



國立中山大學機械與機電工程研究所

碩士論文

Department of Mechanical and Electro-Mechanical Engineering

National Sun Yat-sen University

Master Thesis

創新線微流體電泳電化學系統結合電噴灑游離

質譜偵測於生醫及食品安全之應用

Novel Thread-based Capillary Electrophoresis Electrochemical

System integrated Electrospray Ionization for Mass

Spectrometry Detection in Bioanalysis and Food-safety

Applications

研究生：林哲緯

Che-Wei Lin

指導教授：林哲信 教授

Dr. Che-Hsin Lin

中華民國 105 年 7 月

July 2016

論文審定書

國立中山大學研究生學位論文審定書

本校機械與機電工程學系碩士班

研究生林哲緯（學號：M033020033）所提論文

創新線微流體電泳電化學系統結合電噴灑游離質譜偵測於生醫及食品安全之應用

Novel Thread-based Capillary Electrophoresis Electrochemical System integrated Electrospray Ionization for Mass Spectrometry Detection in Bioanalysis and Food-safety Applications

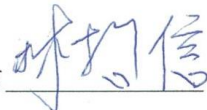
於中華民國 105 年 7 月 12 日經本委員會審查並舉行口試，符合碩士學位論文標準。

學位考試委員簽章：

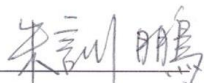
召集人 傅龍明



委員 林哲信



委員 朱訓鵬



委員 曾建洲

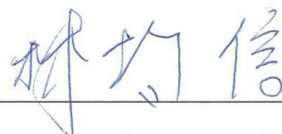


委員 郭文正



委員

指導教授(林哲信)



(簽名)

論文授權書

致謝

在兩年的研究生過程中，不論研究上或是生活中，皆有許多人給予我很大的幫助。首先，非常感謝我的指導教授林哲信老師，從訂定研究方向到研究過程遇到的任何困難，老師皆給予我們很多自我思考的空間，但也隨時關心與確定我們的方向正確，讓我慢慢培養出獨立思考與解決問題的能力。此外，老師給予我兩次出國的機會真的讓我非常感激，讓從未踏出台灣的我得到拓展國際視野的機會，除了參與國際研討會獲得的新知與感受學術大場面的衝擊外，也藉此體會到國家間文化的不同與語言溝通能力的重要性。感謝口試委員傅龍明老師、朱訓鵬老師、曾建洲老師、郭文正老師，給予我的研究與論文許多建議與指正，使我的碩士論文能更加完善。感謝學姊楊諭安，除了畢業前教導我實驗的概念與操作外，畢業之後當我提出任何問題時，也不吝嗇的與我討論並給我解答，在我研究卡關時給我很大的幫助。感謝實驗室助理黃鈺珊，學長李和政、李政樺、陳俊邑、王育翔、吳尚璟、蘇殷寬、高毅，學姐蘇佩宇，教導我實驗儀器的操作與許多實驗室的事務，並傳承許多經驗與想法，讓我的研究順利許多。感謝同屆的戰友雷世勤、方識傑、陳仲祥、林承毅，一起窩在地下室總是會有許多好玩好笑的事情發生，讓我的研究生活減少了煩悶，而多了很多趣味。感謝學弟白祥廷、嚴瑋星、李岱恩、呂維銘、陳子捷、鄭名栩，學妹翁琳凱、高尉馨、王君敏，不論是實驗、雜務或口試當天，當我有需要時都能給我適時的幫助。感謝專題生劉柏輝、石雅琪、許秩華、薛宇翔、楊杰穎，在教導你們的同時也讓我有許多反思自己實驗的機會，增加許多從前未有過的想法，而實驗之餘也能一起運動，抒解我許多研究的壓力。感謝中華民國科技部提供本研究資助與出國參與國際會議的補助。感謝家人在背後的支持與鼓勵，讓我能無後顧之憂的完成學業。最後感謝趙家彤，在研究生活中給予我非常多的陪伴，忍受我研究遇到困難時總是多變的心情，並總是在一旁鼓勵，成為我向前走的一大動力。

中文摘要

本研究提出利用低成本的聚酯纖維線，製作第一個整合電泳分離電化學檢測，與電噴灑游離質譜偵測之微流體晶片，並將其應用於生醫與食品樣本之分析。本研究選用 200 μm 的市售縫紉用聚酯纖維線，做為樣本傳輸與偵測的微流道，其成本非常低廉，且取得容易，適合發展可攜、拋棄式檢測裝置。傳統微流體晶片多使用十字型或雙 T 字型的樣本注入設計，本研究打破傳統的概念，僅利用一條聚酯纖維線完成樣本的注入、分離與檢測。此創新的設計亦帶來許多好處，例如晶片製程與樣本注入步驟簡單化，樣本注入位置的自由度提高等等。此外，本研究發明一項線上樣本聚焦技術，其不需使用任何能源設備與複雜的操作，只透過線材本身的毛細作用力，即可完成樣本塊長度縮小與樣本濃縮。經過影像與檢測訊號分析結果得知，原本在線上完全展開的樣本塊，經過樣本聚焦後長度被縮短成原本的 38%，再從電化學安培偵測結果得知，聚焦後樣本的氧化還原電流響應，比未經聚焦的樣本提升了 2.7 倍，其理論板數值亦提高了 2.8 倍。本研究利用簡單的夾具結構，固定住聚酯纖維線的其中一端，形成噴嘴的結構，再利用高壓電場於此前端產生電噴灑游離。此設計不需要複雜的製程方法或結合專門的噴嘴，也不需要溶液注射泵浦與輔助鞘流氣體，即可產生穩定的電噴灑與良好的游離效果，在電場為 $6.5 \times 10^5 \text{ V/m}$ 的條件下，聚酯纖維線電噴灑游離能維持 10^9 ions/cm^3 的高總離子濃度長達 30 min。質譜檢測結果顯示，本系統不管是針對一般極性樣本、弱極性樣本、或複雜組成的食品樣本，偵測訊號之信噪比皆能達到 10 以上，有很好的成分分析能力。最後，本研究利用線微流體系統，將電泳電化學檢測技術整合於電噴灑游離質譜法，發展低成本，但高效能且檢測對象範圍廣泛的微流體晶片。本研究透過檢測生醫樣本多巴胺與抗壞血酸，以及組成物質複雜之舒跑運動飲料，證實將電泳電化學與電噴灑質譜法結合，不但能雙重檢查檢測結果，更能互補兩種方法的限制，於生醫或食品領域之應用有極大的潛力。

關鍵字：線微流體系統、樣本聚焦、電泳分離、電化學偵測、電噴灑游離法

Abstract

This research presents the first microfluidic chip for integration of capillary electrophoresis electrochemical (CE-EC) detection and electrospray ionization (ESI). It can be used for rapid bio and food sample analysis. Polyester thread of 200 μm in diameter is used as the liquid route such that delicate channel fabrication process can be excluded. The entire detection process of this system can be done by only a straight polyester thread channel, which break the conventional concept of sample manipulation. This new design also bring us some benefits, such as liquid sample can be directly applied at arbitrary site of the thread for electrophoresis separation. In order to improve the efficiency of single thread based CE separation, two buffer drops are applied at neighboring side of the sample plug to shorten it, which is called in-line sample pinch focus process. Image results shows that the length of sample plug can be reduced to about 38% of its original after the focus process. In addition, the current response of EC detection shows 2.7 times enhancement, and the theoretical plate number also increase 2.8 times. A simple fixture structure is designed to hold the thread, and the tail end of thread is then applied a high voltage for ESI. The thread-based ESI can easy be stabilized for more than 30 min with a high ion intensity of 10^9 ions/ cm^3 . The ingredients of commercial eye drops and energy drink-Red Bull are detected with high signal to noise ratio of more than 10. Finally, the combination of CE-EC detection and ESI is achieved by the developed single thread microfluidic. Bio samples of dopamine and ascorbic acid, and food sample of Supau are both successfully be detected by these two methods. The combination of two detection methods can let them complement each other's shortage, which shows great potential for bio and food applications.

Keywords: Thread-based microfluidic, Sample pinch focus, Capillary electrophoresis separation, Electrochemical detection, Electrospray ionization

目錄

論文審定書	i
論文授權書	ii
致謝	iii
中文摘要	iv
Abstract	v
目錄	vi
圖目錄	ix
表目錄	xi
符號表	xii
簡寫表	xiii
第一章 緒論	1
1.1 研究背景	1
1.2 微流體晶片系統簡介	2
1.2.1 矽與玻璃材料微流體晶片	2
1.2.2 高分子材料微流體晶片	4
1.2.3 紙微流體晶片	5
1.2.4 線微流體晶片	7
1.3 毛細管電泳分離法	11
1.3.1 毛細管電泳簡介	11
1.3.2 毛細管電泳晶片常用材料與其 EOF 比較	12
1.3.3 毛細管電泳效能分析與影響效能的因素	14
1.4 電噴灑游離法	16
1.4.1 電噴灑游離法之發展	16
1.4.2 電泳電噴灑晶片常見之設計	17

1.4.3	紙電噴灑晶片.....	19
1.4.4	燭芯電噴灑法.....	21
1.5	研究動機與目的.....	23
1.6	論文架構.....	24
第二章	實驗原理與材料特性.....	25
2.1	聚酯纖維線特性與電漿表面改質.....	25
2.2	線上樣本聚焦原理.....	27
2.3	毛細管電泳分離法原理.....	28
2.4	電噴灑游離質譜偵測法原理.....	31
2.4.1	一般電噴灑游離.....	31
2.4.2	電暈放電輔助電噴灑游離機制.....	32
第三章	實驗設計與架構.....	34
3.1	線微流體晶片設計.....	34
3.1.1	直線型流道設計.....	34
3.1.2	線微流體電泳電噴灑晶片.....	35
3.2	壓克力基板製程簡介.....	36
3.3	實驗設計與檢測目標.....	38
3.4	實驗操作流程.....	39
3.5	系統架設與實驗設備.....	41
3.6	實驗溶液配製.....	44
第四章	實驗結果與討論.....	46
4.1	線上樣本聚焦效能分析.....	46
4.1.1	樣本聚焦效能-影像分析.....	46
4.1.2	樣本聚焦效能-訊號分析.....	47
4.1.3	樣本聚焦效能比較表.....	48
4.2	聚酯纖維線電噴灑效能分析.....	50

4.2.1 電噴灑游離影像分析.....	50
4.2.2 穩定電噴灑條件測試.....	53
4.2.3 線電噴灑長時間穩定度測試.....	54
4.3 聚酯纖維線電噴灑樣本檢測結果.....	55
4.3.1 一般極性單一樣本檢測.....	55
4.3.2 複雜組成之食品樣本檢測.....	57
4.3.3 弱極性樣本檢測.....	58
4.4 電泳電化學結合電噴灑質譜法檢測結果.....	60
第五章 結論與未來展望	64
5.1 結論.....	64
5.2 未來展望.....	66
參考文獻	67
自述	75



圖目錄

圖 1-1 低成本鈉玻璃微流道之快速製程示意圖	3
圖 1-2 常見紙基個人隨身醫療照護裝置	7
圖 1-3 線微流體免疫層析檢測裝置	8
圖 1-4 線微流體系統結合電泳與電化學偵測	10
圖 1-5 電噴灑噴嘴設計種類示意圖	19
圖 1-6 紙基電噴灑晶片	20
圖 1-7 燭芯電噴灑法	22
圖 1-8 論文架構組織圖	24
圖 2-1 電噴灑游離法基本原理	30
圖 2-2 電噴灑游離法基本原理	32
圖 2-3 電暈放電輔助電噴灑游離機制	33
圖 3-1 線微流體電噴灑系統之示意圖	36
圖 3-2 線微流體之壓克力基板製作流程示意圖	37
圖 3-3 樣本聚焦效能測試操作流程示意圖	40
圖 3-4 線微流體電泳電噴灑系統操作流程示意圖	41
圖 3-5 線微流體電泳電噴灑晶片之系統架設示意圖	42
圖 4-1 線上聚焦技術之效果-影像分析	47
圖 4-2 線上聚焦技術之效果-電化學訊號分析	48
圖 4-3 聚酯纖維線電噴灑之泰勒錐與霧化游離	50
圖 4-4 線電漿表面處理對於電噴灑之差異	51

圖 4-5 不同電場強度對應到之電噴灑的三種狀態	52
圖 4-6 產生穩定電噴灑之電場條件測試圖	54
圖 4-7 線電噴灑的長時間穩定度測試圖	55
圖 4-8 咖啡因標準樣本質譜偵測圖	56
圖 4-9 檢測市售不經前處理的眼藥水止膿敏的結果	57
圖 4-10 市售能量飲料 Red Bull 經電泳分離前後的質譜偵測結果	58
圖 4-11 弱極性樣本-維他命 D2 質譜偵測圖	59
圖 4-12 整合電泳電化學與電噴灑於生醫樣本之檢測	61
圖 4-13 整合電泳電化學與電噴灑於食品樣本之檢測	63
圖 5-1 線微流體電泳電化學與電噴灑游離檢測一次完成之晶片示意圖	66

表目錄

表 1-1 不同材料經相異製程或表面處理後之電滲透流率比較	14
表 2-1 常見的纖維線材料於表面電漿處理前後之吸水率差異	26
表 4-1 常見封閉流道與本研究使用之樣本聚焦方法的效能比較表	49
表 5-1 線微流體電噴灑晶片與一般食品或生醫檢測常用系統之比較	65

符號表

amu	原子質量單位
E	電場強度
ions	離子個數
l	毛細管有效長度
m/z	質荷比
mol	莫耳數
N	理論板數
q_i	分析物帶電量
R_{wa}	線材在氧氣電漿處理後的吸水性
R_{wb}	線材在氧氣電漿處理前的吸水性
R^2	線性迴歸係數
r_i	分析物半徑
T_g	材料的玻璃轉換溫度
t	分析物遷移時間
$w_{1/2}$	分析物訊號之半高寬
ϵ	介質的介電常數
ϵ_0	真空中電穿透度
ζ	Zeta 電位
η	介質的黏度
μ_{eo}	電滲透流遷移率
μ_{ep}	分析物電泳遷移率
v_{eo}	電滲透流速度
v_{ep}	分析物電泳速度
u	分析物移動速度

簡寫表

AA	抗壞血酸(Ascorbic Acid)
BSA	牛血清白蛋白(Bovine Serum Albumin)
CE	毛細管電泳(Capillary Electrophoresis)
CZE	毛細管區帶電泳(Capillary Zone Electrophoresis)
DA	多巴胺(Dopamine)
EC	電化學(Electrochemical)
EDL	電雙層(Electric Double Layer)
EOF	電滲透流(Electroosmotic Flow)
EP	電泳分離法(Electrophoresis)
ESI	電噴灑游離法(Electrospray Ionization)
ICP	感應耦合電漿(Inductively Coupled Plasma)
MEMS	微機電系統(Micro Electro Mechanical System)
MS	質譜儀(Mass Spectrometer)
PC	聚碳酸酯(Polycarbonate)
PCR	聚合酶鏈鎖反應(Polymerase Chain Reactions)
PDMS	聚二甲基矽氧烷(Poly(dimethylsiloxane))
PMMA	聚甲基丙烯酸甲酯(Poly(methyl methacrylate))
POC	定點照護檢驗(Point of Care)
PS	聚苯乙烯(Polystyrene)
PSI	紙電噴灑(Paper Spray Ionization)
SNR	訊雜比(Signal to Noise Ratio)
TIC	總離子濃度圖(Total Ion Chromatogram)
μ PADs	紙微流體分析裝置(Microfluidic Paper-based Analytical Devices)
μ TAS	微型全分析系統(Micro Total Analysis Systems)

第一章 緒論

1.1 研究背景

隨著人們對於健康和安​​全等議題的重視，各式檢測裝置的開發變得越來越重要。傳統針對食品安全、醫療照護、農業、養殖業等方面的分析仰賴大型的樣本前處理、分離與檢測設備，且需要至實驗室或檢測中心交由專業的人員操作。因此完成一次檢測的流程不但耗資龐大，也浪費很多時間與社會資源，為了改善上述的情況，開發低成本、微型化的檢測裝置勢在必行。微型全分析系統(Micro Total Analysis Systems, μ TAS)[1]，或稱為實驗室晶片(Lab on a Chip)的概念即為將極微量的樣本注入晶片中的微流道後，透過不同流體驅動方式控制樣本流動，並在晶片上完成混合、反應、分離、檢測等流程。將龐大的樣本檢測設備縮小至微小的晶片後，檢測地點不再侷限於實驗室，同時也能大幅降低成本與提升檢測的速度，達到更全面的分析。而隨著微機電系統(Micro Electro Mechanical System, MEMS)與微機電製造技術的發展，微流體晶片的開發越來越全面，其中包括各種應用於基材製作的材料製程、微流道的設計、檢測技術的耦合等等，使微流體晶片漸漸成為足以取代傳統檢測儀器之快速、高靈敏度且低成本的檢測裝置。

然而在環境中的天然物多為複雜組成的混合物質，為了對其進行有效的檢測，除了晶片選用的材料之外，分離與檢測技術的研究也是提高微流體晶片效能的關鍵。將傳統龐大的分離與檢測技術縮小於微晶片上會遇到許多挑戰，因為在微米的尺度下，流場的行為與宏觀流體大不相同，例如因為微流道的比表面積(Surface to Volume Ratios)很高造成毛細作用力主導流體的行為，且液體的流動大多為層流等。因此如何使用低成本的微流體材料，並將其適當地整合分離與檢測技術，開發出符合大眾需求且能提供全面性檢測的裝置將是微機電領域未來重要的研究趨勢之一。

1.2 微流體晶片系統簡介

早期用於製作微流體晶片的材料以矽或玻璃為主，其透光性佳且安定性高，製程也非常穩定。然而，使用微流體晶片的初衷就是為了使裝置可攜式且拋棄式，達到定點照護檢驗(Point of Care, POC)[2]的需求。然而矽或玻璃的製程卻難以降低成本及量產，所以近十年來微流體晶片相關的研究著重於發展新的材料與製程，特別是高分子材料以及紙微流體分析裝置(Microfluidic Paper-based Analytical Devices, μ PADs)[3]。

微流體晶片的材料除了決定裝置成本之外，也因為其在微觀尺度下不同的表面特性，影響微流道晶片的功能與應用對象。微流體晶片發展至今最常使用的基板材料可分為三種類型，分別為無機材料、高分子材料與紙等。無機材料包括矽、玻璃與陶瓷等，其發展最早，製程技術也最完備；高分子材料可以分成彈性體材料(Elastomers)與熱塑性塑膠(Thermoplastics)，此類材料抗腐蝕且表面改質容易，適合運用於生醫檢測晶片；紙微流體則是一種新興的技術，主要是透過其本身的親水特性與極低的成本，製作便宜且操作容易的拋棄式晶片。而每種材料的透光性、抗腐蝕性、導電性、延展性等特性均不同，這些特性對選擇微流體晶片材料是非常重要的。本節將會介紹微流體晶片常用材料之特性與製程，並回顧相關之研究。

1.2.1 矽與玻璃材料微流體晶片

矽與玻璃是最早被運用於微流體晶片的材料，其主要跟隨著半導體製造技術與微機電系統的發展而來[4]。此類無機材料的優點包括高電絕緣特性、耐有機溶劑、金屬沉積容易、高熱傳導率以及穩定的電滲透流特性(Electroosmotic Mobility)等，並且因為矽與玻璃的表面化學結構皆由矽烷醇基(Silanol Group (-Si-OH))組成，使其易於表面改質[5]。

矽與玻璃晶片的製程可粗略被分成三個步驟，分別為光刻技術(Photolithographic)定義圖案、化學蝕刻法(Chemical Etching)加工出結構，最後利

用晶片接合技術(Bonding)形成封閉的微流道[6]，如圖 1-1 為低成本鈉玻璃晶片之快速製程示意圖。此類型的製程的優點是已被研究多年所以非常穩定，且圖案定義可至奈米級的精確度，然而一般光線與周遭的塵埃皆會影響製程，因此晶片製作必須在黃光室內，導致成本大幅提高。另外，每個晶片的製程皆為獨立導致難以量產、蝕刻溶液毒性高、晶片接合困難(通常需要在高溫、高壓且高潔淨度的環境)、封閉式的流道清洗困難造成汙染等諸項限制，間接帶動了更便宜且製程簡單的材料蓬勃發展。因為矽屬於不透光材料，若必須觀察流體或使用典型螢光偵測時必須透過嵌入式結構，提高製程的挑戰性。取而代之，矽材料應用於製作更微小、更精細、更多功能性的裝置被深入研究，如微泵浦[7]、微閥門[8]和複雜三維結構的微反應器[9]等。而玻璃材料則是因為良好的電驅動特性，較常被運用於毛細管電泳分離(Capillary Electrophoresis, CE)[10]，或因為其良好的溶劑相容性與化學惰性，被應用於製作生醫反應腔，如聚合酶鏈鎖反應(Polymerase Chain Reactions, PCR)[11]。

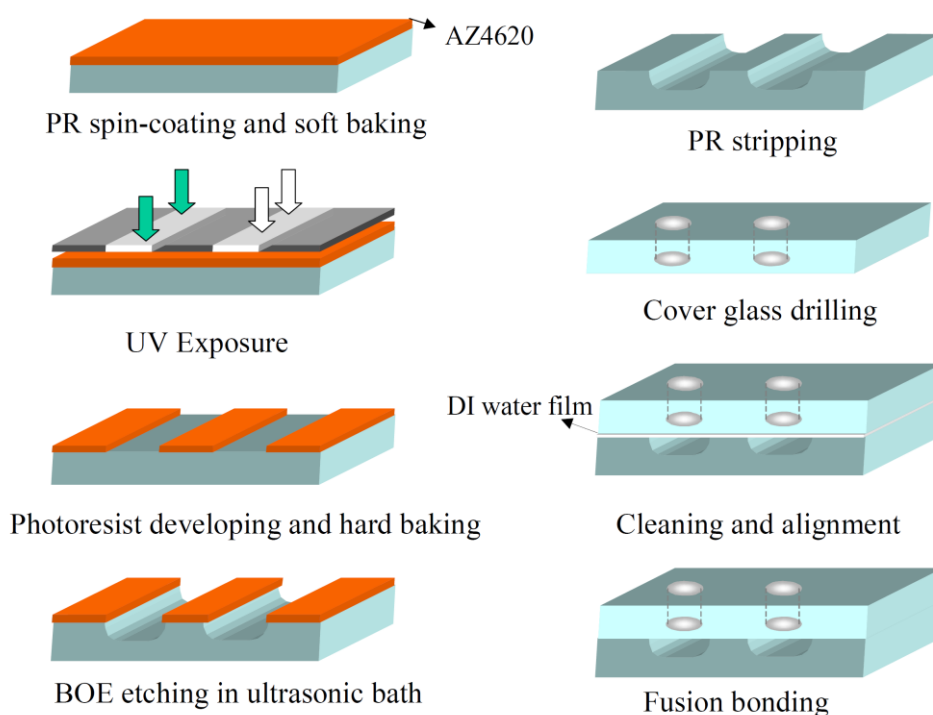


圖 1-1 低成本鈉玻璃微流道之快速製程示意圖。此製程利用較便宜的 AZ 4620 正光阻當作蝕刻遮罩，發展創新的晶片接合方法，將製程縮減至十小時內完成[12]。

1.2.2 高分子材料微流體晶片

高分子材料為繼無機材料之後最為廣泛使用的微晶片基材，因為其取得容易、製程簡單快速且適合量產，大幅改善無機材料的缺點，而廣受商業生產者的喜愛。此外，高分子是擁有很高透光性的材料，易於整合光學檢測方法。高分子材料由長鏈有機物聚合而成，因為聚合單位與方式的不同會產生許多不同特性的材料，研究者可依所需的材料性質挑選相應的高分子材料種類。常被運用於微流體晶片的高分子材料依其物理性質的不同，可以被分成彈性體(Elastomers)與熱塑性塑料(Thermoplastics)兩大類型。

(一) 彈性體：

彈性體由許多交聯的長鏈結構組成，其會隨著外力產生拉伸或擠壓等變形，而外力卸除後又會變回原本的形狀，因此而命名之。聚二甲基矽氧烷(Poly(dimethylsiloxane), PDMS)為最熱門使用於微流體晶片的彈性體材料，因為PDMS不但便宜、製程快速且操作容易，本小節舉PDMS為例介紹。

最常見的PDMS製程為透過翻模成型製作[13]，其母模可利用玻璃透過光刻技術製作，將PDMS溶劑倒在母模上後，僅需大約70°C的溫度即可使其固化。最後，PDMS可以在電漿處理後，輕易的與另外一片PDMS或其他平坦的基板接合，不需要高溫高壓的環境，明顯優於玻璃晶片。此製程的一大優點為母模可以重複使用，因此可以大量生產，翻模後的解析度也可達20 μm，足夠一般微晶片使用。PDMS晶片常被應用於生醫領域，包括免疫分析(Immunoassays)[14, 15]、細胞排序與操縱(Sorting and Manipulation of Cells)[16]、蛋白質與DNA毛細管電泳分離[17, 18]等。

(二) 熱塑性塑料：

熱塑性塑膠是由交聯的聚合物更緻密的組成，當其加熱到材料的玻璃轉換溫度(Glass Transition Temperature, T_g)時，可利用模造的方法加工，而冷卻後即會固化成型。熱塑性塑料有許多優點，如堅固耐用、容易使用機械的方法加

工、透光性良好而且比彈性體還要硬。常見的熱塑性塑料有聚苯乙烯 (Polystyrene, PS)、聚碳酸酯 (Polycarbonate, PC) 與聚甲基丙烯酸甲酯 (Poly(methyl methacrylate), PMMA) 等。

PS 與 PS 間附着力強，密封性良好，表面可輕易透過電漿處理或化學改質使其親水，適合用來做細胞培養。PC 是一種很耐用的材料，並且擁有相對較高的 T_g 溫度 (~145°C)，因此使其符合熱循環的步驟的需求。而 PMMA 是非常優良的高分子透明材料，透光率達到 92%，比玻璃的透光度高，適合製作光學檢測晶片。熱塑性塑料的加工方法非常簡單且多樣，除了可以透過熱壓或注模等模造方法製作外，現行還有許多直接加工方法如 X 光光刻、雷射光燒蝕或 CNC 機械加工。

1.2.3 紙微流體晶片

早在十七世紀，科學家就懂得利用紙張等纖維材質，做為流體傳導的介質，發明用來檢測溶液酸鹼值的試紙。1949 年 Müller 與 Clegg[19] 研究利用蠟在紙張上分別親水和疏水的區域，並利用簡單的層析法 (Chromatography) 分離樣本，此為紙微流體的前身。隨著二十一世紀人們對於 POC 檢測的需求，無機材料與高分子材料在成本上受到限制，科學家再次將目光轉移到價格極低的紙上。2007 年 Whitesides 的團隊[20] 利用 SU-8 負光阻的光刻製程，在紙上定義微流道與檢測區，並利用呈色法檢測葡萄糖與蛋白質。該裝置構造簡單、便宜、操作容易，也打破傳統認為微晶片的流道必須為封閉的思維，同時開創了至今紙微流體系統如日中天的時代。

紙微流體晶片的製作主要透過在紙上定義出疏水的區域，而溶液自然會透過毛細作用力在紙上的親水區自動流動。紙微流體製程可被分成兩大類型，其一為透過光刻法，光阻照光被定義出圖案後，會滲透到紙張的纖維中，並固化形成疏水的流道側壁。如 Klasner 等人(2010)[21] 即利用此製程，製作快速篩檢人體樣本中的尿酸、葡萄糖、唾液中的亞硝酸鹽等成分的低成本晶片，從晶片製作到檢測可以在

25 分鐘內完成。此類型的製程可以在紙上定義出較高解析度的圖案，但耗資比較昂貴。另一種類型為利用印刷或剪裁的方法，如蠟印刷[22, 23]、噴墨印刷[24]、直接剪裁[25]等，此類型製作方法的特點則是更快速(5-10 min)且更便宜。

