



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

可換式模組化線微流體晶片於電泳電化學分析

與質譜偵測應用

Replaceable Modularized Thread-based Microfluidic Chip for

Electrochemical Capillary Electrophoresis (ECCE) Analyses

and Mass Spectrometry (MS) Detection

研究生：劉柏輝 撰

Po-Hui Liu

指導教授：林哲信 教授

Dr. Che-Hsin Lin

中華民國 108 年 7 月

July 2019

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

研究生劉柏輝（學號：M063020025）所提論文

可換式模組化線微流體晶片於電泳電化學分析與質譜偵測應用
Replaceable modularized thread-based microfluidic chip for electrochemical
capillary electrophoresis (ECCE) analyses and mass spectrometry (MS)
detection

於中華民國 108 年 7 月 26 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 傅龍明 委 員 林哲信 林哲信
委 員 楊閔蔚 楊閔蔚 委 員 朱訓鵬 朱訓鵬
委 員 莊承鑫 莊承鑫 委 員 _____

指導教授(林哲信) 林哲信 (簽名)

論文授權書

2019/8/20

國立中山大學博碩士論文公開授權書

國立中山大學博碩士論文公開授權書



etd-0713119-134150

2019-08-20 18:53:17

本授權書所授權之論文為授權人劉柏輝在國立中山大學機械與機電工程學系研究所107學年度第2學期取得碩士學位之論文。

論文題目：可換式模組化線微流體晶片於電泳電化學分析與質譜偵測應用

指導教授：林哲信

注意事項：

1. 依本校102年1月9日101學年度第1學期第10次行政會議通過，研究所畢業生可於上傳電子論文時自行選擇紙本及電子檔開放年限。
2. 因專利申請涉及論文公開時間，為避免因喪失新穎性而無法申請專利，請各位老師及同學上網參考「專利各項申請案件處理時限表」(網址路徑：經濟部智慧財產局→專利→專利情報通→專利處理時限)後再選定論文公開時間。
另有關著作權相關資訊，請參考「經濟部著作權專區」(網址路徑：經濟部智慧財產局→著作權)。
若尚有任何專利申請與著作權等相關問題，歡迎洽詢本校產學營運中心智財技轉組，分機2626。
3. 授權書一式兩份，經本人及指導教授共同簽名後，將論文公開授權書裝訂於審定書之後，辦理畢業離校時，除繳交一本論文至圖書館外，另一本繳交至教務處註冊組。

電子檔： 此項授權同意以非專屬、無償方式授權予本校圖書館，不限地域、時間與次數，以微縮、光碟或數位化方式將論文全文(含摘要)進行重製，及公開傳輸。亦提供讀者非營利使用線上檢索、閱覽、下載或列印。

立即公開傳輸數位檔案。

因特殊原因，校內請於5年後公開、校外(含國家圖書館)請於5年後將論文公開或上傳網路公開閱覽。

※ 論文電子檔公開日期：校內民國113年08月13日，校外(含國家圖書館)民國113年08月13日。

紙本論文： 此項授權同意以非專屬、無償方式授權予本校圖書館，不限地域、時間與次數，以紙本方式將論文全文(含摘要)進行收錄、重製與利用；於著作權法合理使用範圍內，讀者得進行閱覽或列印。


同意立即公開。

因特殊原因，欲延後公開，請於5年後公開陳覽

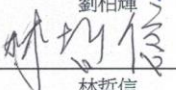
※ 紙本論文公開日期：民國113年08月13日。

授權人：劉柏輝

學號：M063020025

授權人：  (簽章)

劉柏輝

指導教授：  (簽章)

林哲信

中華民國 108 年 08 月 21 日

※ 此授權書嚴禁塗改

- 若欲修改權限，請登入系統修改後重新列印此授權書。
- 若論文已審核通過，請聯繫etd@mail.nsysu.edu.tw或校內分機2452，修改後重新列印並簽章。
- 授權書將自動列印兩份。請於圖書館和教務處辦理離校手續時，裝訂於繳交的紙本論文內。

致謝

兩年的研究所生涯一轉眼即過，在生活、研究的過程中遇見了許許多多的貴人，給予我許多的建議和幫助。首先，我想要感謝從大學以來持續給予我指導的林哲信老師。從專題生到研究生，從制定研究方向到研究過程，老師總是訓練我們成為一名懂得思考的工程師，培養我們獨立思考、研究的能力。此外，老師也非常支持我們出國參加研討會，在兩年的歷練中非常感謝老師給予機會，讓我踏出台灣去拓展國際視野。參與國際研討會，經歷、感受學術大場面的衝擊，也讓我知道不同國家文化的差異與語言溝通的重要性。同時也感謝口試委員傅龍明老師、楊閔蔚老師、莊承鑫老師、朱訓鵬老師，於百忙之中參加學生口試並給予指導，針對學生之研究論文給予許多寶貴指正與建議，使學生的論文能夠更加完善。感謝我的父母願意讓我離鄉背井來到高雄求學，並且給予我經濟上、精神上很大的支持，謝謝總是在我背後當我的靠山，讓我無後顧之憂專心於學業。

感謝學長鄭名栩，在我剛進實驗室時教導我質譜儀相關的操作與概念，對我的研究有極大幫助。感謝實驗室助理黃鈺珊，學姊高尉馨，學長李岱恩、嚴瑋星、呂維銘、白祥廷，教導我實驗室儀器的操作，以及實驗室相關事務，也和我分享了許多心路歷程，讓我的研究能更順利進行。感謝同屆戰友許秩華、劉鎧豪、賴映榮、高嘉駿，我們在地下室總是會發生很多奇奇怪怪的事，跟各位在一起讓我很開心也很放鬆，也減少了許多研究上的煩悶。在研究上總是會互相打氣，希望各位未來能夠朝向自己喜歡的路順利前進。感謝學弟李奕頡、溫竣賢、高群智，學妹洪榆雯，總是協助處理實驗室相關雜物，口試當天給予適時的幫助，與各位相處也讓我非常開心。感謝中華民國科技部、國立中山大學提供本研究資助與出國研討會之補助。感謝黃舒瑜，雖然護理師的工作非常辛苦，還是願意給予我非常多的陪伴，忍受我有時脾氣不好，總是鼓勵我、愛我，讓我有動力再繼續向前行。最後要感謝的人太多太多了，就來感謝天吧。謝謝讓我有這麼棒的環境、老師、家人、伴侶、同學、朋友，一路上給予我扶持，我衷心感謝。

中文摘要

本研究提出用於毛細管電泳、電化學和質譜分析檢測 (CE-EC-MS) 的創新可換式模組化線微流體晶片，並將其應用於食品和生醫樣本之分析。此外本研究開發之可換式電極，透過 3D 列印技術和真空濺鍍技術製作而成。其成本低廉、可大量生產且大幅減少製作的時間與複雜製程。利於發展為拋棄式模組化檢測裝置。使用者可以在基板上任意配置實驗架構，應用於各樣的檢測方法，如電化學偵測、質譜偵測等等。當有電極發生損壞時，可立即地更換損壞電極，不需重新製作品片。本研究不同於以往的電泳電化學晶片，將基板與電極分開製作，利用卡榫的設計來固定電極。整合電泳分離、三極式電化學系統以及質譜檢測於同一微流體晶片中，並使用聚酯纖維線作為流道來運送樣本，使樣本的注入簡單化，提高此晶片的自由度。本研究開發可換式模組化微流體晶片顯示出良好的循環伏安法結果，使用線微流體來做為檢測鐵氰化鉀和多巴胺標準樣品結果也證實了晶片表現，其輸出電壓能穩定地保持在 $0.4 \mu\text{A}$ 。在電化學與質譜偵測中，結果顯示能量飲料紅牛中的菸酸、葡糖醛酸內酯、咖啡因、二聚糖以及泛酸成功地被質譜儀所偵測到，也證明了線電噴灑游離法在本研究的架構上是可行且有效的。此外本研究開發了靜電聚焦環裝置，將電噴灑游離後的樣本進行聚焦，發展成本低廉，檢測效果顯著。透過自行開發之靜電聚焦環裝置，電噴灑游離的張角有效地減少 40 度以上。另外針對不同濃度的咖啡因、T7 Peptide，可以達到 6.8 倍的離子濃度提升，偵測訊號之訊雜比能夠有效地提升 3.7 倍以上，有良好的聚焦效果。本研究透過線微流體，將電泳分離、電化學與電噴灑游離質譜法整合於一晶片上，且利用特殊的可換式電極設計，解決了傳統電泳晶片的問題，並發展低成本、效能高、晶片製作簡單快速、檢測範圍廣的微流體晶片。本研究透過量測氰化鉀、多巴胺、咖啡因、能量飲料紅牛，證實了同時完成電化學與質譜檢測的可行性，對於食品安全領域、生醫檢測領域提供了一簡單且快速的檢測系統。

