)

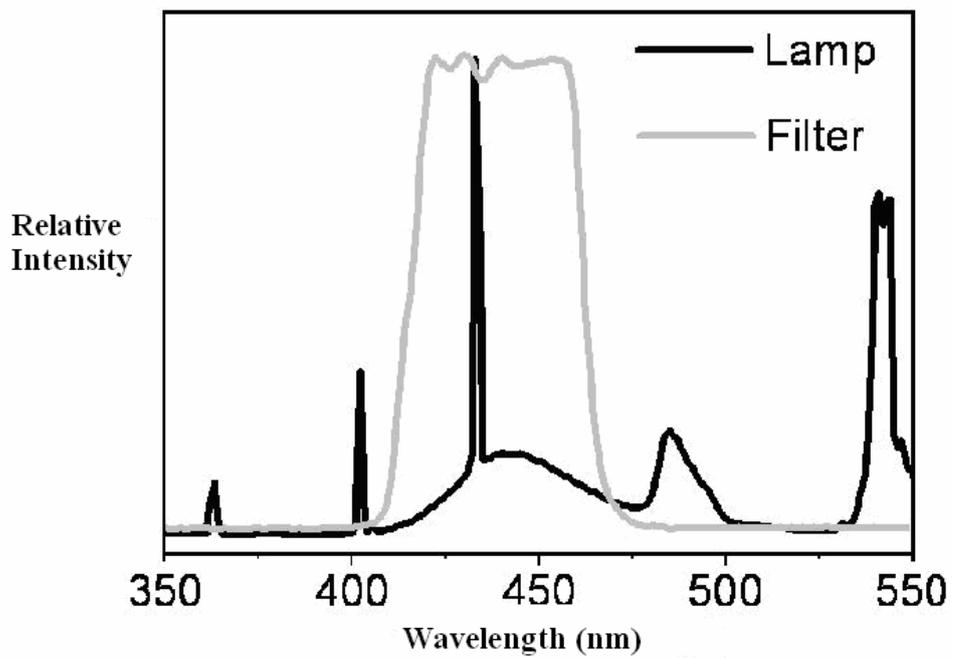


圖 9 燈源的放射圖譜波長和濾片的有效穿透波長範圍

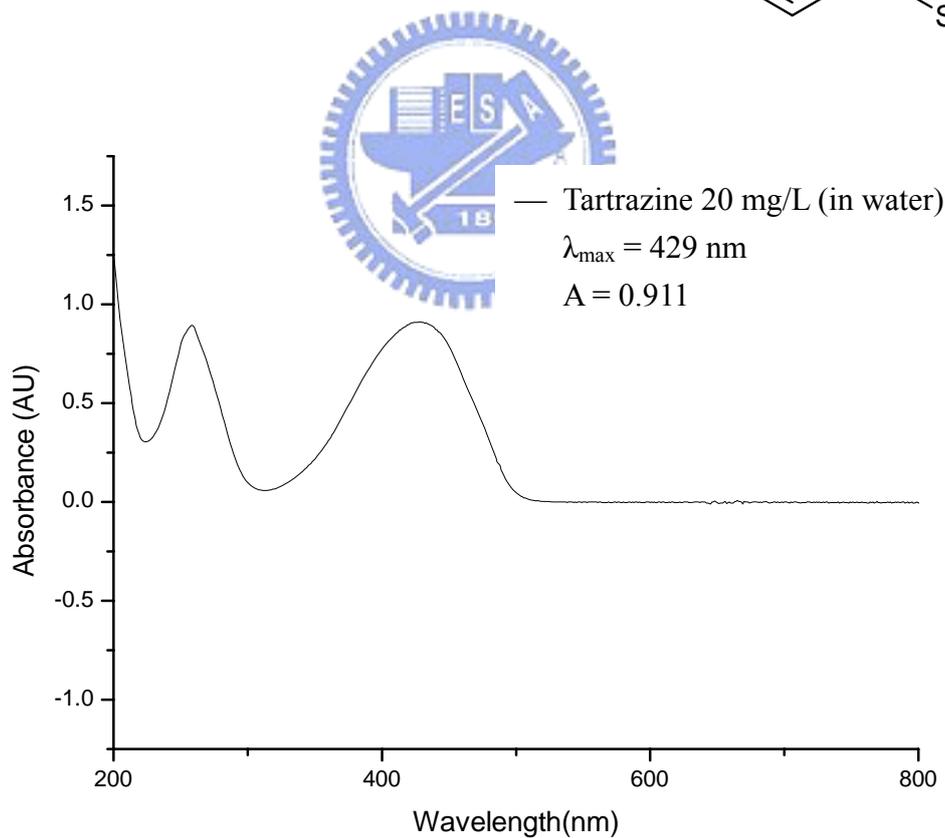
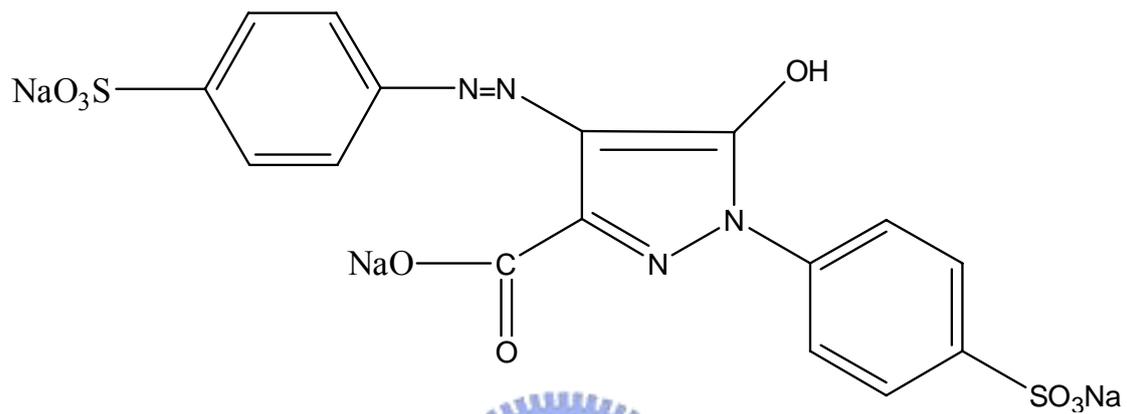
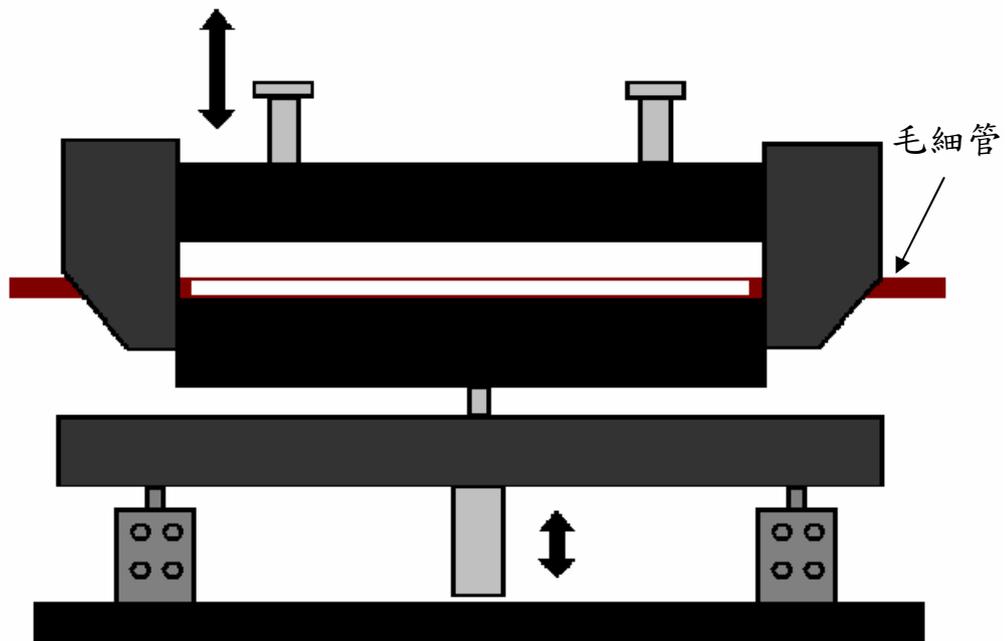


圖 10 黃色四號色素(Tartrazine)的結構與紫外/可見吸收光譜圖

(a)



(b)

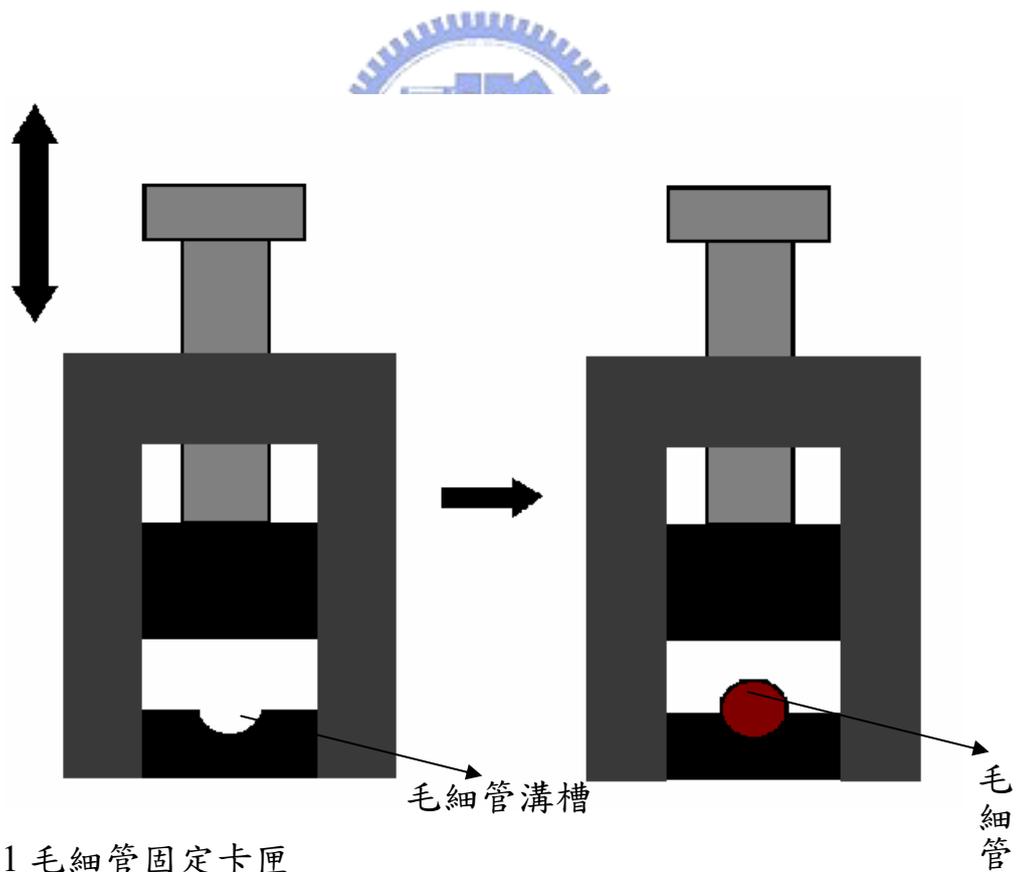


圖 11 毛细管固定卡匣

毛细管固定卡匣 (a)卡匣正面圖；(b)側面置入毛细管的溝槽

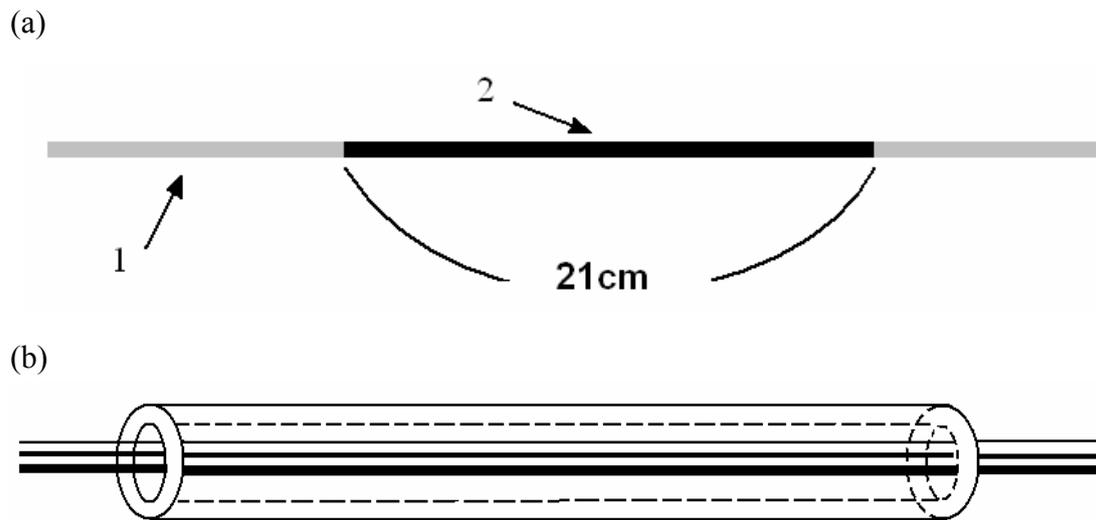


圖 12 毛細管的處理

毛細管處理 (a) 1: 纏繞上止瀉繃帶部份; 2: 暴露於空氣的部份 (b) 置入中空玻璃管，以濃硫酸處理之。

第四章 結果與討論(一)－以電滲流為流體之推動力

傳統理論上電滲流對於樣品的分散影響小，訊號應為高斯對稱，但實際上多數樣品經由單通道偵測器收集後所得訊號，卻呈現非高斯分佈的形狀，本實驗以多通道偵測器觀察樣品在管路中真實分布之情形，並探究波形不對稱的原因。

4.1 數據處理

本系統使用的多通道偵測器裡，其線形 CCD 上有 10720 個像素 (即 10720 個偵測點)，以相鄰 16 點做平均積分處理，即得到 670 個訊號收集點，並以此 670 個點代表全部的偵測點。每次取樣的曝光時間 (exposure time) 為 3.6 ms，對所有實驗條件的最高流速 0.855 cm/s 來說，每次取樣期間，樣品只會在管路中前進 0.031 mm，相對於一個完整波形之寬度而言，此值甚小，故可忽略曝光時間對空間波形的影響。

數據處理步驟如下：在實驗之前，關閉燈源進行偵測，以取得偵測器之殘餘電流訊號值，並取十次後做平均後得到該次實驗殘餘電流之平均訊號值，接著打開燈源並注滿空白動相進行偵測，得到背景訊號值，實驗完畢之後在 670 個偵測點中，去除頭尾訊號感受度較差的偵測點，將背景與實驗所得的訊號值扣除平均殘餘電流訊號值，扣除