以紙做為微流體晶片的材料有很多優點，包括：(1)可以利用自身毛細作用力驅動流體，省去額外動力設備，(2)可以簡單透過呈色法檢測樣本，不必使用檢測設備，為真正的可攜式檢測裝置，(3)紙微流體是其中一種微流體晶片材料與製程成本最低的，(4)紙可輕易堆疊出多層的 3D 流道結構，達成不同功能的需求[26]。然而紙微流體也有諸多的限制，例如：(1)因為檢測方式的選擇與複雜纖維結構的影響，紙晶片之檢測靈敏度通常不高，(2)難以整合高效能分離法如 CE，(3)微流道寬度最細只能達到約 200 μm ，而其他材料則可輕易達到 20 μm 的寬度，因此紙不適合製作密集整合性結構。綜合以上特點，紙微流體較適合做為個人隨身醫療照護裝置(Bioassay-based Personalized Medical Care)，如 Whitesides 的團隊[27]於 2008 年提出之紙微流體裝置，其短小輕便之外，還能搭配手機做即時影像傳輸，交由專業人士判讀檢測結果，其裝置如圖 1-2(A)。又 Dungchai 等人[28]於 2009 年發表了結合電化學(Electrochemical, EC)偵測的紙微流體晶片(圖 1-2(B))，該研究用光刻技術製作出流道後，透過網印的方式在檢測區印出炭黑電極。他們在一個小紙片上定義出三個檢測區域，乳酸、尿酸以及葡萄糖等樣本在紙上直接與酵素反應後，可同時偵測其個別的濃度。近日，紙微流體晶片整合攜帶式商業血糖機也被提出(圖 1-2(C))[29]，他們將其命名為紙微流體電化學分析裝置(Electrochemical Micro-Paper-based Analytical Devices)。他們提出用低成本蠟印刷製程製作紙基電化學檢測晶片，透過與市售裝置的搭配，紙微流體晶片的檢測準確度可以大幅提高。

紙微流體系統於近幾年已發展出非常多應用，未來幾年內學術界與產業界應會有相當多跨界合作，大量生產應用於居家醫療，甚至是漁業水質檢測、食安快篩等領域的拋棄式檢測裝置。舉例來說，民眾在超商買瓶裝飲料時若對有無添加人工添加劑存有疑慮，即可順便購買便宜的檢測紙片，進行簡單的檢測，不但可以使消費者更放心，也可防止廠商鑽漏洞的行為，落實全面的檢測才能有效減少食安問題。

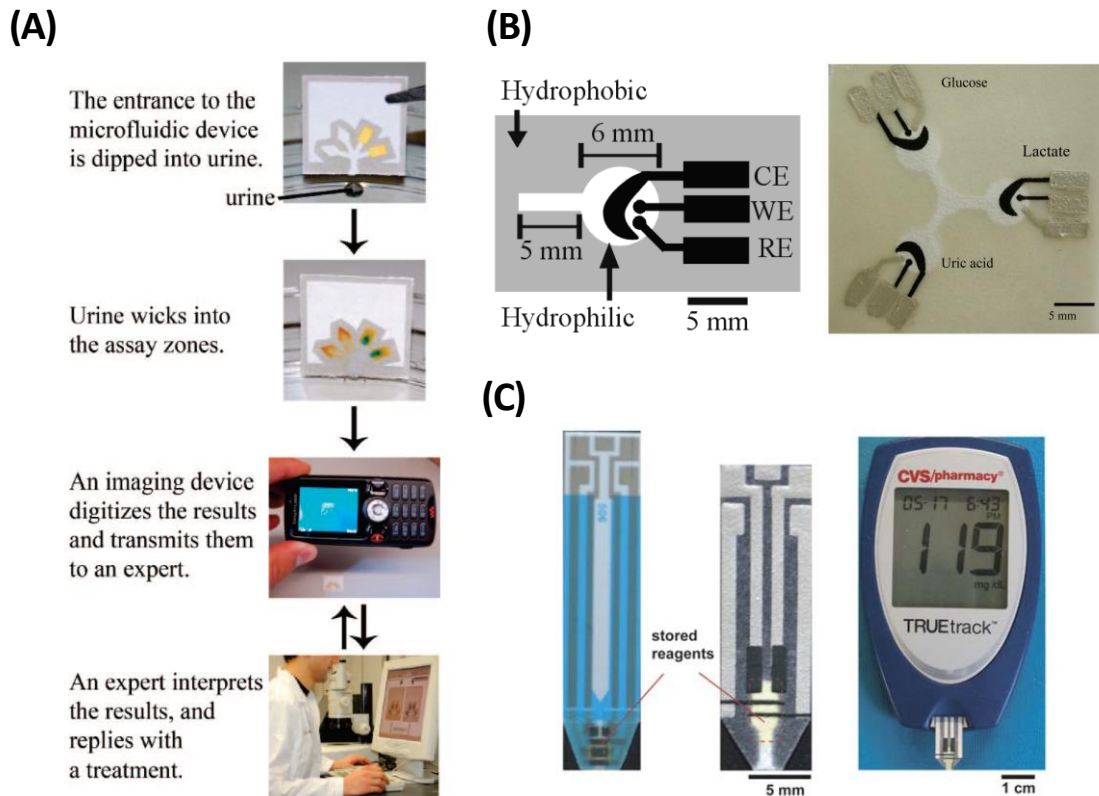


圖 1-2 常見紙基個人隨身醫療照護裝置。(A)2008 年時 Whitesides 的團隊提出之紙基晶片搭配手機影像傳輸[27]，(B)Dungchai 等人於 2009 年發表的紙基電化學晶片，可同時偵測三個區域的樣本[28]，(C)Dungchai 等人也於 2009 年發表紙基電化學晶片結合市售血糖機[29]。

1.2.4 線微流體晶片

線是另一種同樣可用來製作拋棄式裝置的材料[30-33]，其與紙有許多類似的材料特性，如多孔性纖維結構、低成本、取得容易、可撓曲等。然而，線本身結構即類似於毛細管，不需要透過親疏水區域的定義即可做為微流道，避免了繁複的製程與其伴隨而來之可能的汙染，為線微流體系統之一大優勢。此外細窄的流道使線比紙更易於製作流道陣列，實現更多樣本的同步偵測。

2012 年 Zhou 等人 [34] 發表一個線微流體免疫層析檢測裝置 (Immunochromatographic Assay on Thread)，此類側流式裝置常用於傳染性疾病、藥

物濫用、懷孕等”有-無”的判別偵測。作者在棉線主流道上的兩端分別放置尼龍纖維束與吸水用的平板，形成三明治結構，並在尼龍與棉線上預先塗佈檢測綴合物與特定的抗體。樣本施加後能在幾分鐘內流經反應區，最後至尾端顯色呈現檢測結果，其架構示意圖與晶片實體圖如圖 1-3。此外，他們同時利用三個平行的棉線微流道同時偵測三種生醫樣本，分別為 C-反應蛋白(C-reactive Protein)，骨橋蛋白(Osteopontin)與瘦素蛋白(Leptin Proteins)，其偵測極限可達 pM 等級。

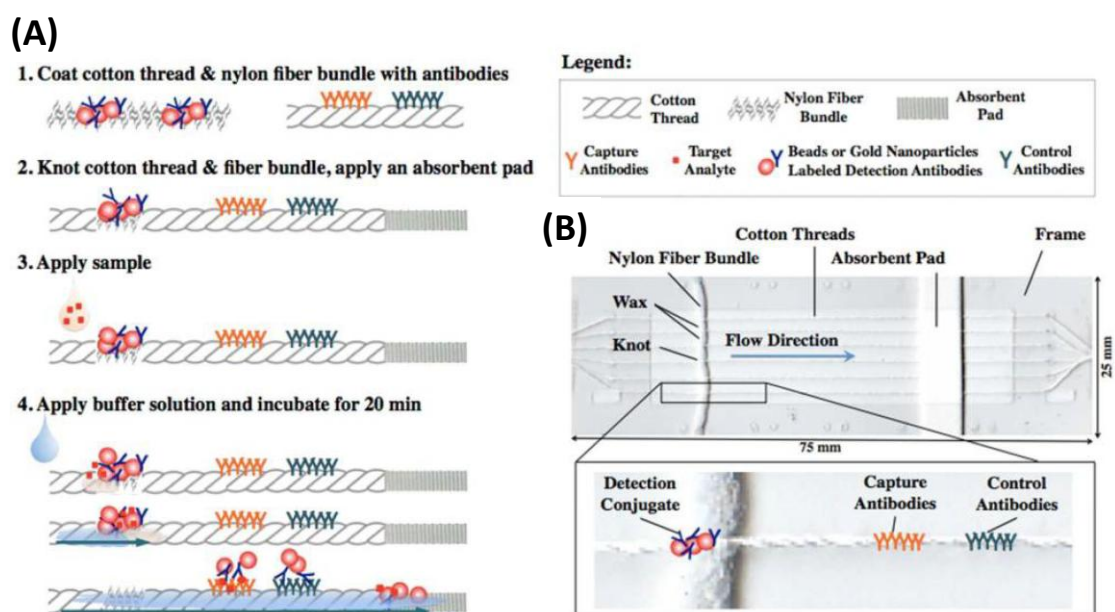


圖 1-3 線微流體免疫層析檢測裝置。(A)為線微流體免疫層析檢測裝置示意圖與反應機制介紹，(B)為裝置的實體照片[34]。

Banerjee 等人[35]於 2013 年發表了第一篇關於線微流體製作有機與無機的化學合成裝置。他們的流道設計為將兩條線互相纏繞，再將兩端點分開，形成 Y 字型的結構。作者透過合成氫氧化鐵(Ferric Hydroxide, $\text{Fe}(\text{OH})_3$)評估系統效能，由比色結果得知此低成本化學合成裝置的產率，可達到傳統透過試驗管合成的 84%。本研究最後也將此裝置應用於牛血清白蛋白(Bovine Serum Albumin, BSA)與血漿中葡萄糖的檢測，結果顯示線材做為生醫微流體晶片的材料是非常有發展前景的。

近年來，本研究室創新提出利用線微流體實現高效能毛細管電泳分離結合三

電極式電化學偵測[36, 37]。晶片的設計是將 200 μm 的聚酯纖維線懸空架設在具有多個凸狀電極的 PMMA 基板上，如同古代樂器揚琴的琴枕與琴弦的結構，聚酯纖維線是做為毛細管電泳分離的微流道，利用熱壓成型(Hot Embossing)與金屬濺鍍(Metal Sputtering)製作的 PMMA 基板則是供電的媒介。研究顯示，透過氧氣電漿處理後的聚酯纖維線，其親水性大幅提升外，也改善了原本雜亂的纖維束(圖 1-4 (A))。另外，經電漿處理後的線微流體系統，其電化學量測之電流響應比未經電漿處理的線提升了十倍。為了增加聚酯纖維線與電化學電極的接觸面積，此研究設計了三維的電極結構，來改良原本與線只有單點接觸的二維平面電極，藉此提高 1.75 倍的電流訊號響應。焦耳熱效應是電泳分離常見問題，而原本開放式線微流體的緩衝溶液揮發速度很快，造成焦耳熱快速上升，因此一層 PVC 膜被設計來包覆住聚酯纖維線預防溶液快速蒸散(圖 1-4 (B))。傳統玻璃與高分子等封閉式十字微流道的樣本注入體積，由進樣流道與分離流道交界處的偏移量(Offset)決定，而若要改變此樣本注入體積，必須從頭設計與製作一批新的晶片。然而此研究所設計的線微流體系統，其十字型結構由兩條聚酯纖維線互相纏繞而成，可輕易透過改變纏繞圈數達到實驗所需的樣本注入體積(圖 1-4 (C))，比傳統十字型流道簡便的多。最後，此線微流體系統被應用於人體全血中尿素氮(Blood Urea Nitrogen)與葡萄糖的偵測(圖 1-4 (D))，反應所需的酵素可以直接用微量吸管施加於線上任意位置，且不需要前處理與流道表面改質。結果顯示樣本可以有效被電泳分離，並確實和線上的酵素反應，最後被電化學偵測到。此一技術結合了高效能的分離與偵測方法，相比於其他單純使用比色判斷的線微流體系統有更高效能，對於低成本生醫檢測裝置的開發有更好的前景。

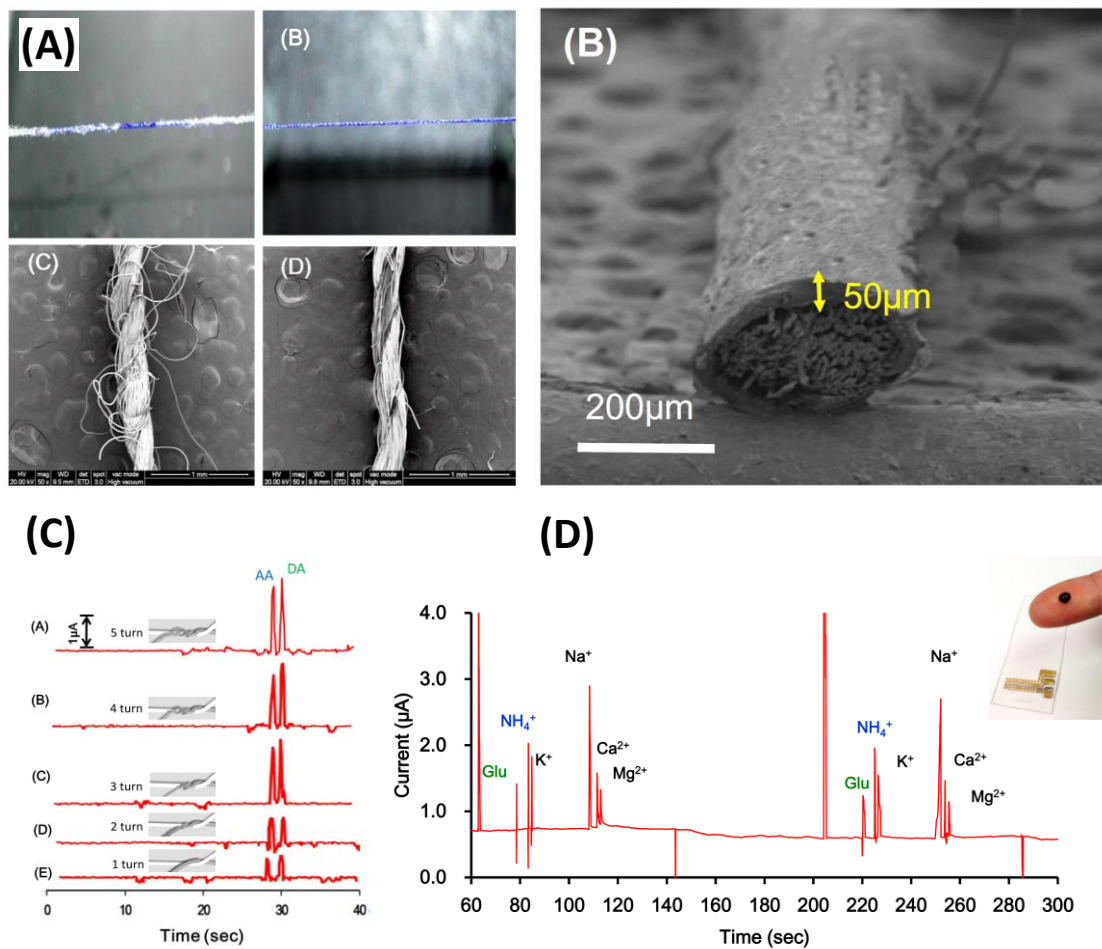


圖 1-4 線微流體系統結合電泳與電化學偵測。(A)是聚酯纖維線經過電漿表面處理後，利用照片觀察表面親水性改變，並從 SEM 圖看出雜亂纖維束被改善，(B)為聚酯纖維線包覆 PVC 膜形成封閉流道之電子顯微鏡(SEM)圖，(C)為藉由改變纏繞圈數而增加樣本注入體積，並利用電化學量測驗證，(D)是線微流體電泳電化學系統應用於人體全血中尿素氮與葡萄糖的偵測[36, 37]。

1.3 毛細管電泳分離法

1.3.1 毛細管電泳簡介

電泳分離法(Electrophoresis, EP)是現今生醫分析非常仰賴的技術之一，其能在短時間內將樣本有效的分離，大幅提升化學分析的效能。電泳的原理是帶電分析物在電解質緩衝溶液中受到電場作用後，因為樣本成分間帶電量與粒子大小的差異造成不同遷移速率，最終達到分離的目的。電泳之現象首次發現於十九世紀初，俄國物理學家 Reuss[38]在其實驗中觀察到石英砂在黏土漿料中會因為電場的作用產生遷移。而電泳被應用於樣本分離法至今已有將近 80 年的歷史，瑞典科學家 Tiselius[39]在 1937 年設計一台電泳儀，成功分離人體血清蛋白中的 α_1 -, α_2 -, β -, γ -球蛋白等成分，他也因此獲得 1948 年的諾貝爾化學獎。然而，Tiselius 所設計的電泳儀之電解質溶液為自由溶液(Free Zone Electrophoresis)狀態，其會因為所施加的高壓電場造成嚴重的焦耳熱效應(Joule Heating)，使分析物區帶因溶液之熱擴散與熱對流而變寬，為了克服焦耳熱效應則必須使用非常低的分離電壓，大幅減低電泳分離之效率。直至 1967 年，Hjertén[40]才首次將內徑為 3 mm 的細管應用於電泳技術中，透過沿著軸方向旋轉的垂直細管，降低管內的熱對流，可以將有機離子(Organic Ions)、無機離子(Inorganic Ions)等小分子或蛋白質(Proteins)、核酸(Nucleic Acids)與病毒(Viruses)等大分子進行分離。另外，Virtanen[41]於 1974 年提出以內徑為 200 ~ 500 μm 的玻璃毛細管進行鈉、鉀離子的毛細管區帶電泳分離(Capillary Zone Electrophoresis, CZE)，並證實利用內徑極小的毛細管可以大幅改善焦耳熱效應造成的影響。其原理為因為毛細管之截面積非常小，因此填充在毛細管內的電解質溶液電阻值相對提高，而且毛細管的高比表面積也使其散熱較快，因此焦耳熱效應可以有效被抑制。而 Jorgenson 和 Lukacs[42-44]則是利用內徑為 75 μm 的玻璃毛細管，透過施加 30 kV 的高壓電場，達到高解析度且快速的毛細管區帶電泳，並發表第一台現代電泳儀。

毛細管電泳的技術被廣泛運用於生物及化學分析等領域，舉凡水質監測、藥物

開發、蛋白質和 DNA 分析、爆裂物標記等方面都需要毛細管電泳技術的輔助。然而這些技術一般都被侷限在實驗室使用，為了能即時針對環境中的物質進行檢測，學者在近年來針對毛細管材料、製作方式、操作模式、緩衝溶液優化等方面深入研究，目的即為了縮小裝置，製作可攜帶式原位分析毛細管電泳系統(Portable and In-situ Capillary Electrophoresis System)[45]。Woolley 和 Mathies[46]於 1994 年率先證明將毛細管電泳系統整合到微流體晶片的可行性，他們利用光刻和化學蝕刻技術在玻璃基板上製作出毛細管電泳流道的陣列，將其用來分離經螢光標示後的 DNA 序列。由分離的結果顯示，在能達到相同解析度的條件下，使用毛細管電泳晶片所需的分離長度僅為一般玻璃毛細管的十分之一，此外使用毛細管電泳晶片還能將分離時間大幅縮短十倍。

毛細管電泳晶片發展至今已非常完備，除了玻璃之外，高分子等低成本材料製成的晶片也被廣泛研究[47]。此外毛細管電泳晶片的樣本注入方式、偵測技術等方面也被深入探討[48]。本文將於接下來的小節介紹上述所提到之研究，並針對相關的文獻完整地回顧。

1.3.2 毛細管電泳晶片常用材料與其 EOF 比較

在電滲透流(Electroosmotic Flow, EOF)驅動的流體系統中，流道的材料會對其所產生的驅動效果造成很大的影響。最常被使用做為 CE 晶片的材料是玻璃，因為其有很好的機械與光學性質、電絕緣性佳，而且表面化學性質近似於最常用於毛細管電泳材料的熔融石英(Fused Silica)，也就是毛細管電泳的基礎。要形成電滲透流的一個重要因素為，當緩衝溶液通入管道後，管壁面必須帶有負電荷，原理部分將在第二章說明。玻璃、PDMS、PMMA 等材料表面皆會在緩衝溶液通入後產生一層負電荷，然而像 PC 等材料製成的微流道則無此特性，若要產生電滲透流則必須在流道表面進行改質。此外，材料的電絕緣性和導熱性也非常重要，若無法良好電絕緣會使施加的電場強度受影響，而導熱性佳的材料才能有效減低焦耳熱的影響。

一般來說，玻璃被視為電滲透流最快的晶片材料，然而對其他材料來說，電滲透速率慢卻不一定是缺點，因為它代表著微流道的總長度可以被縮短，減少微晶片的體積[49]。對於不同晶片應用的需求，電滲透流率也可以從緩衝溶液的調配、製程上的改變與晶片後處理，來達到提升或降低。Klasner 等人(2009) [50]研究透過調整電泳緩衝溶液之 pH 值，改變 PDMS 微流道的電滲透流率。Locascio 等人(1999)[51]則是比較兩種不同 PS 的晶片製程，分別為雷射熔蝕法(Laser-Ablated)與壓印法(Imprinting)，對電滲透流率造成的影響。結果顯示，用雷射熔蝕法製作的 PS 微晶片其電滲透流率比用壓印法高 2.5 倍。Liu 等人(2001)[52]、Shadpour 等人(2006)[53]與 Fiorini 等人(2004)[54]，分別針對 PC、PMMA 與聚酯(Polyester)材料的微流道表面進行不同改質處理。實驗表明，經過紫外光處理的 PC 與經過氧氣電漿處理的聚酯，流道的親水性皆增加，進而提升其電滲透流率。然而，表面經過 BSA 處理後的 PMMA，其電滲透流率則因此減緩。從檢測肌球蛋白(Myosin)的結果顯示，經過 BSA 處理後的 PMMA 流道，其訊號之理論板數(Theoretical Plate Number)比未經處理的流道提升了 22%，反而增加了分離效能。然而，本實驗室目前研究的聚酯纖維線微流體系統，因為本身毛細現象的相輔相成，其電滲透流率比一般的微晶片高。此外，本實驗室也透過氧氣電漿的處理，增加聚酯纖維線親水性，進而將電滲透流率再提升了 73%。最後，為了減少緩衝溶液快速蒸散造成的焦耳熱效應上升，一層薄 PVC 膜被用來包覆聚酯纖維產生封閉式的微流道，雖然因為 PVC 固化前有少量滲透到纖維內，些微降低電滲透流率成電漿處理後的 87%，但封閉式的微流道卻增加了電泳分離的效能。

表 1-1 不同材料經相異製程或表面處理後之電滲透流率比較。

Material	Types	EOF (x 10 ⁻⁴ cm ² V ⁻¹ s ⁻¹)	Reference
Glass	Native	4.21 ± 0.18	[53]
PDMS	pH 6.0	2.50 ± 0.50	[50]
	pH 9.0	4.90 ± 0.90	
PS	Laser-ablated	4.50	[51]
	Imprinting	1.80	
PC	Native	0.70	[52]
	UV-treated	2.70	
PMMA	Native	2.07 ± 0.07	[53]
	BSA-treated	1.12 ± 0.04	
Polyester	Native	1.30 ± 0.10	[54]
	Plasma-treated	2.60 ± 0.30	
Polyester Thread	Native	6.55 ± 0.65	[36, 37]
	Plasma-treated	11.30 ± 0.85	
	With membrane	9.85 ± 0.55	

1.3.3 毛細管電泳效能分析與影響效能的因素

一般來說，電泳的分離效能會使用理論板數(Theoretical Plate Number, N)來表示，其公式如下：

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

N : 理論板數

t : 分析物遷移時間(Migration Time of an Analyte)

w_{1/2} : 分析物訊號之半高寬(Full Width at Half Maximum)

毛細管電泳晶片之理論板數值通常可達數萬到數十萬，比一般以壓力驅動的分離方式高出許多，是非常快速且高效的分離方式。然而，影響電泳分離效率的因素也很多，其項目與影響的形式如下列所示：

- a. 樣本注入體積：當樣本注入的體積太大，造成樣本區帶太寬時，不同分析物難以在短時間內完全分開，可能會造成分析物訊號的重疊，使分離效能下降。
- b. 焦耳熱效應：當充滿電解質溶液的毛細管被施加高壓電場後，會因為電泳電流的影響而產生焦耳熱效應，當管中溫度提升之後，溶液間的擴散速率會增加，導致樣本訊號寬度隨之增加，降低分離效能。常見解決焦耳熱效應的方法為降低電場強度，或是縮小毛細管直徑來增加電阻值。
- c. 電場強度：電場的作用為造成電泳分離的主因，當電場強度越高時，電泳的分離效果越好，反之則越差。然而過高的電場強度反而會造成焦耳熱效應，反而降低分離效能，如上點所述。
- d. 分離管道總長度：從理論板數的公式可以得知，當電泳分離時間越長時，分離的效果越好，而增加分離管道的長度可直接增加分析物分離的時間。
- e. 緩衝溶液 pH 值：緩衝溶液的 pH 值與溶液中電解質的解離程度相關，因此會影響溶液的電滲透流速，而當電滲透流速增加，樣本分析所需的時間即可縮短，但降低電滲透流速反而會增加分離的時間，進而提升分離效能。因此，操作者可依不同需求調整緩衝溶液的 pH 值，達到不同的分析需求。

1.4 電噴灑游離法

1.4.1 電噴灑游離法之發展

電噴灑游離法(Electrospray Ionization, ESI)是最常見的高效能游離法之一，通常用來使分析樣本溶液霧化及帶電後，進入質譜儀分析。電噴灑游離技術最先於1968年被Dole等人[55]提出，他們成功地使用電噴灑游離溶菌酶和玉米胚等大分子量的分子。然後於1984年，Yamashita和Fenn[56]首次將電噴灑游離法與四極柱質譜儀相連接。他們施加2~10 kV的電壓於毛細管的噴嘴處，藉此產生泰勒錐(Taylor Cone)與電噴灑。後續更在聚乙二醇及蛋白質的質譜偵測的過程中，證實電噴灑可以使大分子樣本攜帶多價電荷的理論，使電噴灑游離質譜法有能力偵測生化大分子樣本，因為此貢獻讓Fenn於2002年獲得諾貝爾化學獎。儘管質譜的靈敏度及解析度都很高，在偵測複雜組成樣本或是環境中的天然物時，仍會面對到許多挑戰，因此許多在電噴灑游離前先對樣本進行分離的方法被相繼被提出[57-59]。另一方面，為了減少樣本消耗、增加檢測通量等原因，用於電噴灑游離的微晶片也同時被研究，而首位提出ESI微晶片的即為Xue等人(1997)[60]，他們設計多個流道用來實現平行化的檢測。此研究直接於開放式的微流道尾端產生電噴灑噴霧，其製程簡單，但他們卻發現此架構必須要使用特定範圍的液體流速，否則產生的電噴灑難以穩定，且霧化效果很差。為了改善電噴灑游離的霧化效果，有學者研究使用外接式噴嘴，並利用一條轉換的毛細管將晶片與噴嘴互相連接，如Zhang等人[61]與Kameoka等人[62]。隨著微機電製程方法越來越純熟，有許多研究發表將噴嘴直接製作於微流道尾端[63-65]。Hoffmann等人(2007)[66]發表一個創新的製程方法，將一個奈米噴嘴直接製作於玻璃流道尾端。他們利用一台Micro-CNC直接於微流道尾端加工出噴嘴的外形，再利用一台自組裝的拉伸器拉出一個內徑只有5 μm 的尖銳噴嘴，此法雖然可以避免外接噴嘴連接處可能產生的溶液的滯留區(Dead Volume)，但製程卻很繁複。如今低成本電噴灑晶片已成為發展趨勢，因此唯有製作出既便宜又高效能之檢測晶片才能脫穎而出。

1.4.2 電泳電噴灑晶片常見之設計

毛細管電泳晶片技術已發展地非常純熟，然而將電泳晶片整合電噴灑游離法面臨不同挑戰，其設計關鍵為如何將電噴灑的噴嘴與微流道出口良好地銜接，避免銜接不良造成分離失效。上文扼要地提到了原始電噴灑晶片開放式的噴嘴設計，與現今最常用的兩種類型，分別為在流道出口連接外部毛細管或直接製作微型噴嘴，而本節將進一步針對這幾種類型深入介紹與文獻回顧。

(一) 開放式流道出口(圖 1-5(A))