關鍵字：線微流體、毛細管電泳分離、電化學檢測、質譜分析、電噴灑聚焦

Abstract

This work presents a novel replaceable modularized thread-based microfluidic chip for electrochemical capillary electrophoresis (ECCE) analyses and mass spectrometry (MS) detection. A 3D-printed substrate equipped various replaceable electrodes for applying the electric fields and electrochemical detection for CE-EC-MS. Therefore, the electrodes for the detection can be set on-demand for various kind of applications. Damage electrodes can also be exchanged independently without wasting the whole chip due to a single electrode damage. The replaceable electrodes are produced with 3D-printed ABS plastic in a mass production process. In combining the thread-based microfluidic system, the time and experimental setup were reduced. The developed replaceable modularized chip has shown nice cyclic voltammetry results for detecting standard samples of potassium ferricyanide and dopamine. The thread-based CE-EC results also confirmed that the replaceable modularized chip exhibits low current drift of 0.4 μA . Moreover, a commercial energy drink of Red-Bull containing niacin, glucuronolactone, caffeine, biglycan, and pantothenic acid is successfully detected by the replaceable modularized CE-EC-MS chip. In this study, we also develop an electrostatic focus ring to enhance the total ion concentration and increase the detection limit of the mass spectrometry. Results showed that the measured total ion intensity is increased up to 5.3-fold for detecting 10 ppb of caffeine with a focusing electric field of 2.4 kV/cm. The peak intensity for detecting 1.0 ppm of T7 peptide chain is enhanced 6.8-fold and the calculated S/N ratio is 260. Finally, this study provides a novel replaceable modularized thread-based microfluidic chip for CE-EC-MS detection, which shows good potential for food and bio-analysis.

Keywords: Thread-based microfluidic, Capillary electrophoresis, Electrochemical detection, Mass spectrometry

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	viii
表目錄	xi
符號表	xii
簡寫表	i
第一章 緒論	1
1.1 研究背景	1
1.2 微流體晶片系統	2
1.2.1 微流體晶片	2
1.2.2 紙基微流體晶片	3
1.2.3 線基微流體晶片	5
1.3 毛細管電泳	8
1.3.1 毛細管電泳基本原理	8
1.3.2 毛細管電泳偵測方式與效能分析	10
1.4 電化學	14
1.4.1 電化學基本原理	14
1.4.2 電化學電極系統	15
1.5 電噴灑游離法	18
1.5.1 電噴灑游離法之發展與原理	18
1.5.2 電噴灑聚焦法	19
1.5.3 電噴灑晶片之設計	20
1.6 研究動機與目的	24
1.7 論文架構	25
第二章 實驗原理與材料特性	26

2.1	毛細管電泳分離.....	26
2.2	電噴灑游離法.....	27
2.2.1	一般電噴灑游離.....	27
2.2.2	電噴灑聚焦.....	29
2.3	質譜分析.....	30
第三章 實驗設計與架構		32
3.1	可換式模組化線微流體晶片的設計與製作.....	32
3.1.1	可換式電極的設計與製作.....	32
3.1.2	微流體晶片的設計與製作.....	36
3.1.3	靜電聚焦環的設計與製作.....	37
3.2	可換式模組化線微流體晶片系統.....	38
3.3	電泳電化學與質譜檢測系統.....	40
3.4	實驗設計與檢測目標.....	41
3.5	實驗溶液配製.....	42
第四章 實驗結果與討論		44
4.1	可換式電極效能分析.....	44
4.2	晶片分離效能與穩定度分析.....	46
4.2.1	電流穩定度分析.....	46
4.2.2	電泳電化學效能分析.....	47
4.3	電噴灑游離質譜法效能分析.....	49
4.4	電噴灑張角分析.....	51
4.5	靜電聚焦環效能分析.....	52
4.5.1	總離子濃度分析.....	53
4.5.2	標準樣本檢測.....	54
4.5.3	生物樣本檢測與訊雜比分析.....	55
第五章 結論與未來展望		57
5.1	結論.....	57
5.2	未來展望.....	59
參考文獻		60
論文原創性報告		69
自述		70

圖目錄

圖 1-1 鈉玻璃微流體晶片之製程示意圖	3
圖 1-2 3D 堆疊紙微流體裝置示意圖	4
圖 1-3 線微流體控制開關裝置	5
圖 1-4 線微流體免疫層析裝置	6
圖 1-5 線微流體系統整合電泳分離電化學偵測	7
圖 1-6 線微流體整合電化學與質譜偵測之示意圖	8
圖 1-7 毛細管電泳原理圖	9
圖 1-8 毛細管電泳原理示意圖	10
圖 1-9 玻璃毛細管電泳晶片與樣品注射系統示意圖	12
圖 1-10 三極式電化學系統	15
圖 1-11 毛細管電泳分離與電化學電極系統晶片示意圖	16
圖 1-12 針對電泳電場影響電化學分析的改善方式	17
圖 1-13 電噴灑游離法的運作原理	19
圖 1-14 Ion Funnel 裝置的配置圖	20
圖 1-15 Mellors 等人提出的晶片角落電噴灑設計	21
圖 1-16 螺旋式電噴灑噴霧器示意圖	22
圖 1-17 紙電噴灑晶片	23
圖 2-1 電噴灑游離的多價電荷離子形成機制	28
圖 2-2 電噴灑聚焦示意圖	29
圖 2-3 質譜儀的分析過程示意圖	31

圖 3-1 可換式電極的設計示意圖	33
圖 3-2 本研究所使用的 3D 列印機(Ultimaker 3 Extend)	34
圖 3-3 本研究室三槓式真空濺鍍系統	35
圖 3-4 濺鍍完成之電極陣列	35
圖 3-5 可換式模組化線微流體晶片的設計圖	36
圖 3-6 靜電聚焦環	37
圖 3-7 可換式模組化線微流體晶片系統的實驗架設圖	38
圖 3-8 可換式模組化線微流體晶片系統的實驗流程圖	39
圖 3-9 本研究使用之 LCQ 離子阱式質譜儀(LCQ DECA XP Plus, Thermo Fisher Scientific, USA).....	41
圖 4-1 10.0 mM 赤血鹽之循環伏安法量測圖.....	45
圖 4-2 10.0 mM 生物樣本多巴胺之循環伏安法量測圖.....	45
圖 4-3 500 秒之電流穩定度測試圖	46
圖 4-4 市售維他命 C 錠之安培偵測法量測圖.....	47
圖 4-5 10.0 mM 赤血鹽混合 10.0 mM 多巴胺溶液之安培偵測法量測圖.....	48
圖 4-6 市售能量飲料紅牛之安培偵測法量測圖	49
圖 4-7 市售能量飲料紅牛之質譜偵測圖	50
圖 4-8 電噴灑游離的實際影像圖	51
圖 4-9 電噴灑張角大小量測圖	52
圖 4-10 隨聚焦電場變化的總離子強度量測圖	53
圖 4-11 不同濃度咖啡因的離子強度比較圖	54

圖 4-12 1.0 ppm 的生物樣本 T7 Peptide 的質譜偵測圖.....	55
圖 4-13 1.0 ppm T7 Peptide 之離子強度與訊雜比量測圖.....	56
圖 5-1 未來可換式模組化微流體的應用.....	59

表目錄

表 5-1 歷代電泳晶片比較圖。	58
------------------------	----

符號表

A	面積
Amp	安培
E	電場強度
g	公克
l	毛細管有效長度
m	公尺
M	體積摩爾濃度
min	分鐘
mL	毫升
mM	毫體積摩爾濃度
mm	毫米
m/z	質荷比
mol	莫耳數
N	理論板數
t	分析物遷移時間
v	分析物移動速度
V	伏特
$W_{1/2}$	分析物訊號半高寬
μ_{eo}	分析物的電滲透流遷移率
μ_{ep}	分析物電泳遷移率
μL	微升
$^{\circ}\text{C}$	攝氏溫度
ϵ_0	真空介電常數
u	分析物移動速度