之後以「背景訊號」除以「實驗所得訊號」之值，再對其取對數值，此值即為該次實驗樣品之「吸收值」，之後分別乘上 3.7(b)節提及的對應吸收校正因子，便可校正真實樣品之吸收度。

於固定之偵測點間隔時間取訊號，便可得到「時間對吸收值」的圖形，這種隨流析時間作圖得到的圖形稱為時圖(傳統偵測器記錄得到的圖形就是時圖)，將這些時圖採平均法進行數據修飾處理，對相鄰 5 個時間點平均 2 次，直到波形平滑至可接受的程度為止。

將以上處理過後的數據排列在一起，然後將每一「相同流析時間」但「不同偵測位置」的訊號取出，依據偵測點對應的管路位置作「位置對吸收值」的圖形，這種在同一時間取得多個偵測點的訊號，並以管路位置作圖得到的圖形稱為空圖，將這些空圖採平均法進行數據修飾處理，對相鄰 5 個位置平均 1~2 次，直到波形平滑至可接受的程度為止。

4.2 樣品

首先選擇 Tartrazine 作為本實驗之樣品，經由傳統單通道偵測器所得的時圖，為一拖尾不對稱之波形(圖 13)，本實驗將探討此波形之扭曲不對稱，是由空間效應或者時間效應所造成。

4.3 數據與結果討論

以濃度 10 mg/mL 的樣品在管柱內徑 100 μm 的毛細管進行實驗，分離電壓 3 kV，流速 0.019 cm/s。模擬傳統單通道偵測收集訊號方式，在管路尾端固定點以時間對吸收度作圖，並找出其相對應的空圖波形進行空時疊圖(參考 5.2 所提)，比較空時差異。

4.3.1 空圖結果

圖 14 為本實驗在流析過程中 4 個不同時間，由多通道偵測器瞬間取得樣品在管路內的空間分佈波形。由圖可知樣品在管柱內真實分布之情況非常不對稱，可初步判斷以單通道偵測器得之不對稱訊號波形，其相對之空圖本身也是不對稱的。



4.3.2 時圖結果

圖 15 為本多通道偵測系統在管路位置 22.5 cm 所得之時圖，可發現其訊號大致上與傳統單通道偵測器測得之結果吻合，為一拖尾不對稱之波形。

4.3.3 綜合分析

進一步比較其空時差異，將管路位置 22.5 cm 之時圖與其所對應

的空圖進行疊圖比較，圖 16 為疊圖之結果，可發現空時波形差異甚小，此即意味著不對稱之毛細管電泳訊號，主要為空間效應所造成，而時間效應貢獻微乎其微。



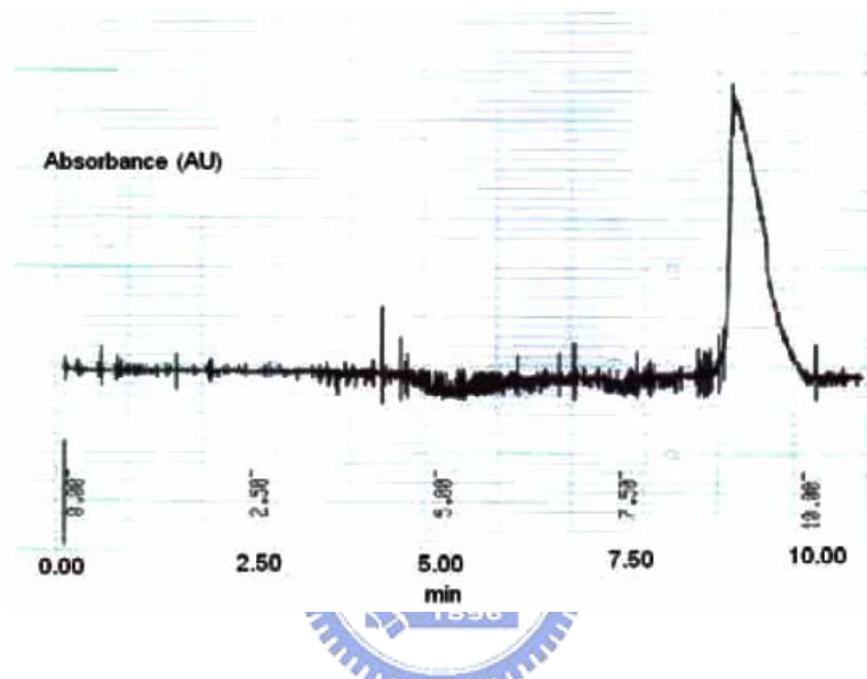


圖 13 濃度 100 mg/L 的 Tartrazine 之電泳實驗—單通道偵測系統所得到的時圖結果

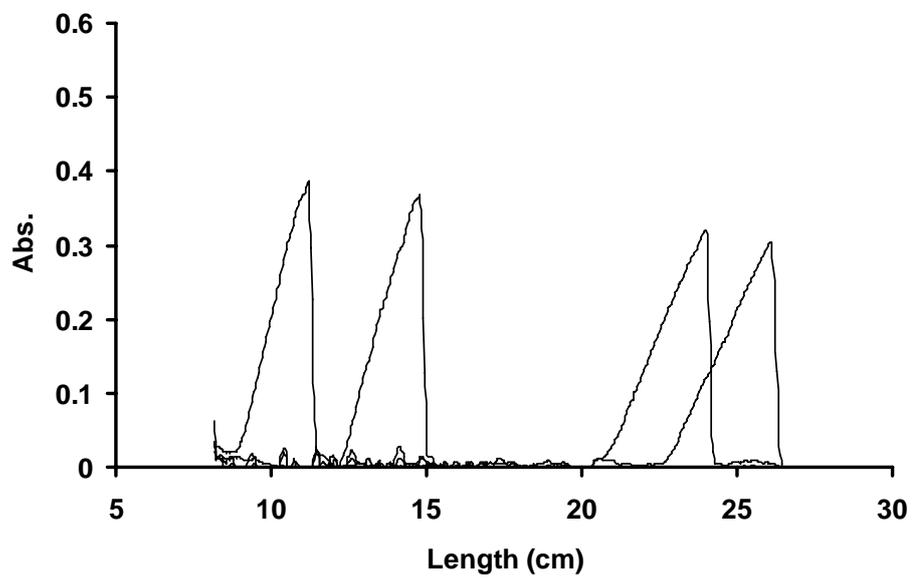


圖 14 管徑 100 μm ; 流速 0.019 cm/s 之空圖

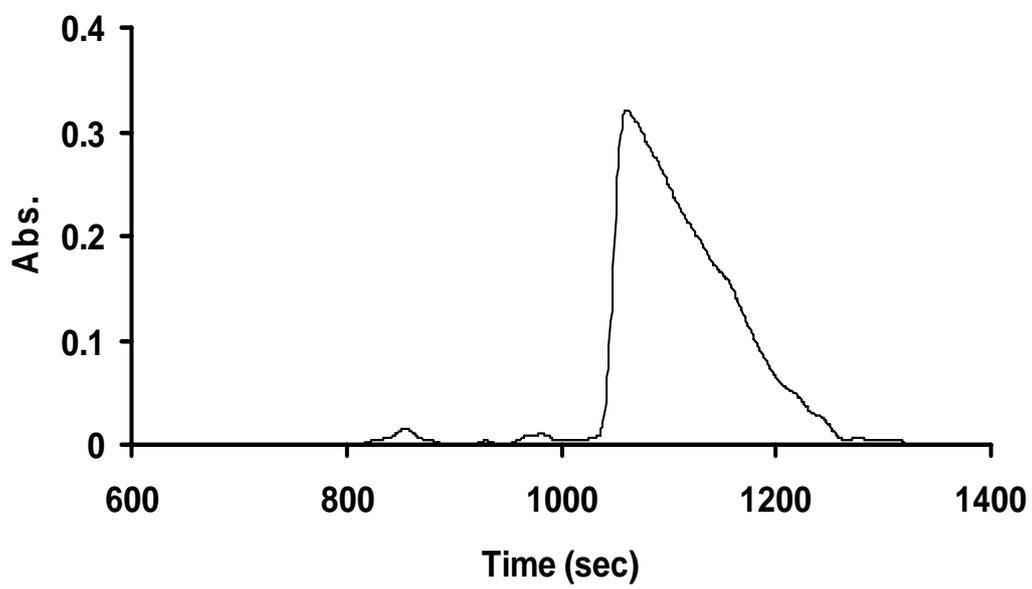


圖 15 管路位置 22.5 cm；流速 0.019 cm/s 之時圖

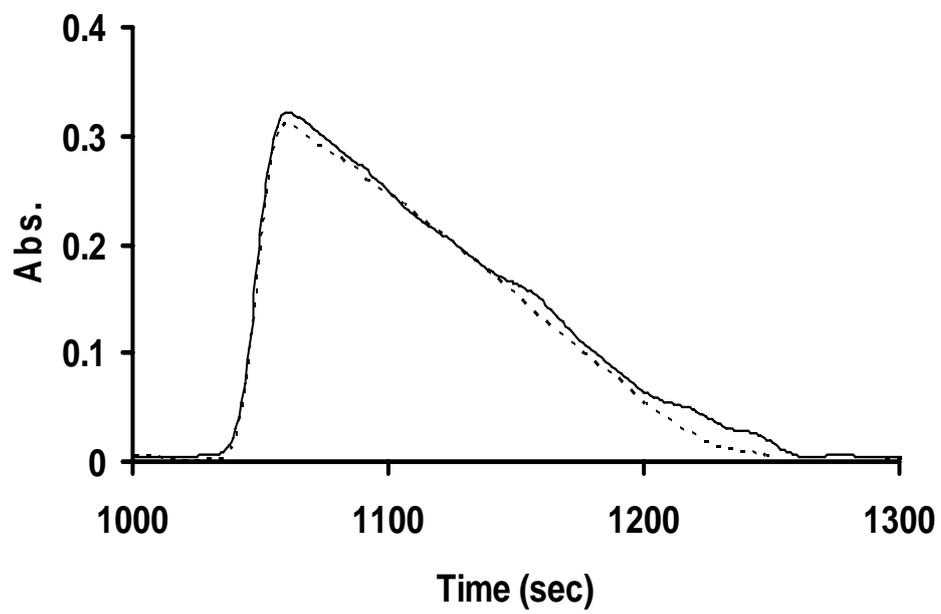


圖 16 管路位置 22.5 cm；流速 0.019 cm/s 之空時疊圖

虛線：空圖；實線：時圖

第五章 結果與討論(二)－以針式幫浦為流體之推動力

毛細管電泳系統和流動注入分析系統的差別，在於管路粗細的不同以及樣品的推動力不一樣，在上章節毛細管電泳實驗中，發現所謂的時間效應幾乎不存在。本章節以幫浦推動載液，首先探討推動力是否影響著時間效應的表現，再以管柱內徑大小作為變更參數，進一步比較不同大小的管柱內徑其訊號空時差異的程度。

5.1 波形指標參數

5.1.1 基本參數



空圖與時圖的波形之重要參數為：(1) 波高：波高代表波形中訊號的最大值；(2) 波峰：依據空圖與時圖其單位可為長度或時間；(3) 面積：即波形下所涵蓋的面積。其中前兩種指標參數可以直接從實驗數據得到，而面積則要經過計算後才可得知。本實驗採用積分法來計算波形面積，此方法將兩個訊號值以及兩訊號值的時間或距離差距以梯形面積相加（見圖 17），計算公式為

$$A = \sum (y_n + y_{n+1}) \times (x_{n+1} - x_n) \div 2$$

其中 y_n 代表第一個訊號值， x_n 為 y_n 對應的位置； y_{n+1} 代表第二個訊號值， x_{n+1} 為 y_{n+1} 對應的位置，若 x_n 與 x_{n+1} 間隔差距越小，則由累加得到的面積越接近真實面積。其符號的定義整理於附錄A.3。

5.1.2 不對稱因子 (Asymmetry factor) (A_f)

流動注入分析系統得到的時圖波形通常呈現不對稱，並且有拖尾的現象，可以使用不對稱因子（見圖 18）方式描述此現象[13]：將波高乘以 0.1 得到一個值 ($0.1h$)，再以此值作水平線延伸至左右兩邊波形，水平線與左半部波形會交於一點，此點與波峰位置的距離定義為 a ；水平線與右半部波形會交於一點，此點與波峰位置的距離定義為 b ，將 b 除以 a 即可得到不對稱因子，即 $A_f = b / a$ ，若圖形呈現拖尾，則 b 大於 a ，所得 A_f 會大於 1。由於空圖與時圖的波形左右方向相反，為了方便與時圖作比較，因此空圖波形的不對稱因子計算方式改為 $A_f = a / b$ 。



5.1.3 時間效應因子 (Temporal effect factor) (T_{eff})

由於時圖的不對稱因子 A_{ft} (temporal asymmetry factor)，其所呈現的波峰變形效果為空間與時間兩者的結果，而空圖之不對稱因子 A_{fs} (spatial asymmetry factor)，所反應的波峰變形程度僅由空間效應所造成，若要進一步比較空圖波形與時圖波形的差異，則將時圖不對稱因子的值扣除空圖不對稱因子的值，定義為時間效應因子 T_{eff} ，即 $T_{eff} = A_{ft} - A_{fs}$ ，即可由此數值的大小，來判別時間效應的顯著與否。

5.1.4 分散係數

當有了以上的實驗參數後，即可藉由空圖波形推算該系統的縱向分散係數(D) (Longitudinal dispersion coefficient)[20]。本實驗透過多通道偵測器記錄的空圖可得知樣品在管內的空間分佈波形，並可根據理論來計算樣品在管內的縱向分散係數[28]，在下文中會介紹如何計算分散係數。

在理想狀態下，樣品在管內會擴散成對稱的高斯分佈，也就是說波峰 (L_p) 是樣品分子質量分布的中心，即波形的質心位置 (L_m)，且不對稱因子等於 1。將理想的實驗參數代入公式 2.1，即 $L = L_p$ ，指數項會為 1，且 $C(L_p) = h$ ，其中標準偏差項可由公式 2.8 得知，經過整理後可得到計算 D 的公式[28]。

$$D = \left(\frac{A_L^2}{2\pi h^2} - \sigma_{L_0}^2 \right) \times \frac{u}{2L_p} \quad (5.1)$$