首位提出 CE-ESI 微晶片的即為 Ramsey 和 Ramsey(1997)[67]，他們利用電滲透流驅動玻璃晶片內的流體，並施加一個高壓電場產生電噴灑，此研究使用開放式的微流道尾端做為電噴灑的噴嘴，並沒有額外設計，因此架構簡單，但卻容易在流道出口處形成較大的液滴，除了造成霧化游離效果差以外，也可能造成 Dead Volume 使分離效能受到限制。另外，因為玻璃的親水性偏高，液體要突破流道出口被游離時，容易受到周圍玻璃的吸附影響，導致電噴灑方向難以控制。有學者提出利用疏水性處理改善，例如在流道出口邊緣形成聚四氟乙烯表面[68]，但畢竟此方法治標不治本，改質效果有限，依然無法提供足夠穩定的電噴灑。

(二) 連接外部毛細管(圖 1-5(C))

將電泳晶片連接外部毛細管最初的目的，是要在毛細管的另外一端另一端接上標準的毛細管噴嘴。這項研究首先被 Figeys 等人(1997)[69]發表，他們將 12 cm 長的熔融石英毛細管，利用黏貼的方法固定於微流道出口處，此方法有可能產生操作上的不穩定，與對準的困難。但這項研究足以證明了將毛細管與微晶片互相連接的可行性，可惜他們並沒有呈現關於電泳分離效能的資訊。

在微管道出口處利用微鑽孔技術製造一個凹槽，來放置向外連接的毛細管，能避免毛細管對不準微流道出口的問題。但一般常用的鑽頭前端為圓錐狀，其形狀與平端的毛細管無法緊密貼合，而會在交界處產生大約 0.7 nL 的 Dead

Volume，對於一般注入 0.2 nL 樣本的系統來說，分離效能會因此大幅降低。然而，Bings 等人(1999)[70]非常簡單地利用平端的微鑽頭，解決此問題。他們透過螢光偵測分析樣本區帶經過毛細管接口後增寬的情形。結果顯示，使用傳統圓錐鑽頭製作接口的晶片，因為 Dead Volume 的影響，樣本經過接口後其理論板數從 40000 下降到 15500。然而使用平端鑽頭製作接口的晶片，樣本訊號的理論板數卻從 47000 提升到 112000。原因是其不只避免掉 Dead Volume 造成的影響外，分離距離增加也使分離效能提升。

(三) 微製程製作噴霧器

直接製作微型噴嘴於微流道出口的方法是目前電泳電噴灑晶片最為廣泛使用的一類，其又可以被細分成：(1)在晶片角落直接產生電噴灑(圖 1-5(B))，(2)在微流道出口直接接上外部的噴霧器(圖 1-5(D))，(3)利用微細加工於微流道出口直接製作微噴嘴(圖 1-5(E))。

2008 年 Mellors 等人[63]發表在晶片角落直接產生電噴灑的例子，他們利用三明治結構在晶片角落創造一個缺口，由於角落的幾何形狀類似於噴嘴，較不會發生周圍玻璃的吸附現象。此外，他們在晶片上設計長度為 4.7 cm 的直線流道與 20.5 cm 的蜿蜒流道，透過大幅增加分離距離把分離效能提高 10 倍(理論板數值從 20000 提升為 200000)。Tachibana 等人(2003)[71]則是發表利用帶有螺紋結構的噴霧器鎖入流道尾端的研究，將噴霧器直接整合於晶片上。他也比較不同噴霧器內徑對游離效果造成的影響，比較 20 μm 與 50 μm 兩種內徑大小發現，較小的噴霧器內徑因為 ESI 產生的負壓較大，而可以得到較高的偵測總離子濃度。而迄今為止，愈來愈多研究微機電製造技術製作的 ESI 噴嘴，包括矽[72, 73]、玻璃[66]、高分子[64, 74]等材料皆能製作，其主要是透過微拉伸器拉出尖端，或製作平面三角形結構，並在正中間製作細長的狹道讓液體流至尖端。透過 MEMS 製程可以做出非常微小的噴嘴，對於高壓電場的施加與防止液體溢出有很大的優勢，然而其製程挑戰性太大、造價昂貴，某種程度上與微流體晶片的宗旨互相違背。

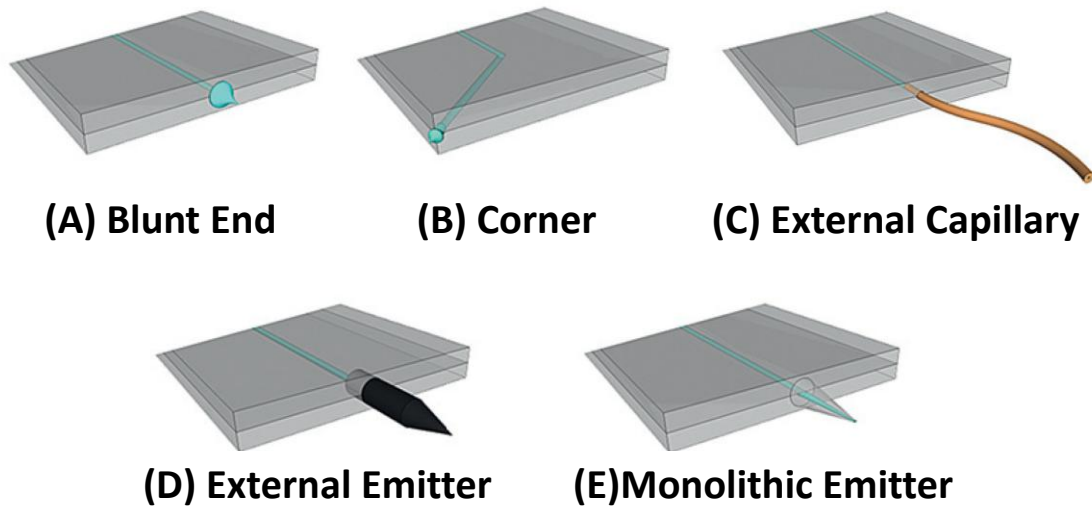


圖 1-5 電噴灑噴嘴設計種類示意圖。(A)為開放式流道出口，(B)為從角落尖端處產生電噴灑，(C)是連接外部毛細管，(D)將噴霧器裝於流道出口處，(E)是直接利用微製程在流道出口製作噴嘴結構[75]。

1.4.3 紙電噴灑晶片

紙電噴灑(Paper Spray Ionization, PSI)是近幾年才被開發的技術，將濾紙片裁切成三角形狀後尖端對準質譜入口，滴上樣本與緩衝溶液，於紙片後端通高壓電即可產生電噴灑游離。這項技術有許多好處，包括只需要極少量的樣本(<10 μL)、操作簡單、分析快速，三角型噴嘴狀的尖端，可以穩定產生電噴灑，並維持超過 5 分鐘。此類裝置與傳統電噴灑晶片不同，不需要連接上噴嘴，另外液體從紙片尖端噴出後，紙片後端會自動因為毛細現象作用繼續補充溶液。紙電噴灑游離法首先被 Cooks 的團隊(2010)[76, 77]提出，他們將其用來快速檢測血液中治療藥物(圖 1-6(A)(B))、非法藥物等物質。也搭配簡單的紙層析技術(圖 1-6(C))，在樣本電噴灑游離前先進行分離，此法有潛力針對成分複雜的樣本進行快速分析。Cooks 的團隊六年來致力於發展紙電噴灑技術，先後發表了幾十篇文章，其中包括癌症分析[78]、食品檢測[79]、血液中藥品的定量[80, 81]等。這些研究皆表明紙電噴灑裝置不僅是便宜、操作簡單而已，同時也是非常有潛力做為高效能 POC 檢測裝置的材料之一。

另外 Shen 等人[82]於 2013 年提出一個高通量的紙噴灑裝置，將紙噴灑裝置結合平行化分析方法。他們把許多裁成三角形的濾紙一字排開，且分別連接上銅箔膠帶，再利用一移動平台與固定位置的高壓電供應源和溶劑施加器，透過平台移動使紙晶片依序與高壓電相接，平均 7 秒可以完成一個樣本的量測。

然而，雖然紙噴灑有以上非常多好處，但卻也有一些限制。首先，因為紙張的形狀是平坦的，其在尖端所產生的泰勒錐無法形成真實的錐狀，而是有點扁長型。因為這個不對稱性使紙噴灑游離法較難以維持穩定的噴灑狀態，可能對定性與定量的分析有潛在的影響。另外，因為紙晶片難以製作夠細的微流道，所以較無法整合高效能分離方法，若碰到待測成分相對濃度太低或組成太複雜時，紙噴灑游離法則可能失去分析能力。

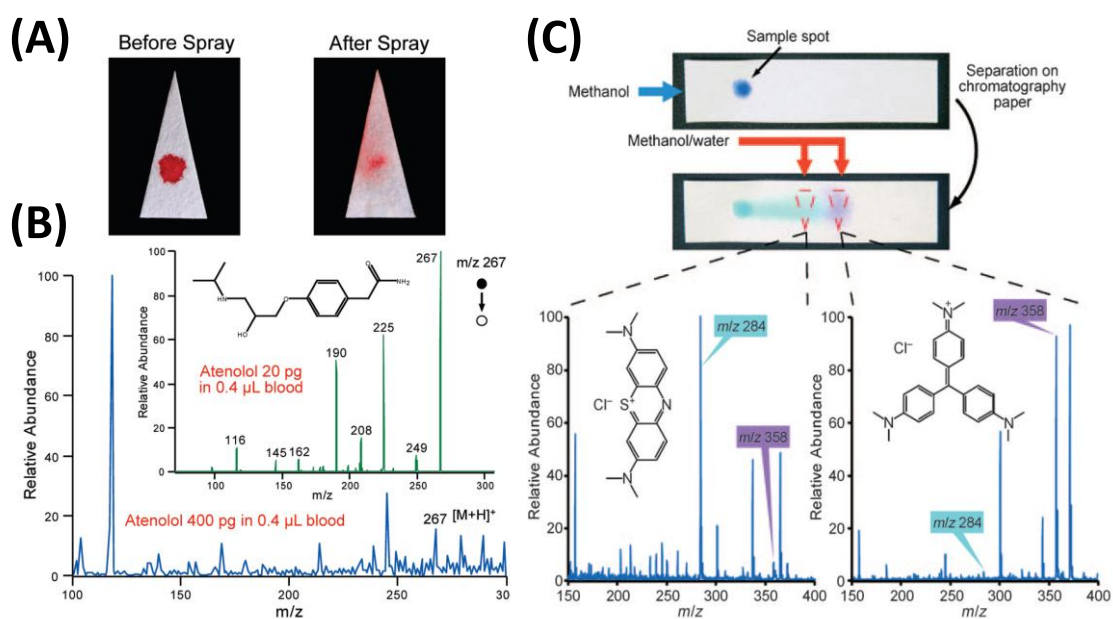


圖 1-6 紙基電噴灑晶片。(A)(B)為利用紙噴灑技術檢測血液中的治療藥物之照片與量測結果，(C)為利用紙層析分離法將亞甲基藍與甲基紫樣本分離後，剪下不同顏色區域的紙片，並電噴灑質譜偵測的結果[76, 77]。

1.4.4 燭芯電噴灑法

蠟燭的燭芯(Wick)是用來維持蠟燭燃燒的用品，通常是使用棉線或高分子纖維線做為材料。燭芯與紙同樣是低成本多孔性的纖維材料，但燭芯類似於玻璃毛細管為圓柱狀，其比紙更適合用來產生穩定的電噴灑。

Tepper 和 Kessick[83]於 2009 年發表了一篇關於利用多孔性的高分子燭芯陣列，製作靜電除塵器(Electrostatic Precipitators)的研究。他們使用聚酯與聚乙烯混紡且直徑為 1 mm、孔隙度大約 60%~70%、孔洞大小約 20~40 μm 的燭芯做為產生電噴灑的材料，並提到將燭芯的另一端放置於一個液體槽即可維持電噴灑，並量測電噴灑電壓與其相應的電噴灑電流之關係。已有文獻提出穩定的電噴灑條件取決於溶液的表面張力、電導度與流動速率[84]，而 Tepper 於這個理論基礎下進行實驗的量測。他在純水中溶入不同重量百分比的十二烷基硫酸銨(Ammonium lauryl sulfate)，同時控制溶液的表面張力與電導度，並記錄電噴灑電流因電場慢慢增加而改變的情形。首先，他觀察純水與乙醇 10:1 的溶液，發現當電場強度增加到 6.2×10^5 V/m 時電噴灑電流開始產生，而穩定的電噴灑電場條件為 $6.5 \times 10^5 \sim 8.0 \times 10^5$ V/m，此狀態下的電噴灑電流幾乎不會因電場條件而改變，為俗稱的錐狀噴射模式(Cone-jet Mode)。然而當電場強度提高至超過 8.0×10^5 V/m 時，電噴灑電流會急速上升，原因是因為電場強度太高而使尖端放電開始產生。接下來他分別測試含有不同重量比之 ALS(0.1%、0.2%、0.5%、1.0%)的水溶液，發現四種樣本的電噴灑起始電壓、穩定電噴灑電壓區間與產生放電的臨界電壓皆下降，是因為 ALS 降低了溶液的表面張力且提升的電導度。此外，他發現使用燭芯產生電噴灑，不需要像一般毛細管使用注射泵浦(Syringe Pump)推進流體，所以會因為纖維而限制流速，產生兩種模式的電噴灑，分別為溶液在燭芯的流速大於電噴灑速度，和與其相反的情形。他發現當溶液在燭芯的流速大於電噴灑速度時，泰勒錐可以完整的形成，而且電噴灑很穩定(圖 1-7(A))。但如果溶液在燭芯的流速小於電噴灑速度，溶液則會在燭芯前端產生多點噴灑(Multitude of Microscopic Electrospray)，並且無法觀察到完整的

泰勒錐生成，而這個狀況並不會在一般的電噴灑情形發生(圖 1-7(B))。

Chiarot 等人[85](2012)沿用了燭芯電噴灑的概念，設計了一個僅需要一滴樣本即可產生電噴灑的晶片，稱做 Electropray From a Droplet，並提出燭芯電噴灑可以應用於質譜偵測的想法。他們將直徑 1 mm 長度為 3 ~ 4 mm 的燭芯接合於玻璃晶片上，並利用蒸鍍法鍍上電極與燭芯連接，用來施加高電壓(圖 1-7(C))。他的實驗結果表示，僅利用 8 μ L 的樣本即可產生電噴灑，並可維持 1 ~ 2 min，其生成之泰勒錐照片如圖 1-7(B)。此外，他使用重量 0.4% 的 BSA 當作樣本偵測電噴灑電流，發現含有 BSA 樣本的電流值只單純噴灑緩衝溶液的電流值高 2.4 倍，證實高電導度的 BSA 確實有被游離而變成氣相離子抵達電流計。

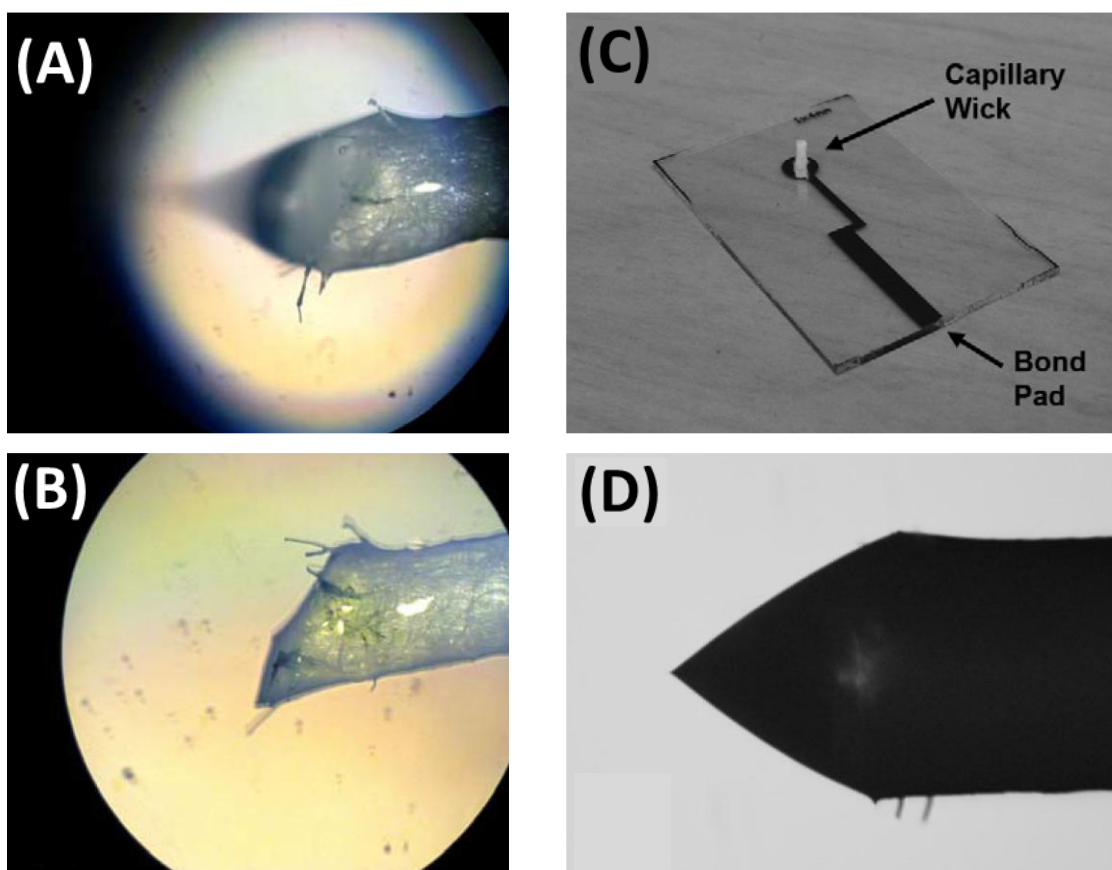


圖 1-7 燭芯電噴灑法。(A)(B)為燭芯的流速大於和小於噴灑速度時，產生電噴灑的照片[83]。(C) Electropray From a Droplet 晶片實體圖與(D)產生泰勒錐的照片[85]。

1.5 研究動機與目的

開發晶片式的低成本檢測裝置是目前生醫、食安檢測的主要發展趨勢，其目的是要改善現有基於實驗室大型儀器的分析方法，達到更普及、全面的檢測需求。然而，目前最為廣泛研究的玻璃與高分子材料晶片，依然無法滿足市場的低成本要求，並且操作依然困難，所以已漸漸邁向多功能與精密導向的晶片去製作。取而代之，學者利用更便宜且隨手可得的材料-紙，研究真正可以攜帶式、操作容易且非常便宜的檢測晶片，其也被廣泛運用於人體樣本如血糖、蛋白質偵測，或農作物中的農藥檢測等。但紙晶片也有其相應的限制，如需要透過製程定義親疏水的流道、難以整合高效能分離方法等。因此，本實驗室近年來致力於研究利用市售縫紉用的聚酯纖維線，製作線微流體系統，並應用於高效能電泳分離與生醫電化學檢測。但目前已發表的線微流體系統採用十字型的流道設計，雖然可以藉此得到較微小的樣本塊，但檢測步驟相對複雜。而電化學分析法的使用也有許多限制，樣本如葡萄糖必須先經過酵素反應才能偵測，若樣本成分太複雜也不容易偵測，分析結果也無法提供化學組成與分子結構等化學資訊。

因此本研究欲提出一改良型的線微流體系統，利用直線型的流道設計取代傳統的十字型，達到簡化架構與檢測操作的需求。此外，樣本的注入不再需要使用一個專用的流道，可以直接利用微量吸管滴入，可以大幅降低樣本的需求量，並提高注入位置的自由度。為了進一步使電泳效能提升，本研究將開發線上的樣本聚焦技術，彌補微量吸管注入體積之限制。另外，本研究將開發利用聚酯纖維線產生電噴灑游離，製做出整合較高靈敏度偵測技術的線微流體晶片，並將其應用於市售藥品與食品之分析。最後，本研究利用直線型的線微流體系統，整合電泳分離電化學偵測與電噴灑游離質譜偵測，開發一個低成本但多功能的檢測裝置。由於電化學偵測法與電噴灑質譜法皆有其限制，將兩者相互搭配後應能達到相輔相成的效果，而在檢測樣本對象的限制上有所突破。

1.6 論文架構

本論文第一章將先簡介研究相關背景與目前技術，第二章說明材料特性與原理。接下來第三章是實驗的架構、設計與操作的介紹，第四章會呈現出實驗的結果與討論，最後第五章將會針對本研究做完整的總結。完整的架構如圖 1-8 所示。



圖 1-8 論文架構組織圖。

第二章 實驗原理與材料特性

2.1 聚酯纖維線特性與電漿表面改質

(一) 聚酯纖維的材料特性與電漿表面改質

聚酯纖維線的結構是由許多纖維錯綜編織而成，為含有許多孔隙的材料。一般常見的纖維可以分成天然纖維與合成纖維，而不同種類的纖維其表面之官能基也不同，例如紙張為植物性纖維，其表面之官能基主要由羥基(-OH)組成，而纖維之間由氫鍵結合，使得紙的吸水性非常好。然而紙張在吸水之後，會因為纖維之間的空隙被水分子填滿，造成氫鍵被破壞，纖維間的鍵結強度大幅降低，使其容易破裂。此外，纖維材料所產生的毛細現象也因為孔隙結構而不同，造成吸水特性的差異。毛細現象主要由液體的內聚力和與材料間的吸附力相互作用造成，而除了在毛細管之外，纖維間彼此連接也會造成許多細小的管道產生，使液體可以藉由吸附這些細小的管道，在纖維之間流動。而材料的吸水性(Wicking Property)主要就是由以上所述之材料表面官能基與纖維間孔隙結構而決定，一般來說，天然纖維比人造纖維擁有更好的吸水性，但液體在纖維間的移動性卻較差。

聚酯纖維(Polyester Fiber)是由二元酸和二元醇經過聚合反應而形成，是一種人造纖維，為目前世界上產量最高、應用最多的纖維種類之一。聚酯纖維具有很多優點，包括纖維強度高、乾濕狀態安定、耐磨、耐熱、耐酸鹼、吸水之後強度差異不大等。然而因為聚酯纖維表面官能基為酯基(-COO-)，使其吸水性只有 0.4%，造成不易發散水蒸氣、染色困難。為了改善聚酯纖維的疏水特性，產業界發展出許多改良技術，其主要分成物理性的纖維結構改變，與化學性的官能基改質。物理性改良的方法是透過紡織技術，製作出溝槽或中空等具有相異形狀的斷面，而溝槽做的越深、越窄，其吸水效果越好。而化學改質的方法是利用接枝或共聚合等方法，在結構間引入羧基(-COOH)、氨基(-NH₂)等親水性官能基，增加纖維與液體間的吸附能力[86]，但是傳統化學接枝技術大

多採用特殊化學藥劑做為起始劑(Polymerization Initiator)，容易對環境造成污染之外，利用這個方法產生的鍵結大多是氫鍵，容易在多次水洗之後失去親水改善功效。

而在現今，電漿表面改質技術應用於親水性處理的研究非常多，其原理為當真空腔內的氣體受到電場加速後，會產生許多的離子與富含氧的自由基，而高分子材料被暴露於這個環境下時，其表面分子鏈會受到那些自由基的撞擊而斷裂，再重新產生交聯和活化，形成新的官能基和富含微孔狀的表面，使其表面能大幅提升。而許多研究也證實，不管是利用氧氣、氮氣、甚至一般空氣產生的電漿針對疏水性合成纖維進行改質，其親水性皆大幅增加[87, 88]，表 2-1 為常見的纖維線材料於表面電漿處理前後之吸水率差異，其中 R_{wb} 與 R_{wa} 分別為線材經過氧氣電漿處理前與後的吸水率。此外，利用電漿表面改質技術有許多優點，其沒有使用會造成環境污染的化學溶劑，成本低廉，且不會對材料造成破壞性的傷害且改變其本質，不論對於紡織業或是生醫微機電系統的應用皆有很大的發展潛力。

表 2-1 常見的纖維線材料於表面電漿處理前後之吸水率差異[31]。

纖維線材料	R_{wb} (cm/s)	R_{wa} (cm/s)
聚酯纖維(Polyester)	0.13 ± 0.03	1.98 ± 0.79
麻(Hemp)	0.02 ± 0.01	0.55 ± 0.55
尼龍(Nylon)	0.03 ± 0.00	0.04 ± 0.01
棉(Cotton)	0.23 ± 0.04	1.89 ± 0.52
人造絲(Rayon)	0.29 ± 0.06	1.01 ± 0.69
羊毛(Wool)	不吸水	2.20 ± 0.40
丙烯酸樹脂(Acrylic)	不吸水	1.91 ± 0.42
蠶絲(Natural Silk)	不吸水	0.60 ± 0.21

(二) 聚酯纖維線吸水特性分析

在多絲纏繞的線材被當做微流體的材料之前，其早已被使用於紡織非常多年，也有很多研究室關於分析液體在線的毛細結構中輸送的特性。Wang 等人 [89]於 2008 年發表了關於聚酯纖維線毛細現象的研究，他們利用垂直且其中一端浸泡於溶液中的線，觀察溶液因毛細現象上升的高度，並推算出流動速率與找出影響流率的因素。結果顯示，在不考慮溶液的物理化學特性下，聚酯纖維線吸水高度與纖維孔隙度與間隙大小成反比的關係。此外，他們也研究纖維斷面幾何形狀不同對吸水特性的差異，發現五角葉片狀的纖維斷面，比圓形或其他形狀的斷面吸水性要好的多。另外，Safavieh 等人(2011)[90]更進一步研究在不考慮重力作用，但考慮蒸散作用下的溶液在線上的流動率，並計算出線上溶液蒸散速率的理論值與計算公式，發表計算線上液體流率必須考慮蒸散的論述，對往後纖維線的應用有很大的貢獻。

2.2 線上樣本聚焦原理

有許多研究表明，樣本塊在分離管道的長度與分離的效能有直接的關係[91, 92]，除了利用製程技術突破流道寬度的限制外，流道內的樣本聚焦技術也是提高電泳分離效能很有效的方法之一。本實驗所使用的線上樣本聚焦技術，是建構在毛細管中流體的擴散與毛細現象之間的關係而成，發展出一套不需額外能源設備及流道設計的聚焦方法。液體在聚酯纖維線上流動的區域為纖維與纖維的間隙，其可被視為直徑非常小的毛細管，因此流體的流動屬於極低雷諾數(Reynolds Number)的型態，液體的流動屬於層流，在此條件下，管道間液體相互擴散的速度非常慢，所以溶液間不容易混合。因此我們可以判斷，透過外加的流體擠壓樣本是可行的，在封閉式的微管道中也有許多利用緩衝溶液的操作，來縮小注入之樣本塊體積的研究。例如，Fu 等人[93]於 2003 年發表的電驅動的樣本聚焦注入法(Electrokinetic Focusing Injection)，他們設計兩個將緩衝溶液導入進樣管道中的流道，並利用施加

不同的電場強度控制聚焦用的緩衝溶液流量，將樣本注入流的寬度縮小。不但可以將樣本塊長度縮小成聚焦前的 0.46 倍，而提升分離解析度之外，還能透過改變電場強度，決定最後打出的樣本塊體積，改善傳統方法只能注入固定體積的缺點。

然而，本實驗所使用的聚焦方法與上述方法之概念相似，同樣利用緩衝溶液擠壓樣本，但因為聚酯纖維線微流道為開放式，因此聚焦的方法有些許不同。當樣本先被施加於線上時，會因為很強的毛細現象迅速往兩端攤開，並沒有填滿聚酯纖維線之間的空隙，而當大量的緩衝溶液被施加於樣本的兩端後，樣本會在幾乎沒有擴散的情況下被緩衝溶液擠壓而向內集中，並且會填滿聚酯纖維線的所有孔洞與間隙，而此時的樣本塊長度相較於被擠壓前變得非常短，達到聚焦的效果。這個聚焦方法不需要設計兩個額外的流道導入緩衝溶液，亦不需要使用動力設備驅動聚焦流，整個聚焦過程只靠毛細現象的作用即可完成。