簡寫表

ABS	丙烯腈-丁二烯-苯乙烯共聚物(Acrylonitrile Butadiene Styrene)
CE	毛細管電泳(Capillary Electrophoresis)
CI	化學游離法(Chemical Ionization)
EC	電化學(Electrochemical Detection)
EI	電子游離法(Electron Ionization)
EOF	電滲透流(Electroosmotic Flow)
EP	電泳分離法(Electrophoresis)
ESI	電噴灑游離法(Electrospray Ionization)
GC	氣相層析(Gas Chromatography)
HPLC	高效液相層析法(High Performance Liquid Chromatography)
IET	離子揮發理論(Ion Evaporation Theory)
MEMS	微機電系統(Micro Electro Mechanical System)
MS	質譜儀(Mass Spectrometer)
PCR	聚合酶鏈鎖反應(Polymerase Chain Reactions)
PDMS	聚二甲基矽氧烷(Poly(Dimethyl Siloxane))
PMMA	聚甲基丙烯酸甲酯(Poly(Methyl Methacrylate))
PSI	紙電噴灑(Paper Spray Ionization)
RE	參考電極(Reference Electrode)
SIDT	單一離子理論(Single Ion in Droplet Theory)
SNR	訊雜比(Signal to Noise Ratio)
TIC	總離子濃度圖(Total Ion Chromatogram)
TOF	飛行時間式(Time-of-flight)
UV-Vis	紫外光/可見光光譜偵測法(UV-Vis Absorption Detection)
WE	工作電極(Working Electrode)

第一章 緒論

1.1 研究背景

近年來人們對於食品安全以及環境問題等議題的重視日漸成長，使得相關的檢測技術和應用日益增長。在傳統的檢測流程中通常仰賴大型的檢測方式包含了前處理、分離與檢測設備。完成一次流程所消耗的人力以及時間非常龐大，所以開發一快速且低成本的檢測裝置有助於改善這樣的困擾。電化學偵測應用於許多領域，其也廣泛用於微流體晶片相關領域中，包括十字型流道玻璃晶片[1]、PDMS[2]或者是 PMMA[3]作為流動通道都有結合電泳分離和電化學的應用。如蛋白質、藥物、血液等等都可以通過電化學量測到。目前使用由工作電極、輔助電極、參考電極組成的三電極式電化學系統進行常規電化學測量為主要應用方式。以往三極式電化學架構中，電極的位置是固定的，且電極與電極間距也無法更改。若要改變設計或其他應用，則需要重新製作一全新晶片，此過程非常耗時以及浪費材料。

質譜儀為世界上最精準的分析儀器之一，其廣泛應用於各領域當中，透過極高的檢測能力以及低量的樣本需求，能夠針對樣本進行有效的分析。而在研究中心或是檢測中心的質譜儀檢測一般都會搭配高效能液相/氣相層析(High Performance Liquid / Gas Chromatography, HPLC / GC)來使用。主要是透過液相/氣相層析事先將樣本分離再透過游離源將樣本游離至質譜儀中進行分析，此方法能夠有效地提升質譜儀的偵測效能，並提高其靈敏度。由於此方法所需的時間以及成本非常龐大，且造價不斐，不是一般實驗室能夠使用，若能開發一能夠有效檢測、低成本、操作簡單的微流體系統，必能改善此問題。

本研究欲開發一結合電泳分離、電化學偵測以及質譜分析為一體的線微流體系統，來取代傳統大型檢測設備。透過創新的可換式電極來有效地解決傳統電泳電化學微流體晶片所遇到的問題。晶片與電極本身透過 3D 列印製，有良好的一致性與低成本之優勢，能夠滿足大量製作且便於使用的需求。

1.2 微流體晶片系統

傳統的微流體晶片系統使用玻璃以及矽作為材料，原因是其安定性高、有良好的絕緣特性、製造簡單且穩定性高，常應用於樣本分離以及混合。傳統玻璃和矽為基材的微流體晶片成本高且難以量產，使得微流體領域開始開發新的材料和製程。

近年來微流體裝置所能涵蓋的範圍非常大，包含了生物檢測、食品檢測、細胞分離等。微流體系統存在的目的是為了取代傳統大型的實驗儀器，透過微小化、不同材料搭配或者是整合不同檢測方式來實現即時且有效的檢驗。本節將介紹各類型態的微流體晶片、製作材料、檢測技術之特性，並回顧相關文獻。

1.2.1 微流體晶片

如上文所提，最早微流體晶片主要是跟隨半導體技術和微機電領域[4]的發展而來。晶片主要是透過玻璃以及矽所製造而成，這兩種無機材料的優點是具有高度電絕緣特性、穩定的電滲透流特性以及良好的有機溶劑化學耐性。上述優點有助於提升實驗的穩定性，且兩者材料表面化學結構皆由烷醇基(Silanol Group, Si-OH)組成，能夠讓使用者輕易地對材料表面進行改質[5]。

傳統微流體晶片製程主要區分為三個步驟，光刻微影(Photolithographic)來定義晶片上的圖案、化學蝕刻(Cheical Etching)對晶片進行加工產生結構以及晶片接合(Bonding)來完成封閉的微流體晶片[6]。此製程已被開發研究多年，對於圖案的定義極限甚至能到達奈米等級，由於此製程需要在極為乾淨的環境下製作且需全程於黃光室內進行，導致晶片成本高、蝕刻溶液毒性強等問題。由於玻璃材料優異的電驅動特性及化學耐性，此玻璃微流體晶片還是常用於毛細管電泳分離(Capillary Electrophoresis, CE)[7]，在生物醫學相關領域也有良好的表現，如聚合酶連鎖反應(Polymerase Chain Reactions, PCR)[8]等。而針對矽材料不透光的特性，使得矽微流體晶片無法觀察內部液體流動，需要其他結構來輔助。這導致製程困難度提升，因此矽通常應用於微流體晶片內部的其他裝置，包含微型幫浦、微型閥門[9]以及微

型反應器[10]等。圖 1-1 為一鈉玻璃微流體晶片之製程示意圖，此製程使用了較便宜的 AZ 4620 正光阻做為蝕刻遮罩，且發展了一特殊的晶片接合方法。雖然有效地縮減製程時間，但還是難以彌補此製程的缺點，使得尋找更便宜材料且製程更為簡單的微流體領域蓬勃發展。

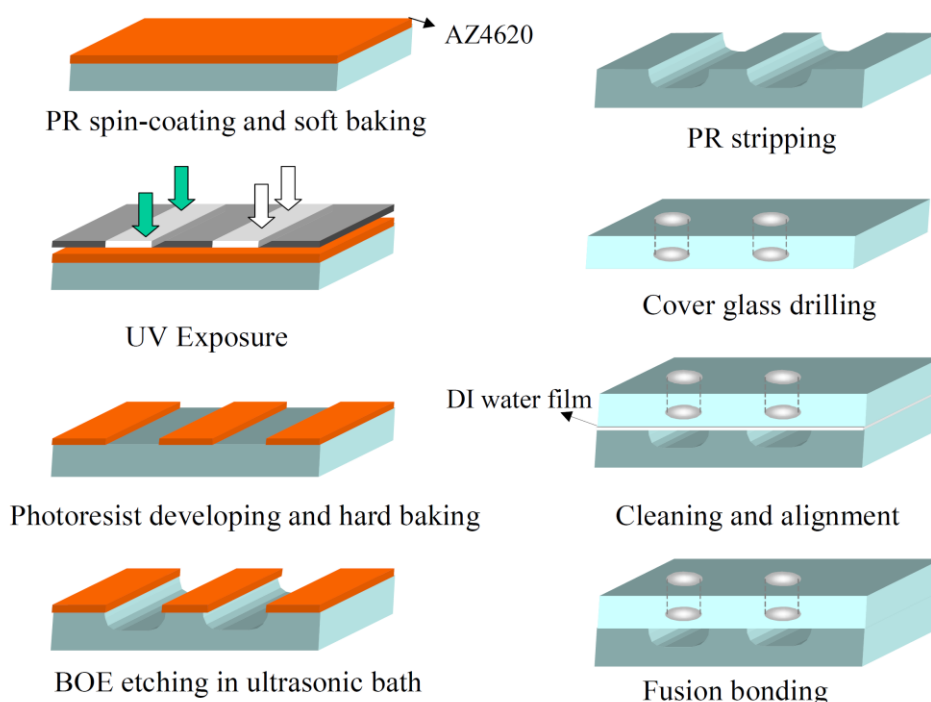


圖 1-1 鈉玻璃微流體晶片之製程示意圖[11]。創新的晶片接合方式和 AZ 4620 正光阻，大幅減少製程時間及成本。

1.2.2 紙基微流體晶片

在 1949 年紙基微流體晶片(Paper-based Microfluidic Chips)的概念由 Müller 與 Clegg 兩位所提出[12]，使用蠟在紙片上定義出清水與疏水區域，來形成所謂的微流道。利用層析法(Chromatography)將樣本分離，為現今紙微流體的先驅。而隨著檢測科技進步，低成本的紙再次應用於各項領域當中。在 2007 年 Martinez 使用 SU-8 負光阻進行光刻微影製程[13]，並成功地在紙片上定義出微流道及反應區。該裝置便宜、操作容易，其非封閉的流道結構更是打破以往微流體晶片的思維，為微流體晶片開了一扇新的大門。而 Martinez 等人更結合呈色法(Colorimetric Method)