5.1.4.1 求取空間波形質心位置的方法

樣品的質量中心是波形的質心位置，而波形面積 (A_L) 可代表樣品注入量，由實驗得到的空圖，其面積累積為全波形面積一半所在的位置視為空間波形的質心位置 (L_m)(如圖 19(a))，而波形的波峰位置代表測得最大訊號的位置，因此質心位置並不等於波峰位置。具體計算方法為藉由積分法尋找 $1/2 A_L$ 所在的梯形面積區塊，將該梯形區塊的兩偵測位置以內插法求得積分面積等於 $1/2 A_L$ 的位置(如圖

19(b))，此位置即為空間波形的質心位置 (L_m)，質心位置的波高為 (h_m)。

5.1.4.2 以質心位置計算分散係數 (D)

從上節得知空圖波形的質心位置 (L_m) 與質心波高 (h_m) 代入公式 5.1，經過整理後的公式如下：

$$D = \left(\frac{A_L^2}{2\pi h_m^2} - \sigma_{L0}^2 \right) \times \frac{u}{2L_m} \quad (5.2)$$

此公式即為本實驗計算分散係數之方法。

5.2 轉軸與疊圖



若要進一步得知空圖與時圖的差異，可以嘗試將兩張圖疊在一起比較，然而時圖是在固定的偵測位置收集訊號，因此空間上管路尾端的樣品會先抵達偵測位置並在時圖上先出現，而管路頭端的樣品後抵達偵測位置並在時圖上後出現，假設樣品在管內沒有變化，通過偵測位置後可得到一個僅左右方向相反，但訊號強度相同的時圖，此時圖即為空圖的「鏡像」，而將空圖轉變成這種時圖的步驟稱為「轉軸」[28]。

要將空圖轉軸首先要定義一個鏡像面，此面即為時圖的偵測位置 (如圖 20)，在本實驗中採用空間波形的質心位置 (L_m) 當作鏡像面，

因此管路位置 (L) 經過鏡像後的位置 (L') 為 $L' = L_m - (L - L_m)$ ，再除上流速 u 即可將空間軸投射到時間軸上，整理後的轉軸公式為

$$t = \frac{2L_m - L}{u} \quad (5.3)$$

到此空圖已變成通過固定偵測位置的時圖，再與要比較的時圖畫在同樣的時間座標軸上，就可得到「空時疊圖」。

5.3 數據結果與討論

以濃度 10 mg/mL、3.3 mg/mL、2.0 mg/mL 的樣品，對 3 種不同管徑 (100 μm 、180 μm 、250 μm) 的毛細管進行實驗，並將 3 種管徑的流速控制在 0.074 cm/s 到 0.853 cm/s 的範圍內進行操作，實驗數據處理時，分別在 5 個不同的管路位置隨流析時間記錄「吸光值對時間」的時圖，因此每種流速有 5 個時圖，並找出空圖波形質心最接近此 5 個管路位置之空圖，所以每種流速的 5 組時圖就有 5 組對應的空圖。

5.3.1 樣品定量

由於本實驗使用壓力差進樣法，但為了使同一管徑在不同的流速條件下，其進樣樣品的量能盡量相同，所以必須找出方法來定量實驗的樣品；空圖的波形面積，可由長度乘上吸收值之總和得之，理想狀況下，在各個時間點所測得的空圖波形面積皆應相同，可用以表示進

樣樣品的量；而在本實驗中，因樣品濃度對吸收值之間的關係線性良好(如圖 21)，使空圖波形面積在管柱中各個時間點幾乎相同(如圖 22)，若能將同管徑不同流速下之波形面積維持固定，即表示該實驗進樣樣品的量接近相等；在實驗中，於不同流速下的空圖波形面積(如圖 23)，將其差異維持在 5%以下，否則重做該實驗，使進樣樣品的量盡量相同。

5.3.2 空圖結果

(a) 波形變化趨勢

圖 24 (a) ~ (c)及圖 25 (a) ~ (c) 分別為管徑 100 μm 流速 0.102、0.132、0.203、0.249、0.312、0.419 cm/s 的空圖，圖 26 (a) ~ (c)及圖 27 (a) ~ (c) 分別為管徑 180 μm 流速 0.113、0.157、0.244、0.422、0.512、0.596 cm/s 的空圖，圖 28 (a)、(b) 及圖 29(a)、(b)分別為管徑 250 μm 流速 0.074、0.177、0.262、0.444 cm/s 的空圖，每一張空圖內可以看到在流析過程中 5 個不同時間，由多通道偵測器瞬間取得樣品在管路內的空間分佈波形。由圖可見，所有流速條件的實驗過程中，樣品的空間分佈波形都從管路前端移動到管路後端，隨著波峰位置往右移，波形變得越矮越寬。這是因為當固定流量時，流析時間越久，樣品區帶在管路中移動的距離越長，一方面時間增加，提供樣品與載液有足

夠的時間來充分混合，另一方面管路增長，有更多的空間讓樣品分散開來，這兩者導致樣品擴張程度越大。

(b) 面積 (A_L)

各管徑、流速空圖波形指標參數整理於表 1 ~ 表 4 隨著流析時間增加，取得的空間波形面積幾乎維持固定(見圖 23)，各流速其相對標準偏差約在 0.7% ~ 2.6%

(c) 不對稱因子 (A_f)

比較 3 種管徑的不對稱因子，樣品從管路前端移動到管路後端的空間波形拖尾的程度(見圖 24~29)。不同管路位置的不對稱因子都接近於 1，波形大致上呈現對稱的高斯分佈。在內徑 250 μm 的毛細管會略有趨前的現象，但基本上不對稱因子還是接近於 1。

(d) 分散係數 (D)

由公式 5.2 可以從空圖中的各波形指標參數來計算空間分散係數。從圖 24~28 觀察不同的管徑、流速，空間分佈波形都接近對稱分佈，若觀察相近質心位置的空圖波形，低流速有較小的分散值，而高流速則有較大的分散值(表 4)，符合一般對流速影響樣品擴張的認知。

5.3.3 時圖結果

(a) 波形變化趨勢

圖 30 (a)、(b)為管徑 100 μm 流速分別為 0.249、0.419 cm/s，圖 31 (a)、(b)為管徑 180 μm 流速分別為 0.244、0.422 cm/s，圖 32 (a)、(b)為管徑 250 μm 流速分別為 0.262 cm/s 及、0.444 cm/s 的時圖，每一張時圖內可以看到在 5 個不同管路位置(11.1、13.3、15.5、17.7、19.9 cm)，模擬傳統單通道偵測器隨流析時間記錄樣品訊號而得到的波形。由圖可見，這 3 種管徑條件的實驗過程中，隨著偵測點的管路位置慢慢加長，記錄波形的波峰位置越往右移，而且波形變得越矮越寬。這是因為當固定流量時，管路越長，樣品到達偵測位置所花的時間越久，所以波峰出現的位置也越慢。此外，時間增長也提供樣品與載液有足夠的混合時間，導致波形擴張越大。

5.3.4 綜合分析

(a) 推動力

相較於上章節電泳實驗，在管柱內徑同為 100 μm 的條件下，改以幫浦推動(表 4)，可知時間效應因子相當小，即時間效應微乎其微，與電泳情形類似，說明了流體推動力方式不同對時間效應影響並不明顯。

(b) 不對稱因子 (A_f)

在所有流速之下(表 4)，其空圖波形僅僅在管柱內徑 250 μm 略有趨前的現象，其餘從管路前端到後端的空圖不對稱因子都接近於 1，這說明樣品在這些流速條件下皆以對稱分佈的形式在管路中移動，而由時圖來觀察，在管柱內徑 100 μm 的條件下，時圖不對稱因子幾乎都接近於 1，與空圖結果類似，但隨著管柱內徑與流速的增大，可發現時圖波形漸漸有拖尾的現象發生，尤其是在高流速以及管柱內徑 250 μm 時，其波形相當不對稱。在管柱內徑 250 μm 的實驗中，其各個流速之空圖不對稱因子皆為 0.93 左右，但是時圖依然呈現拖尾，這顯示樣品在管內的空間分佈，與傳統偵測器隨時間記錄的波形有明顯地差異，這種差異稱之為空時差異(於 1.3 節提及)。此結果符合 Pai 的理論，產生差異的原因是由於樣品在管內的空間分佈狀態隨時間一直在改變，即樣品不斷在管內擴張，而傳統偵測器只能在固定的偵測位置隨時間收集訊號，因此收集到的訊號其實是樣品在管內不斷變化累積的結果，造成空時差異的原因稱之為時間效應 (temporal effect)。所以影響記錄波形產生拖尾的原因，時間效應佔很大的比例。

(c) 空時疊圖

若要進一步比較空時差異，可以將空圖波形與時圖波形重疊。圖 33 (a)(b) 是管柱內徑 100 μm ，流速 0.249、0.419 cm/s，管路位置 13.3

cm 之波形疊圖，圖 34 (a)(b) 是管柱內徑 180 μm ，流速 0.244、0.422 cm/s，管路位置 13.3 cm 之波形疊圖，圖 35 (a)(b) 是管柱內徑 250 μm ，流速 0.262、0.444 cm/s，管路位置 13.3 cm 之波形疊圖。從疊圖可發現管柱內徑 100 μm 的空時波形幾乎沒有差異，管柱內徑 180 μm 的空時波形僅僅在流速 0.422 cm/s 的條件下，有微小的差別，反觀管柱內徑 250 μm 的空時波形明確的交於三點，與圖 5 的理論波形大致吻合，並且在較高流速下，空圖與時圖的差異更加明顯。

(c) 時間效應因子 (T_{eff})

綜合所有的空時疊圖來看，可發現僅有在高流速與大管徑的條件下，方能輕易地觀察出時間效應，為了能更進一步地表現出所有條件下，其時間效應的程度，在此將導入時間效應因子 T_{eff} ($T_{eff} = A_{ft} - A_{fs}$)，將其時間效應程度數據化，以便於觀察。在本實驗中，分別對 3 種管柱內徑，以流速對時間效應因子來做圖(如圖 36)，由圖可知，在同管柱內徑下，時間效應是隨著流速提高而增大，以及相同的流速條件下，加大管柱內徑，時間效應有著明顯的增大，綜合來說，流速與管柱內徑是影響時間效應的因素。

(d) 空間分散係數

若要討論時間效應，通常直接與分散係數有相關性，而分散係數又是流速的函數，在此除了討論流速與分散係數之間的相關性(如圖

37), 更進一步比較相近分散係數, 在不同管柱內徑條件下, 其時間效應的表現程度(如圖 38), 由圖得知在相同流速下, 管柱內徑愈大其分散係數、時間效應也愈大, 而在相近的分散係數條件下, 管柱內徑愈大其時間效應表現的愈明顯, 圖中各管柱內徑參數指標整理於表 4。



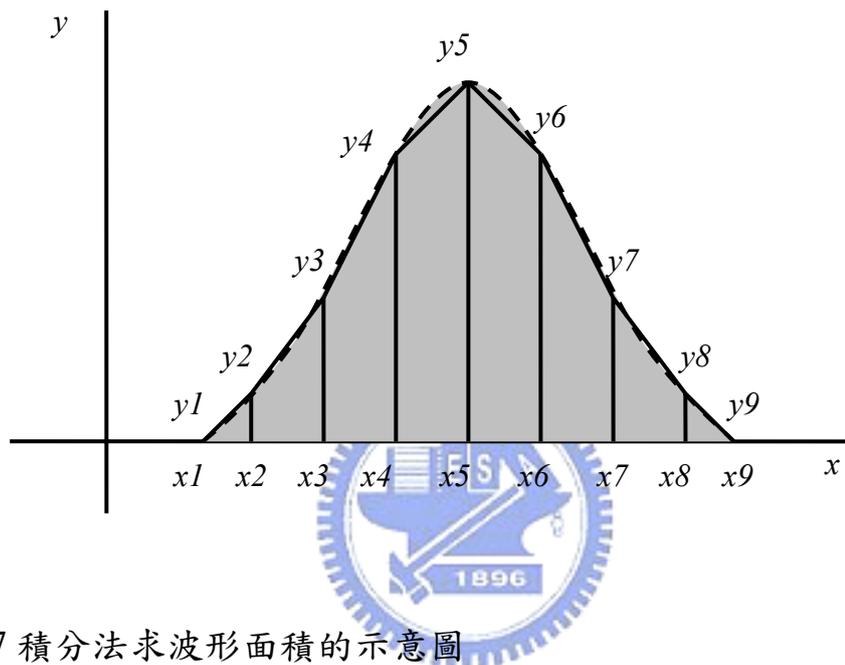


圖 17 積分法求波形面積的示意圖

計算波形下涵蓋的面積，將 (x_n, y_n) 與 (x_{n+1}, y_{n+1}) 所涵蓋的梯形面積算出，再將梯形面積累加即可逼近波形面積，若 x_n 與 x_{n+1} 間隔差距越小，則由累加得到的面積越接近真實面積。

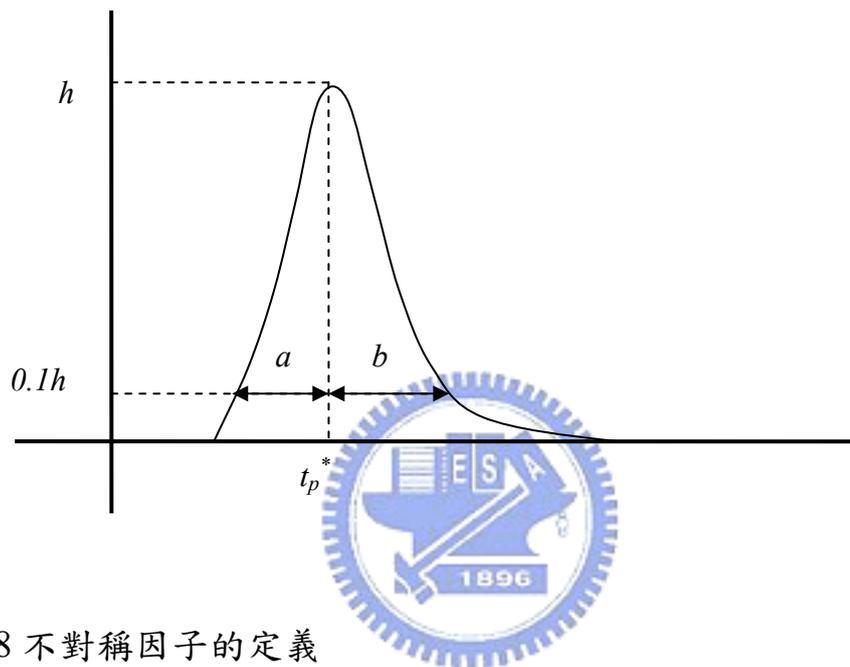
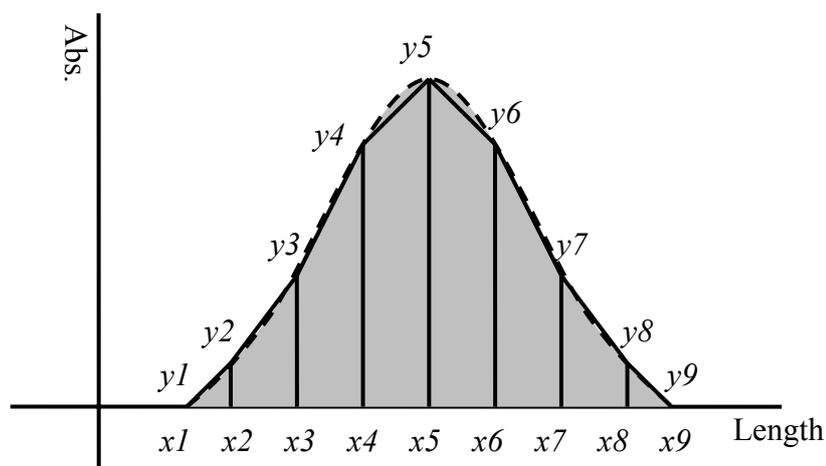