2.3 毛細管電泳分離法原理

毛細管電泳發生的基本原理是分析物在緩衝溶液內解離成帶電的離子後，在毛細管的兩端施加一個高壓電場，溶液中的帶電粒子會因為被電場牽引而遷移，並且因為其電荷密度(帶電荷數/帶電粒子的體積)差異，造成每個粒子的遷移速率也不同，進而產生分離的效果，最後分析物被分成許多個區帶後，再抵達偵測器被偵測。聚酯纖維線由多股纖維組成，其纖維之間的縫隙就如同許多的微小毛細管(圖 2-1(A))，因此當聚酯纖維線充滿電解質溶液且在兩端通以高電壓後，也會有電滲透流與電泳之行為，如同圖 2-1 所示。

標準的毛細管電泳使用 Fused silica 材質的毛細管進行，當通入 pH 值大於 2 的緩衝溶液時，毛細管壁上的矽烷醇基會解離出氫離子而帶一層固定負電層於表面 ($\text{SiOH}_{(s)} \rightleftharpoons \text{SiO}^-_{(s)} + \text{H}^+_{(aq)}$)，其電荷密度取決於溶液的 pH 值。而溶液中的正電荷會被毛細管壁負電荷產生的庫倫靜電力吸引，因此在毛細管表面附近形成擴散狀的電荷層，其電荷密度隨著離管壁的距離增加而成指數下降。毛細管壁帶負電的固定

層 (Stern Layer) 與被負電吸引而產生的擴散層 (Diffusion Layer) 則合稱為電雙層 (Electric Double Layer, EDL)，而固定層與擴散層之間的切面則稱為剪切面 (Shear Plane)，並把剪切面相對於毛細管正中央的電位定義為 Zeta 電位 (Zeta Potential, ζ)。此時，若施加一個沿著毛細管軸方向的高壓電場，擴散層的正電荷會先被電場驅動，接著內層的溶液會因為與外層流動的溶液產生摩擦，而慢慢被帶動，最終形成一個穩定移動的流場，稱之為電滲透流，其流動速率的計算如公式(2)。電滲透流因為是受電場作用而形成，是由管壁表面溶液帶動內層溶液，因此形成各截面流速保持一致的平面流(圖 2-1(B))。然而，因為壓力產生的流場，其外圍溶液與管壁間會產生摩擦力，而形成毛細管正中央溶液速度最快的拋物線流。因此，針對高效能的樣品分析之應用，利用電場驅動的電滲透流會得到比壓力驅動的電滲透流更集中的樣本區帶，因此達到更高的分離效能。

$$v_{eo} = \mu_{eo}E = \frac{\epsilon\epsilon_0\zeta E}{\eta} \dots\dots\dots(2)$$

v_{eo} : 電滲透流速度 (Velocity of Electroosmotic Flow)

μ_{eo} : 電滲透流遷移率 (Mobility of Electroosmotic Flow)

E : 電場強度 (Electric Field Strength)

ϵ : 介質的介電常數 (Dielectric Constant of Medium)

ϵ_0 : 真空中電穿透度 (Electrical Permittivity of Free Space)

ζ : Zeta 電位 (Zeta Potential)

η : 介質的黏度 (Viscosity of Medium)

然而電泳描述的是，溶液中帶電粒子朝向與其相反電性的電極移動的行為，因此帶不同電荷的粒子會朝反方向移動而分開。但是一般而言，電滲透流的速度遠大於電泳的速度，因此帶負電的粒子還是會被帶往陰極的偵測端。如圖 2-1(C)所示，帶正電的粒子其電滲透流與電泳方向相同，相加之後得到最快的遷移速度；相反的，帶負電的粒子的電泳方向與電滲透流方向相反，因此會最慢抵達陰極偵測端，而不

帶電的粒子速度則與電滲透流速相同。帶電粒子在溶液中的電泳速度計算方式如公式(3)，而結合電滲透流與電泳的效果後，溶液中所有分析物因為電場所產生的遷移速度如公式(4)：

$$v_{ep} = \mu_{ep}|E| = \frac{q_i|E|}{6\pi\eta r_i} \dots\dots\dots(3)$$

v_{ep} : 分析物電泳速度(Electrophoretic Velocity of an Analyte)

μ_{ep} : 分析物電泳遷移率(Electrophoretic Mobility of an Analyte)

q_i : 分析物帶電量(Charge of an Analyte)

r_i : 分析物半徑(Radius of an Analyte)

$$v = \frac{l}{t} = (\mu_{eo} + \mu_{ep})E \dots\dots\dots(4)$$

v : 分析物移動速度(Velocity of an Analyte)

l : 毛細管有效長度(Effective Length of a Capillary Tube)

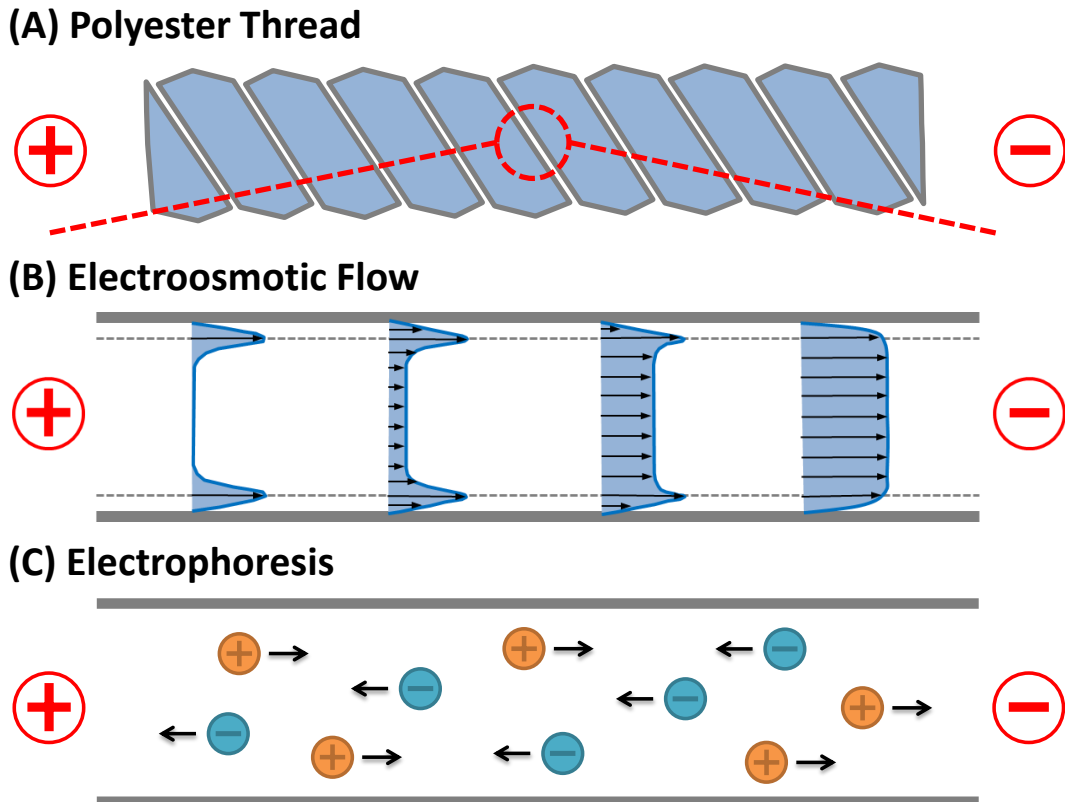


圖 2-1 電噴灑游離法基本原理。(A)為聚酯纖維線多股纏繞產生如毛細管的縫隙，(B)為電滲透流與平面流流場示意圖，(C)為溶液中帶電粒子因電泳而分離的機制。

2.4 電噴灑游離質譜偵測法原理

2.4.1 一般電噴灑游離

電噴灑游離是透過在充滿溶液的毛細管中，施壓一個高壓電於毛細管後，液體於前端產生帶電噴霧的現象，其可以被粗略分呈三個過程，分別為帶電液滴的形成、液滴的溶劑揮發與爆炸、氣態離子的形成，如圖 2-2 所示。典型的電噴灑游離法是利用內徑約為 300 ~ 500 μm 的毛細鋼管，在其內部填滿溶液後，於後端使用一台注射泵浦推送樣本，其流速大約為 1 ~ 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ 。最後再利用一台高壓電源供應器，在毛細鋼管前端施加高電壓(2 ~ 5 kV)，溶液內的帶電離子受到電場牽引，而朝向不同方向前進。若施加的電場為正電場(正高電壓施加於毛細鋼管上，並把毛細鋼管前端對準接地處)，溶液中帶正電荷的離子會向毛細管前端移動。越來越多帶正電荷的離子在毛細管前端累積，離子間的庫倫排斥力也會劇增，最終與溶液的表面張力互相平衡，而形成泰勒錐。然而，如果電場強度夠高，泰勒錐前端的正電荷離子就會突破與液體的表面張力而飛出，產生微小的帶電液珠，而這個行為如果持續地產生，就形成霧化電噴灑的現象。此外，為了促進霧化效果(Nebulization)，一般電噴灑常在毛細管周圍使用鞘流氣體(Sheath Flow)，藉此輔助產生較微小的帶電液珠。

從泰勒錐前端電噴灑出帶電液滴數量非常龐大且大小不一，每個液滴中除了包含分析物之外，還含有許多溶劑和因電場產生的電荷，這些帶電液滴會因為繼續受到電場的牽引持續往質譜儀入口(接地端)飛行。而在液滴飛行的過程中，溶劑會快速的蒸散，因此導致液滴的體積減小，而電荷密度快速提升。當溶劑蒸散的越來越多，液滴內正電荷的庫倫斥力大於液體的內聚力時，液滴會產生爆炸的現象，形成更小的帶電液滴，而液滴中所帶電荷的上限即稱為雷利極限(Rayleigh Limit)。上述過程會在液滴飛行的過程中反覆發生，直到最後溶劑揮發完畢，而帶著電荷的分析物則會進到質譜儀內。

電噴灑游離法一個廣為人知最重要的特性就是可以使分析物攜帶多價電荷，

而目前較被學者接受的理論為離子揮發理論(Ion Evaporation Theory)[94]。離子揮發理論的論述內容為，當帶電液滴持續爆炸到一定程度大小以後，分析物就可能直接因為庫倫排斥力與液滴分離，並同時夾帶些許電荷，形成可能攜帶多價電荷的分析物離子。雖然在分析物脫離後原本的液滴之電荷密度會降低，但因為溶劑持續的揮發，隨後就會有下一個分析物夾帶著多個電荷脫離液滴。這個流程在分析物進到質譜儀前持續進行，最後形成大量的帶電氣態離子。

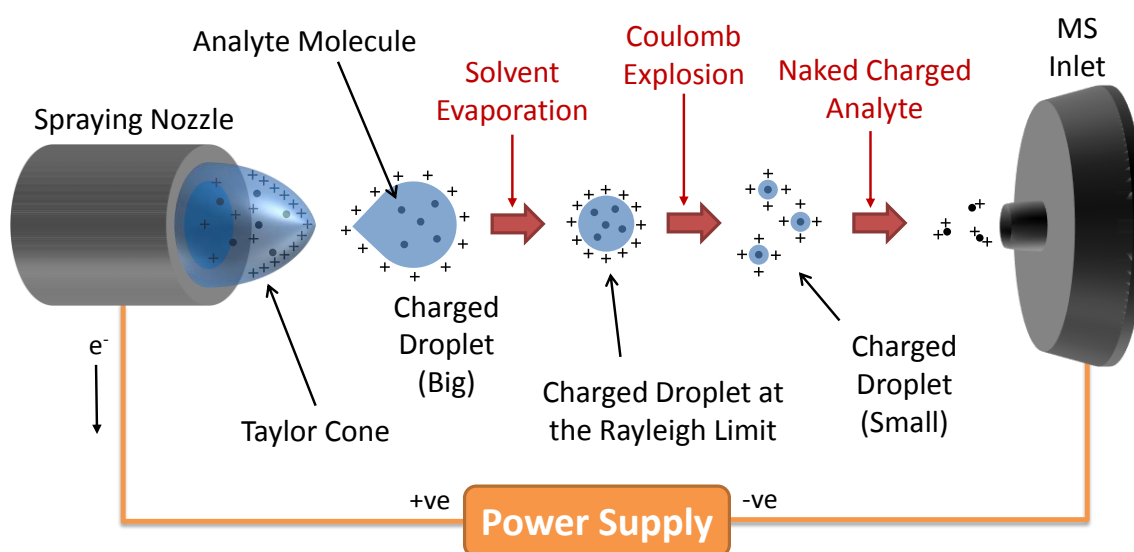


圖 2-2 電噴灑游離法基本原理。分成帶電液滴的形成、液滴的溶劑揮發與爆炸、氣態離子的形成等步驟。

2.4.2 電暈放電輔助電噴灑游離機制

當強電場施加時，越尖銳的表面處越容易產生電荷累積，使電場強度變得非常大，造成周圍的空氣分子被游離，稱為放電現象。當電噴進行的同時，若施加的電場強度夠高時，電噴灑噴嘴附近會開始產生尖端放電，周圍空氣分子會被游離成帶有高能量的正離子，並且有光芒產生。傳統認為尖端放電是對電噴灑游離不利的副作用，所以盡可能的避免，常見的論述主要分成兩點：(1)尖端放電產生的電漿態離子，會對原本的電噴灑電場造成屏蔽效應，使電場強度受到影響，造成電噴灑的不穩定[95]。(2)電漿態離子與分析物離子一同進到質譜儀被分析，因此會嚴重造成訊

號的雜亂，甚至錯誤的檢測結果[96]。然而，近年來學者利用實驗證實，若電噴灑同時產生的尖端放電為電暈放電(Corona Discharge, CD)，而非火放電(Spark Discharge)的形式，反而能有助於降低產生穩定電噴灑模式所需的電場強度與溶液流率[97]，甚至可以透過電化學標記偵測到原本電噴灑無法成功游離的樣本[98]。

一般的電噴灑游離法適合針對極性分子做分析，因為在溶液中極性分子更容易與水中氫離子結合，當其被電噴灑後，自然會形成 $[M+nH]^{n+}$ 的帶電離子型態，進入到質譜儀中。然而，溶液中的非極性或弱極性分析物不容易抓住水中的氫離子，因此即使弱極性分子被電噴灑霧化後，也無法形成帶電離子而被質譜儀偵測，所以通常弱極性樣本會透過大氣壓化學游離法(Atmospheric Pressure Chemical Ionization)偵測，而非 ESI。但是當電噴灑噴嘴與質譜入口間產生電暈放電時，帶正電且能量很高的電漿態空氣離子會與分析樣本相互碰撞，產生電荷的轉移，使原本不帶電的低極性樣本被游離，而形成 $[M]^+$ 或 $[M+H]^+$ 的離子型態，如圖 2-3 所示。本實驗使用的聚酯纖維線電噴灑游離法，因為線材在完全濕潤後也會導電，所以容易產生電暈放電。本研究將此模式利用來偵測弱極性樣本，並將其命名為電暈放電輔助電噴灑游離模式(Corona Discharge Assisted Electrospray Mode)。

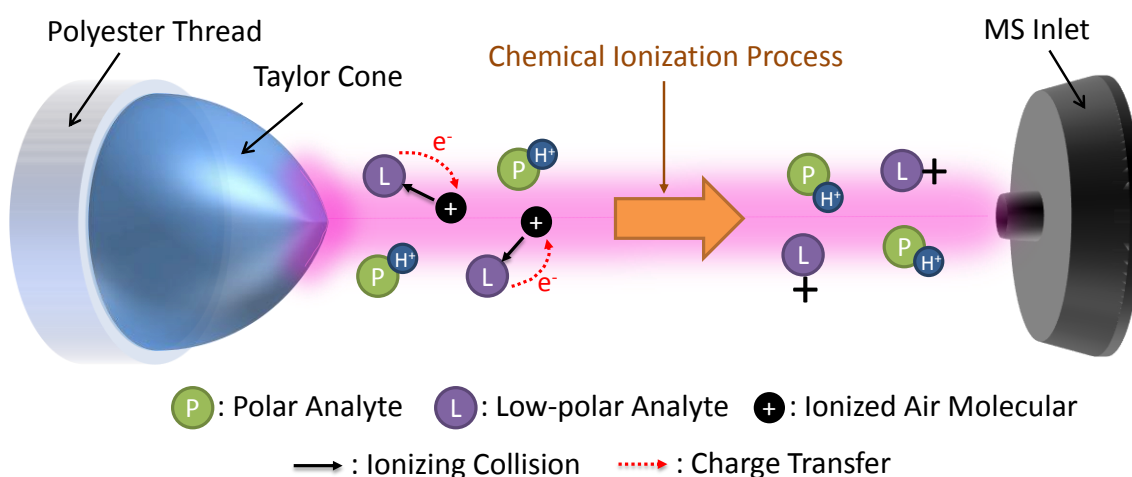


圖 2-3 電暈放電輔助電噴灑游離機制。溶液中極性分析物被電噴灑後，自然會形成 $[M+nH]^{n+}$ 的帶電離子型態；而弱極性分析物則是在被電噴灑出後，會與電漿態空氣離子產生碰撞與電荷轉移，進而被游離。

第三章 實驗設計與架構

3.1 線微流體晶片設計

3.1.1 直線型流道設計

對於使用毛細管晶片電泳法來分離樣本後，再進行檢測的分析化學方法來說，樣本注入的量與位置，對於得到理想的分離效能與檢測結果非常重要。一般的玻璃或高分子電泳晶片常使用十字型、雙 T 字型等流道設計，透過微流道相交的區域來定義樣本塊，並且可以透過調整偏移量的設計來改變進樣量，可以注入體積小至奈升(Nanoliter)等級的樣本塊。然而，上述的樣本注入方法也有許多缺點，如操作麻煩且無法輕易更改進樣的體積與位置。在操作方面，因為十字型與雙 T 字型的流道分成注入流道(Injection Channel)與分離流道(Separation Channel)，因此必須要利用兩個步驟的電驅動注入法(Electrokinetic Loading Process)，先將注入流道充滿樣本後，再驅動分離流道的緩衝溶液，進而將相交處的樣本塊推出，步驟稍嫌繁瑣。此外，不論晶片的流道是用光刻技術(玻璃)還是模造(高分子)的方法製作，都無法輕易更改流道設計，因此無法隨時調整進樣體積與位置。

然而，線微流體系統可以為開放式的液體路徑，樣本可以直接從外部注入，因此本研究使用直線型的流道設計直接做為樣本的注入與分離管道。直線型線微流道的樣本可以直接透過市售微量吸管(Pipette)滴取，步驟非常容易且樣本需求量更少外，也避免十字型流道可能造成的樣本持續洩漏。此外，直線型的流道設計有更高的實驗自由度，其可依照不同需求輕易於線上任何位置施加樣本，甚至有潛力完成一次注入多個樣本塊的功能，而不需要複雜的操作流程。然而，由於樣本注入量受到 Pipette 最小吸取量的限制，無法直接在線上滴出長度夠小的樣本塊，可能造成電泳分離效能低落。為了能保留直線型流道設計，並同時得到夠短的樣本塊，本實驗創新開發線上樣本聚焦技術，利用緩衝溶液擠壓樣本塊使其縮小，有效改善直線型流道設計的缺點。

3.1.2 線微流體電泳電噴灑晶片

圖 3-1 所示為本研究所使用的線微流體系統之示意圖，圖中包括晶片的設計、微流道的架設與聚酯纖維線前端產生泰勒錐與電噴灑的放大示意圖。直徑為 200 μm ，經過電漿處理後的聚酯纖維線，其電滲透流遷移率大約為 $2.03 \times 10^4 \text{ cm}^2 \text{ V}^{-1} \text{ s}^{-1}$ 。將線懸空地架設在壓克力基板凸出的電極上，做為液體輸送、分離與游離的媒介，並在尾端(左)連接上一個緩衝液儲液槽(Buffer Reservoir)，透過聚酯纖維線的毛細現象自動補充緩衝溶液，保持聚酯纖維線流道的濕潤性。而因為聚酯纖維線成本低廉，可以在完成一次檢測後直接拋棄，避免重複使用造成樣本交叉汙染。本研究僅使用一條聚酯纖維線做為微流道，利用直線型的流道設計取代十字型的設計，樣本的進給、聚焦、分離與電噴灑游離等步驟可以在同一條線上完成。本研究可以直接利用 Pipette 在線上滴入體積 0.2 ~ 0.5 μL 的樣本，而不是使用兩個步驟的電驅動注入，大幅簡化樣本注入方法與實驗流程外，也有潛力同時注入多個樣本塊進行連續偵測，不必繁複的操作步驟。為了避免樣本塊(Sample Plug)太長，本研究設計一個簡易的樣本聚焦方法，透過在攤開後的樣本塊兩端各施加一滴緩衝溶液，擠壓樣本使其縮短長度達到聚焦效果，此外樣本可以依照實驗需求被施加於流道的任何位置，但一般封閉式卻無法達成。圖中的壓克力基板是用熱壓法製作結構，再利用真空金屬濺鍍上電極，除了用來架設聚酯纖維線流道外，也將聚酯纖維線與高壓電源供應器互相連接，用來提供電泳分離所需的電場。在壓克力晶片前端(右)的夾具結構為本研究設計用來夾住聚酯纖維線，並同時讓線前端(右)保持開放性，做為電噴灑游離的噴嘴之結構。此電噴灑夾具之構造非常簡單，在欲夾住線的位置設計兩個凸起之饅頭狀結構，而兩個饅頭結構的間隙剛好可以使 200 μm 的線被固定，且不影響液體在線上的流動性，使本研究不需要額外連接或使用複雜製程製作噴嘴，即可以穩定的電噴灑並有很好的霧化效果。放置於聚酯纖維線前端與質譜儀(Mass Spectrometer, MS)入口之間的電極為電噴灑電極，本實驗在此電極施加一個負的高電壓，藉此在聚酯纖維線前端與電噴灑電極間產生一個方向指向質譜入口的電場。

圖 3-1 下方綠色方框內的圖為聚酯纖維線前端產生泰勒錐與電噴灑的立體示意圖，其範圍為聚酯纖維線前端到質譜入口間。使用聚酯纖維線前端直接做為電噴灑的噴嘴除了非常簡易外，亦能達到很好的質譜偵測結果。

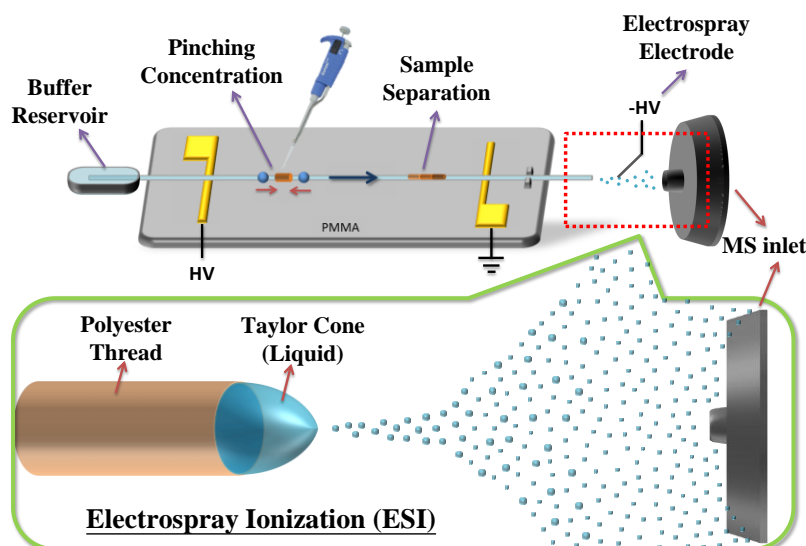


圖 3-1 線微流體電噴灑系統之示意圖。包括晶片的設計、微流道的架設與聚酯纖維線前端產生泰勒錐與電噴灑的放大示意圖。

3.2 壓克力基板製程簡介

圖 3-2 為本研究用來固定聚酯纖維線流道之壓克力基板的製作流程示意圖，其凸起的結構包括連接高壓電源供應器來提供電泳分離電場的電極，與夾住線的前端並使其保持開放的夾具。此壓克力晶片的製作包含鋁模與壓克力的熱壓成型，與製作電極上金屬薄膜的真空金屬濺鍍法。首先，利用一台 Micro-CNC 銑床(Model SD3025, SUDA Instrument Company, China)在長 80 mm、寬 35 mm、厚度為 2 mm 的鋁合金板(6060 Aluminum Alloy)上加工出深度皆為 1 mm 的電極與電噴灑夾具結構(如圖 3-2(A))。兩個壓克力基板上的電極形狀如同高爾夫球桿狀，連接高壓電源處為了使高壓電導入與接地確實，而製作面積較大的形狀，然而架設聚酯纖維線處則是細長狀，提供多個接觸點防止電極消耗造成晶片無法繼續使用。在熱壓步驟以前，先利用清水清除壓克力基板上多餘的髒汙，並利用一層厚度約為 20 μm 的鋁

箔包覆住壓克力基板的上層，其作用為當作金屬濺鍍過程的遮罩。隨後將鋁合金母模放置於包覆鋁箔紙後的壓克力基板上，再放進熱壓機上下板之間。熱壓的過程的持溫為 140°C，壓力為 7 MPa，持續壓 30 min 確保結構能良好的成型(如圖 3-2(B))，熱壓完成後降溫至大約 80°C 後即可洩壓把晶片取出。取出後的壓克力晶片會和鋁箔緊密貼合，而為了將電極部分鍍上金屬，而其餘部分保持原狀，只剝除電極部分的鋁箔，如圖 3-2(C)。接下來，利用真空金屬濺鍍技術在凸起的電極結構處鍍上 175 nm 的鉻(100 W, 240 s)當做黏著層，再鍍上 660 nm 的金(50 W, 720 s)做為導電層(如圖 3-2(D))，完成濺鍍將晶片取出後，利用三用電錶量測電阻值確認電極品質，並將其餘部分的鋁箔全部剝除(圖 3-2(E))，使用雷射雕刻機將晶片裁切成適當的大小。最後，本研究使用一自組裝的電漿處理系統，把直徑 2 mm 的銅線纏繞於真空腔體周圍，連接上射頻電源供應器以產生感應耦合電漿(Inductively Coupled Plasma, ICP)，電漿施打的功率為 100 W，在 100 mTorr 的真空度持續處理 10 min。把電漿處理後的聚酯纖維線架設於壓克力晶片上(圖 3-2(F))，確認電噴灑夾具可以確實夾住聚酯纖維線後，本實驗所使用之線微流體晶片製程即完成。

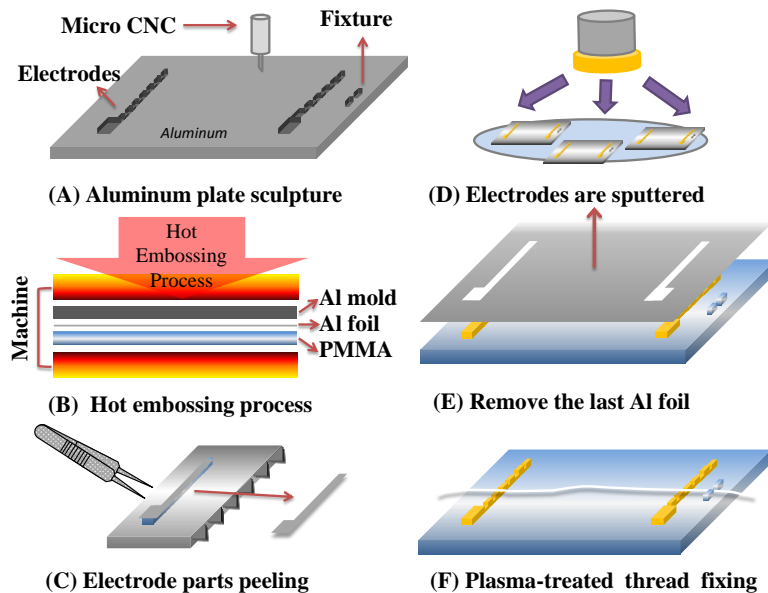


圖 3-2 線微流體之壓克力基板製作流程示意圖。(A)鋁母模製作、(B)壓克力基板熱壓成型、(C)剝除電極部分之鋁箔遮罩、(D)金屬濺鍍電極、(E)剝除其餘部分之鋁箔遮罩、(F)架設電漿處理完之聚酯纖維線。

3.3 實驗設計與檢測目標

為了檢驗線微流體電泳電噴灑晶片的效能，本研究將實驗的設計分成三個主要的部分，分別為：(一)線上樣本聚焦與電泳效能的分析、(二)聚酯纖維線電噴灑效能分析與(三)聚酯纖維線電噴灑樣本檢測。