有效地檢測到葡萄糖與蛋白質，讓紙基微流體晶片的應用範圍往前跨了一大步。往後的日子中紙基微流體晶片的製程蓬勃發展，原因在於定義親水區、疏水區以及流道的光刻微影製程有著相對成本較高問題。因此後人開發了許多定義流道的技術，如直接裁切[14]、噴墨印刷[15]等以及蠟印刷法[16]。這些紙片定義技術確實大幅降低了製造的成本及時間，取代了傳統光刻微影製程，未來幾乎都是以這些製程為主。

與傳統微流體晶片相比，紙基微流體晶片有著一些優點，包括：(1)利用紙片本身毛細作用作為驅動力，而不需其他動力設備輔助，(2)紙基微流體是微流體晶片中成本最低的技術，(3)紙片隨著不同設計可以堆疊出 3D 流道結構來完成不同需求[17]。

紙基微流體晶片優勢在於成本低廉，但無法定義出像傳統微流體晶片那樣微小的流道尺寸，這影響到了紙基微流體的偵測極限以及效能。為了改善靈敏度差的問題發展許多整合裝置，如由 Dungchai 等人所開發的攜帶式紙基電化學晶片結合商業血糖機[18]。其利用蠟印法(Wax Printing)和網版印刷技術來定義流道，可任意扭曲且晶片電極不會被破壞，仍然可以有良好的偵測，對於居家醫療血糖檢測可說是一大發展。

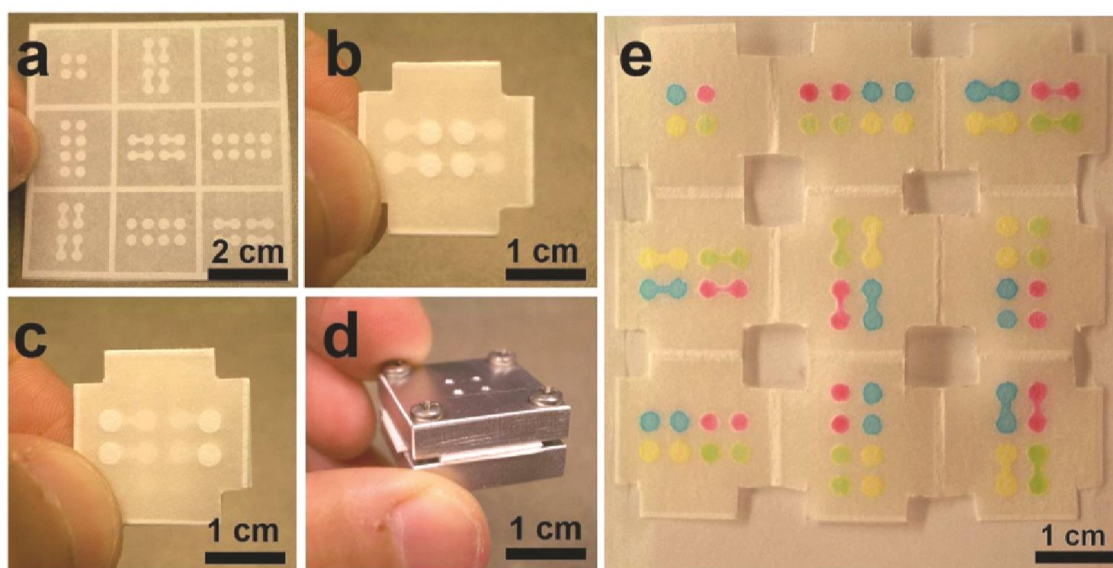


圖 1-2 3D 堆疊紙微流體裝置示意圖[19]

1.2.3 線基微流體晶片

在 2009 年 Li 等人提出了以線作為流道的微流體系統[20]，線與紙片同樣可用來製作拋棄式晶片。線體本身也與紙有幾處相似特性，如材料本身的親水特性、低成本、毛細作用力驅動以及可撓曲等。有別於紙需要定義親水與疏水區域，線體本身類似於毛細管，不需要定義其親疏水特性來形成流道。線體本身即可做為一微流道來使用，避免了許多複雜的製程及汙染。此外可透過他其方式來增加線本身的吸濕性，如使用電漿來產生高活性、能量之游離氣體來轟擊線材表面。電漿可使線材表面活化、親水官能基增加，進而提升對液體的吸濕能力。2011 年 Ballerini 等人對於線微流體的流量控制和設計提出了一些想法，主要針對單線及多線纏繞的流體滲透進行研究。如線的流量控制閥、折疊式開關閥以及拉環開關等，實現了對線微流體有效的控制。此研究能夠整合更多功能的感測應用，包含更複雜的化學品檢測，並同時保持低生產成本和簡單構造。

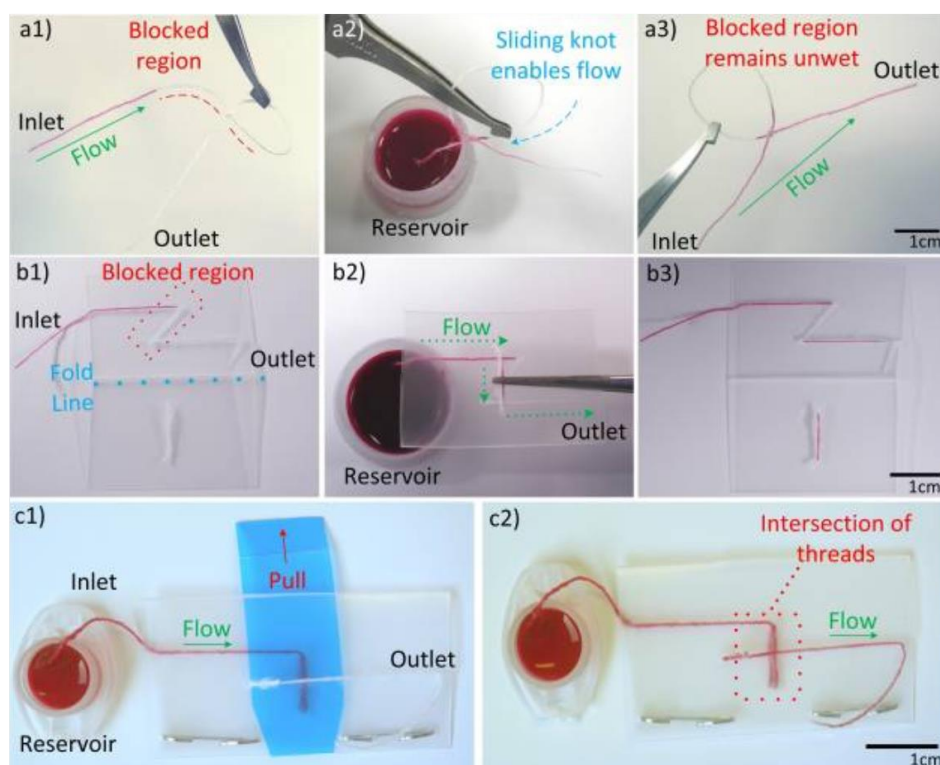


圖 1-3 線微流體控制開關裝置。(a1~a3)為線微流體的打結裝置，打結區域液體並不會通過，(b1~b3)為折疊式開關，利用聚合物膜支撐材料來產生作用，(c1~c3)為拉環開關，透過拉下拉環來使液體通過[21]。