圖 18 不對稱因子的定義

以十分之一的波高位置作水平線，交於波形左半部，其交與波峰位置的距離為 a ；交於波形右半部，其交點與波峰位置的距離為 b ，不對稱因子即 $A_f = b / a$ 。

(a)



(b)

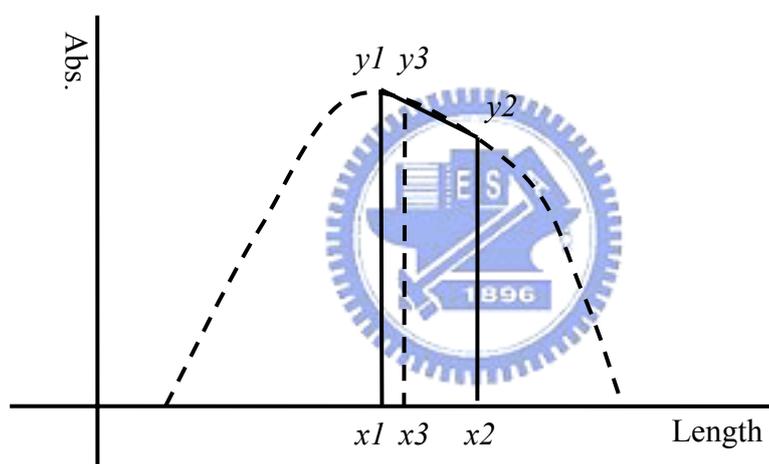


圖 19 空間波形的質心位置

(a) 質心位置的定義：空間波形一半面積所在的位置，由圖可知 (x_1, y_1) 到 (x_5, y_5) 的面積佔全部面積 $((x_1, y_1)$ 到 $(x_9, y_9))$ 的一半，因此 x_5 即為質心位置 (L_m) ， y_5 為質心波高 (h_m) 。

(b) 內插法計算質心位置： (x_1, y_1) 與 (x_2, y_2) 分別為兩偵測位置及記錄的吸收值， (x_3, y_3) 為內插法計算得到的質心位置與質心波高。

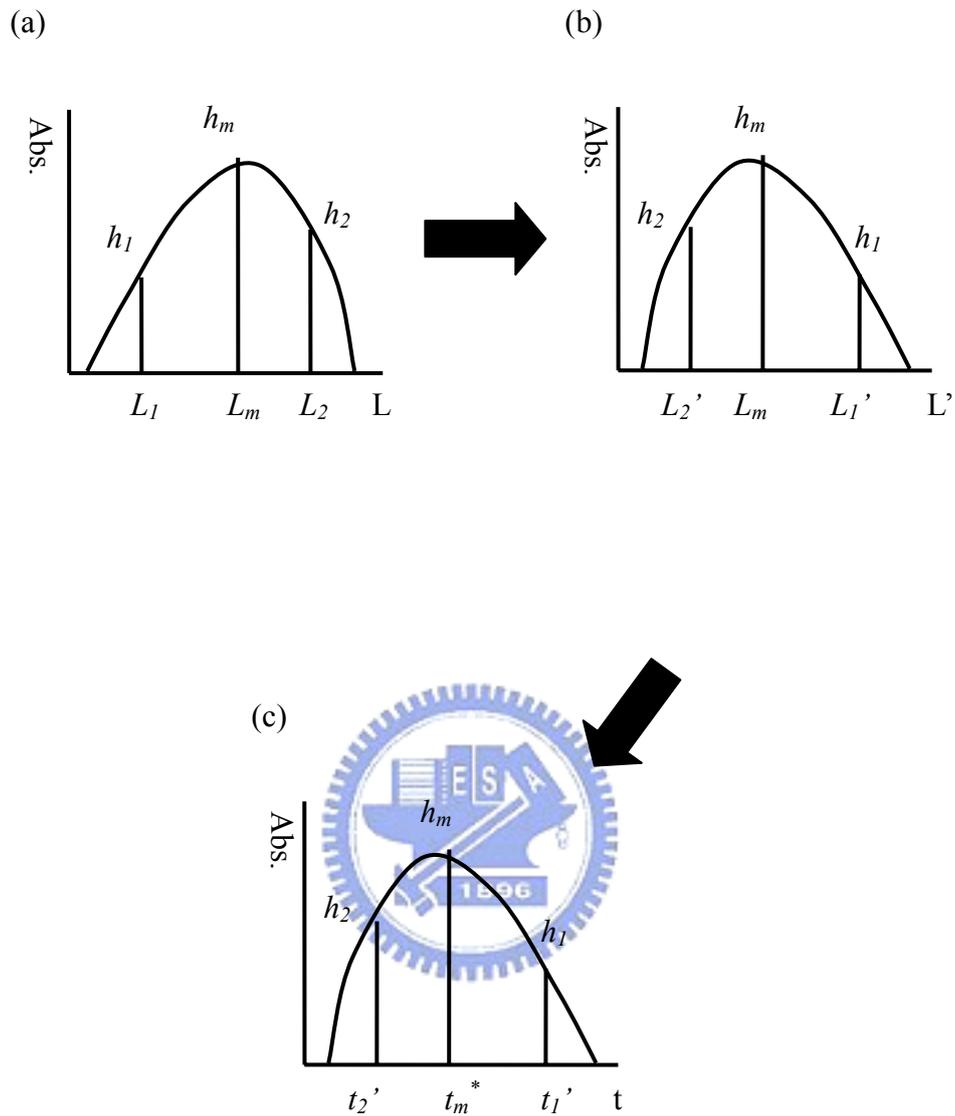


圖 20 轉軸示意圖

(a) 為原始空圖，位置 L_2 與質心 L_m 的距離為 $L_2 - L_m$ ，經過鏡像後(圖 (b))的新位置為 L_2' ，與質心的距離和鏡像前一樣，所以 $L_2' = L_m - (L_2 - L_m)$ ，再除上流速 u 即可得到時圖(圖(c))。

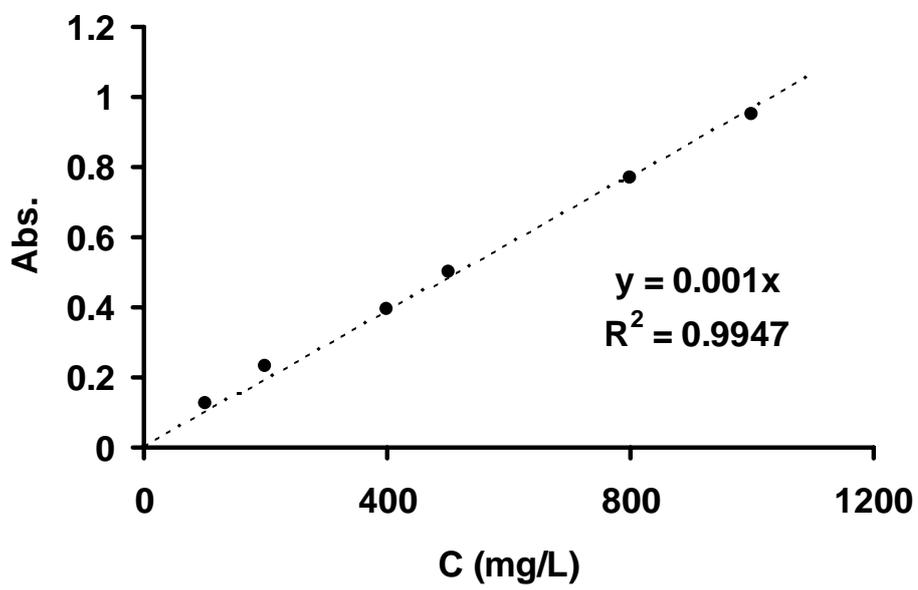


圖 21 內徑 250 μm ，濃度對吸收值之檢量圖

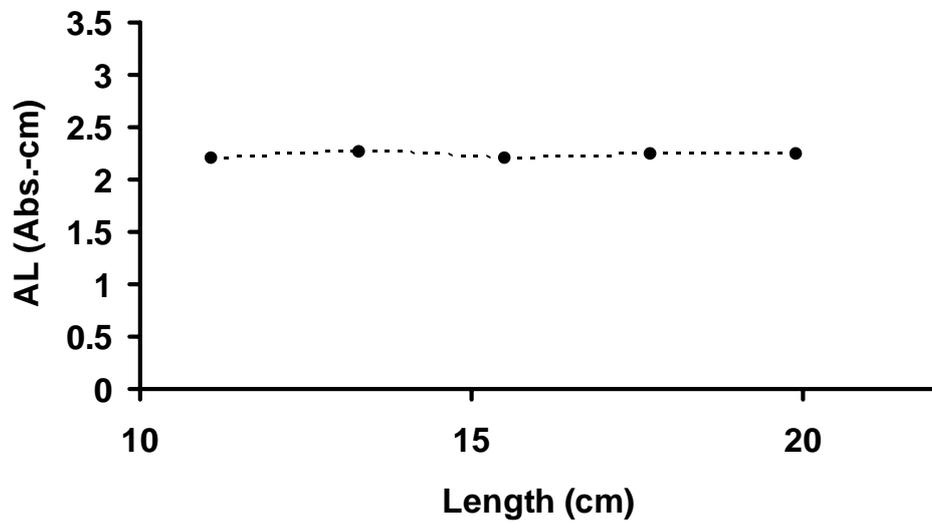
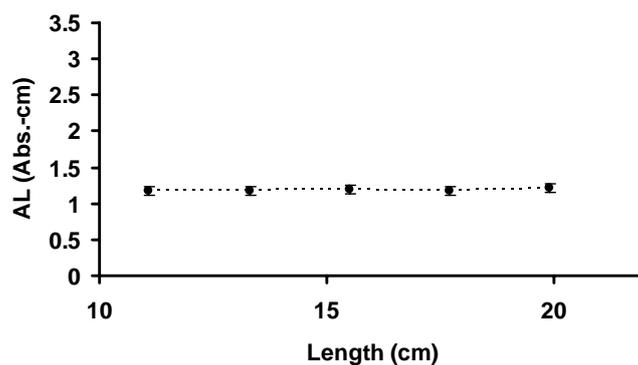


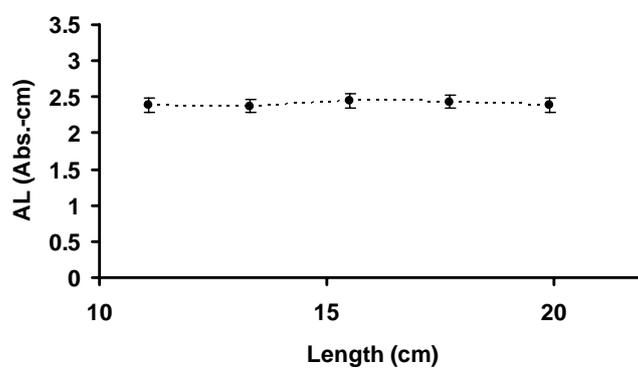
圖 22 五個管路位置的波形面積圖

波形面積；內徑 250 μm ；流速 0.262 cm

(a)



(b)



(c)

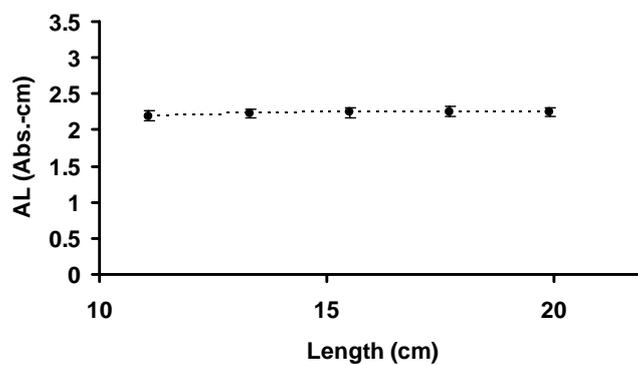
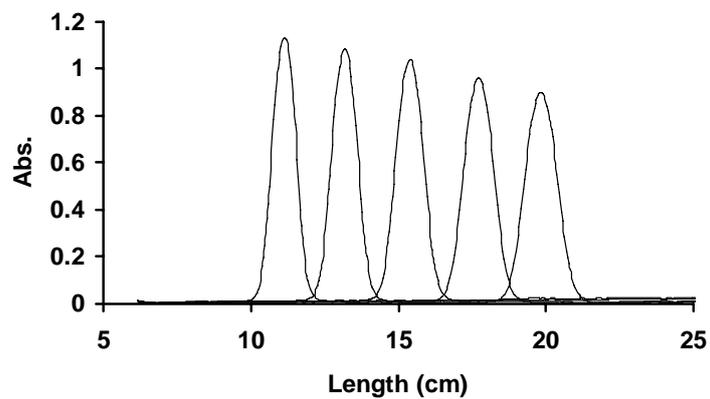