(一) 線上樣本聚焦與電泳效能的分析

線上樣本聚焦的效能，直接影響電泳分離的效果與偵測結果，因此本實驗利用 0.2、0.5、1.0、1.5、2.0 μL 等不同體積的染色樣本進行測試，並在樣本聚焦後進行數據分析。本實驗的設計是模擬實驗實際操作的聚焦情形，但為了方便觀察，製作了一個含有尺規與架具的基板，將聚酯纖維線固定於基板上操作，並利用攝影機將樣本擴散到聚焦的過程記錄下來。最後，將聚焦前後的實驗數據結果比較，計算出聚焦的效能後，與封閉式微流道樣本聚焦的效能比較。

為了進一步驗證樣本聚焦效能，本研究使用氧化還原標準樣本-赤血鹽，進行單一樣本之電化學安培偵測法的訊號分析。樣本被直接注入於線上後，透過電滲透流從注入端被帶到分離端，未經過聚焦的樣本塊長度較長，因此得到的訊號峰寬度(經過偵測電極之時間)應該要比經過聚焦後的寬，透過訊號峰寬度的分析能得到樣本聚焦效能的結果。此外，本研究開發的聚焦技術，除了能縮小樣本塊長度外，還能將樣本進一步濃縮。因此本研究透過比較電化學安培偵測的響應電流值，計算出線上樣本聚焦技術的樣本濃縮的效果。

(二) 聚酯纖維線電噴灑效能分析

本研究創新使用聚酯纖維線做為電噴灑的媒介，其有許多特性都可能與使用傳統毛細管的大不相同，因此本實驗將先利用 USB 數位顯微鏡，針對聚酯纖維線於不同條件下的電噴灑情況進行計錄與分析，進行分析的條件分別有電漿表面處理前後、和產生尖端放電與否。最後，從聚酯纖維線的電噴灑影像中，觀察泰勒錐的完整度與溶液霧化的效果，初步判斷電噴灑游離的成效，並藉此找到適合線電噴灑的條件與參數。

接下來，本研究利用直接噴灑緩衝溶液，進一步分析聚酯纖維線電噴灑針對質譜分析的基本效能。首先，利用調變電場參數，找到電噴灑開始生成、保持穩定與開始產生放電等階段之電場條件，並確定針對不同檢測需求的電場參數。找到電噴灑可以穩定生成的電場參數後，再進行電噴灑游離的長時間穩定度測試。聚酯纖維線後端會連接上裝滿充足緩衝液的儲液槽，並利用一個壓克力遮罩阻隔外部的干擾，而實驗目標為維持穩定噴灑 30 min 以上並不能有訊號中斷，完成檢測後再將數據取出進行分析。

(三) 聚酯纖維線電噴灑樣本檢測結果

最後，本研究將進行各種樣本的線電噴灑游離質譜偵測，分成極性與非極性標準品、市售藥品、複雜組成之食安樣本等。透過極性標準品的測試，可以第一步確認線電噴灑游離之效能，再將系統應用於市售眼藥水的偵測。針對組成物複雜之樣本，本研究將先利用毛細管電泳法分離樣本，並比較經過分離後，檢測效能是否有確實提高，能分析出更微量的成分。最後，利用偵測弱極性樣本的方法，驗證線微流體電噴灑游離時，產生的尖端放電可以游離弱極性樣本的假設，並與一般電噴灑模式所測得之非極性樣本質譜圖做比較。

3.4 實驗操作流程

(一) 樣本聚焦效能測試

本研究利用雷射雕刻製作專門測試樣本聚焦效能的基板，包含聚酯纖維線的架具與對照樣本塊長度用的尺規，聚焦的流程示意圖如圖 3-3。首先，將聚酯纖維線固定於基板上的架具，並架設好觀察用的攝影機。接下來，利用 Pipette 吸取特定(0.2~2 μ L)量的染色樣本，將其滴於聚酯纖維線段的正中央，使其因為線產生的毛細作用力而向兩端攤長，(圖 3-3(A))。等到樣本塊的長度不再改變以後，於攤開後樣本塊的兩端各施加約 5 μ L 的緩衝溶液液滴(圖 3-3(B))，當兩邊的濕潤度瞬間大幅提高後，其會擠壓中間的樣本而達到聚焦的

效果。經過大約 2 ~ 3 秒以後聚焦即可完成(圖 3-3(C))，記錄聚焦前後分別的長度後，更換其他體積的染色樣本繼續測試。

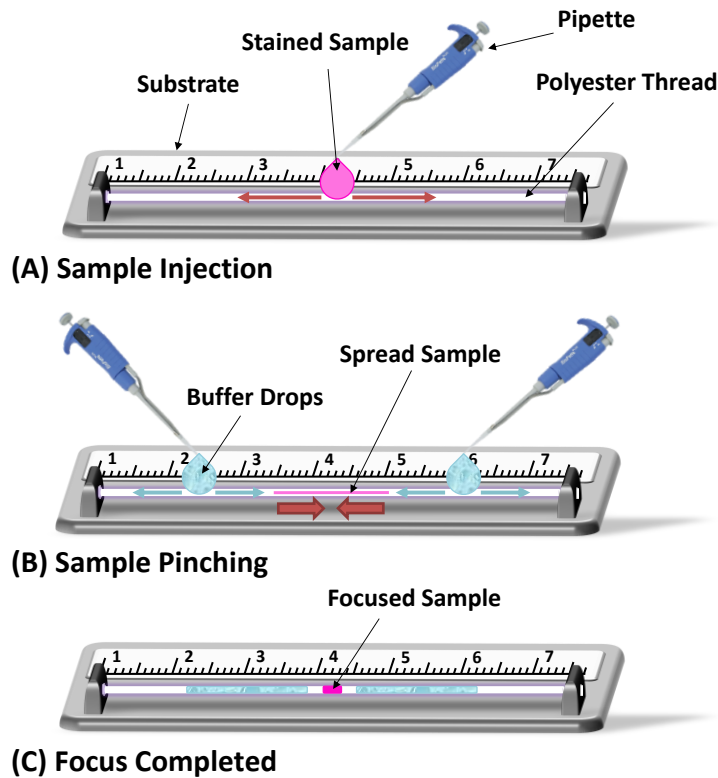


圖 3-3 樣本聚焦效能測試操作流程示意圖。(A)利用 Pipette 注入樣本，並等樣本完全攤開後，(B)施加兩滴緩衝液滴於樣本塊兩旁使其聚焦，(C)為聚焦完成示意圖。

(二) 線微流體電泳電噴灑系統操作

本實驗針對電噴灑效能測試與樣本質譜偵測的流程皆相同，如圖 3-所示。首先，為了提升聚酯纖維線的親水性，利用大氣電漿處理對其表面進行改質，電漿施打條件為 200 mTorr、100 W、10 min(圖 3-4(A))，完成後將聚酯纖維線架設於晶片上，後端接上儲液槽，前端固定於電噴灑夾具之間。接下來，依照欲分離的長度，利用 Pipette 將 0.2 ~ 0.5 μL 的樣本施加於聚酯纖維線上的特定位置(圖 3-4(B))。使用兩滴緩衝溶液將樣本聚焦外(圖 3-4(C))，也將整段聚酯纖維線沾濕，並同時施加分離用與電噴灑用的高壓電場。樣本會先因為毛細管電泳的作用，而分離出不同的樣本區帶，並被輸送到前端的噴嘴處(圖 3-4(D))。

聚酯纖維線前端的噴嘴會因為高壓電場產生泰勒錐與電噴灑，使樣本抵達噴嘴處時被噴灑出去變成氣相離子，在進到質譜儀中被分析(圖 3-4(E))。最後，在實驗操作的同時，一邊觀察質譜偵測到的訊號圖譜，並利用電腦分析檢測結果(圖 3-4(F))。

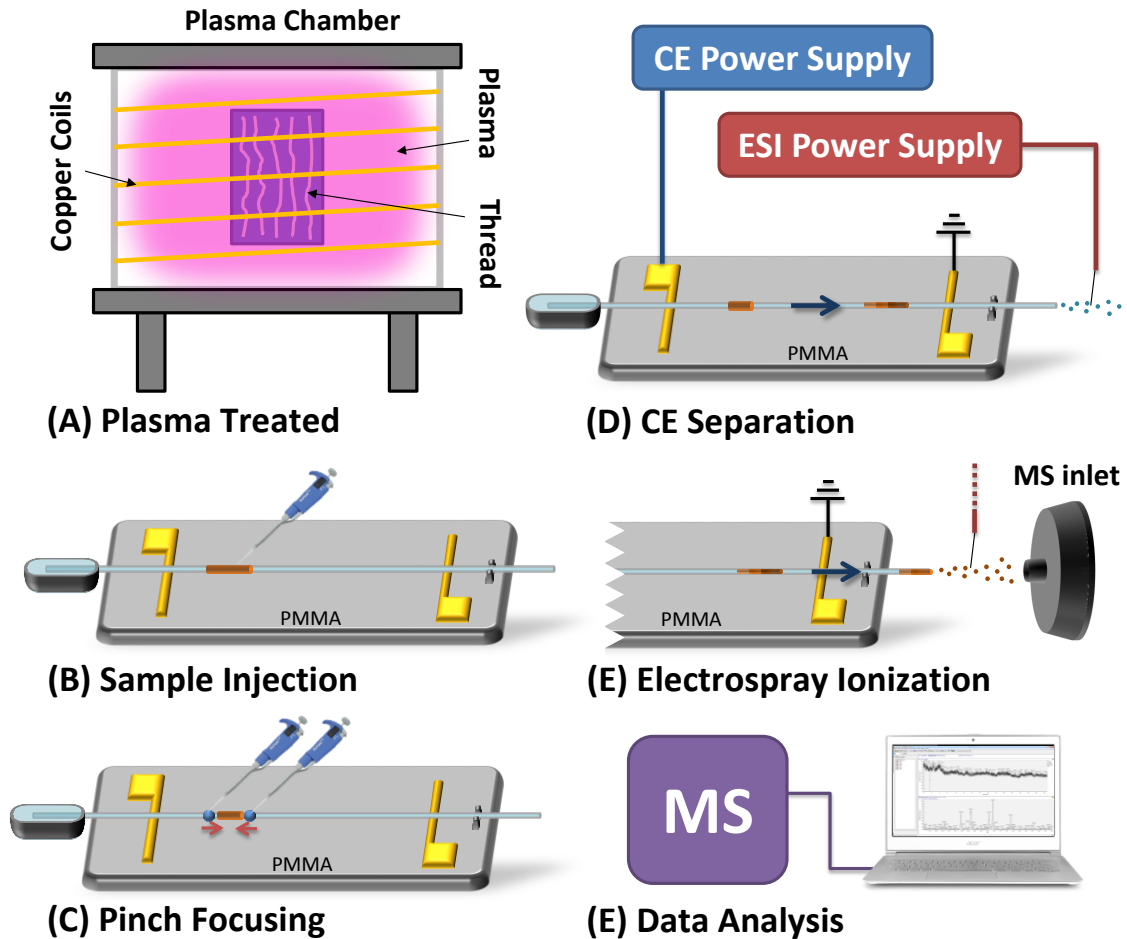


圖 3-4 線微流體電泳電噴灑系統操作流程示意圖。(A) 聚酯纖維線電漿處理、(B) 樣本注入、(C) 樣本聚焦、(D) 電泳分離、(E) 電噴灑游離與(F) 質譜訊號分析。

3.5 系統架設與實驗設備

圖 3-5 為本研究所設計之線微流體電泳電噴灑晶片之實驗操作系統架設示意圖。電漿處理完的聚酯纖維線被架設於壓克力基板後，於後端連接上一緩衝液儲液槽以保持整個線段的濕潤度，前端則經由本實驗設計的電噴灑夾具固定後，對準質

譜儀入口並與其保持 4~10 mm 的距離，預防高電壓施加後直接跳電到質譜儀而中斷電噴灑，也避免對質譜儀造成傷害。本實驗使用兩台高壓電源供應器與電極連接，以提供電泳分離(MP-3500-FP, Major science, Taiwan)與電噴灑游離(Series 230, Bertan, USA)所需的電場。圖中插入的照片為本研究設計的聚酯纖維線電噴灑夾具之實體照片，而八個一字排開的夾具結構是設計來進行平行化的檢測。從聚酯纖維線前端被電噴灑游離的樣本最後會進入到一台市售的質譜分析儀(LCQ Deca XP Plus, Thermo scientific, USA)，再使用 Xcalibur 軟體進行訊號分析與截取。

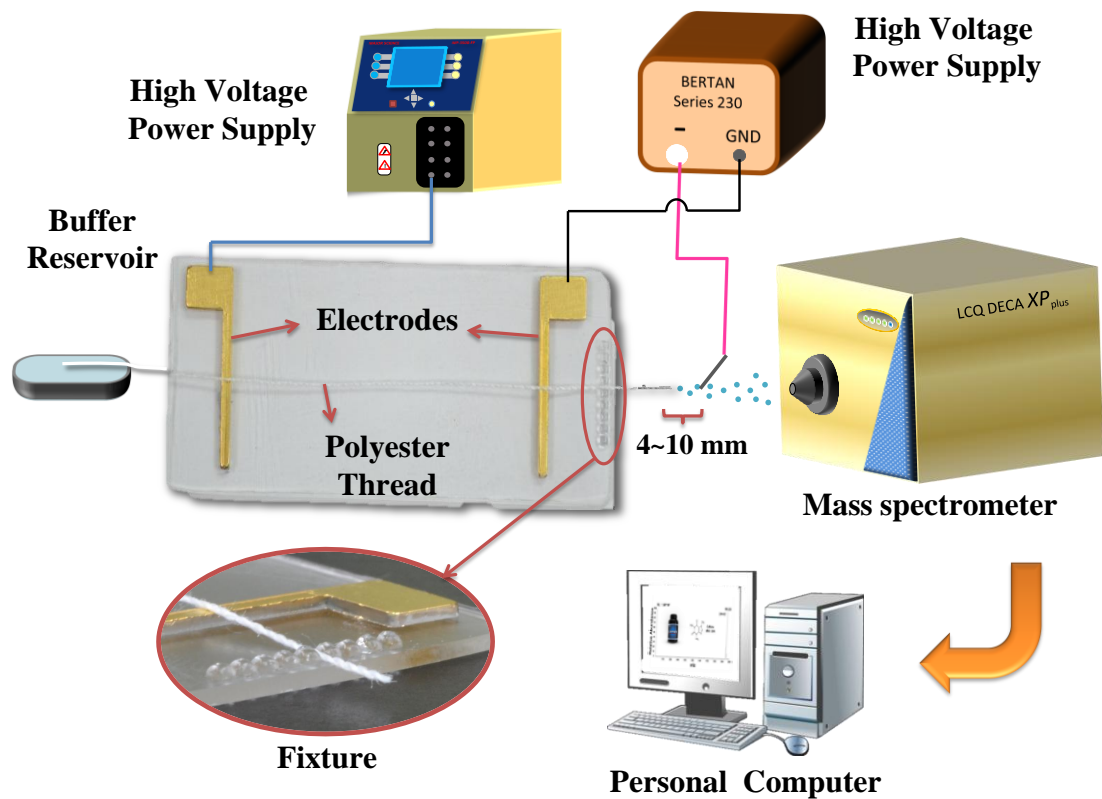


圖 3-5 線微流體電泳電噴灑晶片之系統架設示意圖。電漿處理完的聚酯纖維線架於壓克力基板上，後端連接儲液槽而前端對準質譜入口。兩台電源供應器分別用來提供電泳分離與電噴灑游離所需之電場。左下方特寫圖為電噴灑夾具結構，多組夾具結構可以用來實現平型化的檢測功能。

本研究從壓克力晶片的熱壓製程製程、電極金屬真空濺鍍、實驗觀察、大氣電漿表面處理，到線微流體電泳電化學整合電噴灑游離質譜法，於生醫及食安樣本的

量測，所使用之相關儀器設備的介紹如下列所示：

(一) microCNC 雕刻機

實驗使用 SUDA 公司型號為 SD3025 的 microCNC 雕刻機，於鋁板上刻出壓克力熱壓成型的母模。此雕刻機 XYZ 軸的解析度達到 10 μm ，且工作行程範圍為 300×250×40 mm^3 ，其雕刻精度高且非常平穩，適合微小原件的精密加工。

(二) 熱壓機

壓克力熱壓成型使用的熱壓機(各組件型號)由液壓裝置、載物台以及溫控設備組成，其型號為 SRCH-202 的施壓裝置為 San & Run 公司所製造，最高可以施加 68.9 MPa 的壓力，而溫度最高可升至 400°C。

(三) 真空濺鍍機

壓克力基板上的電極是利用本實驗室自行設計之高真空三槍共濺鍍系統製作，此系統包括一個具有可旋轉載台與加熱功能的真空腔體，進行兩段式的抽真空流程使用的機械與渦輪泵浦，還有直流與射頻的電源供應器與一系列的控制裝置。

(四) USB 數位顯微鏡&高速相機

USB 數位顯微鏡的用途為實驗進行時的觀察，其放大倍率範圍是 50~500 倍，解析度為 1280×1024，內建可調整亮度的 LED 光源，取像速度為 30 fps，適合簡易的微小物觀察。另外，電噴灑的照片拍攝使用加拿大 Lumenera 公司生產的 Lt425C 高速相機，其解析度為 2048×2048，取像速度為 90 fps，並採用 USB3.0 的技術保證快速的影像傳輸，有低雜訊、高靈敏度等優點。

(五) 電漿處理系統

本實驗用來對聚酯纖維線進行表面親水性處理的電漿系統，由一個自組裝的真空腔體與一台高頻電源供應器組成。真空腔體外圍纏繞多圈直徑為 2 mm 的單芯銅線，用以產生感應耦合電漿。高頻電源供應器則是由寶林泰科技有限公司生產，型號為 Force State Aurora IPE300，其輸出功率可用旋鈕無段

調整，且可全自動進行阻抗匹配(Impedance Matching)，電壓駐波比(Voltage Standing Wave Ratio, VSWR)小於 1.2。

(六) 高壓電源供應器

本實驗使用兩台高壓電源供應器，其一為電泳分離使用之台灣 Major Science 公司的 MP-3500-FP 電源供應器，其電壓範圍為 0~3500 V，並可程式化電壓供應的模式。另一台為美國 Bertan 公司的 Series 230，其提供的電壓範圍為可高達-10000~10000 V，用來產生電噴游離。

(七) 電化學分析儀

本實驗進行樣品電化學分析所使用的儀器為美國 CH Instruments 公司，型號為 CHI611E 的電化學分析儀，此儀器提供循環伏安法(Cyclic Voltammetry)、線性掃描伏安法(Linear Sweep Voltammetry)、安培偵測法(Amperometric Detection)等量測模式，其最低電流量測極限可達 1 pA，而最高採樣速率可達 1 MHz。

(八) 質譜儀

本實驗使用的質譜分析儀為美國 Thermo 公司所生產，型號為 LCQ-DECA XP Plus。其本身配有 Syringe Pump 和 ESI 游離源，但亦可將原廠游離源拆除後，利用自行開發的游離源導入樣本。此質譜儀於一般模式下可偵測的分子量範圍為 50~2000 amu，並且具有串聯質譜分析(Tandem MS, MSⁿ)之功能。

3.6 實驗溶液配製

1. 實驗使用的緩衝溶液為硼酸鈉(Sodium Borate (Bio Basic Inc, Canada))，以去離子水與甲醇(50%:50%)做為溶劑，分別調配 0.1 mM、1 mM、10 mM 等濃度備用。
2. 本實驗利用羅丹明 B(Rhodamine B, RhB (Acros Organics, USA))螢光染劑輔助實驗觀察，其濃度為 1 mM(以純水配置)。

3. 線上聚焦效能的評估，利用電化學量測的氧化還原標準樣本，俗稱赤血鹽的鐵氰化鉀 (Potassium Hexacyanoferrate(III), Showa, Japan)，利用純水調配至濃度 10 mM 備用。
4. 線電噴灑的極性標準樣本，選用咖啡因(Caffeine (Sigma-aldrich, USA))，用去離子水與甲醇(50%：50%)的溶劑調配至 1000 ppm。
5. 測試電暈放電輔助電噴灑游離效能的弱極性樣本，為俗稱維他命 D2 (Vitamin D2)的麥角鈣化固醇(Ergocalciferol (Sigma-aldrich, USA))，以去離子水與甲醇(50%：50%)的溶劑配至 10 mM。
6. 本實驗選用生醫樣本多巴胺(Dopamine, DA (Sigma-aldrich, USA))與抗壞血酸(Ascorbic Acid, AA (Sigma-aldrich, USA))，檢驗線微流體整合電泳電化學與電噴灑游離質譜法之效能。
7. 本實驗所使用之市售樣本，分別為眼藥水止膿敏(SINOMI (臺灣鹽野義製藥股份有限公司, Taiwan))、能量飲料紅牛(Red Bull (Red Bull GmbH, Austrian))與運動飲料舒跑(Super Supau (維他露食品股份有限公司, Taiwan))，樣本均不經過任何前處理，直接施加於線上檢測。

第四章 實驗結果與討論

4.1 線上樣本聚焦效能分析

4.1.1 樣本聚焦效能-影像分析

圖 4-1 為本實驗創新開發的線上樣本聚焦技術，透過實驗即時影像比較得到的樣本塊長度縮減結果，藉此判斷樣本聚焦的效果。本實驗分別將體積為 0.2、0.5、1.0、1.5、2.0 μL 且用 RhB 染色的緩衝溶液滴在乾燥的聚酯纖維線上，並透過攝影機觀察與紀錄。樣本被滴上後會因為毛細現象快速往兩邊攤開，並沒有填滿聚酯纖維線的間隙，因此在其完全攤開後，可以透過在樣本塊端點的兩旁約 3 mm 處施加兩滴體積約為 5 μL 未染色的緩衝溶液，使樣本兩端瞬間的濕潤度提高後把樣本向內擠壓，進而縮短樣本塊長度。圖的橫座標為樣本注入的體積，縱座標為量測到的樣本塊的長度，圖中菱形的資料點為樣本完全攤開後的長度，而三角形的資料點為聚焦後的結果。實驗結果顯示，透過這個線上樣本擠壓聚焦技術，體積 0.2~2.0 μL 範圍內的樣本塊長度皆能被聚焦到攤開後長度的 38%，而且不同體積間量測到聚焦前後的資料呈現良好的線性。此外，由於樣本的聚焦是液體間的推擠，所以只要聚焦用的緩衝溶液的量夠多，位置不要距離樣本塊太遠即可，其體積與位置不需要精準地控制。當緩衝溶液過量時，其會自動透過毛細作用力被兩端的線吸走，而緩衝溶液過少則會減少聚焦的效果，實驗發現體積大約為 5 μL 是較好的操作條件。另外，實驗發現聚焦用的緩衝液滴施加的最佳位置，為樣本塊端點的兩旁約 3 mm 處，太接近樣本塊有可能造成緩衝溶液與樣本塊混合，而距離太遠則是需要更多的緩衝溶液才能達到聚焦效果。左上角插入的圖片為樣本在聚焦過程中的四個連續的即時影像擷取圖，可以看到樣本塊長度在緩衝溶液施加後確實大幅被縮小，然而樣本與緩衝溶液間的擴散不明顯，不會影響聚焦效果。此外，從施加聚焦用的緩衝溶液到聚焦結束這個過程，只需要大約 2 s 即可完成，操作非常簡單且快速。

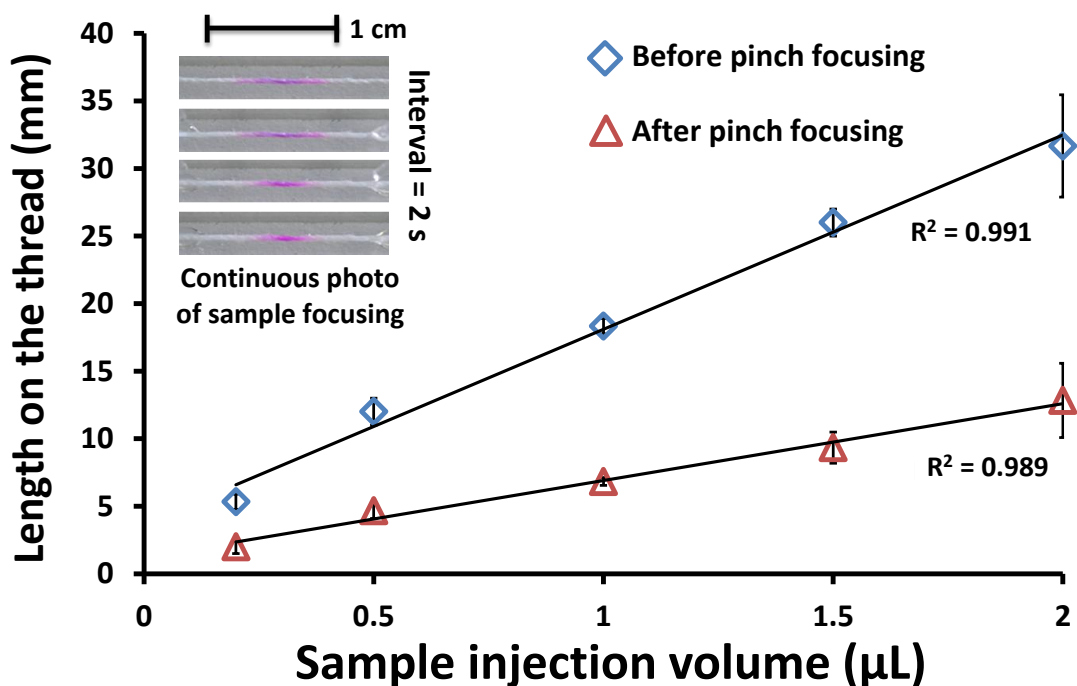


圖 4-1 線上聚焦技術之效果-影像分析。藍色的資料線為樣本聚焦前的展開長度，而紅色資料線為聚焦完成後的長度，左上角的照片為樣本聚焦過程之截取影像。

4.1.2 樣本聚焦效能-訊號分析

除了影像分析以外，本研究透過電化學安培偵測法，偵測單一樣本赤血鹽，並分析聚焦前與聚焦後，訊號經過偵測電極的總時間與反應電流值之改變，再進一步判斷聚焦對於電泳效能之改變。赤血鹽的化學式為 $K_3[Fe(CN)_6]$ ，在水中會解離成 K^+ 與 $[Fe(CN)_6]^{3-}$ 的離子，是電化學量測常用的標準樣本，其電化學反應之訊號較明顯且清晰，因此本實驗使用 10 mM 的赤血鹽進行訊號的分析。此聚焦實驗使用的電泳分離電場強度為 3×10^4 V/m，分離距離為 3 cm，施加的樣本體積為 0.2 μL，聚焦用的緩衝溶液體積大約為 5 μL，電化學安培偵測設定的固定電位為 +0.2 V。樣本線上聚焦前與聚焦後的電化學訊號結果如圖 4-2 所示，其中圖 4-2(A) 為聚焦後的結果，而圖 4-2(B) 是未經聚焦的樣本訊號，偵測結果圖的橫座標為時間，訊號的高度起伏為偵測到的氧化還原反應電流。從實驗結果我們可以看出，經過線上樣本聚焦後的樣本，電流訊號值大約提升了 2.7 倍，又從訊號經過反應電極得到電流值的總

時間，發現樣本塊長度也確實被縮小成原始的 38%。經過計算後發現，未經過聚焦的赤血鹽樣本在此實驗的條件下，其電泳之理論板數值為 634.59，而經過聚焦後的樣本訊號之理論板數值提升為 1794.96，比未經過聚焦增加了 2.8 倍，表示電泳的效能因為樣本塊長度縮小而顯著提升。透過影像分析與電化學訊號分析的結果，可以確認本研究開發的樣本聚焦技術，確實能提升訊號分析與電泳的效能，雖然相比於十字型的進樣方法得到的電泳效能不高，但應用於直線型微流道後確實能達到簡化架構與操作，並同時保有偵測效能。