2012 年 Zhou 等人提出了一線微流體免疫層析裝置(Immunochromatographic Assay on Thread, ICAT)[22]，用於藥物濫用、懷孕有-無的判別檢測。主要透過棉線、尼龍纖維束以及吸水用平板所形成的三明治結構進行檢測。在檢測前會事先在棉線與尼龍纖維束上塗佈相關的標靶識別抗體，再將樣本瘦素蛋白(Leptin Proteins)、C-反應蛋白(C-reactive Protein)與骨橋蛋白(Osteopontin)施加於線上進行反應，樣本最後會再尾端呈現結果，如圖 1-4 所示。

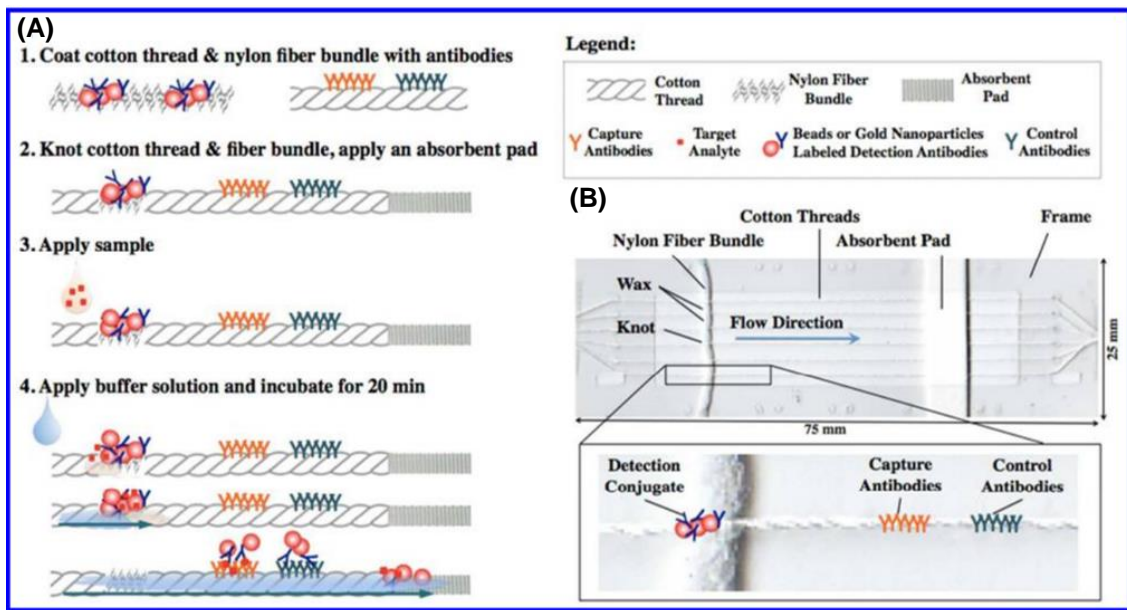


圖 1-4 線微流體免疫層析裝置。(A)為此裝置之檢測示意圖與反應機制，(B)為裝置的實際影像圖[22]。

本研究室在近幾年提出了一創新線微流體系統整合毛細管電泳分離與三極式電化學系統[23]。晶片設計理念主要是將線作為電泳分離時的載台，且為一次性層析流道，並於晶片後端進行電化學偵測。製程部分利用壓克力熱壓技術來製作出凸出枕型結構，利用濺鍍技術將金沉積於電極表面，並對線材進行氧氣電漿處理來提升其親水性。晶片的電化學電流響應與未經電漿處理之結果來比較提升了十倍。此研究針對了不同聚酯纖維線線徑的單位電阻值進行量測，結果顯示在較大線徑 200 μm 下有相對較小的電阻值。另外也研究在不同高壓電場下，不同線徑的溫度，結果顯示大線徑於高壓電場下產生的焦耳熱效應最小。針對焦耳熱效應的問題，此研

究也提出了一創新製程來解決，主要透過一層 PVC 膜將線材包覆來防止容易快速蒸發。此線微流體系統被應用於偵測人體全血中的各項離子，反應所需的酵素以及樣本直接施加於聚酯纖維線上。結果顯示透過此裝置樣本可以被有效地分離並被恆電位儀所偵測到，此技術整合了電泳分離與電化學偵測於同一晶片上，為低成本的生醫檢測提供一全新的選擇。

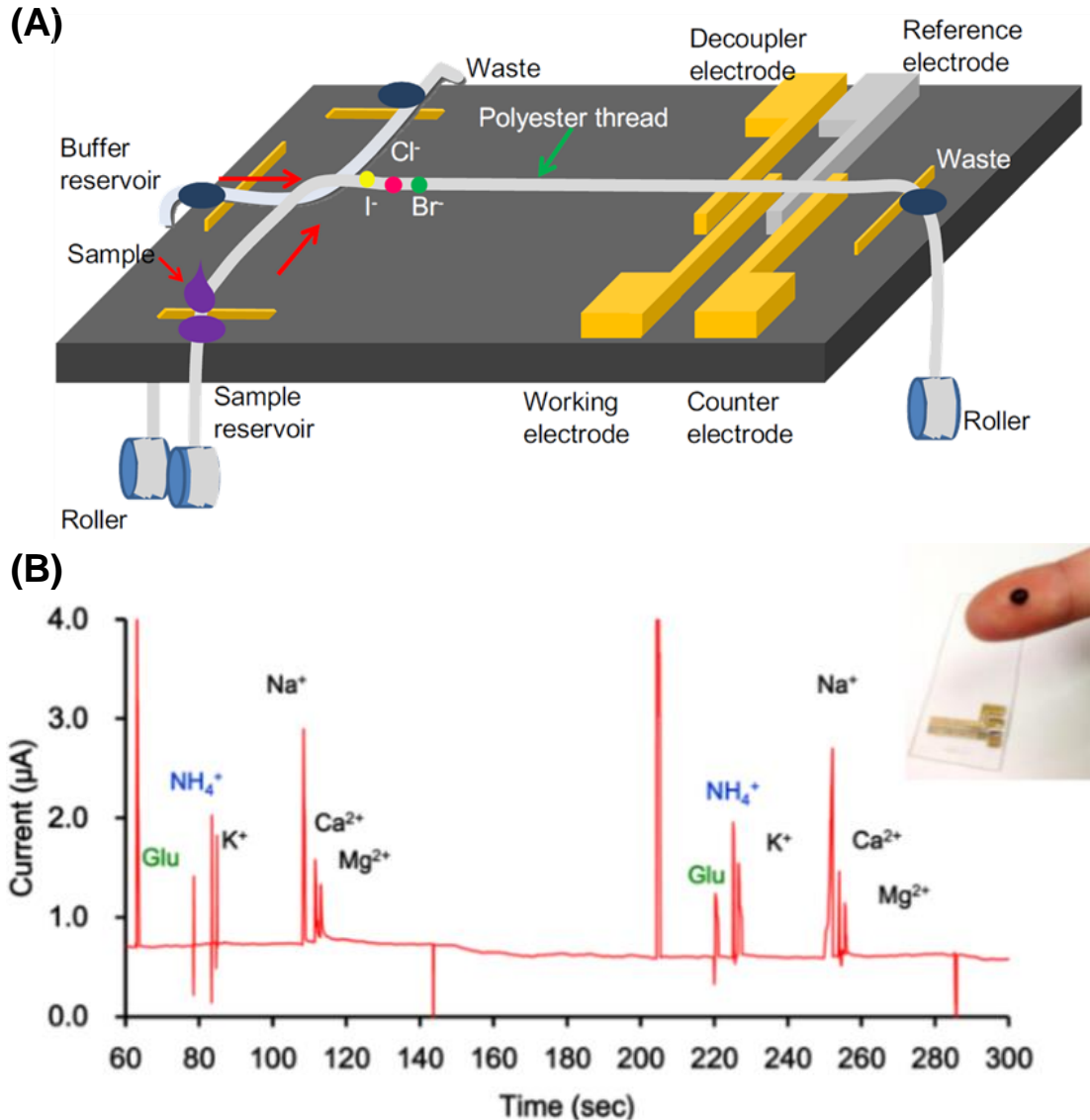


圖 1-5 線微流體系統整合電泳分離電化學偵測。(A)為線微流體電泳電化學系統之示意圖，由毛細管電泳分離與三極式電化學系統組成，(B)為人類全血之電化學量測結果圖[23]。

2016 年，本研究室更提出了一整合電泳分離、電化學檢測以及質譜偵測的線微流體系統[24]。另外也發展了一線上聚焦技術，不需要外接其他設備與複雜操作，

線體本身的毛細作用力來達到將樣本聚焦的效果。透過量測多巴胺以及運動飲料等複雜物質來證實此裝置之性能，也有效地將樣本分離並被質譜儀所偵測到。此研究結合了電化學偵測與質譜分析，為食品檢測領域提供一有效地檢測裝置。