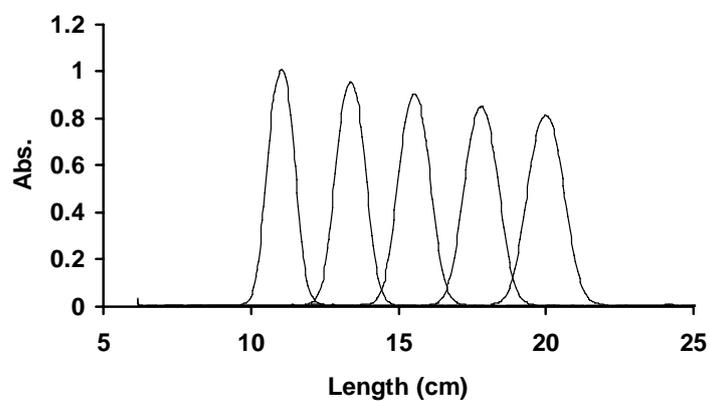
圖 23 五個管路位置的平均波形面積圖

五個管路位置的平均波形面積圖 (a) 100 μm 內徑，7 種流速平均面積，RSD = 3.1%；(b) 180 μm 內徑，6 種流速平均面積，RSD = 2.6%；(c) 250 μm 內徑，4 種流速平均，RSD = 2.5%

(a)



(b)



(c)

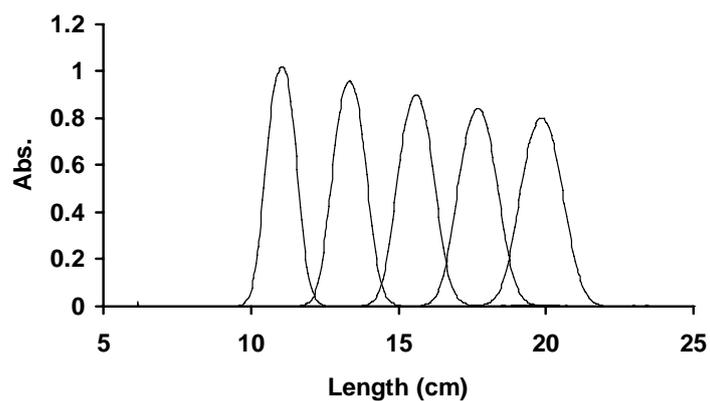
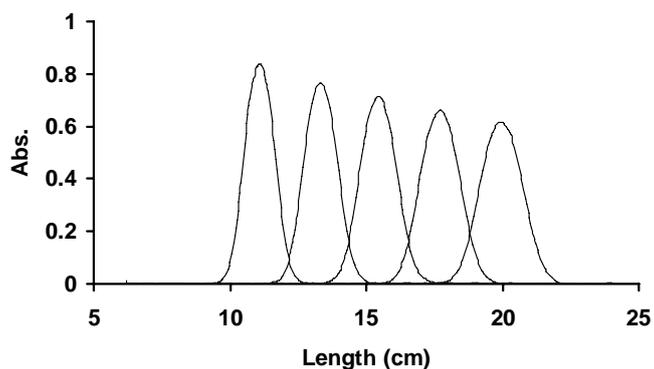


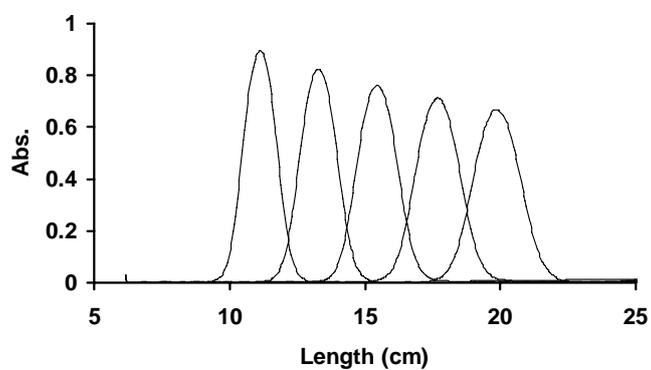
圖 24 管徑 $100\ \mu\text{m}$ 不同流速的空圖

不同流速的空圖 (a) $0.102\ \text{cm/s}$; (b) $0.132\ \text{cm/s}$; (c) $0.203\ \text{cm/s}$

(a)



(b)



(c)

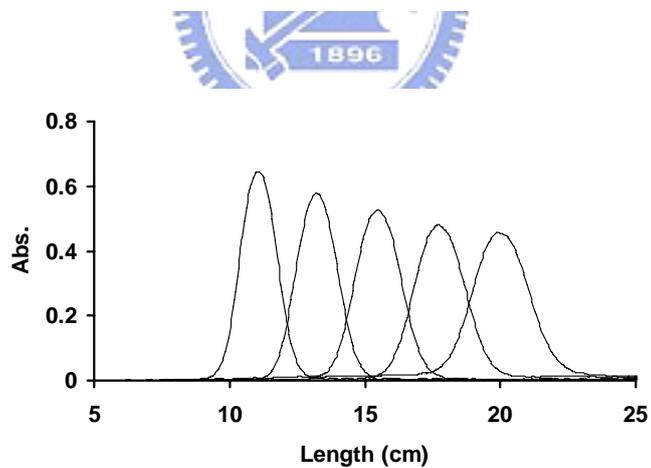
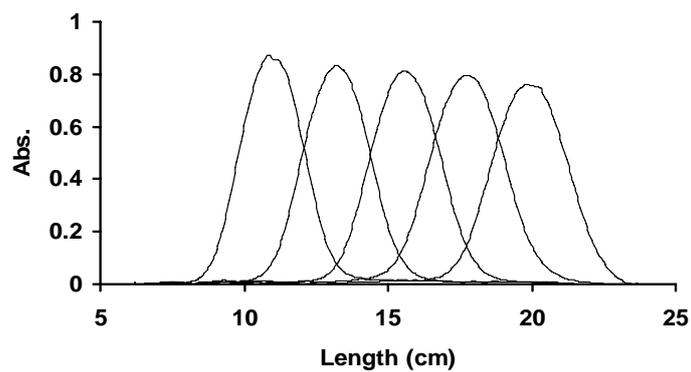


圖 25 管徑 100 μ m 不同流速的空圖(續)

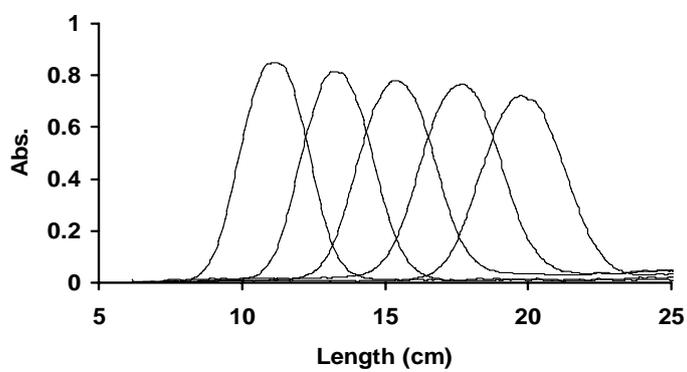
不同流速的空圖 (a) 0.249 cm/s ; (b) 0.312 cm/s ; (c) 0.419 cm/s 。

每一張空圖內從左到右有 5 個波形，分別代表在該流量下，由多通道偵測器在不同流析時間取得樣品在管內的空間分佈波形。

(a)



(b)



(c)

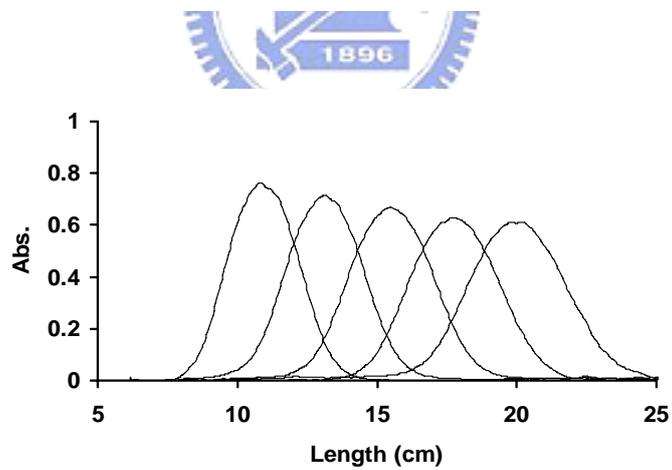
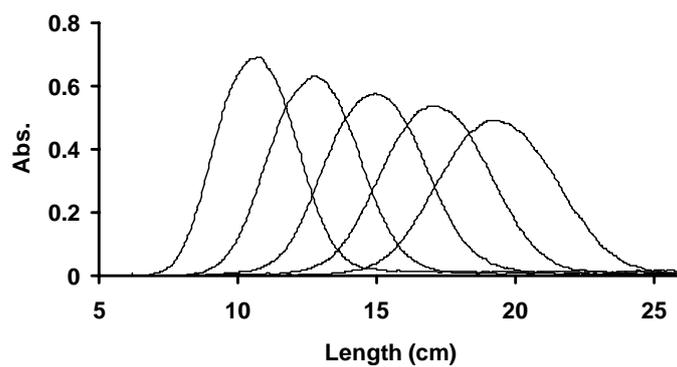


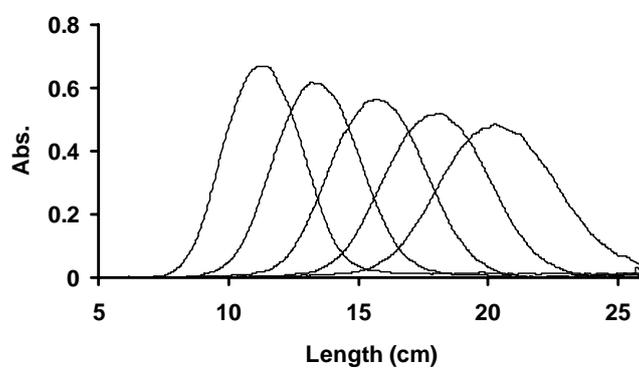
圖 26 管徑 180 μm 不同流速的空圖

不同流速的空圖 (a) 0.113 cm/s ; (b) 0.157 cm/s ; (c) 0.244 cm/s

(a)



(b)



(c)

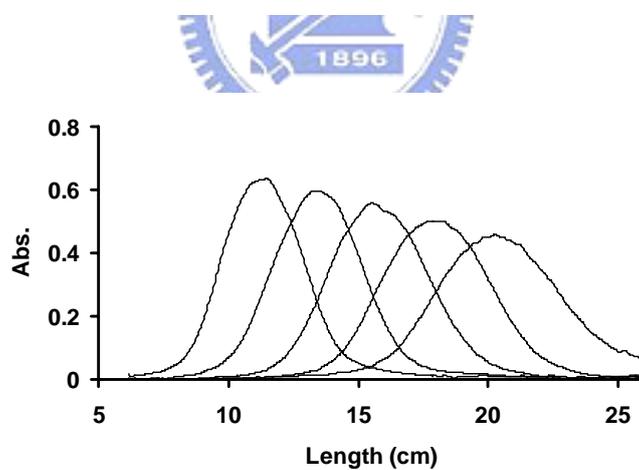
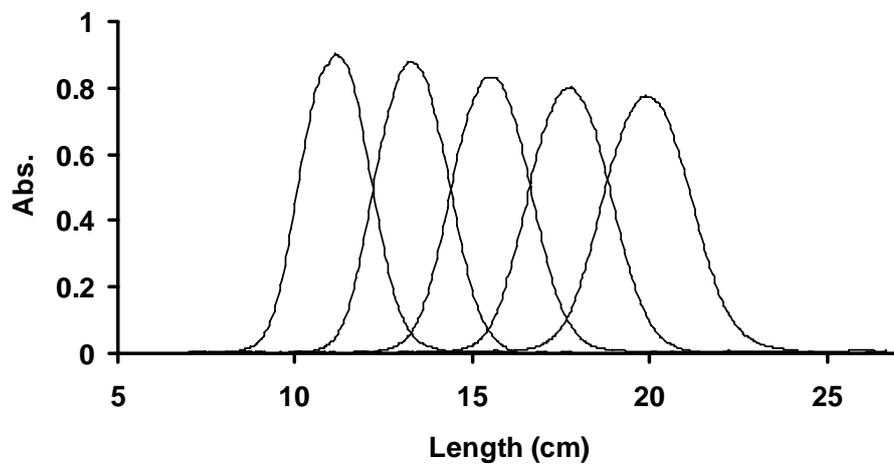


圖 27 管徑 180 μm 不同流速的空圖(續)

不同流速的空圖 (a) 0.422 cm/s ; (b) 0.512 cm/s ; (c) 0.596 cm/s

(a)



(b)

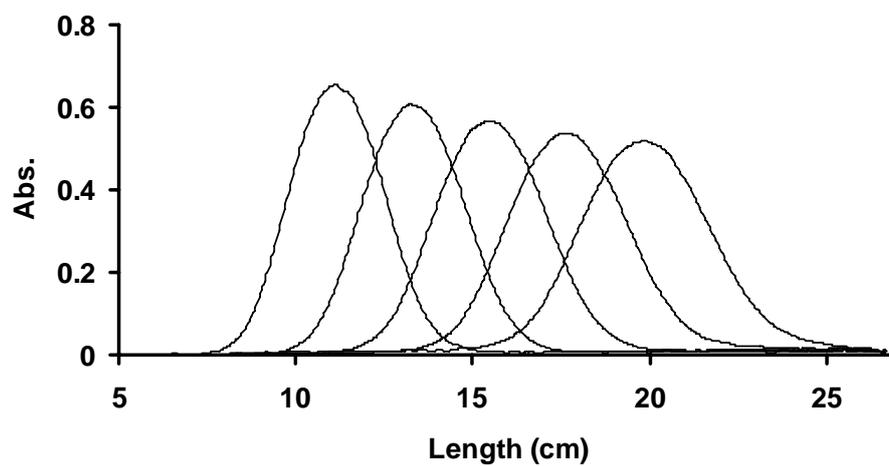
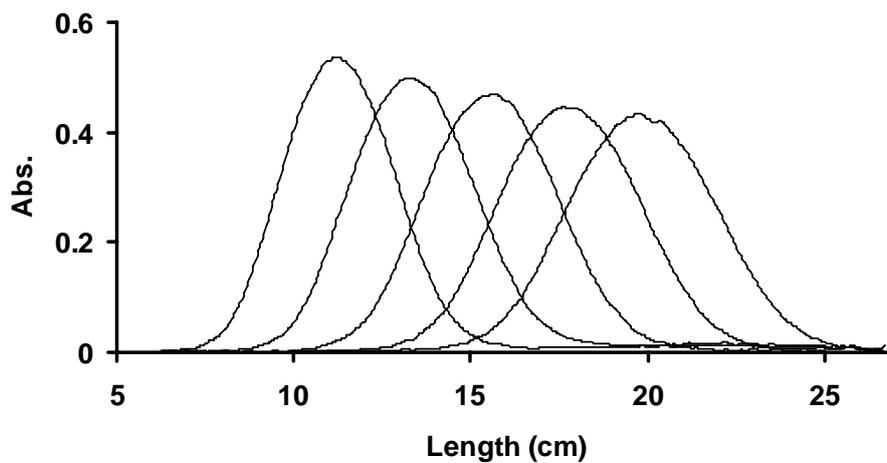