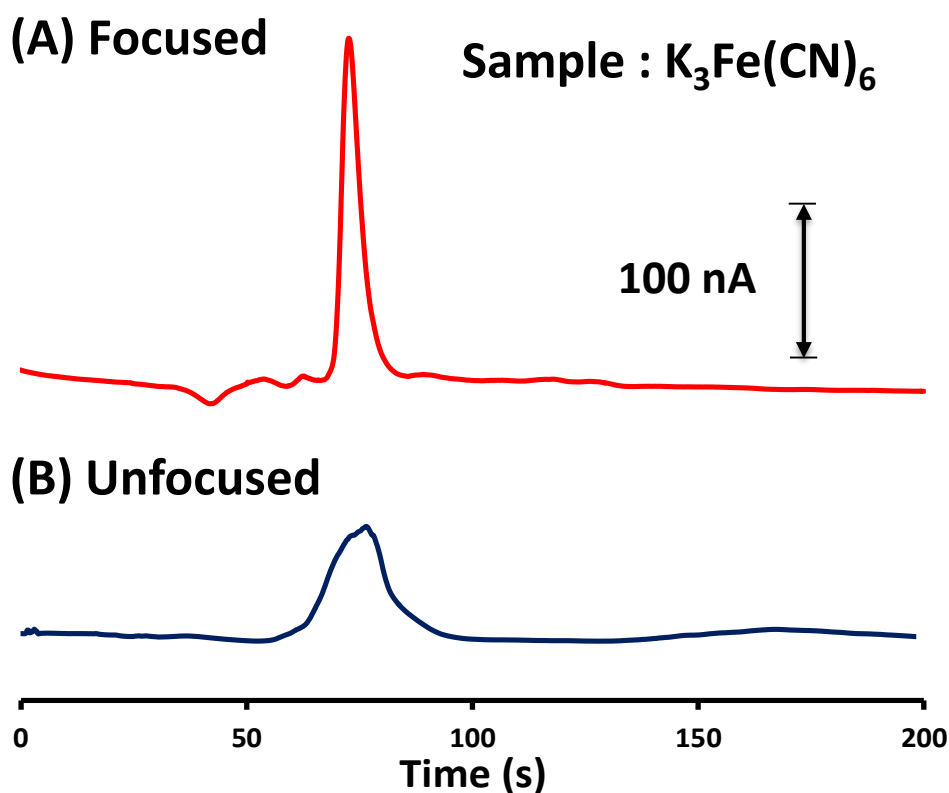


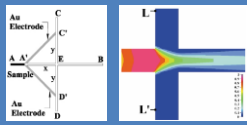
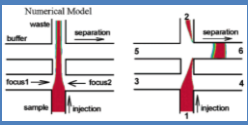
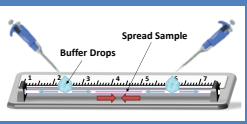
圖 4-2 線上聚焦技術之效果-電化學訊號分析。(A)經電漿處理過後的聚酯纖維線，應用於直線型電泳電化學偵測得到之結果，(B)為未經過電漿處理的線之檢測結果。

4.1.3 樣本聚焦效能比較表

此部分將本研究所開發之樣本聚焦方法，與一般封閉式微管道之樣本聚焦方法進行比較，其結果如表 4-1 所示。其中，(A)方法為 Lin 等人(2004)[99]提出、(B)

方法為 Fu 等人(2003)[93]提出，而(C)方法則是本研究所使用之樣本聚焦法。從聚焦前後樣本縮小的比例來看，(B)方法能達到最高的聚焦效果，其理論之聚焦後樣本長度為聚焦前的 20%，而(A)與(C)方法聚焦後樣本塊長度最小皆為原始長度之 35%左右。雖然本研究所開發的樣本聚焦方法之效能不是最高，但在許多方面本方法皆有許多優勢。舉例來說，(A)方法需要額外製作兩個聚焦用的電極，(B)方法則是需要使用雙十字型的流道，不論在流道設計或實驗操作上皆比本研究複雜。此外，本研究的樣本聚焦完全是透過聚酯纖維線本身的毛細作用力完成，不需要使用額外的能量設備，若想要改變聚焦後的樣本塊的長度，也可以簡單透過施加不同體積之樣本即可完成。最重要的是，從電化學量測的結果可以發現，本研究的樣本聚焦方法有大幅將樣本濃縮的效果，(B)方法則是只有微量的濃縮效果，而(A)方法則是沒有發現有樣本濃縮的效果。由上述比較結果顯示，本研究開發的樣本聚焦技術不但操作簡單、不需要額外設備外，濃縮的效果也有助於提升檢測的效能。

表 4-1 常見封閉流道與本研究使用之樣本聚焦方法的效能比較表。

Items	Methods	(A) Lin, et al. (2004)	(B) Fu, et al. (2003)	(C) This research
Length % after focusing				
		35% ~ 45%	20% ~ 46%	36% ~ 41%
Channel design		Cross shape and 2 microelectrodes	Cross shape or double-cross	A straight polyester thread
Power		Potential difference	Electrokinetic	Capillary force
Width changing method		Change design	Different potential distributions	Apply different volume
Increase in concentration		No	Less	Yes

4.2 聚酯纖維線電噴灑效能分析

4.2.1 電噴灑游離影像分析

電噴灑游離時產生的泰勒錐之完整度，與溶液霧化的效果等，都是對於開發電噴灑游離晶片非常重要的因素。唯有高效的霧化能力，溶液才能在噴灑出後的短時間內迅速蒸散完畢，讓分析物都轉變為氣態離子再進入質譜儀。因此，本研究利用高速攝影機拍攝穩定電噴灑條件下，聚酯纖維線前端產生的泰勒錐與霧化游離效果，照片如圖 4-3 所示。照片中的聚酯纖維線直徑為 200 μm ，使用的緩衝溶液為濃度 0.1 mM 之硼酸鈉，電場強度為 $6.5 \times 10^5 \text{ V/m}$ ，並讓線頭與接地電極維持 10 mm 的距離。圖中線前端三角形的透明處即為強電場作用下，溶液表面張力與溶液內電荷的庫倫排斥力相互平衡後，產生穩定的泰勒錐之結果。由泰勒錐形成的尖銳錐角與溶液霧化的效果，可以初步斷定聚酯纖維線電噴灑於上述的參數條件下，是穩定且高效的。此外，在不需要使用噴嘴、鞘流氣體與注射泵浦的前提下，聚酯纖維線如此低成本的材料可以達到如此好的霧化游離效果，代表其在未來有極大的潛力做為定點照護檢驗之電噴灑檢測晶片的材料。

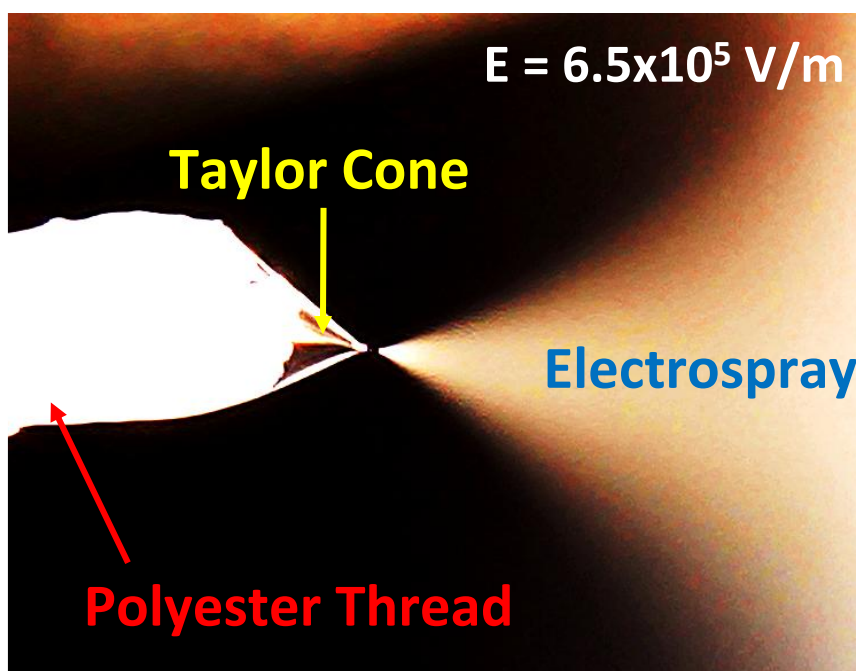


圖 4-3 聚酯纖維線電噴灑之泰勒錐與霧化游離。從圖中可以看到，泰勒錐於聚酯纖維線前端很完整的生成，電噴灑的離子霧化效果亦非常卓著。

玻璃或高分子材料製作的傳統微流道形狀為封閉的中空柱狀，並不會有因為纖維結構影響液體流動的問題產生。然而對於紙、燭芯或是聚酯纖維線來說，纖維結構的親水性、間隙與孔洞大小，對於液體流動性影響非常大，而做為電噴灑前的液體傳送路徑，使溶液順暢地流動是必要的。本實驗選用直徑為 200 μm 的市售縫紉用聚酯纖維線，其表面官能基主要由酯基組成，因此為疏水性的材料，但可以利用大氣或氧氣電漿處理後，大幅增加其親水性的官能基與孔洞數量。圖 4-4 為針對本實驗所選用的線，經過表面電漿處理前(A)與後(B)，產生的電噴灑狀態之照片，兩種情況皆使用濃度 0.1 mM 之硼酸鈉做為電噴灑的緩衝溶液，電場強度同樣為 $6.5 \times 10^5 \text{ V/m}$ 。由(A)圖可以得知，因為電漿處理過後親水性提升，使前端泰勒錐處的溶液噴灑出後，後端能迅速補充緩衝溶液，維持電噴灑的穩定。反之，沒有經過電漿處理的聚酯纖維線，無法使液體快速地補充，導致泰勒錐無法完整生成，反而在線前端的邊緣處產生微小的噴灑。而如此的電噴灑模式無法穩定生成，且噴霧方向很不固定外，游離出的離子量亦非常少，無法滿足質譜偵測的需求。

另一方面，電噴灑緩衝溶液之導電度對產生良好霧化效果非常重要，因此本研究亦透過影像分析，比較不同緩衝溶液導電度造成電噴灑的影響，並選擇適當的濃度做為實驗參數。實驗發現，使用 10 mM 的硼酸鈉時，因為離子濃度過高，噴灑出的溶液之電荷非常密集，。可以得到最好的霧化游離效果。當緩衝溶液導電度不夠時，溶液中受到電場牽引的離子數量不足以產生泰勒錐，因此無法產生電噴灑。

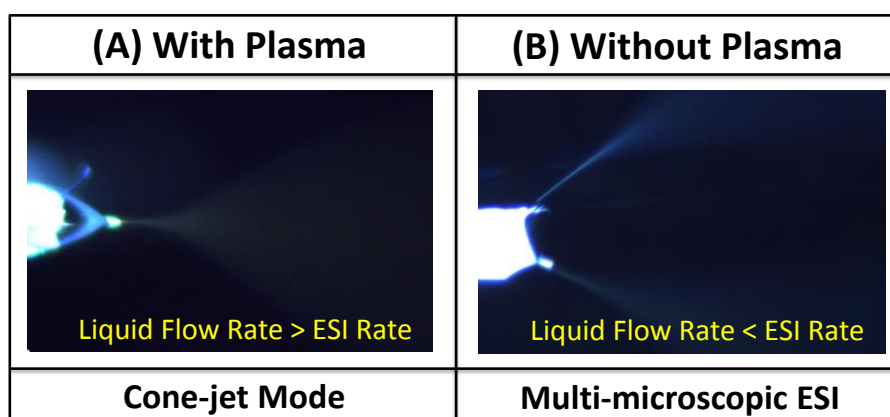


圖 4-4 線電漿表面處理對於電噴灑之差異。經過電漿處理後的線產生之泰勒錐比未經電漿處理的線完整，且噴灑更集中與穩定。

由於聚酯纖維線比一般用來產生電噴灑的毛細管或噴嘴要粗的多，因此產生穩定電噴灑所需的電場強度會比較高，而且聚酯纖維線在完全濕潤後亦會導電，所以實驗施加的電場除了影響電噴灑的成效外，也關係到線前端對接地處的放電行為。圖 4-6 分別為三種不同電場強度下，產生的電噴灑與線前端之尖端放電的影像，三種狀態使用的緩衝溶液都是 0.1 mM 的硼酸鈉，且線都經過電漿處理，只有電場強度的差異。(A)圖的電場強度為 6.5×10^5 V/m，在這個條件下電噴灑穩定產生，且尖端不會有放電情形，一般的極性分析物可透過此模式被良好的游離。(B)圖的電場強度條件為 7.0×10^5 V/m，可以從照片中看到，從泰勒錐的前端有朝向接地處放電的狀況產生，而此放電是屬於較溫和且穩定的電暈放電行為。此外，從泰勒錐的形狀我們也可以斷定電噴灑還在持續穩定的產生，只是因為無法在同一張相片中看到放電與電噴灑同時存在而已。所以我們推斷，非極性或弱極性的分析物雖然無法透過電噴灑游離，但其被霧化後仍然有機會在飛行的過程中，與電暈放電產生的高能量空氣離子碰撞，藉此被離子化。然而，當電壓強度加到超過線與接地電極間空氣的崩潰電壓(Breakdown Voltage)時，電暈放電會轉變為火花放電如(C)圖，發出強烈的光線與聲音。火花放電伴隨的強大電流，會造成泰勒錐與電噴灑的情況同時消失，並且可能直接傷害質譜儀，因此在實驗中必須避免。

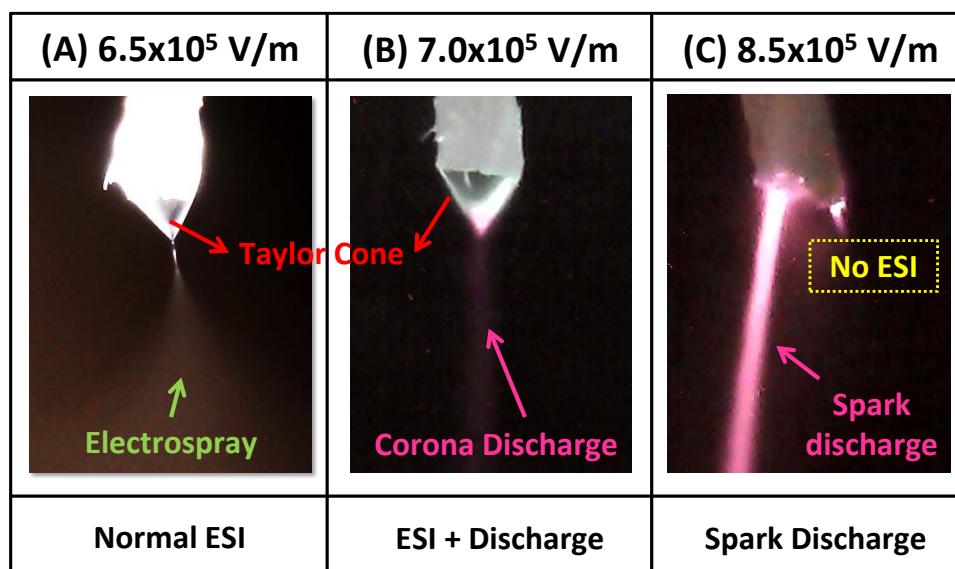


圖 4-5 不同電場強度對應到之電噴灑的三種狀態。(A)為穩定的電噴灑條件，當電場再提升，會產生(B)圖之電暈放電，而電場太高則會產生火花放電，如圖(C)。

4.2.2 穩定電噴灑條件測試

電噴灑的穩定度與霧化游離效果和所施加的電場條件有很大的關係，而圖4-6呈現了電噴灑現象從生成、穩定到產生有害放電之間，所施加的電場強度與質譜儀量測到的離子濃度之間的關係。本實驗透過聚酯纖維線做為噴頭，噴灑實驗用的緩衝溶液，並挑選其特徵訊號的離子濃度來觀察。實驗進行時，每調變一次電場參數後，就持續偵測一分鐘以蒐集質譜偵測結果，將不同電場條件下的離子濃度於軟體內進行平均，其結果為圖中的每個資料點。由實驗的結果我們可以得知，當所施加的電場強度從零增加到 6.0×10^5 V/m時，電噴灑的現象與泰勒錐開始生成，但因為電場強度不足，泰勒錐前端電荷累積速度太慢，造成電噴灑無法穩定產生，反而是一發一發像砲彈式的大型帶電液珠噴向質譜入口，使質譜偵測訊號非常不穩，其相應之離子濃度也非常低，大約只有 10^5 ions/cm³。然而當電場強度提升到介於 $6.2 \sim 7.0 \times 10^5$ V/m之間時，泰勒錐前端電荷累積產生的靜電力與溶液的表面張力達到較好的平衡，所以電噴灑狀態可以穩定持續，同時被偵測到的離子濃度也大幅提升至 $10^7 \sim 10^9$ ions/cm³，此狀態適合用來進行一般的質譜偵測，本研究選擇 6.5×10^5 V/m的電場強度做為一般極性樣本偵測的參數。而電噴灑伴隨電暈放電的狀態大約產生於電場條件為 7.0×10^5 V/m時，放電的產生使原本沒有被游離的物質，有機會再飛行過程中與電荷碰撞再被游離，因此被偵測到的離子強度會提升。但由於實驗的經驗，如果再繼續將電場強度提高，有很大的機率會使較溫和的電暈放電轉變為有害的火花放電，而造成質譜儀自動停機甚至損壞，因此本實驗並沒有繼續增加電場強度做資料蒐集，而改用虛線呈現。圖中三張插入的照片為不穩定的電噴灑剛生成、穩定電噴灑狀態與可能產生的火花放電之特寫。從不穩定電噴灑的照片中，可以明顯看出泰勒錐前端不穩定造成明顯的殘影，與穩定電噴灑形成強烈的對比。

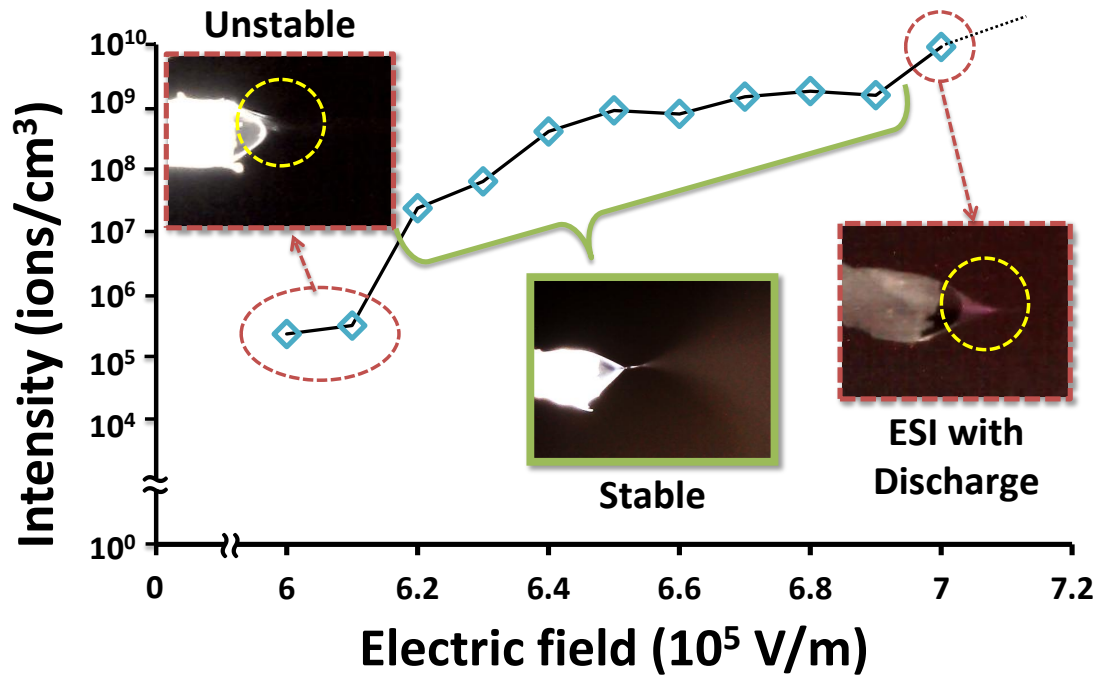


圖 4-6 產生穩定電噴灑之電場條件測試圖。從電場低到高所產生的電噴灑情況從不穩定到穩定電噴灑，最後產生電暈放電的情形。

4.2.3 線電噴灑長時間穩定度測試

電噴灑的長時間穩定度對於電噴灑晶片的開發是非常重要的，尤其對於定量分析或平行化的檢測，唯有很穩定的游離源才能得到穩定的質譜偵測結果。本研究利用長時間噴灑實驗用的緩衝溶液，其電噴灑用的電場強度為 6.5×10^5 V/m，將質譜訊號記錄 30 min 後，取其總離子濃度圖(Total Ion Chromatogram, TIC)做分析如圖 4-7 所示，其橫軸為時間而縱軸為質譜偵測到的總離子濃度。由於線微流體有很強的毛細現象，透過後端儲液槽的設計就可以自動補充緩衝溶液，維持穩定電噴灑，此外一般玻璃或高分子材料做的電噴灑晶片，通常需要使用鞘流氣體來輔助溶液的霧化，而線微流體則不需要此設計。從實驗結果可以看出本研究設計的線微流體電噴灑晶片，僅利用非常低成本的聚酯纖維線，即可產生很穩定的電噴灑游離效果，在 30 超過分鐘的檢測下，質譜測得之訊號維持 10^9 ions/cm³ 的高總離子濃度。

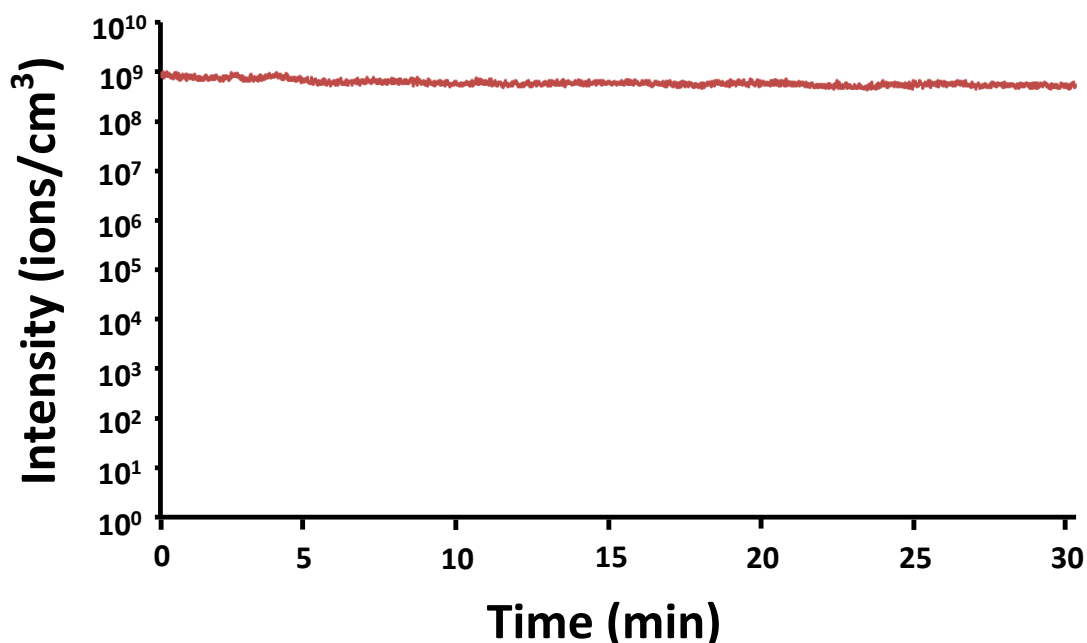


圖 4-7 線電噴灑的長時間穩定度測試圖。在 30 超過分鐘的檢測下，質譜測得之訊號維持 10^9 ions/cm³ 的高總離子濃度。

4.3 聚酯纖維線電噴灑樣本檢測結果

4.3.1 一般極性單一樣本檢測

咖啡因是生活中常會攝取到之物質，同時也為質譜分析常用之極性標準樣本，其化學結構如圖 4-8 中所示。本實驗使用的咖啡因濃度為 1000 ppm，溶於甲醇水混合溶液中，並使用 Pipette 吸取 0.5 μ L，直接滴於穩定電噴灑中的聚酯纖維線上，位置大約在離前端噴嘴 5 mm 處，再施加 6.5×10^5 V/m 的電場使其電噴灑。因為此樣本成分僅由一個物質組成，其檢測不必經過電泳分離而直接使其電噴灑游離即可。圖 4-8 為本研究設計的線微流體電噴灑晶片針對咖啡因標準樣本的質譜檢測結果，圖譜的橫座標為分析物之質荷比(Mass to Charge Ratio)，其單位為 m/z，而縱軸為被偵測到各個離子之相對離子濃度，以百分比表示。咖啡因的分子量 194 g/mol，而圖中的 $195.33[M+H]^+$ 即為咖啡因的訊號，可以看到除了咖啡因之外並沒有其他雜訊產生，而且離子濃度也達 10^8 ions/cm³ 以上，證實線微流體電噴灑系統可以確

實將樣本游離並且高效能，而且不經電泳分離的樣本量測可於 1 min 內得到分析結果，檢測流程非常快速。

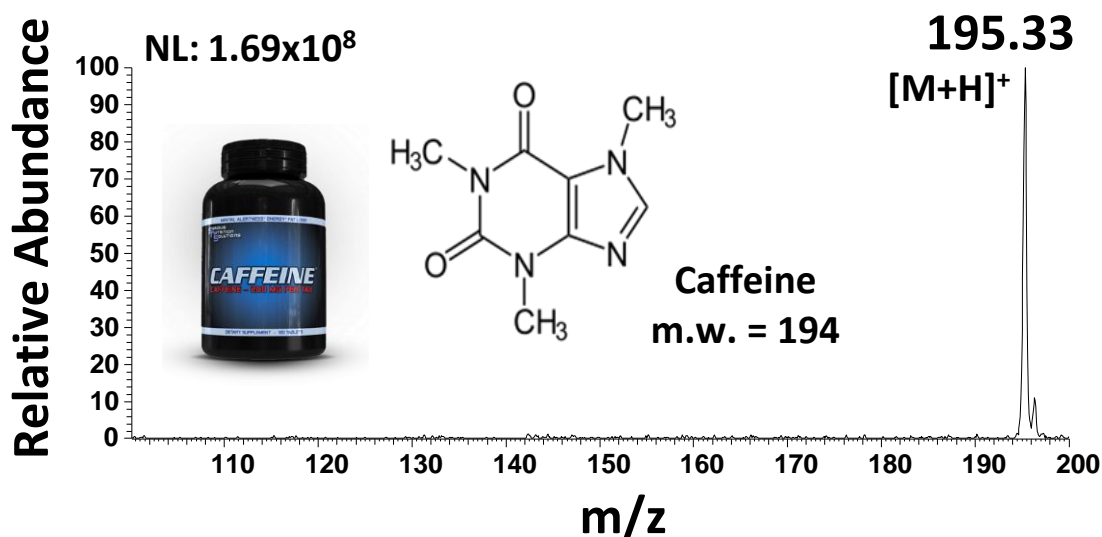


圖 4-8 咖啡因標準樣本質譜偵測圖。濃度為 1000 ppm 的咖啡因可直接滴於線前端，直接被電噴灑游離與偵測，檢測流程快速且得到之圖譜雜訊很低。

圖 4-9 為線微流體電噴灑系統檢測市售不經前處理的眼藥水止膿敏(Sinomin Eye Drops)的結果。Sinomin 為常用來改善結膜炎、流行性角膜炎、砂眼等症狀之眼藥水，有抗菌與消炎等功效，其成分為濃度 40000 ppm 的磺胺甲噁唑(Sulfamethoxazole)，其分子量為 253.28 g/mol。圖 4-為利用本研究開發的低成本線微流體電噴灑晶片，針對市售眼藥水 Sinomin 進行快速檢測的結果。樣本不需要任何前處理與分離步驟就可以直接檢測，同樣使用 Pipette 吸取 0.5 μ L 直接施加在距離聚酯纖維線前端噴嘴 5 mm 處，施加 6.5×10^5 V/m 讓樣本被游離進入質譜儀。圖中實驗結果偵測到的 254.20[M+H]⁺訊號峰就是 Sinomin 眼藥水的成分訊號，其離子濃度達到 1.21×10^7 ions/cm³ 之外，背景雜訊也非常低，其訊雜比(Signal to Noise Ratio, SNR)大約為 10。由此質譜偵測結果我們可以看出本系統針對單一組成物的樣本，有很好的游離與分析能力，檢測所得到的質譜圖訊號非常清晰。