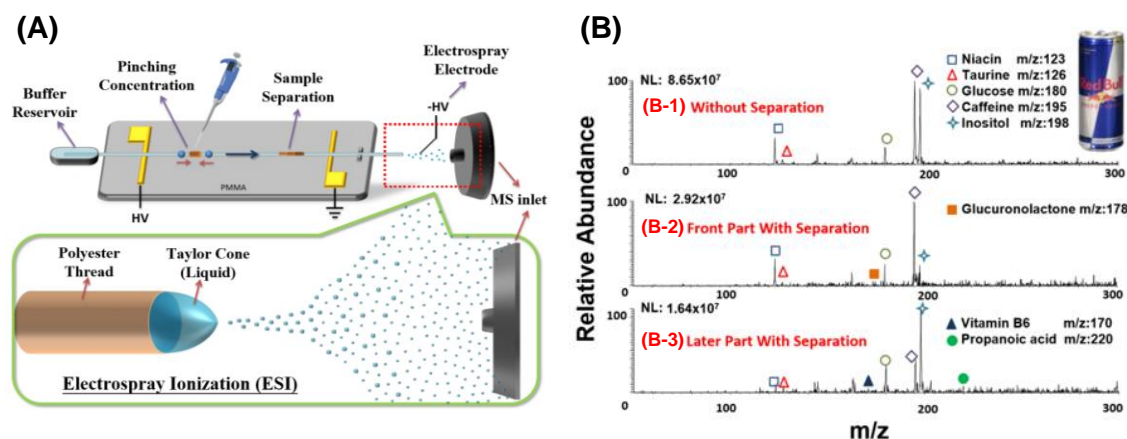


圖 1-6 線微流體整合電化學與質譜偵測之示意圖[24]。(A)為此裝置之配置圖與電噴灑運作機制，(B)為針對市售運動飲料之質譜分析圖，(B-1)為未進行電泳分離所得到的質譜圖，(B-2)為進行電泳分離之質譜圖前半段，(B-3)為進行電泳分離之質譜圖後半段。

1.3 毛細管電泳

1.3.1 毛細管電泳基本原理

在現今生醫檢測領域中，電泳(Electrophoresis, EP)是常見的分離技術。在一電場作用下帶電粒子會朝向與自身相反電性的電極端移動，溶液中粒子大小差異也會使電泳遷移速率產生不同。電泳技術能在短時間內將待測物進行分離，藉此提升檢測的靈敏度及效能。電泳於十九世紀初被俄羅斯物理學家 Reuss 所發現[25]，在電場作用下觀察到石英砂在黏土漿中產生遷移，至今都還被世人所使用。電泳主要可以分為兩種類型，毛細管電泳(Capillary Electrophoresis, CE)[26]與平板電泳(Slab Electrophoresis)[27]。毛細管電泳主要將毛細管作為溶液的通道，透過施加高電場使樣本以不同速率在管內移動，最後被分離開來，如圖 1-7 所示。驅使樣本移動的

作用力主要為電泳以及電滲透流(Electroosmosis Flow, EOF)兩種作用力[28]，因粒子的帶電量與粒徑大小不同，最後粒子會分別抵達檢測端被偵測到。平板電泳是透過將樣本放入半固態的凝膠中，並施加施壓電使樣本分離，此方法多用於生醫化學分析上，但此方法操作時間過長、步驟複雜且難以精準定量檢測物。

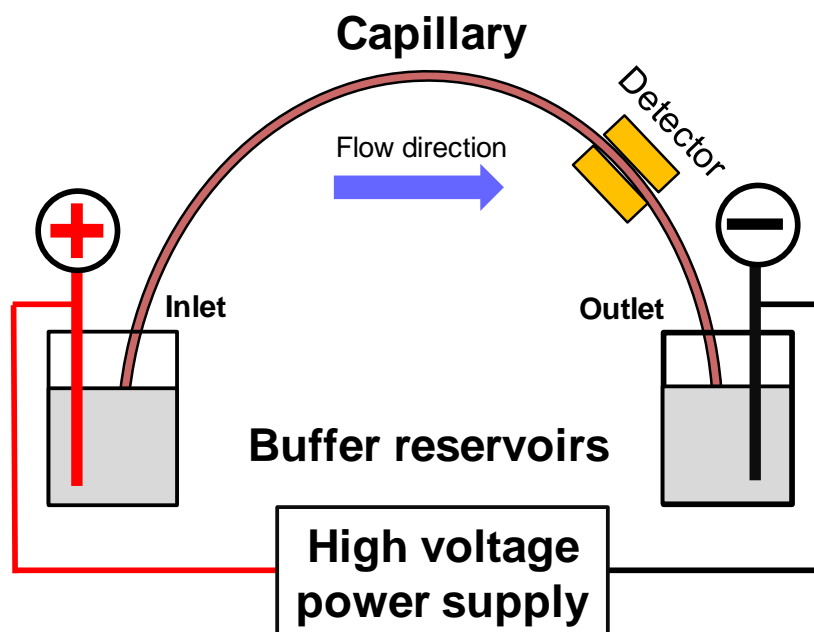


圖 1-7 毛細管電泳原理圖。透過施加一高壓電場促使帶測物在毛細管中進行分離，最終被感測器偵測到。

針對毛細管電泳產生的電滲透流，主要是因為流道本身材質產生的影響。大部分毛細管電泳晶片會選擇玻璃來做為材料，不僅是因為其良好的光學特性與化學耐性，更是因為玻璃表面帶有 Si-OH。當 pH 值大於 3 的緩衝液通入管內時，Si-OH 會離子化形成 Si-O⁻，使毛細管內管壁形成負電層。帶負電管壁將會吸引溶液中的陽離子靠近並附著在管壁旁，形成所謂的電雙層現象(Electrical Double layer)[29]。玻璃、PMMA[30]、PDMS[31]等材料皆有通入緩衝液後形成負電層的特性。電雙層又可以再細分為兩層，第一層稱之為固定層(Stern Layer)，主要為吸附在管壁表面緻密的陽離子。當漸漸遠離管壁後陽離子電荷密度將會呈指數下降，並擴散至溶液中，此狀態稱之為擴散層(Diffusion Layer)[32]。當電雙層現象形成後，通常會在毛細管兩端通上一高壓電場。由於管壁兩旁的陽離子較多會受到較大的

電場影響，使得管壁兩旁的溶液會先往前移動。緊接著帶動中間的擴散層向前進，最後形成一穩定的電滲透流，如圖 1-8 所示。

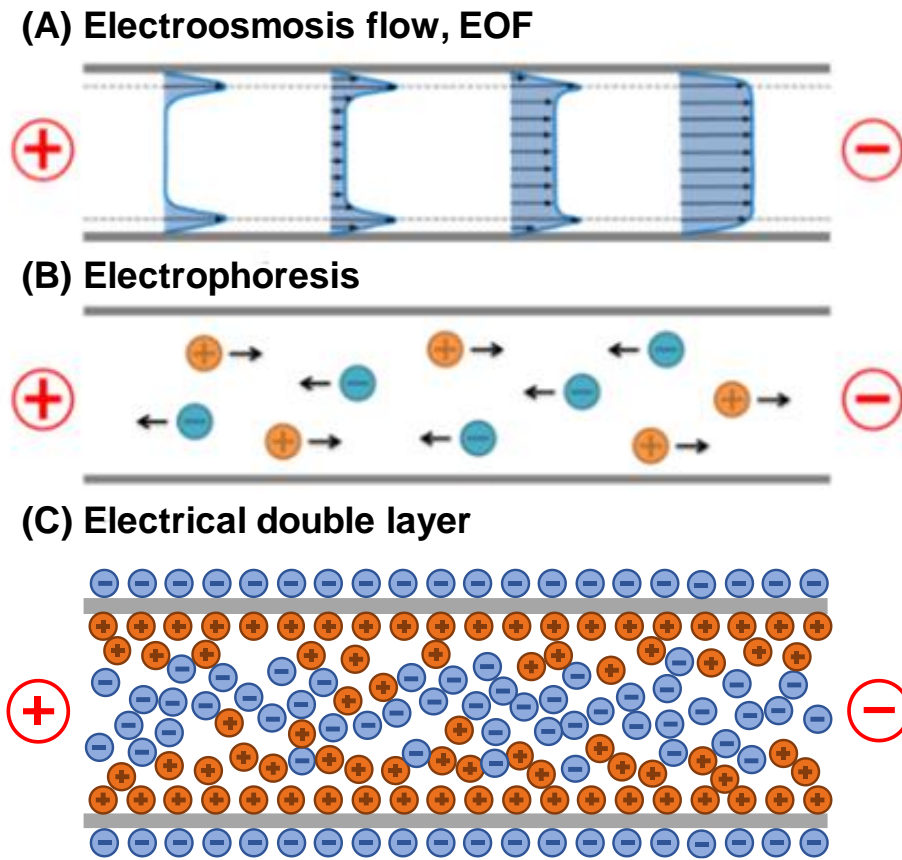


圖 1-8 毛細管電泳原理示意圖。(A)為電滲透流示意圖，管壁兩旁的溶液會受到較多的電場影響而率先前進，(B)為電泳原理圖，主要為帶電荷離子會往與自身相反電荷的電極移動，(C)為電雙層原理圖，玻璃管壁會解離形成 Si-O⁻負電層來吸引溶液中的陽離子靠近。