圖 28 管徑 250 μm 不同流速的空圖

不同流速的空圖 (a) 0.074 cm/s ; (b) 0.177 cm/s

(a)



(b)

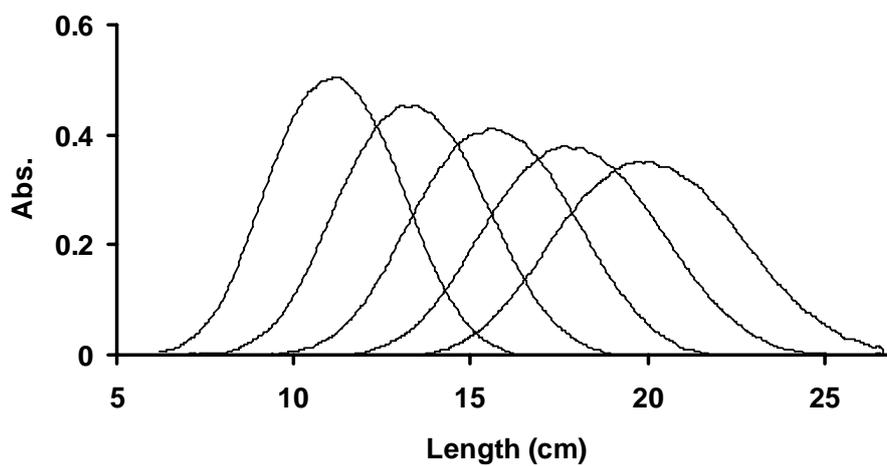
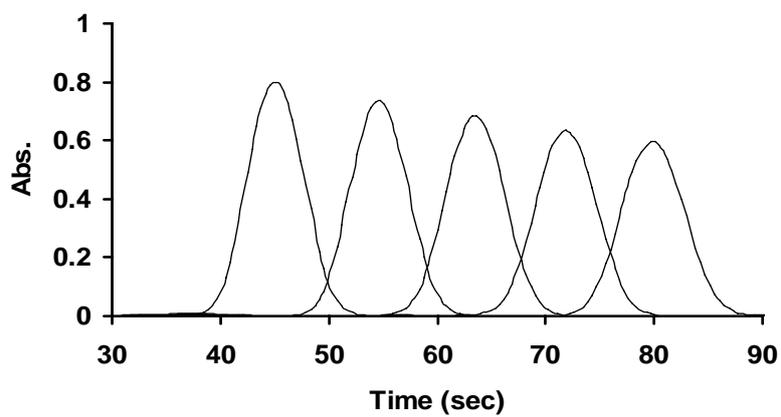


圖 29 管徑 250 μm 不同流速的空圖(續)

不同流速的空圖 (a) 0.262 cm/s ; (b) 0.444 cm/s

(a)



(b)

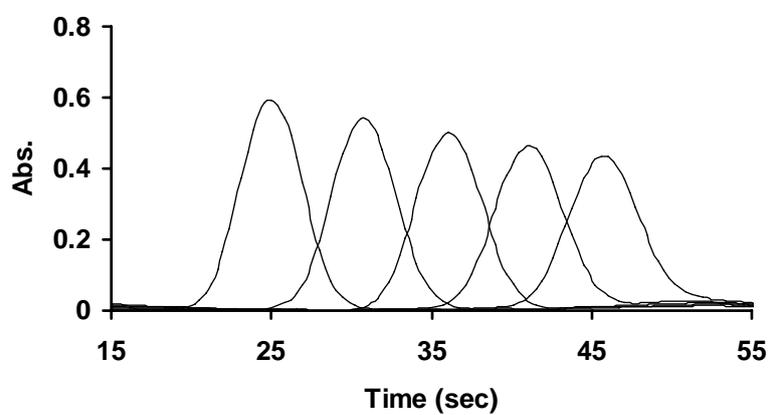
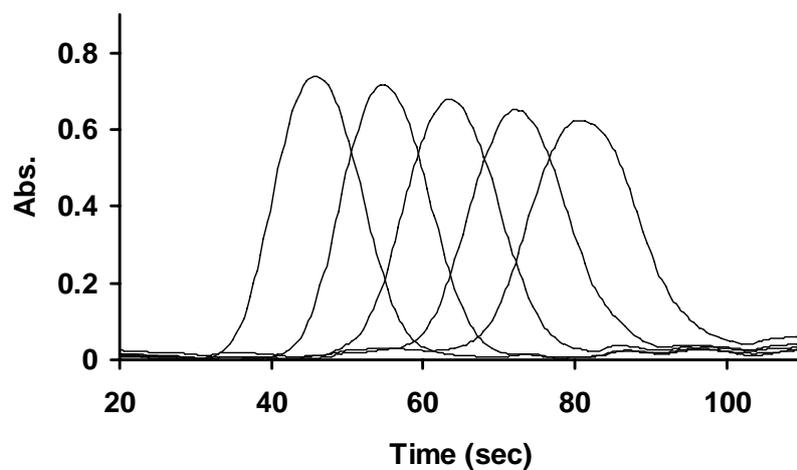


圖 30 管徑 100 μm 不同流速的時圖

不同流速的圖 (a) 0.249 cm/s ; (b) 0.419 cm/s

(a)



(b)

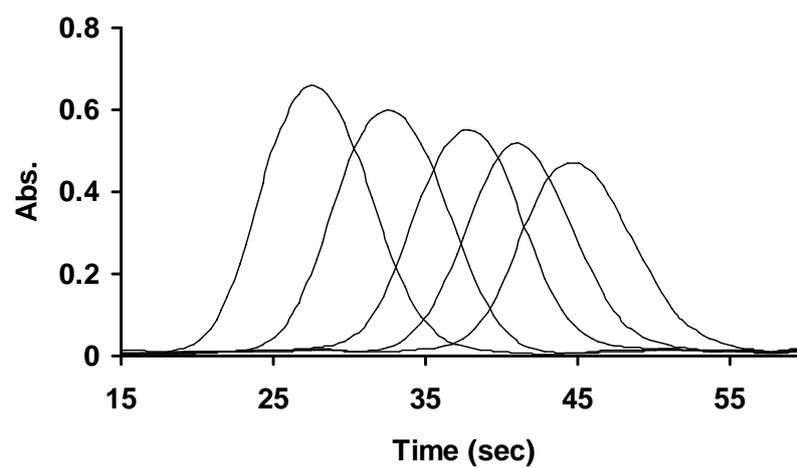
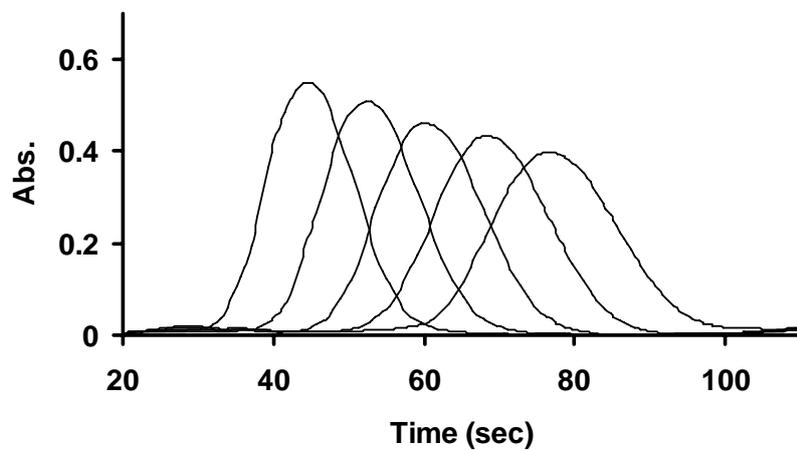


圖 31 管徑 $180\ \mu\text{m}$ 不同流速的時圖

不同流速的圖 (a) $0.244\ \text{cm/s}$; (b) $0.422\ \text{cm/s}$

(a)



(b)

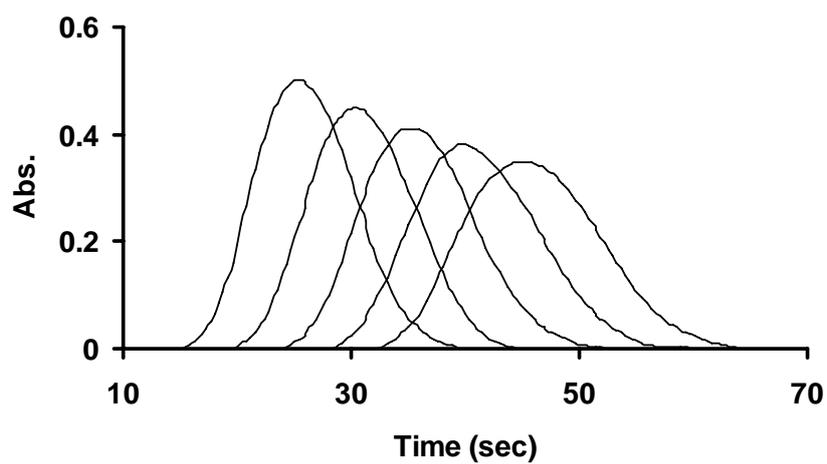
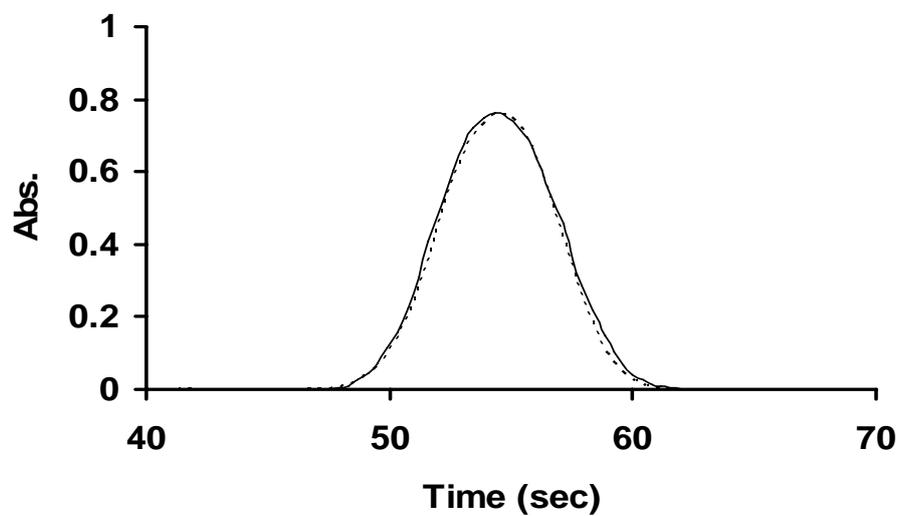


圖 32 管徑 250 μm 不同流速的時圖

不同流速的圖 (a) 0.262 cm/s ; (b) 0.444 cm/s

(a)



(b)

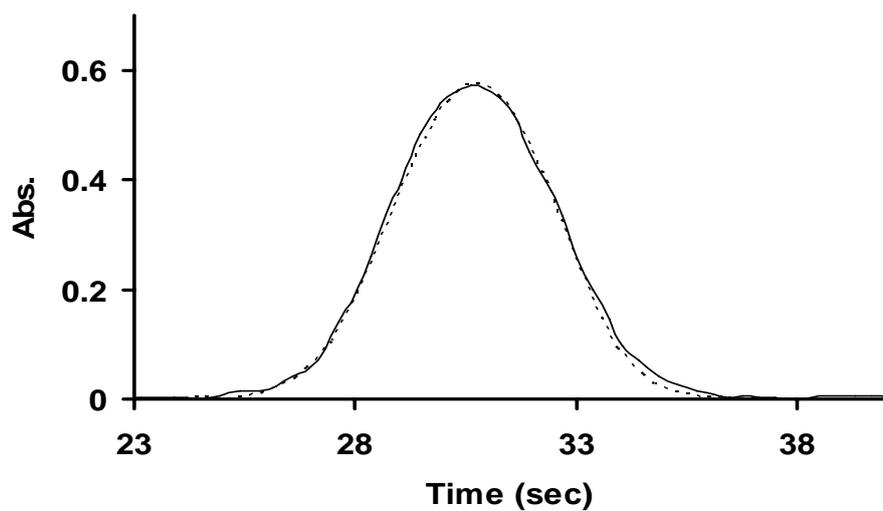
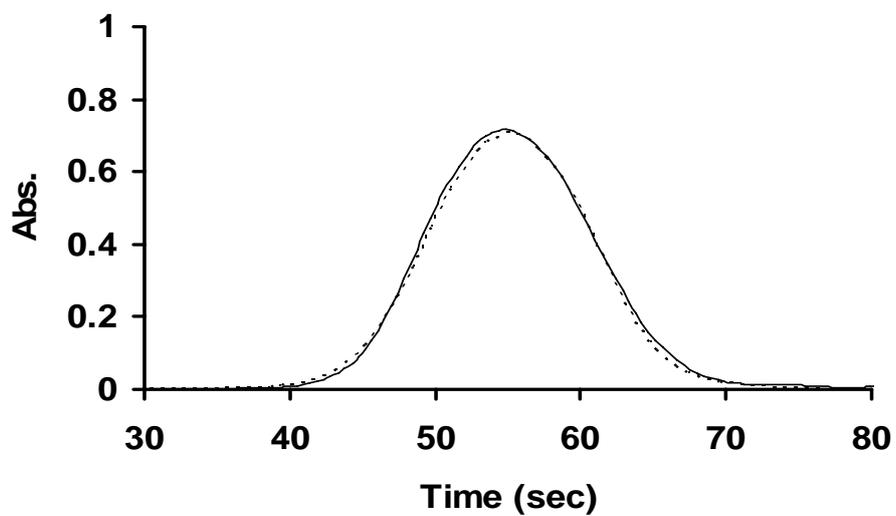


圖 33 內徑 $100\mu\text{m}$ 之空時疊圖

虛線：空圖；實線：時圖；管路位置 13.3 cm (a) 流速 0.249 cm/s

波形疊圖；(b) 流速 0.419 cm/s 波形疊圖

(a)



(b)