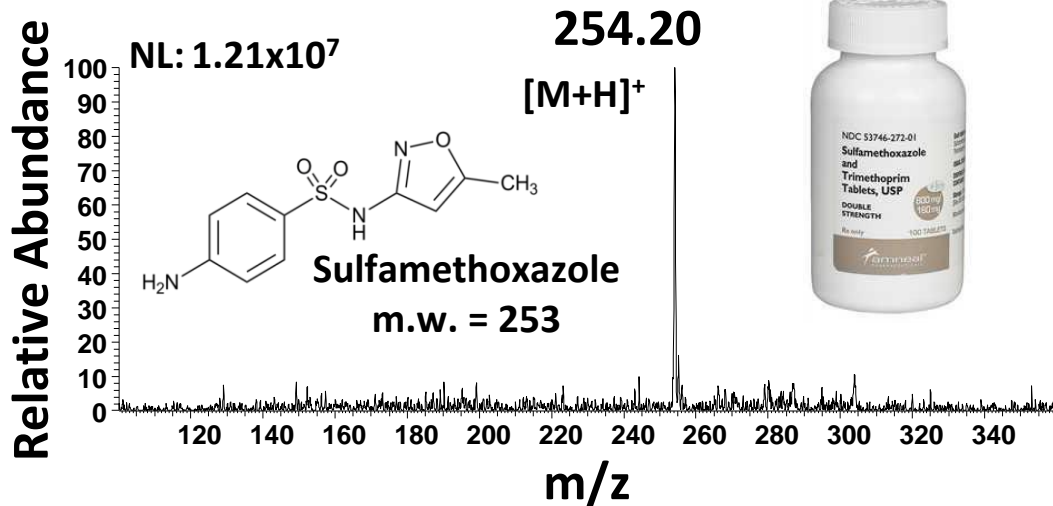


圖 4-9 檢測市售不經前處理的眼藥水止膿敏的結果。市售藥品不需前處理，且僅需要 0.5 μL 的微量體積即可被本系統快速且高效能的成功偵測。

4.3.2 複雜組成之食品樣本檢測

針對複雜組成物的食安樣本進行偵測，是檢驗本系統效能一個最直接的方法。本研究選用市售不經前處理的能量飲料 Red Bull 當作樣本，利用線微流體電泳電噴灑游離系統將其分離與偵測，並比較分離前後所得到的質譜訊號差異，結果如圖 4-10 所示。(A)圖為未經過電泳分離的樣本偵測結果，將 0.5 μL 樣本直接滴於線微流體噴灑之噴嘴前方 2 mm 處，隨後直接被溶液推送至前端並噴灑出去。從質譜偵測結果來看，未經分離的複雜組成物樣本可以利用本系統檢測出其含量較多，或較容易被游離的樣本，而本實驗檢測到 Red Bull 成分中的 Niacin、Taurine、Glucose、Caffeine 和 Inositol(m/z 值分別是 123、126、180、195 與 198)，其對應到的為質譜圖上的所有空心標記點。然而，將樣本經過 10^4 V/m 的電場強度電泳分離 40 mm 的距離以後，所得到的兩個質譜圖片段分別為(B)與(C)。如圖中所示，Red Bull 中的微量成分 Vitamin B6、Glucuronolactone 與 Propanoic Acid(m/z 值分別是 170、178 與 220)被成功檢測，其對應到的為質譜圖上的實心標記點。實驗結果證實，雖然經分離後的樣本總離子濃度會些微降低，但透過分隔不同樣本區間可以使更多的微量成分被成功偵測，代表本系統對食安檢測的應用有很大的潛力。

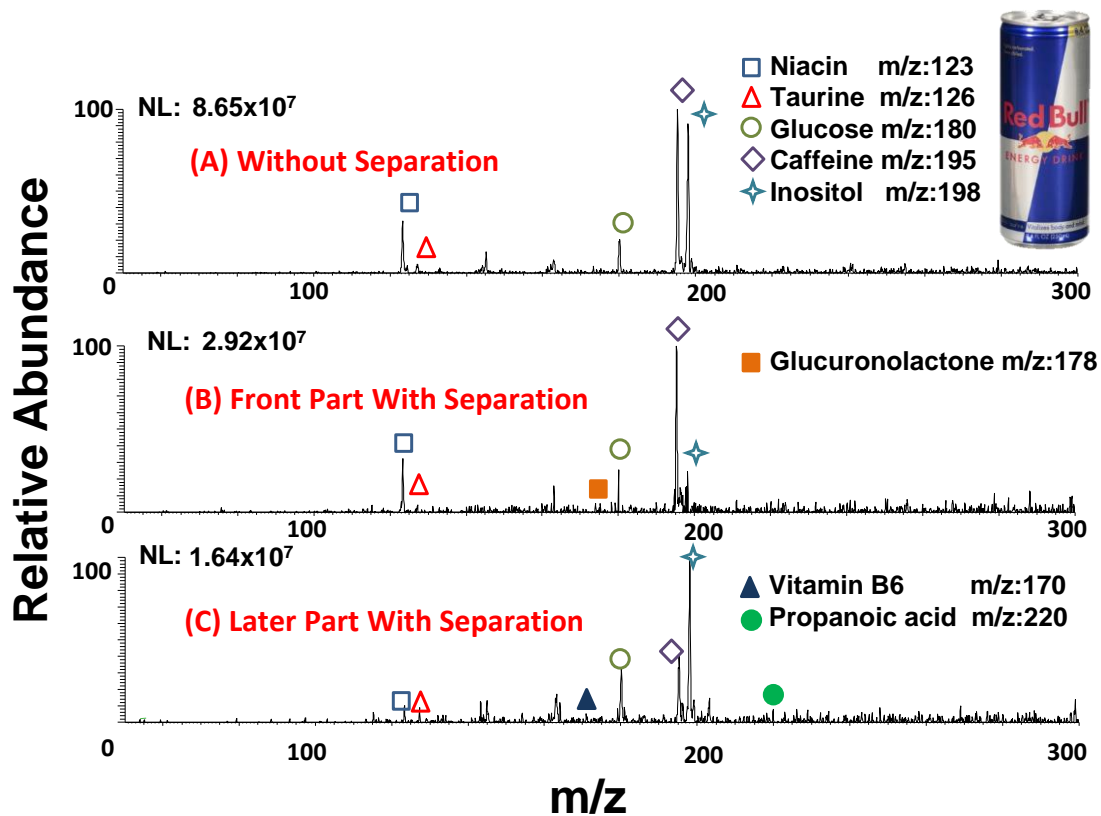


圖 4-10 市售能量飲料 Red Bull 經電泳分離前後的質譜偵測結果。(A)為不經電泳分離而(B)(C)為電泳分離後的兩個質譜片段，電泳分離後更多微量成分被成功偵測。

4.3.3 弱極性樣本檢測

一般來說，電噴灑只被應用於偵測極性樣本，因為其游離機制使弱極性樣本難以順利被游離帶電，而非極性與弱極性樣本的游離通常利用大氣壓化學游離法，其利用一根放置於質譜入口前的針，對飛行中的樣本放電，透過高能量的電荷撞擊使弱極性樣本也能帶電。但在本研究的系統中，因為整條濕潤的聚酯纖維線也會導電，當電場強度施加到 7.0×10^5 V/m，在電噴灑泰勒錐的前端有電暈放電產生，此放電的情形有機會使原本沒有帶電荷的樣本帶電，有機會在電噴灑平台下檢測弱極性樣本。圖 4-11 為利用本實驗開發的線微流體電噴灑游離法於 ESI 和 Corona Discharge 同時存在的條件下，進行的弱極性樣本游離測試。圖中紅色與藍色的線分別代表正常 ESI 模式與 ESI with Corona Discharge 模式偵測濃度為 10 mM 的維他命 D2 之質譜訊號，可以從紅色的訊號可看出正常 ESI 模式下 (6.5×10^5 V/m)，樣

本無法被順利游離，因此只能在圖譜中看到離子濃度只有約 5×10^6 ions/cm³ 的背景訊。然而，當電場被提升至 7.0×10^5 V/m，使用 ESI with Corona Discharge 的模式偵測時，為他命 D2 的訊號峰 396.87[M]⁺ 明顯出現，代表其確實可以被聚酯纖維線電噴灑前端產生的放電現象游離。這個新發現使本研究開發的線微流體電噴灑系統，不受限於傳統電噴灑只能偵測極性樣本的特性，大幅增加其可以偵測的應用範圍。

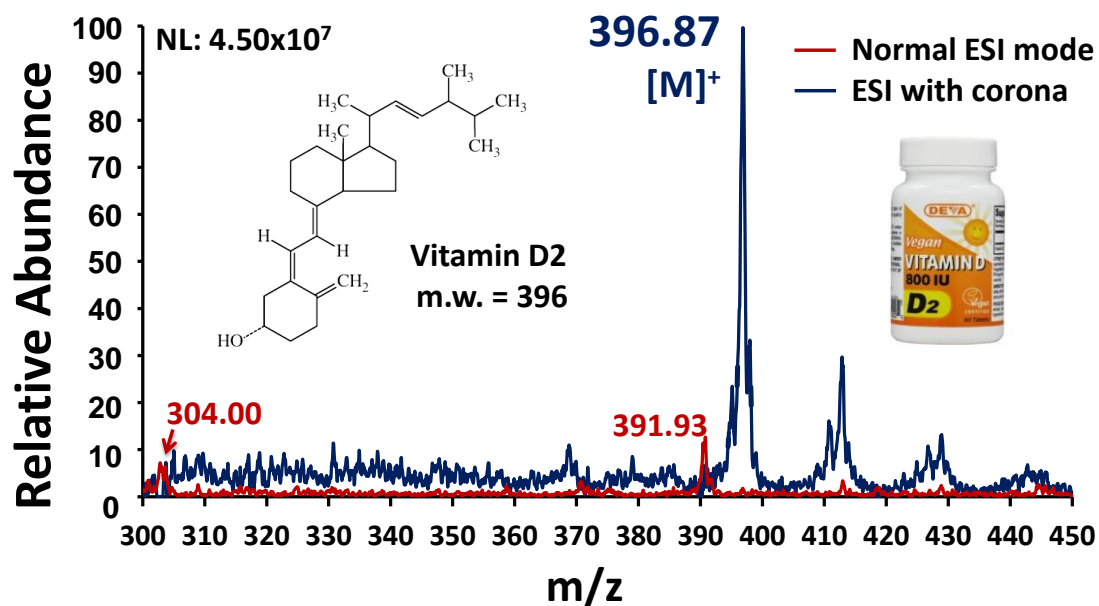


圖 4-11 弱極性樣本-維他命 D2 質譜偵測圖。圖中紅色與藍色的線分別代表正常電噴灑模式與電暈輔助電噴灑模式下偵測弱極性樣本 Vitamin D2 之質譜訊號。

4.4 電泳電化學結合電噴灑質譜法檢測結果

電噴灑游離質譜偵測的優點很多，如高靈敏度、高辨識能力、分析對象範圍廣泛等等，絕大部分都樣本分析都可以透過質譜來實現，而若要進一步提高質譜的分析能力，一般只會在其前端整合樣本分離技術。然而，針對分子量極低的金屬陽離子，電噴灑游離質譜法的偵測能力卻很差。依照電噴灑的原理，金屬陽離子不需要與其他離子結合或電荷轉移，直接被噴灑出後進到質譜儀即可偵測，但是由於質譜低分子量區段的雜訊非常多，偵測金屬陽離子變得非常困難，通常必須要使用複雜試劑來螯合(Chelating)才能偵測[100]。因此，本實驗嘗試將前人開發的聚酯纖維線電泳電化學偵測法，整合於直線型的線微流體電噴灑架構，達到重複偵測與互補偵測的功效。圖 4-13 為整合電泳電化學與電噴灑游離質譜法，針對生醫樣本 DA 與 AA 的混合溶液偵測結果，其目的除了可以檢視樣本聚焦技術使用於直線型流道的電泳分離成效，亦可以確認透過聚酯纖維線整合電化學與質譜分析的可行性。本實驗偵測的 DA 與 AA 樣本濃度皆為 10 mM，使用的電泳分離電場強度為 5×10^4 V/m，分離距離為 3 cm，施加的樣本體積為 0.2 μ L。電化學偵測的方法選用安培偵測法，設定的電位為 -0.7 V；電噴灑游離的電場強度為 6.5×10^5 V/m，質荷比掃描範圍為 100 ~ 200。從電泳電化學檢測的結果(圖 4-13(A))可以看出，直線型線微流體系統即便應用於電化學偵測也是可行的，DA 與 AA 樣本確實被分離與偵測，DA 與 AA 的反應電流值分別有 115 nA 與 85 nA。從兩個質譜分析訊號的結果同樣可以看出 DA 與 AA 的分離，圖 4-13(B)為多巴胺的訊號，其分子量為 153 g/mol，產生 $[M+H]^+$ 與 $[M-NH_2]^+$ 碎片離子的訊號，而圖 4-13(C)為抗壞血酸之 $[M+H]^+$ 的訊號，其分子量為 176 g/mol。DA 與 AA 皆可以透過電化學與質譜的方法測到，因此可以透過這兩種方法進行樣本的重複檢測，做進一步的成分確認。

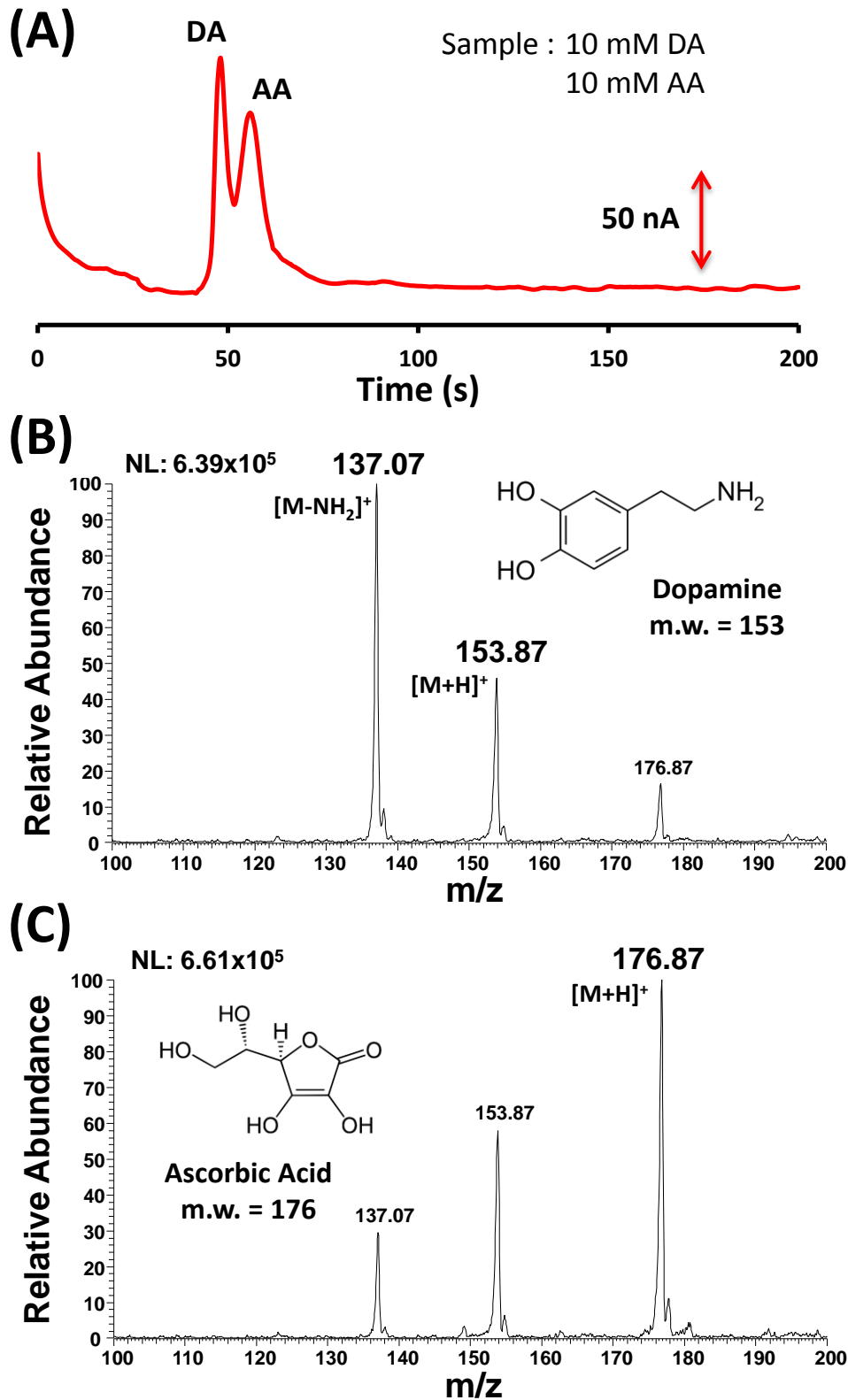


圖 4-12 整合電泳電化學與電噴灑於生醫樣本之檢測。DA 與 AA 之混合樣本經過電泳電化學偵測後，再利用電噴灑游離質譜法進行分析，兩個檢測結果可以相互對照，達到雙重確認的功能。

在天然樣本或食品樣本的成分當中，含有許多複雜的成分，其中分別有電化學或質譜無法偵測的物質，因此將電化學與質譜搭配，達到互補的功能，對於成分組成非常多樣之樣本的分析有非常大的潛力。由 DA 與 AA 的電化學與質譜偵測結果，得知直線型線微流體系統整合不同檢測方式的可行性之後，本實驗進一步利用複雜組成的食品樣本，驗證電化學偵測與電噴灑游離偵測搭配的效能。圖 4-14 為線微流體系統針對市售運動飲料的偵測結果，圖 4-14(A)為電化學安培偵測，圖 4-14(B)為電噴灑游離質譜偵測。舒跑樣本不經過前處理直接分離與檢測，電泳分離電場強度為 5×10^4 V/m，分離距離為 3 cm，施加的樣本體積為 0.2 μ L；電化學偵測設定的電位為 +0.6 V，而電噴灑游離之電場強度為 6.5×10^5 V/m，質譜偵測之質荷比掃描範圍為 100 ~ 500。從圖 4-14(A)之安培偵測結果可以看出，舒跑成分中的鉀(K^+)、鈣(Ca^{2+})、鎂(Mg^{2+})、鈉(Na^+)等金屬陽離子成功被偵測到，但是這些離子的分子量太低，難以透過電噴灑游離質譜法偵測。然而，其他的成分如葡萄糖(Glucose)、蔗糖(Sucrose)、維他命 C(Vitamin C)等，可以輕易透過質譜法檢測。這些質譜可以偵測的成分當中，亦有許多成分電化學活性很低，或是必須透過酵素反應才能被電化學偵測到的(ex. 葡萄糖)。以上結果表示，本實驗透過將電泳電化學與電噴灑游離質譜偵測結合，能夠大幅增加線微流體系統可以偵測的樣本範圍，例如分子量過低的成分可以透過電化學檢測，而較無電化學活性的物質則可以利用電噴灑游離質譜法來分析。雖然直線型流道的進樣量受到限制，使其電泳分離效能不比十字型的流道，但除了簡單化架構與操作流程外，與電噴灑游離質譜法的整合反而使線微流體的靈敏度、檢測範圍與分析物分辨能力大幅提升。

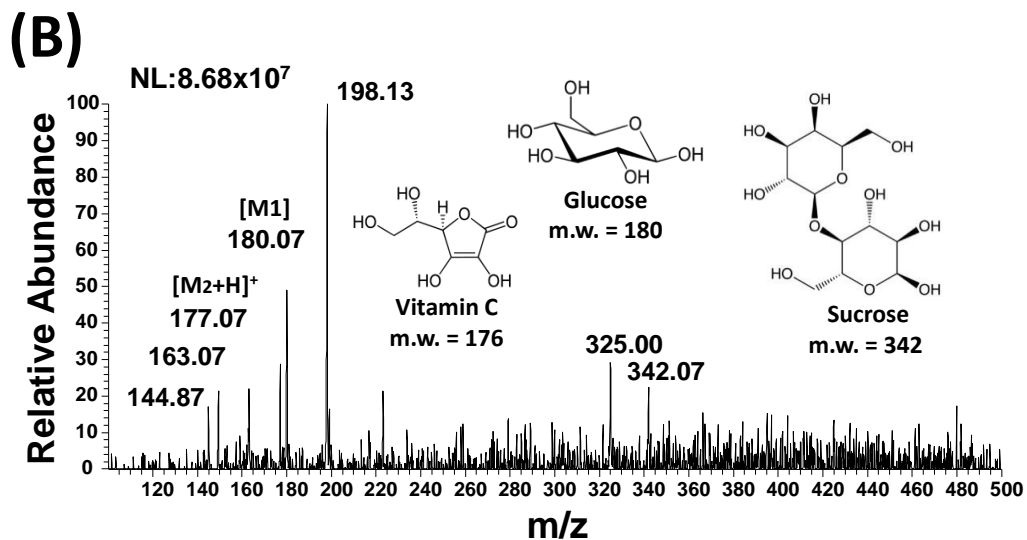
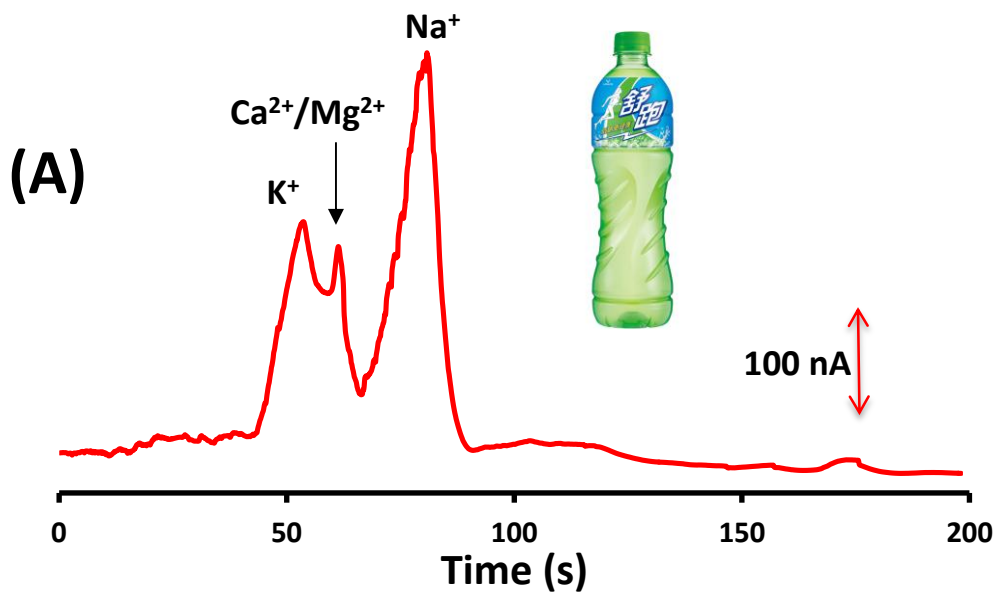


圖 4-13 整合電泳電化學與電噴灑於食品樣本之檢測。市售運動飲料樣本的組成物質非常複雜，其中的金屬陽離子可以透過電化學檢測，而分子量相對較大的糖類分子可以簡易得透過電噴灑質譜法偵測。透過兩種檢測方法的搭配，本系統的偵測效能大幅增加。

第五章 結論與未來展望

5.1 結論

本研究所開發的改良型線微流體系統，成功地利用直線型流道設計取代前人研究之十字型，將複雜的樣本操作步驟大幅簡化，藉以提升檢測的速度。此外，欲分析的樣本可以直接透過 Pipette 滴取於線上任何位置，實驗操作的自由度非常高，另外可以依照樣本不同的需求選擇電泳分離的長度。本研究為了改善直線型流道樣本注入體積之限制，開發線上樣本聚焦技術，此技術不需要任何額外儀器設備的使用，或是複雜的設計與操作，只透過聚酯纖維線自然的毛細現象即可完成。本實驗分別利用影像與電化學偵測訊號，判別線上樣本聚焦技術的效果，與其相對應的電泳效能。影像分析結果顯示，經過聚焦過後樣本塊的長度可以被縮小為原本展開長度的 38%。此外，本研究透過檢測氧化還原標準樣本赤血鹽，發現經由樣本聚焦過後，電化學偵測到之訊號寬度也縮小了三倍，而氧化還原響應電流值與理論板數值也相對應的提升了 2.7 倍與 2.8 倍。


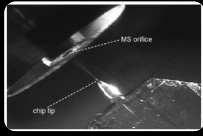
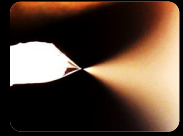
另外，本研究利用簡單的夾具設計夾住聚酯纖維線的其中一端，使其產生開放式的噴嘴形狀，再將其完全濕潤後施加高電壓，形成電噴灑游離。實驗結果顯示，聚酯纖維線游離的長時間穩定度非常好，在電場為 6.5×10^5 V/m 的強度下，可以穩定超過 30 min，並維持 10^9 ions/cm³ 的高總離子強度。本研究初步透過檢測咖啡因與市售眼藥水樣本，檢驗游離的效能，發現本系統針對一般極性的樣本有很好的分析能力。透過檢測能量飲料 Red Bull 也證實，本系統簡單透過電泳分離樣本後，即可針對成份組成複雜之樣本有效偵測。本研究亦檢測維他命 D2 標準樣本，證明電暈放電輔助電噴灑機制可以使弱極性物質成功游離之假設，使原本無法偵測弱極性樣本的電噴灑游離法，可以大幅增加偵測對象之種類。

除此之外，本研究成功地僅利用一條聚酯纖維線，製作出第一個整合電泳電化學偵測與電噴灑游離質譜偵測的微流體晶片，並將其應用於生醫、食品樣本的分離與檢測。傳統因為製程與檢測技術匹配的困難，並不會將電泳電化學偵測與電噴灑

游離質譜偵測的功能，整合於一微晶片上，而本研究卻透過非常便宜的材料，成功將兩種檢測技術結合，並分別進行樣本檢測比對結果。將兩種檢測方法整合除了可以於每次檢測時對照兩種檢測結果，進行雙重確認外，其最大的好處是可以互補彼此之間檢測對象的限制，達到搭配檢測的功能。如本研究針對運動飲料舒跑的檢測結果，其成分中分別含有電化學活性低的大分子如葡萄糖，以及電噴灑游離難以偵測的金屬陽離子，經過兩種檢測方式的搭配後，其所有成份都可輕易被本系統偵測。

最後，表 5-1 整理了本研究所開發的系統，與一般食品或生醫檢測常使用的系統，以及玻璃和高分子微流體晶片系統的比較。表中可見，本研究開發的直線型線微流體系統，其不論在檢測成本、操作、時間花費或是重複使用等方面，皆相對於另外兩種方法有極大的優勢。此外，本研究所需的樣本消耗量也最少，也不需要針對檢測樣本進行任何前處理，整個系統不但可攜而且可拋棄，由此可見，本研究所開發的線微流體系統，對於日常食品檢測或隨身醫療照護有極大的發展潛力。

表 5-1 線微流體電噴灑晶片與一般食品或生醫檢測常用系統之比較。

Methods Items	(A)Conventional 	(B)Glass or poly chips 	(C)Thread microchip 
Cost (NTD) (Each detection)	ESI-MS \$1500↑ GC or LC-MS \$2000↑	Glass \$35-70 Poly \$1-10	1↓
Manipulation	Professional operator	Professional operator	Normal person
Detection time	5-20 min	1-2 min	1 min↓
Reuse (Contamination)	Yes	Yes	No
Sample consumption	~1-5 mL	~1-5 μL	~0.1-0.5 μL
Sample pretreatment	Yes	Less	No
Portable/ Disposable	No/No	Yes/No	Yes/Yes