1.3.2 毛細管電泳偵測方式與效能分析

在電泳晶片中，離子遷移速率會決定其晶片的分離效果。絕大部分離子的電滲透流速皆遠大於電泳流速[33]，真實遷移速率為兩者相加而成。由公式(1)電滲透流計算公式中可以得知若電場強度提升，電滲透流流速也會提升，兩者呈正比關係。施加電場會使得管壁內產生焦耳熱效應(Joule Heating)，溶液溫度將會逐漸升高，當電場強度施加越高焦耳熱效應會愈發劇烈。電滲透流本身在管內流動會對熱量

的傳遞產生影響，加上焦耳熱效應作用，電滲透流與電場關係並不呈現線性成長或減少[34]。

$$V_{eo} = \mu_{eo}E = \left(\frac{\varepsilon\zeta}{n}\right)E \dots\dots\dots (1)$$

V_{eo} 為電滲透流遷移速率 (cm/min)

μ_{eo} 為電滲透流遷移率 (cm²/V*min)

E 為電場強度 (V/cm)

ε 為溶液介電常數

ζ 為介面電位

n 為交換之電子數目

一般而言在毛細管電泳領域中會使用理論板數(Theoretical Plate Number)來決定其分離的效能，公式(2)呈現了理論板數的計算方式。

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

N 為理論板數

t 為分析物的遷移時間 (s)

$w_{1/2}$ 為分析物訊號的半寬高 (Full Width at Maximum)

在實驗中影響毛細管電泳分離的效率主要有五項因素，包含樣本體積、電場強度、緩衝液 pH 值、分離管道的長度與焦耳熱效應。若注入樣本體積過大，將會造成樣本的區帶範圍過寬，導致樣本無法被有效地分離進而產生重疊現象。施加電場為驅動樣本分離的主要動力，適當的電場強度有助於樣本分離。當電場強度越高時越容易產生焦耳熱現象，使得分離效果下降。緩衝液酸鹼值會影響溶液的解離程度，進而影響電滲透流的速率。當電滲透流速率上升會使樣本分離時間縮短，可能導致樣本未分離完全，相反地若適當地控制電滲透流流速將能夠提升分離效能，可透過調配不同酸鹼值的緩衝液來達成。設計分離管道長度也會對於樣本分離產生影響。

若分離長度設計較長，將會增加樣本分離時間，但同時也能使晶片分離效能提升，反之若縮短分離長度，可能導致樣本無法被有效地分離。焦耳熱效應主要影響溶液的溫度，若溶液溫度上升將會增加其擴散速率，使樣本的寬度增加，降低分離效能。

電泳分離法至今發展 80 年，這些年間電泳相關儀器、晶片更是蓬勃發展。Woolley 和 Mathies 在 1994 年提出了毛細管電泳陣列的概念[35]，使用微影技術和化學蝕刻方式在平面的玻璃基板上製作出毛細管陣列。將另一片平面玻璃與晶片熱結合，最後形成封閉的毛細管電泳晶片。由於是以玻璃為材料的電泳晶片，其製作成本較高、容易破裂和微影蝕刻製程複雜，使得發展便宜且製程簡單的電泳晶片勢在必行。除了玻璃以外，使用成本較低、不易破損的高分子材料如聚二甲基矽氧烷(PDMS)、聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)[36]等也成為趨勢。如 Shin 在 2003 年使用 PDMS 開發了用於聚合酶鏈反應(PCR)的電泳微晶片[37]。PDMS 具有價格便宜、容易加工且透明度高的特性，但在此研究也發現 PDMS 的孔隙率會導致一些問題，如加工時容易產生氣泡、樣品蒸發、蛋白質吸附等。這些問題可以透過表面改質或是薄膜塗佈來解決。在 2002 年 Wang 使用微影蝕刻技術與熱壓翻模技術製作出以 PMMA 為材料的電泳電化學微晶片[38]。PMMA 的優勢在於價格便宜、容易加工，此研究更與電化學偵測結合，在量測酚類化合物和兒茶酚胺皆有良好的結果，證明了 PMMA 作為電泳晶片不輸玻璃，甚至更具有潛力。

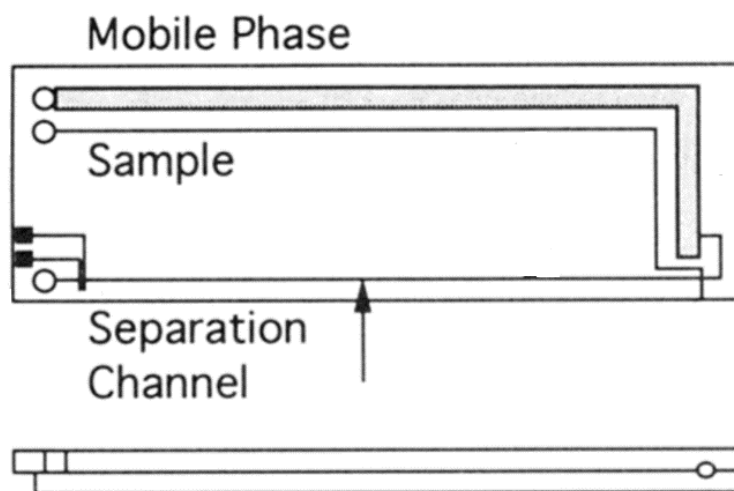


圖 1-9 玻璃毛細管電泳晶片與樣品注射系統示意圖[39]

然而現今毛細管電泳晶片大多進行微量的樣品分析，使得與其整合的偵測系統更顯重要。目前現有檢測方法大概分為四類，質譜偵測法(Mass Spectrometry Detection)[40]、紫外光/可見光光譜偵測法(UV-Vis Absorption Detection)[41]、螢光偵測法(Fluorescence Detection)[42]與電化學偵測法(Electrochemical Detection)[43]。

質譜偵測法主要由質譜分析儀來進行，質譜分析儀為世界上最靈敏的分析儀器之一，透過偵測質荷比(質量/帶電荷數, M/Z)來判斷所偵測到之物質。此方法需要使用游離源來將樣本游離化進入到質譜儀內，目前普遍應用的游離法為電噴灑游離法[44]。電噴灑游離法(Electrospray Ionization, ESI)的優勢在於可在大氣環境下進行、操作容易、成本低，且能夠將大量的液態樣本轉換為氣體帶電離子進入到質譜儀內。電噴灑游離法主要用於分析極性物質。雖然質譜偵測法能夠提供大量且精準的訊號分析結果，但由於其價格昂貴且本身需要極高真空度，所以在一般的實驗室中不常使用。

紫外光/可見光光譜偵測法是毛細管電泳最常使用的檢測技術之一，將毛細管作為樣品架並通過 UV-Vis 檢測器，其光束必須細小且集中在毛細管上才能獲得準確的結果。其缺點與難處在於只有少量的光子可以抵達感測器，其測靈敏度受限於毛細管的直徑，但能透過增加毛細管直徑或增加路徑長度來解決。

螢光偵測法的設計類似於 UV-Vis，由於是透過雷射光來激發樣本的螢光基團，若樣本本身不具螢光基團的話，則需進行前處理，使樣本具備螢光特性。此方法複雜度較高，通常是添加有機芳烴作為螢光基團，通常激發波長為 250 nm 至 500 nm。