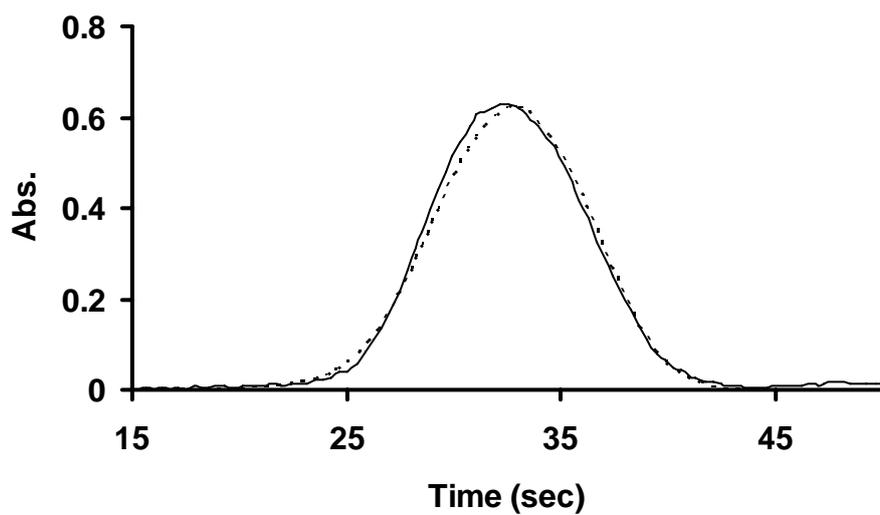
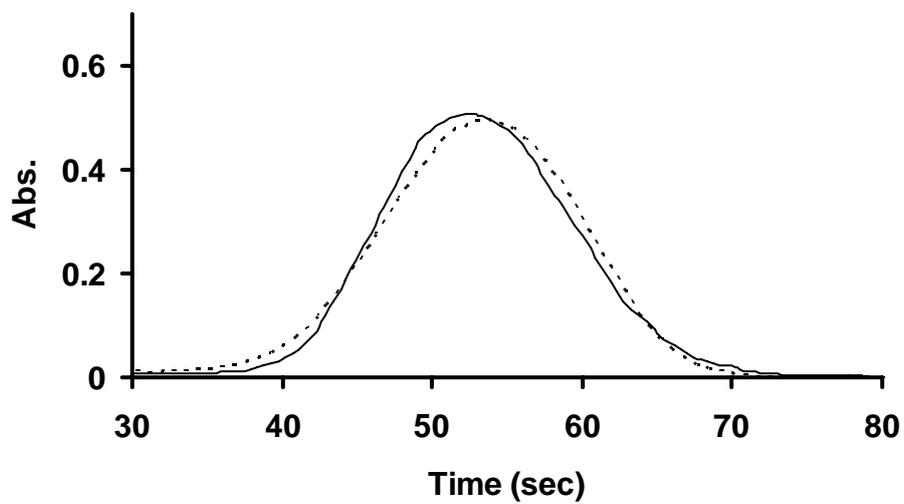


圖 34 內徑 180 μ m 空時疊圖

虛線：空圖；實線：時圖；管路位置 13.3 cm (a) 流速 0.244 cm/s

波形疊圖；(b) 流速 0.422 cm/s 波形疊圖

(a)



(b)

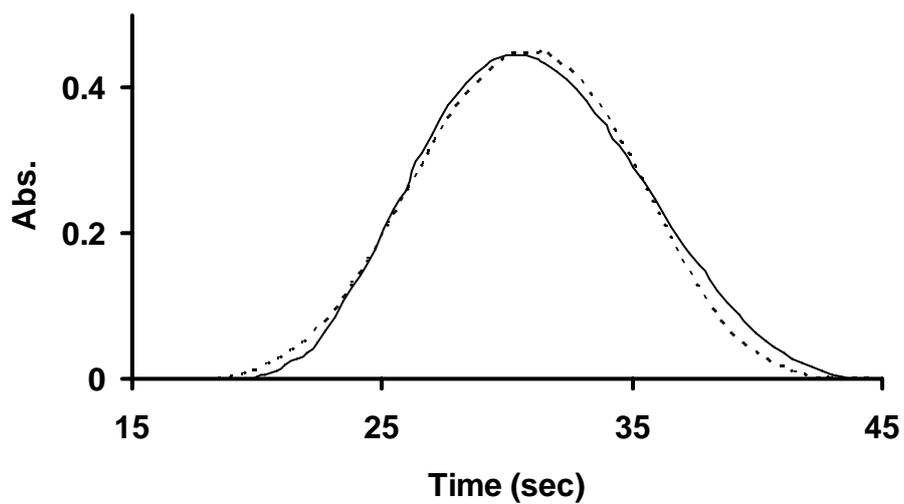


圖 35 內徑 250 μ m 空時疊圖

虛線：空圖；實線：時圖；管路位置 13.3 cm (a) 流速 0.262 cm/s

波形疊圖；(b) 流速 0.444 cm/s 波形疊圖

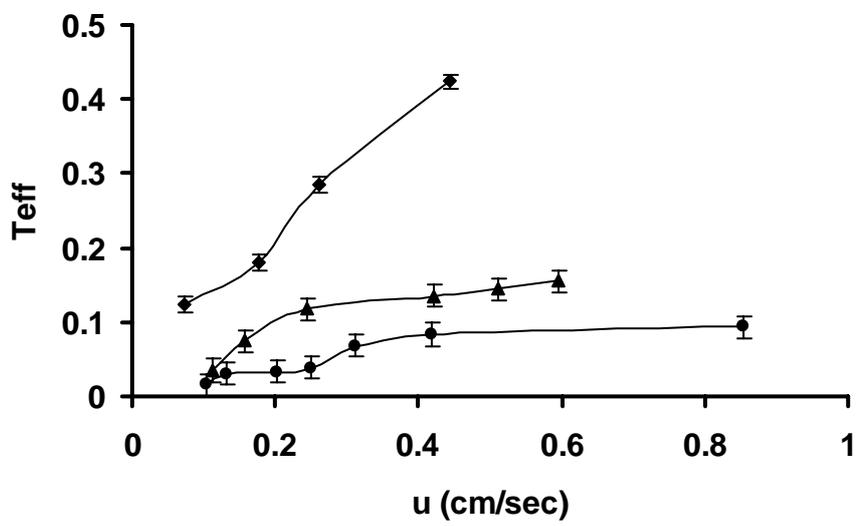


圖 36 流速對時間效應因子關係圖

$T_{eff} = A_{fi} - A_{fs}$; 圖上符號 \blacklozenge , \blacktriangle , \bullet 分別表示管柱內徑:250、180、100 μm

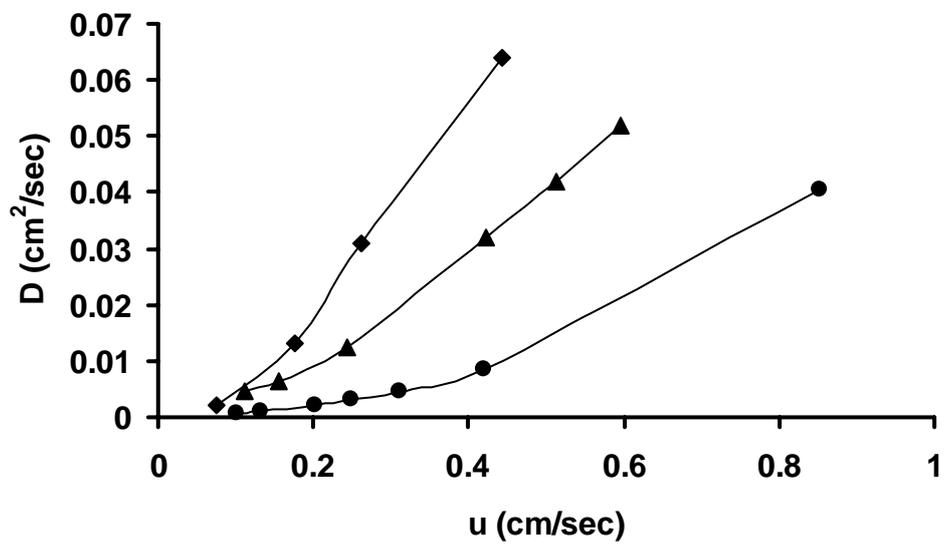


圖 37 流速對分散係數關係圖

圖上符號 \blacklozenge , \blacktriangle , \bullet 分別表示管柱內徑:250、180、100 μ m

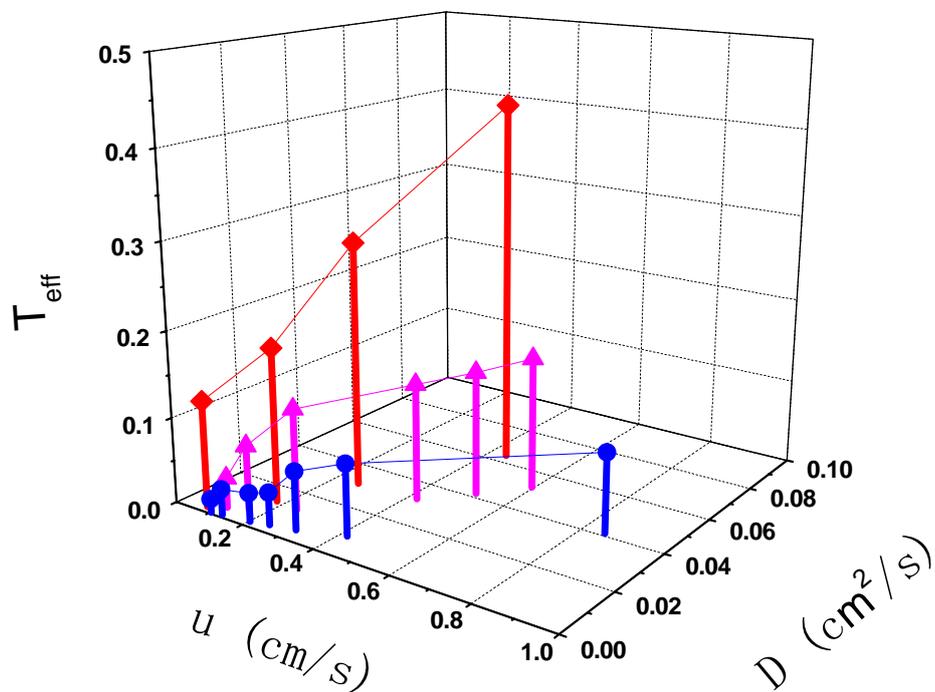


圖 38 流速、分散係數、時間效應因子關係圖

圖上符號 \blacklozenge , \blacktriangle , \bullet 分別表示管柱內徑:250、180、100 μm

X軸:流速 u (cm/s) ; Y軸:分散係數 D (cm²/s) ; Z軸:時間效應因子 T_{eff}

表 1 內徑 100 μm 的空圖波形指標參數

管柱內徑 100 μm							
流速(cm/s)	0.102	0.132	0.203	0.249	0.312	0.419	0.853
面積 A_L (Abs-cm)	1.22	1.19	1.21	1.16	1.18	1.16	2.45
面積	1.29	2.58	0.78	2.54	1.27	2.55	2.36
RSD(%)							
$D(\text{cm}^2/\text{s})$	6.2×10^{-4}	9.7×10^{-4}	2.1×10^{-3}	3.2×10^{-3}	4.7×10^{-3}	8.7×10^{-3}	4.1×10^{-2}
不對稱因子 A_f	0.998	0.988	0.989	0.979	0.980	0.957	0.941
5 組 A_f	1.35	0.53	1.76	0.78	1.79	1.51	2.15
RSD(%)							

表 2 內徑 180 μm 的空圖波形指標參數

管柱內徑 180 μm						
流速(cm/s)	0.113	0.157	0.244	0.422	0.512	0.596
面積 A_L (Abs-cm)	2.42	2.42	2.41	2.36	2.38	2.35
面積						
RSD(%)	2.36	1.68	2.57	1.03	1.31	0.93
$D(\text{cm}^2/\text{s})$	4.5×10^{-3}	6.5×10^{-3}	1.2×10^{-2}	3.2×10^{-2}	4.2×10^{-2}	5.2×10^{-2}
不對稱因子 A_f	0.989	0.980	0.969	0.960	0.955	0.955
5 組 A_f						
RSD(%)	1.15	1.71	2.36	1.16	1.11	1.18

表 3 內徑 250 μm 的空圖波形指標參數

管柱內徑 250 μm				
流速(cm/s)	0.074	0.177	0.262	0.444
面積 A_L (Abs-cm)	2.24	2.25	2.22	2.22
面積RSD(%)	2.49	1.96	1.11	1.32
D (cm^2/s)	2.2×10^{-3}	1.3×10^{-2}	3.1×10^{-2}	6.4×10^{-2}
不對稱因子 A_f	0.938	0.924	0.938	0.930
5 組 A_f RSD(%)	1.37	1.59	2.37	1.99



表 4 三種管柱內徑相關指標參數

管柱內徑							
100 μm							
流速 (cm/s)	0.102	0.132	0.203	0.249	0.312	0.419	0.853
$D(\text{cm}^2/\text{s})$	6.2×10^{-4}	9.7×10^{-4}	2.1×10^{-3}	3.2×10^{-3}	4.7×10^{-3}	8.7×10^{-3}	4.1×10^{-2}
空圖不對 稱因子	0.998	0.988	0.989	0.970	0.980	0.957	0.941
時圖不對 稱因子	1.0138	1.0186	1.0222	1.008	1.0476	1.04	1.034
時間效應 因子 T_{eff}	0.0158	0.0306	0.0332	0.038	0.0676	0.083	0.093
管柱內徑							
180 μm							
流速 (cm/s)	0.113	0.157	0.244	0.422	0.512	0.596	
$D(\text{cm}^2/\text{s})$	4.5×10^{-3}	6.5×10^{-3}	1.2×10^{-2}	3.2×10^{-2}	4.2×10^{-2}	5.2×10^{-2}	
空圖不對 稱因子	0.989	0.980	0.969	0.960	0.955	0.955	
時圖不對 稱因子	1.0238	1.0548	1.087	1.096	1.1	1.11	
時間效應 因子 T_{eff}	0.0348	0.0748	0.118	0.136	0.145	0.155	
管柱內徑							
250 μm							
流速 (cm/s)	0.074	0.177	0.262	0.444			
$D(\text{cm}^2/\text{s})$	2.2×10^{-3}	1.3×10^{-2}	3.1×10^{-2}	6.4×10^{-2}			
空圖不對 稱因子	0.938	0.924	0.938	0.930			
時圖不對 稱因子	1.0622	1.1038	1.2234	1.354			
時間效應 因子 T_{eff}	0.1242	0.1798	0.2854	0.424			