5.2 未來展望

目前本研究所開發的直線型線微流體系統，結合電泳電化學與電噴灑質譜分析的方法，尚未完成連貫性的整合，僅透過分別偵測來比對結果。然而，透過實驗架構設計與實驗參數的優化，確實很有可能將兩種檢測方法於一次的樣本操作過程中完成，而這不但大幅降低檢測所需的時間外，還能一次得到非常多樣的檢測結果進行即時比對分析，更貼近低成本、高效能的檢測需求，其示意圖如圖 5-1 所示。此外，應利用多重性質的樣本檢驗線微流體系統之效能，例如同時含有生物大分子、弱極性樣本、電化學活性高的小分子等，凸顯線微流體系統偵測對象的自由度。或者利用線微流體系統，實際針對生活中遇到的食品安全問題樣本進行檢測，發展線微流體更貼近時勢的應用。

另一方面，直線型的線微流體系統有潛力做不同功能性的應用，例如一次在線上注入很多個樣本塊，做一連串的連續檢測，而這是傳統晶片非常難達成的。連續檢測在日常生活中有很多應用的需求，例如樣品的比對與大量樣本的快速偵測等等，若能於低成本的線微流體晶片上實現，必定能對 POC 檢測帶來很大的助益。

最後，實驗中發現聚酯纖維線產生電噴灑游離時，因為其能導電且微軟性材料，線頭會受到電場吸引而自動對準(Self-aligned)質譜儀入口，這是在電噴灑游離中前所未見的，非常值得深入探討。

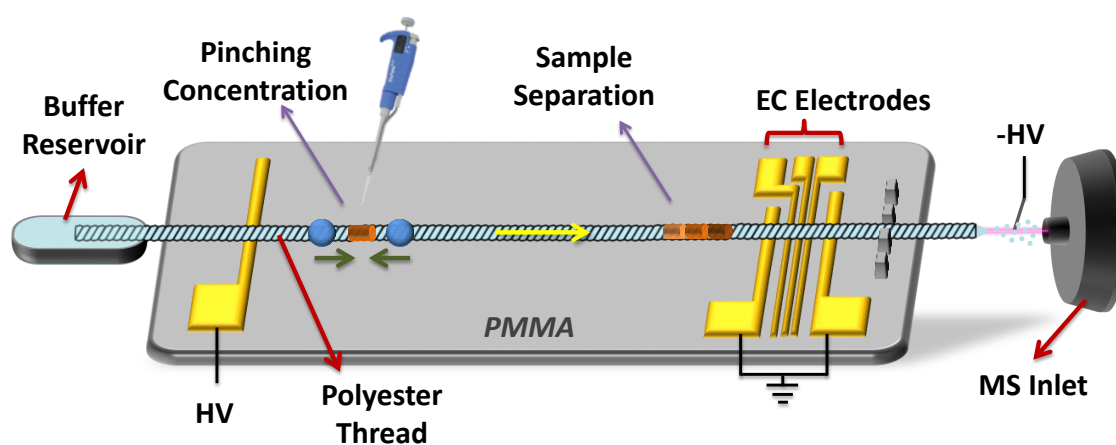


圖 5-1 線微流體電泳電化學與電噴灑游離檢測一次完成之晶片示意圖。

參考文獻

- [1] A. Manz, N. Graber, and H. á. Widmer, "Miniaturized total chemical analysis systems: a novel concept for chemical sensing," *Sensors and actuators B: Chemical*, vol. 1, pp. 244-248, 1990.
- [2] W. K. Tomazelli Coltro, C. M. Cheng, E. Carrilho, and D. P. Jesus, "Recent advances in low-cost microfluidic platforms for diagnostic applications," *Electrophoresis*, vol. 35, pp. 2309-2324, 2014.
- [3] P. Lisowski and P. K. Zarzycki, "Microfluidic paper-based analytical devices (μ PADs) and micro total analysis systems (μ TAS): development, applications and future trends," *Chromatographia*, vol. 76, pp. 1201-1214, 2013.
- [4] P. Abgrall and A. Gue, "Lab-on-chip technologies: making a microfluidic network and coupling it into a complete microsystem—a review," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 17, pp. R15-R49, 2007.
- [5] P. N. Nge, C. I. Rogers, and A. T. Woolley, "Advances in microfluidic materials, functions, integration, and applications," *Chemical Reviews*, vol. 113, pp. 2550-2583, 2013.
- [6] C. Iliescu, H. Taylor, M. Avram, J. Miao, and S. Franssila, "A practical guide for the fabrication of microfluidic devices using glass and silicon," *Biomicrofluidics*, vol. 6, p. 016505, 2012.
- [7] D. J. Laser and J. G. Santiago, "A review of micropumps," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 14, pp. R35-R64, 2004.
- [8] K. W. Oh and C. H. Ahn, "A review of microvalves," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 16, pp. R13-R39, 2006.
- [9] R. Tiggelaar, P. Van Male, J. Berenschot, J. Gardeniers, R. Oosterbroek, M. De Croon, J. Schouten, A. Van Den Berg, and M. Elwenspoek, "Fabrication of a high-temperature microreactor with integrated heater and sensor patterns on an ultrathin silicon membrane," *Sensors and Actuators A: Physical*, vol. 119, pp. 196-205, 2005.
- [10] D. J. Harrison, K. Fluri, K. Seiler, Z. Fan, C. S. Effenhauser, and A. Manz, "Micromachining a miniaturized capillary electrophoresis-based chemical analysis system on a chip," *Science*, vol. 261, pp. 895-895, 1993.
- [11] C. J. Easley, J. A. Humphrey, and J. P. Landers, "Thermal isolation of microchip reaction chambers for rapid non-contact DNA amplification," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 17, pp. 1758-1766, 2007.
- [12] C. H. Lin, G. B. Lee, Y. H. Lin, and G. L. Chang, "A fast prototyping process for fabrication of microfluidic systems on soda-lime glass," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 11, pp. 726-732, 2001.
- [13] D. C. Duffy, J. C. McDonald, O. J. Schueller, and G. M. Whitesides, "Rapid

prototyping of microfluidic systems in poly (dimethylsiloxane)," *Analytical Chemistry*, vol. 70, pp. 4974-4984, 1998.

[14] J. S. Rossier and H. H. Girault, "Enzyme linked immunosorbent assay on a microchip with electrochemical detection," *Lab on a Chip*, vol. 1, pp. 153-157, 2001.

[15] X. Jiang, J. M. Ng, A. D. Stroock, S. K. Dertinger, and G. M. Whitesides, "A miniaturized, parallel, serially diluted immunoassay for analyzing multiple antigens," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 125, pp. 5294-5295, 2003.

[16] A. Y. Fu, H. P. Chou, C. Spence, F. H. Arnold, and S. R. Quake, "An integrated microfabricated cell sorter," *Analytical Chemistry*, vol. 74, pp. 2451-2457, 2002.

[17] X. Chen, H. Wu, C. Mao, and G. M. Whitesides, "A prototype two-dimensional capillary electrophoresis system fabricated in poly (dimethylsiloxane)," *Analytical Chemistry*, vol. 74, pp. 1772-1778, 2002.

[18] P. S. Doyle, J. Bibette, A. Bancaud, and J.-L. Viovy, "Self-assembled magnetic matrices for DNA separation chips," *Science*, vol. 295, pp. 2237-2237, 2002.

[19] R. Müller and D. L. Clegg, "Automatic paper chromatography," *Analytical Chemistry*, vol. 21, pp. 1123-1125, 1949.

[20] A. W. Martinez, S. T. Phillips, M. J. Butte, and G. M. Whitesides, "Patterned paper as a platform for inexpensive, low-volume, portable bioassays," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 46, pp. 1318-1320, 2007.

[21] S. A. Klasner, A. K. Price, K. W. Hoeman, R. S. Wilson, K. J. Bell, and C. T. Culbertson, "Paper-based microfluidic devices for analysis of clinically relevant analytes present in urine and saliva," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 397, pp. 1821-1829, 2010.

[22] E. Carrilho, A. W. Martinez, and G. M. Whitesides, "Understanding wax printing: a simple micropatterning process for paper-based microfluidics," *Analytical Chemistry*, vol. 81, pp. 7091-7095, 2009.

[23] Y. Lu, W. Shi, L. Jiang, J. Qin, and B. Lin, "Rapid prototyping of paper-based microfluidics with wax for low-cost, portable bioassay," *Electrophoresis*, vol. 30, pp. 1497-1500, 2009.

[24] K. Abe, K. Suzuki, and D. Citterio, "Inkjet-printed microfluidic multianalyte chemical sensing paper," *Analytical Chemistry*, vol. 80, pp. 6928-6934, 2008.

[25] E. M. Fenton, M. R. Mascarenas, G. P. López, and S. S. Sibbett, "Multiplex lateral-flow test strips fabricated by two-dimensional shaping," *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 1, pp. 124-129, 2008.

[26] A. W. Martinez, S. T. Phillips, and G. M. Whitesides, "Three-dimensional microfluidic devices fabricated in layered paper and tape," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 105, pp. 19606-19611, 2008.

[27] A. W. Martinez, S. T. Phillips, E. Carrilho, S. W. Thomas III, H. Sindi, and G. M.

Whitesides, "Simple telemedicine for developing regions: camera phones and paper-based microfluidic devices for real-time, off-site diagnosis," *Analytical Chemistry*, vol. 80, pp. 3699-3707, 2008.

[28] W. Dungchai, O. Chailapakul, and C. S. Henry, "Electrochemical detection for paper-based microfluidics," *Analytical Chemistry*, vol. 81, pp. 5821-5826, 2009.

[29] Z. Nie, F. Deiss, X. Liu, O. Akbulut, and G. M. Whitesides, "Integration of paper-based microfluidic devices with commercial electrochemical readers," *Lab on a Chip*, vol. 10, pp. 3163-3169, 2010.

[30] X. Li, J. Tian, and W. Shen, "Thread as a versatile material for low-cost microfluidic diagnostics," *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 2, pp. 1-6, 2009.

[31] M. Reches, K. A. Mirica, R. Dasgupta, M. D. Dickey, M. J. Butte, and G. M. Whitesides, "Thread as a matrix for biomedical assays," *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 2, pp. 1722-1728, 2010.

[32] D. R. Ballerini, X. Li, and W. Shen, "An inexpensive thread-based system for simple and rapid blood grouping," *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, vol. 399, pp. 1869-1875, 2011.

[33] A. Nilghaz, D. R. Ballerini, X. Y. Fang, and W. Shen, "Semiquantitative analysis on microfluidic thread-based analytical devices by ruler," *Sensors and actuators B: Chemical*, vol. 191, pp. 586-594, 2014.

[34] G. Zhou, X. Mao, and D. Juncker, "Immunochromatographic assay on thread," *Analytical Chemistry*, vol. 84, pp. 7736-7743, 2012.

[35] S. S. Banerjee, A. Roychowdhury, N. Taneja, R. Janrao, J. Khandare, and D. Paul, "Chemical synthesis and sensing in inexpensive thread-based microdevices," *Sensors and actuators B: Chemical*, vol. 186, pp. 439-445, 2013.

[36] Y. A. Yang, C. H. Lin, and Y. C. Wei, "Thread-based microfluidic system for detection of rapid blood urea nitrogen in whole blood," *Microfluidics and Nanofluidics*, vol. 16, pp. 887-894, 2014.

[37] Y. C. Wei, L. M. Fu, and C. H. Lin, "Electrophoresis separation and electrochemical detection on a novel thread-based microfluidic device," *Microfluidics and Nanofluidics*, vol. 14, pp. 723-730, 2013.

[38] F. F. Reuss, "Sur un nouvel effet de l'électricité galvanique," *Mem. Soc. Imp. Natur. Moscou*, vol. 2, pp. 327-337, 1809.

[39] A. Tiselius, "A new apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixtures," *Transactions of the Faraday Society*, vol. 33, pp. 524-531, 1937.

[40] S. Hjertén, "Free zone electrophoresis," *Chromatographic Reviews*, vol. 9, pp. 122-219, 1967.

[41] R. Virtanen, "Zone electrophoresis in a narrow-bore tube employing potentiometric detection-Theoretical and experimental study," *Acta Polytechnica Scandinavica:*

Chemical Technology Series, pp. 1-67, 1974.

- [42] J. W. Jorgenson and K. Lukacs, "Free-zone electrophoresis in glass capillaries," *American Association for Clinical Chemistry*, vol. 27, pp. 1551-1553, 1981.
- [43] J. W. Jorgenson and K. D. Lukacs, "High-resolution separations based on electrophoresis and electroosmosis," *Journal of Chromatography A*, vol. 218, pp. 209-216, 1981.
- [44] J. W. Jorgenson and K. D. Lukacs, "Zone electrophoresis in open-tubular glass capillaries," *Analytical Chemistry*, vol. 53, pp. 1298-1302, 1981.
- [45] A. Lewis, A. Cranny, N. Harris, N. G. Green, J. A. Wharton, R. Wood, and K. R. Stokes, "Review on the development of truly portable and in-situ capillary electrophoresis systems," *Measurement Science and Technology*, vol. 24, p. 042001, 2013.
- [46] A. T. Woolley and R. A. Mathies, "Ultra-high-speed DNA fragment separations using microfabricated capillary array electrophoresis chips," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 91, pp. 11348-11352, 1994.
- [47] N. A. Lacher, K. E. Garrison, R. S. Martin, and S. M. Lunte, "Microchip capillary electrophoresis/electrochemistry," *Electrophoresis*, vol. 22, pp. 2526-2536, 2001.
- [48] C. S. Effenhauser, G. J. Bruin, and A. Paulus, "Integrated chip-based capillary electrophoresis," *Electrophoresis*, vol. 18, pp. 2203-2213, 1997.
- [49] G. S. Fiorini and D. T. Chiu, "Disposable microfluidic devices: fabrication, function, and application," *BioTechniques*, vol. 38, pp. 429-446, 2005.
- [50] S. A. Klasner, E. C. Metto, G. T. Roman, and C. T. Culbertson, "Synthesis and characterization of a poly (dimethylsiloxane)– poly (ethylene oxide) block copolymer for fabrication of amphiphilic surfaces on microfluidic devices," *Langmuir*, vol. 25, pp. 10390-10396, 2009.
- [51] L. E. Locascio, C. E. Perso, and C. S. Lee, "Measurement of electroosmotic flow in plastic imprinted microfluidic devices and the effect of protein adsorption on flow rate," *Journal of Chromatography A*, vol. 857, pp. 275-284, 1999.
- [52] Y. Liu, D. Ganser, A. Schneider, R. Liu, P. Grodzinski, and N. Kroutchinina, "Microfabricated polycarbonate CE devices for DNA analysis," *Analytical Chemistry*, vol. 73, pp. 4196-4201, 2001.
- [53] H. Shadpour, H. Musyimi, J. Chen, and S. A. Soper, "Physicochemical properties of various polymer substrates and their effects on microchip electrophoresis performance," *Journal of Chromatography A*, vol. 1111, pp. 238-251, 2006.
- [54] G. S. Fiorini, R. M. Lorenz, J. S. Kuo, and D. T. Chiu, "Rapid prototyping of thermoset polyester microfluidic devices," *Analytical Chemistry*, vol. 76, pp. 4697-4704, 2004.
- [55] M. Dole, L. Mack, R. Hines, R. Mobley, L. Ferguson, and M. d. Alice, "Molecular beams of macroions," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 49, pp. 2240-2249, 1968.

- [56] M. Yamashita and J. B. Fenn, "Electrospray ion source. Another variation on the free-jet theme," *The Journal of Physical Chemistry*, vol. 88, pp. 4451-4459, 1984.
- [57] Y. R. Chen, K. C. Wen, and G. R. Her, "Analysis of coptisine, berberine and palmatine in adulterated Chinese medicine by capillary electrophoresis–electrospray ion trap mass spectrometry," *Journal of Chromatography A*, vol. 866, pp. 273-280, 2000.
- [58] J. F. Banks, "Recent advances in capillary electrophoresis/electrospray/mass spectrometry," *Electrophoresis*, vol. 18, pp. 2255-2266, 1997.
- [59] P. L. Ferguson, C. R. Iden, A. E. McElroy, and B. J. Brownawell, "Determination of steroid estrogens in wastewater by immunoaffinity extraction coupled with HPLC-electrospray-MS," *Analytical Chemistry*, vol. 73, pp. 3890-3895, 2001.
- [60] Q. Xue, F. Foret, Y. M. Dunayevskiy, P. M. Zavracky, N. E. McGruer, and B. L. Karger, "Multichannel microchip electrospray mass spectrometry," *Analytical Chemistry*, vol. 69, pp. 426-430, 1997.
- [61] B. Zhang, H. Liu, B. Karger, and F. Foret, "Microfabricated devices for capillary electrophoresis-electrospray mass spectrometry," *Analytical Chemistry*, vol. 71, pp. 3258-3264, 1999.
- [62] J. Kameoka, H. G. Craighead, H. Zhang, and J. Henion, "A polymeric microfluidic chip for CE/MS determination of small molecules," *Analytical Chemistry*, vol. 73, pp. 1935-1941, 2001.
- [63] J. Mellors, V. Gorbounov, R. Ramsey, and J. Ramsey, "Fully integrated glass microfluidic device for performing high-efficiency capillary electrophoresis and electrospray ionization mass spectrometry," *Analytical Chemistry*, vol. 80, pp. 6881-6887, 2008.
- [64] M. Svedberg, M. Veszelei, J. Axelsson, M. Vangbo, and F. Nikolajeff, "Poly (dimethylsiloxane) microchip: microchannel with integrated open electrospray tip," *Lab on a Chip*, vol. 4, pp. 322-327, 2004.
- [65] S. Thorslund, P. Lindberg, P. E. André, F. Nikolajeff, and J. Bergquist, "Electrokinetic - driven microfluidic system in poly (dimethylsiloxane) for mass spectrometry detection integrating sample injection, capillary electrophoresis, and electrospray emitter on-chip," *Electrophoresis*, vol. 26, pp. 4674-4683, 2005.
- [66] P. Hoffmann, U. Häusig, P. Schulze, and D. Belder, "Microfluidic glass chips with an integrated nanospray emitter for coupling to a mass spectrometer," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 46, pp. 4913-4916, 2007.
- [67] R. Ramsey and J. Ramsey, "Generating electrospray from microchip devices using electroosmotic pumping," *Analytical Chemistry*, vol. 69, pp. 1174-1178, 1997.
- [68] Q. Xue, Y. M. Dunayevskiy, F. Foret, and B. L. Karger, "Integrated multichannel microchip electrospray ionization mass spectrometry: analysis of peptides from on-chip tryptic digestion of melittin," *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, vol. 11, pp.

1253-1256, 1997.

[69] D. Figeys, Y. Ning, and R. Aebersold, "A microfabricated device for rapid protein identification by microelectrospray ion trap mass spectrometry," *Analytical Chemistry*, vol. 69, pp. 3153-3160, 1997.

[70] N. H. Bings, C. Wang, C. D. Skinner, C. L. Colyer, P. Thibault, and D. J. Harrison, "Microfluidic devices connected to fused-silica capillaries with minimal dead volume," *Analytical Chemistry*, vol. 71, pp. 3292-3296, 1999.

[71] Y. Tachibana, K. Otsuka, S. Terabe, A. Arai, K. Suzuki, and S. Nakamura, "Robust and simple interface for microchip electrophoresis–mass spectrometry," *Journal of Chromatography A*, vol. 1011, pp. 181-192, 2003.

[72] B. Legrand, A. E. Ashcroft, L. Buchailot, and S. Arscott, "SOI-based nanoelectrospray emitter tips for mass spectrometry: a coupled MEMS and microfluidic design," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 17, pp. 509-514, 2007.

[73] W. Kim, M. Guo, P. Yang, and D. Wang, "Microfabricated monolithic multinozzle emitters for nanoelectrospray mass spectrometry," *Analytical Chemistry*, vol. 79, pp. 3703-3707, 2007.

[74] A. P. Dahlin, M. Wetterhall, G. Liljegren, S. K. Bergström, P. André, L. Nyholm, K. E. Markides, and J. Bergquist, "Capillary electrophoresis coupled to mass spectrometry from a polymer modified poly (dimethylsiloxane) microchip with an integrated graphite electrospray tip," *Analyst*, vol. 130, pp. 193-199, 2005.

[75] S. Ohla and D. Belder, "Chip-based separation devices coupled to mass spectrometry," *Current Opinion in Chemical Biology*, vol. 16, pp. 453-459, 2012.

[76] J. Liu, H. Wang, N. E. Manicke, J.-M. Lin, R. G. Cooks, and Z. Ouyang, "Development, characterization, and application of paper spray ionization," *Analytical Chemistry*, vol. 82, pp. 2463-2471, 2010.

[77] H. Wang, J. Liu, R. G. Cooks, and Z. Ouyang, "Paper spray for direct analysis of complex mixtures using mass spectrometry," *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 122, pp. 889-892, 2010.

[78] R. G. Cooks, N. E. Manicke, A. L. Dill, D. R. Ifa, L. S. Eberlin, A. B. Costa, H. Wang, G. Huang, and Z. Ouyang, "New ionization methods and miniature mass spectrometers for biomedicine: DESI imaging for cancer diagnostics and paper spray ionization for therapeutic drug monitoring," *Faraday Discussions*, vol. 149, pp. 247-267, 2011.

[79] Z. Zhang, R. G. Cooks, and Z. Ouyang, "Paper spray: a simple and efficient means of analysis of different contaminants in foodstuffs," *Analyst*, vol. 137, pp. 2556-2558, 2012.

[80] N. E. Manicke, Q. Yang, H. Wang, S. Oradu, Z. Ouyang, and R. G. Cooks, "Assessment of paper spray ionization for quantitation of pharmaceuticals in blood

- spots," *International Journal of Mass Spectrometry*, vol. 300, pp. 123-129, 2011.
- [81] N. E. Manicke, P. Abu Rabie, N. Spooner, Z. Ouyang, and R. G. Cooks, "Quantitative analysis of therapeutic drugs in dried blood spot samples by paper spray mass spectrometry: an avenue to therapeutic drug monitoring," *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, vol. 22, pp. 1501-1507, 2011.
- [82] L. Shen, J. Zhang, Q. Yang, N. E. Manicke, and Z. Ouyang, "High throughput paper spray mass spectrometry analysis," *Clinica Chimica Acta*, vol. 420, pp. 28-33, 2013.
- [83] G. Tepper and R. Kessick, "Nanoelectrospray aerosols from microporous polymer wick sources," *Applied Physics Letters*, vol. 94, p. 084106, 2009.
- [84] L. T. Cherney, "Structure of Taylor cone-jets: limit of low flow rates," *Journal of Fluid Mechanics*, vol. 378, pp. 167-196, 1999.
- [85] P. R. Chiarot, P. Sullivan, and R. B. Mrad, "Electrospray from a droplet," *Experimental Thermal and Fluid Science*, vol. 37, pp. 184-188, 2012.
- [86] 陳進來, "聚酯纖維於絲織業的應用情形," *絲織園地*, vol. 77, pp. 66-76, 2011.
- [87] A. Wrobel, M. Kryszewski, W. Rakowski, M. Okoniewski, and Z. Kubacki, "Effect of plasma treatment on surface structure and properties of polyester fabric," *Polymer*, vol. 19, pp. 908-912, 1978.
- [88] T. Costa, M. Feitor, C. Alves, P. Freire, and C. De Bezerra, "Effects of gas composition during plasma modification of polyester fabrics," *Journal of Materials Processing Technology*, vol. 173, pp. 40-43, 2006.
- [89] N. Wang, A. Zha, and J. Wang, "Study on the wicking property of polyester filament yarns," *Fibers and Polymers*, vol. 9, pp. 97-100, 2008.
- [90] R. Safavieh, G. Z. Zhou, and D. Juncker, "Microfluidics made of yarns and knots: from fundamental properties to simple networks and operations," *Lab on a Chip*, vol. 11, pp. 2618-2624, 2011.
- [91] D. J. Harrison, A. Manz, Z. Fan, H. Luedi, and H. M. Widmer, "Capillary electrophoresis and sample injection systems integrated on a planar glass chip," *Analytical Chemistry*, vol. 64, pp. 1926-1932, 1992.
- [92] D. S. Burgi and R. L. Chien, "Optimization in sample stacking for high-performance capillary electrophoresis," *Analytical Chemistry*, vol. 63, pp. 2042-2047, 1991.
- [93] L. M. Fu, R. J. Yang, and G. B. Lee, "Electrokinetic focusing injection methods on microfluidic devices," *Analytical Chemistry*, vol. 75, pp. 1905-1910, 2003.
- [94] J. Iribarne and B. Thomson, "On the evaporation of small ions from charged droplets," *The Journal of Chemical Physics*, vol. 64, pp. 2287-2294, 1976.
- [95] M. E. Hail and I. C. Mylchreest, "Electrospray ion source and interface apparatus and method," vol. U.S. Patent 5,393,975, Feb. 28, 1995.
- [96] A. Jaworek, A. Sobczyk, T. Czech, and A. Krupa, "Corona discharge in electro spraying," *Journal of Electrostatics*, vol. 72, pp. 166-178, 2014.

- [97] K. Tang and A. Gomez, "Generation of monodisperse water droplets from electrospays in a corona-assisted cone-jet mode," *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 175, pp. 326-332, 1995.
- [98] J. R. Lloyd and S. Hess, "A corona discharge initiated electrochemical electro spray ionization technique," *Journal of the American Society for Mass Spectrometry*, vol. 20, pp. 1988-1996, 2009.
- [99] Y. C. Lin, W. M. Wu, and C. S. Fan, "Design and simulation of sample pinching utilizing microelectrodes in capillary electrophoresis microchips," *Lab on a Chip*, vol. 4, pp. 60-64, 2004.
- [100] E. Dodbiba, C. Xu, E. Wanigasekara, and D. W. Armstrong, "Sensitive analysis of metal cations in positive ion mode electro spray ionization mass spectrometry using commercial chelating agents and cationic ion-pairing reagents," *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, vol. 26, pp. 1005-1013, 2012.

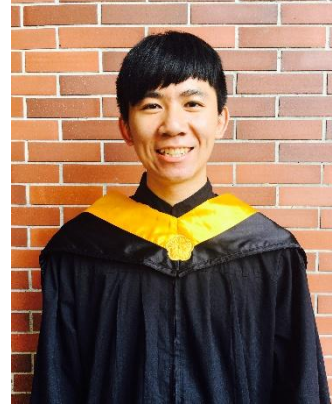
自述

姓名：林哲緯 (Che-Wei, Lin)

出生日期：1992/8/20

性別：男

電子信箱：m033020033@student.nsysu.edu.tw



學歷：

國立中山大學 機械與機電工程研究所 碩士 2014/09~2016/06

國立中山大學 機械與機電工程學系 學士 2010/09~2014/06

發表著作：

國際研討會

1. **Che-Wei Lin**, Che-Hsin Lin, “Capillary electrophoresis and electrospray ionization on a single-thread microfluidic system for rapid mass spectrometry detection,” IEEE 29th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS 2016), Shanghai, China, January, 2016

國內期刊

1. **林哲緯**, 林哲信, “創新線微流體系統於生醫檢測之應用 (Novel thread-based microfluidic systems for bioanalytical applications),” *科儀新知*, vol. 206, pp. 46-58, 2016

國內研討會

1. **林哲緯**, 林哲信, “創新可聚焦線微流體系統整合電泳電化學及電噴灑游離質譜偵測法,” 第十九屆奈米工程暨微系統技術研討會 (*Micro & Nano System Technology Conference –NMC*), 台北, 台灣, 八月, 2015
2. **林哲緯**, 林哲信, “創新線微流體系統整合電噴灑游離質譜偵測於食品檢測之應

- 用,” 第七屆生物醫學工程科技研討會暨科技部醫學工程學門成果發表會, 台北, 台灣, 十一月, 2015
3. **Che-Wei Lin**, Che-Hsin Lin, “Novel Single-Thread Microfluidic System Integrate Capillary Electrophoresis with Electrospray Mass Spectrometry,” *Conference on Precision Machinery and Manufacturing Technology (PMMT 2014)*, Kenting, Pingtung, May, 2016
 4. **林哲緯**, 翁琳凱, 林哲信, “線微流體電泳系統於雙模式電噴灑游離質譜法針對食品安全之應用,” 第二十一屆台灣化學感測器科技研討會(SACST 2016), 台中, 台灣, 五月, 2016
 5. **林哲緯**, 林哲信, “直線型線微流體系統結合線上樣本聚焦技術與電泳電化學生醫檢測,” 第二十三屆全國計算流體力學學術研討會(*The 23rd National Computational Fluid Dynamics Conference, NCFD23*), 高雄, 台灣, 八月, 2016