第六章 結論

由 Pai 提出的理論揭露了長久以來被忽略的時間效應，從本實驗中的結果來觀察，毛細管電泳訊號時間效應不明顯，而在幫浦推進系統中，三種不同管柱內徑及多種流速條件下，其空圖波形皆為對稱分布，隨著管柱內徑的增大及流速的提高，時圖的波形訊號逐漸拖尾，空圖與時圖的波形差異漸趨顯著，亦即時間效應隨著管柱內徑及流速的增大而明顯，造成此效應的原因是傳統的單通道偵測器在固定的偵測位置，而樣品在管內的空間分佈狀態隨時間一直在改變，使得在偵測的過程中造成時間效應。



本研究結果證實時間效應確實存在，更進一步得知管柱內徑及流速是影響時間效應的重要因素，即便在分散係數相近的情形之下，不同的管柱內徑也有著不同的時間效應。

未來的實驗中，可嘗試改變樣品的體積或濃度等相關條件，研究該條件對時間效應的影響，使對時間效應能有更深一層的認知。

參考文獻

- [1] J. Ruzicka, E.H. Hansen, “ Flow injection analyses : Part I. A new concept of fast continuous flow analysis”, *Anal. Chim. Acta* 78 (1975) 145-157.
- [2] S. D. Kolev, “Mathematical modelling of flow-injection systems”, *Anal. Chim. Acta.* 308 (1995) 36-66.
- [3] J. Ruzicka, E.H. Hansen, in: *Flow Injection Analysis*, 2nd ed, Wiley, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore, 1988.
- [4] D.A. Skoog, F.J. Holler, T.A. Nieman, in: *Principles of Instrumental Analysis*, 5th ed, Saunders College Pub./ Harcourt Brace College Publishers, Philadelphia/ Orlando, 1998.
- [5] R. Tijssen, “Axial dispersion and flow phenomena in helically coiled tubular reactors for flow analysis and chromatography”, *Anal. Chim. Acta* 114 (1980) 71-89.
- [6] J. M. Reijn, W.E. van der Linden, H. Poppe, “Some theoretical aspects of flow injection analysis”, *Anal. Chim. Acta* 114 (1980) 105-118.
- [7] J.T. Vanderslice, K.K. Stewart, A.G. Rosenfeld, D.J. Higgs, “Laminar dispersion in flow injection analysis”, *Talanta* 28 (1981) 11-18.
- [8] D. C. Stone and J. F. Tyson, “Effect of Flow Cell on Dispersion in Flow Injection Analysis”, *Anal. Proc.* 23 (1986) 23-26.
- [9] D. C. Stone and J. F. Tyson, “Models for dispersion in flow injection analysis. Part 1. Basic requirements and study of factors affecting dispersion”, *Analyst* 4 (1987) 515-521.
- [10] S. D. Kolev, E. Pungor, “Mathematical Modeling of Single-Line Flow- Injection Analysis Systems without Chemical Reaction”, *Anal. Chem.* 60 (1988) 1700-1709.

- [11] J.P. Foley, J.G. Dorsey, "A Review of the Exponential Modified Gaussian (EMG) Function : Evaluation and Subsequent Calculation of Universal Data", *J. Chromatogr. Sci.* 22 (1984) 40-46.
- [12] D. Hanggi, P. Carr, "Errors in exponentially modified Gaussian equations in the literature", *Anal. Chem.* 57 (1985) 2394-2395.
- [13] J.P. Foley, J.G. Dorsey, "Equations for calculation of chromatographic figures of merit for ideal and skewed peaks", *Anal. Chem.* 55 (1983) 730-737
- [14] J.P. Foley, "Equation for chromatographic peak modeling and calculation of peak area", *Anal. Chem.* 59 (1987) 1984-1987
- [15] J.R. Torres-Lapasio, J.J. Baeza-Baeza, M.C. Garcia-Alvares-Coque, "A Model for the Description, Simulation, and Deconvolution of Skewed Chromatographic Peaks", *Anal. Chem.* 69 (1997) 3822-3831.
- [16] V.B. Di Marco, G.G. Bombi, "Mathematical functions for the representation of chromatographic peaks", *J. Chromatogr. A* 931 (2001) 1-30.
- [17] J. Li "Comparison of the capability of peak functions in describing real chromatographic peaks", *J. Chromatogr. A* 952 (2002) 63-70.
- [18] S.C. Pai, "Evaluation of the temporal effect to the peak tailing in flow injection analysis", *J. Chromatogr. A* 950 (2002) 271-279.
- [19] T. Yu, S.H. Lin, K.C. Chang, A. Sheu, D.J. Yang, S.C. Pai, "Examination of Temporal distortion in FIA system Using A Multi-channel Detector", *Anal. Chem.* (Submitted in 2007).
- [20] S.C. Pai, Y.H. Lai, L.Y. Chiao, T. Yu, "Dispersion-convolution model for simulating peaks in a flow injection system", *J. Chromatogr. A* 1139 (2007) 109-120.

- [21] S.C. Pai, "Parcel model for peak shapes in chromatography -Numerical verification of the temporal distortion effect to peak asymmetry", *J. Chromatogr. A* 988 (2003) 233-260.
- [22] S.C. Pai, C.S. Chern, L.Y. Chiao, "Further clarifications on the parcel model", *J. Chromatogr. A* 1018 (2003) 125-127.
- [23] S.C. Pai, "Temporally convoluted Gaussian equations for chromatographic peaks", *J. Chromatogr. A* 1028 (2004) 89-103.
- [24] S.C. Pai, L.Y. Chiao, "Temporal Shifting : A Key to the Skewed Peak Puzzle", *J. Chromatogr. A* 1139 (2007) 104-108.
- [25] J. M. Reijn, W. E. Van der Linden, H. Poppe, "Transport phenomena in flow injection analysis without chemical reaction", *Anal. Chim. Acta* 126 (1981) 1-13.
- [26] S.H. Brooks, D.V. Leff, M.A. Hernandez Torres, J.G. Dorsey, "Dispersion coefficient and moment analysis of flow injection analysis peaks", *Anal. Chem.* 60(24) (1988) 2737-2744.
- [27] P. Atkins, J. de Paula, "Atkins' Physical Chemistry", seventh edition, Oxford, New York, 2002.
- [28] Pai, 2006 (Personal communication)

附錄 A 符號定義表

A.1 實驗參數符號表

符號	定義	單位
a	管路內截面積	cm^2
C_0	樣品初濃度	mM
L_{total}	總管路長度	cm
Q	載液流量	mL/s
r	管路內半徑	cm
u	載液線性流速	cm/s
V_c	管路體積	mL
V_d	偵測器體積	mL
V_s	樣品體積	mL
V_{total}	總管路體積	mL

A.2 波形方程式參數符號表

符號	定義	單位
A_L	空間軸上的波形面積	Abs-cm
A_t	時間軸上的波形面積	Abs-s
D	空間軸上的縱向分散係數	cm^2/s
h	樣品質量中心到達偵測器的波高	Abs
h^*	時圖波形頂點所對應的波高	Abs
L_p	空間軸上波峰所在的位置	cm
t_p	樣品質量中心到達偵測器的時間	s
t_p^*	時圖波形頂點所對應的時間	s
W_0	注入樣品的起始區帶寬度	cm
Z	記錄波形方程式的指數因子	-
$\sigma_L(L)$	空間軸的標準偏差	cm
σ_{L0}	起始標準偏差	cm

A.3 實驗所得波形指標參數符號表

空圖波形		單位
符號	定義	
t	樣品流析時間	s
L_m	空圖波形的質心位置	cm
h_m	空圖波形質心所對應的波高	Abs
A_L	由積分法算出的空圖波形面積	Abs-cm
D	空間分散係數	cm ² /s
A_f	波形不對稱因子	-

附錄 B 公式推導詳細過程

2.2 空時差異的理論基礎

樣品在管內(一維空間上)的濃度分佈方程式：

$$C(L) = \frac{A_L}{\sqrt{2\pi\sigma_L(L_p)}} e^{-\frac{(L-L_p)^2}{2\sigma_L(L_p)^2}}, \quad \sigma_L = \mu_L \sqrt{L} \quad (2.1)$$

經由軸換算 ($t = L / u$) 後將空間軸波形轉換到時間軸上

$$C(L/u) = \frac{A_L / u}{\sqrt{2\pi\sigma_L(L_p) / u}} e^{-\frac{(L-L_p)/u^2}{2\sigma_L(L_p)/u}}$$

其中 $A_t (\text{Abs} \times s) = \frac{A_L (\text{Abs} \times \text{cm})}{u (\text{cm} / s)}$, $t_p (s) = \frac{L_p (\text{cm})}{u (\text{cm} / s)}$, $\sigma_t (t_p) (s) = \frac{\sigma_L (L_p) (\text{cm})}{u (\text{cm} / s)}$

而 $\sigma_t = \frac{\sigma_L}{u} = \frac{\mu_L \sqrt{L}}{u} = \frac{\mu_L}{\sqrt{u}} \times \frac{\sqrt{L}}{\sqrt{u}} = \mu_t \sqrt{t}$, $\mu_L : \text{cm}^{1/2}$; $\mu_t : \text{s}^{1/2}$

可得到時間軸上的波形方程式：

$$C(t) = \frac{A_t}{\sqrt{2\pi\sigma_t(t_p)}} e^{-\frac{(t-t_p)^2}{2\sigma_t(t_p)^2}}, \quad \sigma_t = \mu_t \sqrt{t} \quad (2.3)$$

但標準偏差會隨時間而變，即 $\sigma \propto t$ ，而得到記錄波形方程式：

$$C(t) = \frac{A_t}{\sqrt{2\pi}\sigma_t(t)} e^{-\frac{(t-t_p)^2}{2\sigma_t(t)^2}}, \quad \sigma_t = \mu_t \sqrt{t} \quad (2.4)$$

2.3 標準偏差的推導

影響流動注入分析系統中，影響樣品擴張的主要原因為起始條件及縱向分散，可用變異係數相加的方式來定量個別因素對整體的影響

$$\sigma_L^2 = \sigma_{initial}^2 + \sigma_{dispersion}^2 \quad (2.5)$$

2.3.1 起始條件變異係數

將樣品注入時的柱狀區帶轉換為等面積的高斯分佈，並假設樣品注入

前的濃度等於初濃度，即 $C(0) = C_0$ ，代入公式 2.1

$$C(0) = \frac{A_L}{\sqrt{2\pi}\sigma(0)} = C_0$$

此時標準偏差 $\sigma(0)$ 只受起始條件而不受分散作用影響，因此定義起始

標準偏差符號為 σ_{L0} (cm)

$$C(0) = \frac{A_L}{\sqrt{2\pi}\sigma_{L0}} = C_0$$

代入起始區帶寬度 W_0 (cm) = $\frac{V_s(\text{cm}^3)}{a(\text{cm}^2)}$ ；面積 A_L (Abs × cm) = $W_0(\text{cm}) \times C_0$ (Abs)

$$\text{可得 } \frac{W_0 \times C_0}{\sqrt{2\pi}\sigma_{L0}} = C_0, \text{ 整理後 } \sigma_{L0} = \frac{W_0}{\sqrt{2\pi}} \approx 0.399W_0 \quad (2.6)$$

2.3.2 縱向分散變異係數

$$\text{波形擴張率 } \frac{d\sigma_{dispersion}^2}{dt} = 2D$$

其中 D (cm²/s) 為縱向分散係數，而「2」表示樣品移動的前、後兩端

皆有分散現象在同時作用。兩邊積分後可得 $\sigma_{dispersion}^2 = 2Dt$ ，代入 $t =$

L/u ，則可算出隨距離變化的縱向分散變異係數

$$\sigma_{dispersion}^2 = 2DL/u \quad (2.7)$$

2.3.3 結合「起始條件」和「縱向分散」的空間波形方程式

標準偏差為 $\sigma_L^2 = \sigma_{initial}^2 + \sigma_{dispersion}^2$

代入 $\sigma_{L0} = \frac{W_0}{\sqrt{2\pi}}$ (2.6) 與 $\sigma_{dispersion}^2 = 2DL/u$ (2.7)，當樣品到達偵測器時

$$(L = L_{total})$$

$$\text{可得 } \sigma_L(L_{total}) = \sqrt{\sigma_{L0}^2 + 2DL_{total}/u} \quad (2.8)$$

2.3.4 其他空間波形參數

(a) 空間軸上的擴張係數：



波形擴張程度與樣品在管路中移動距離開根號 (\sqrt{L}) 成正比，由公式

2.8 推得為 $\sigma_L = \mu_L \sqrt{L} = \sqrt{\sigma_{L0}^2 + 2DL/u}$ ，其中 μ_L 為空間軸上的擴張係數，

根號內 σ_{L0}^2 為定值，只有 $2DL/u$ 會隨 L 而變，因此 $\mu_L = \sqrt{2D/u}$

(b) 質量中心到達偵測器的波高：

當 $L = L_{total}$ 時，由公式 2.1 與公式 2.8

$$C(L_{total}) = \frac{A_L}{\sqrt{2\pi}\sigma_L(L_{total})} e^{-\frac{(L_{total}-L_p)^2}{2\sigma_L(L_{total})^2}} = h, \quad \sigma_L(L_{total}) = \sqrt{\sigma_{L0}^2 + 2DL_{total}/u}$$

$$h = \frac{A_L}{\sqrt{2\pi(\sigma_{L0}^2 + 2DL_{total}/u)}} \quad (2.9)$$

2.4 記錄波形方程式之推導

將標準偏差公式 2.8 代入公式 2.4 中，即得到完整的記錄波形方程式

$$C(t) = \frac{A_t}{\sqrt{2\pi}\sigma_t(t)} e^{-\left(\frac{t-t_p}{\sqrt{2}\sigma_t(t)}\right)^2}, \quad \sigma_t(t) = \sqrt{\sigma_{L0}^2/u^2 + 2Dt/u^2} \quad (2.11)$$

5.1.4 空間分散係數

當 $L = L_p$ ，且 $C(L_p) = h$ 代入公式 2.8

$$C(L_p) = \frac{A_L}{\sqrt{2\pi}\sigma_L(L_p)} e^{-\left(\frac{L_p-L_p}{\sqrt{2}\sigma_L(L_p)}\right)^2} = h, \quad \sigma_L(L_p) = \sqrt{\sigma_{L0}^2 + 2DL_p/u}$$

指數項內 $L_p - L_p = 0$ ，因此指數項為 1，整理後可得

$$h = \frac{A_L}{\sqrt{2\pi} \times \sqrt{\sigma_{L0}^2 + 2DL_p/u}}, \quad \text{移項後可得}$$

$$\sigma_{L0}^2 + 2DL_p/u = \frac{A_L^2}{2\pi h^2}, \quad \text{移項後再得}$$

$$D = \left(\frac{A_L^2}{2\pi h^2} - \sigma_{L0}^2\right) \times \frac{u}{2L_p} \quad (5.1)$$