電化學偵測法透過量測分析物的電化學特性，如氧化與還原電位、電壓等。檢測方法有循環伏安法(Cyclic Voltammetry, CV)、安培偵測法(Amperometric Detection)[45]。電化學偵測通常會搭配恆電位儀(Potentiostat)來使用，此檢測方式簡單、成本低廉，且能夠搭配毛細管電泳製作成微型化晶片，為電泳晶片領域發展的主流之一。

1.4 電化學

1.4.1 電化學基本原理

在 1791 年義大利科學家 Giovanni 在解剖青蛙時，發現將金屬片碰觸青蛙肌肉時會產生電流，使青蛙肌肉發生收縮現象，被認為是電化學最早的起源。傳統的電化學主要針對化學能與電能轉換來研究，電池則是被視為早期電化學領域的起源。電池由正、負電極與電解質所組成，也需要一標準電極才決定其他電極的電位。一般使用氫電極作用標準電極，電化學就是建立在這樣的基礎下來運行。電池的正、負電極對應到電化學中工作電極、輔助電極。參考電極則是用來定義其他電極的電位，在下一節將會詳細說明電化學電極。電化學可說是一門快速、操作簡單、即時偵測的技術，一般電化學量測所接收的訊號，有電壓、電流、電導度等。主要探討樣本與電極之間的化學反應和電子轉移，透過調整不同電位使電極表面電子能量產生改變。當分析物抵達電極表面時將產生氧化還原反應，進而偵測到電流、電壓的改變。氧化還原產生的電流則與電極面積大小、交換電子數、分析物濃度、電極表面距離等相關，如公式(3)所示。

$$I = nFAD\left(\frac{\Delta c}{\Delta x}\right) \dots \dots \dots (3)$$

I 為氧化還原電流

n 為分析物與電極交換的電子數

F 為法拉第常數

A 為電極面積大小

D 為分析物的擴散係數

Δc 為分析物的濃度差

Δx 為與電極表面的距離

1.4.2 電化學電極系統

應用於電化學系統量測的電極可以分為三類，工作電極(Working)、輔助電極(Counter)、參考電極(Reference)。工作電極為分析物發生氧化還原的位置，反應主要發生在電極表面。工作電極並沒有限定為陽極或是陰極，而是取決於電極的氧化還原反映。若電極發生氧化反應則為陽極，反之若發生還原反應則為陰極，常見的材料有金(Au)[46]、白金(Pt)[47]、碳(C)[48]等。輔助電極則是扮演完成電流迴路的角色，以不影響工作電極反應為原則。輔助電極的狀態是相對於工作電極，若工作電極發生氧化反應，則輔助電極發生還原反應，反之亦然。通常在設計上輔助電極的面積會大於工作電極，常見輔助電極的材料為白金。為了準確地定義工作電極之電位，在電化學的電極系統中通常會加上一參考電極作為標準。參考電極基本上不會參與電化學相關反應，只提供工作電極參考的電位值[49]。參考電極常見的材料為標準氫電極(Standard Hydrogen Electrode, 0.0 V)、銀/氯化銀(Ag/AgCl, 0.197 V)與飽和甘汞電極(Saturated Calomel Electrode, 0.241 V)。

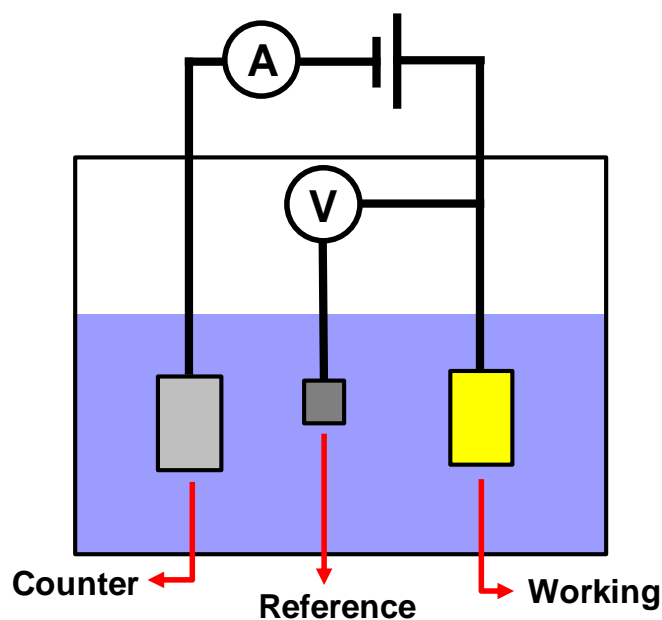


圖 1-10 三極式電化學系統。包含了工作電極(Working Electrode)、輔助電極(Counter Electrode)和參考電極(Reference Electrode)。

在製作電化學電極的材料可以大致分為兩類，碳電極與金屬電極。碳電極可以透過網版印刷技術(Screen Printing)[50]將碳油墨(Carbon Ink)擠壓並印製在晶片上，厚度最薄可以達到 10 微米。由於碳電極製作成本較低，被廣泛應用於食品安全、環境檢測相關領域中。不過碳電極的電子傳遞速率明顯略遜於金屬電極且無法應用於有機溶劑中，故金屬電極還是有其優勢。金屬電極常使用金、白金、鈀等不易氧化之金屬，通常使用濺鍍、蒸鍍的方式沉積金屬於基板上[51]。若需要濺鍍不同金屬則需要設計遮罩來防止金屬之間相互汙染，製程相對複雜，但由於金屬電極的穩定性及電子傳遞速率較高，也是主流使用材料之一。現今晶片尺寸越來越微小，三極式電化學架構從傳統的大溶液量測，也漸漸發展為小量的樣本偵測。三極式電化學系統常與毛細管電泳結合為電泳分離電化學偵測晶片。在這樣的架構中，電化學量測方法大多使用安培偵測法與循環伏安法。安培偵測法主要量測響應電流對於時間的變化，也是電化學最靈敏的量測方式之一。安培偵測法透過將三極式電化學系統放置於毛細管道的末端來偵測。工作電極會施加一固定電位，來使分析物產生氧化還原反應。分析物會先經過毛細管電泳分離後，再依序通過三極式電化學系統，進而偵測電流值的改變。

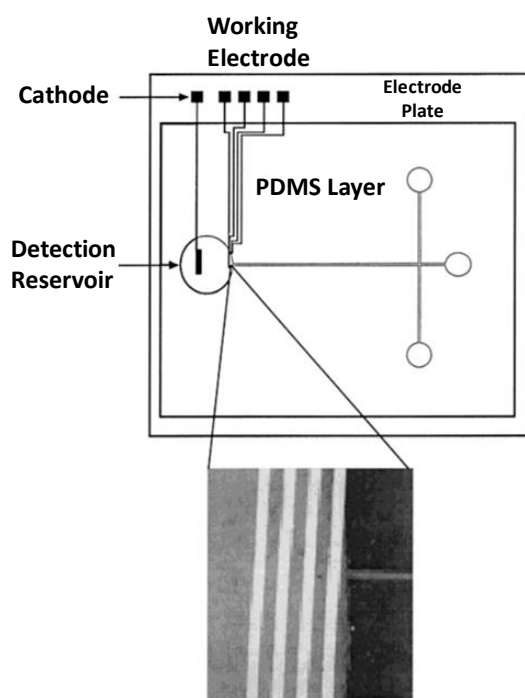


圖 1-11 毛細管電泳分離與電化學電極系統晶片示意圖[2]

在電泳電化學整合的架構底下，電泳所使用之高電場會干擾三極式電化學系統的偵測，導致靈敏度下降，故需改善電泳電場對於電化學偵測的影響。圖 1-12 為目前三種已開發改善方式：End-channel、In-channel、Off-channel[52][53]模式，依據電極的擺放位置或是新增去耦電極，皆可改善電泳電場對於電化學量測的影響。在 End-channel 模式下又可分為 Off-chip 和 One-chip，主要差別在於工作電極擺放位置不同。Off-chip 由於電極對位不易且製程困難較不被普遍使用，而 On-chip 則是將工作電極設計在靠近儲液槽處。此設計雖然能降低電泳電場的影響，但容易發生擴散現象，導致偵測靈敏度下降。In-channel 則是將工作電極設計於毛細管末端，透過絕緣的穩壓器來阻隔電泳電場所帶來的影響，也不易產生擴散現象的問題。Off-channel 在工作電極前方設計了一去耦電極(Decouple Electrode)，去耦電極的目的是將分離電流導入地端，來降低電泳造成的影響，此方法效果顯著。

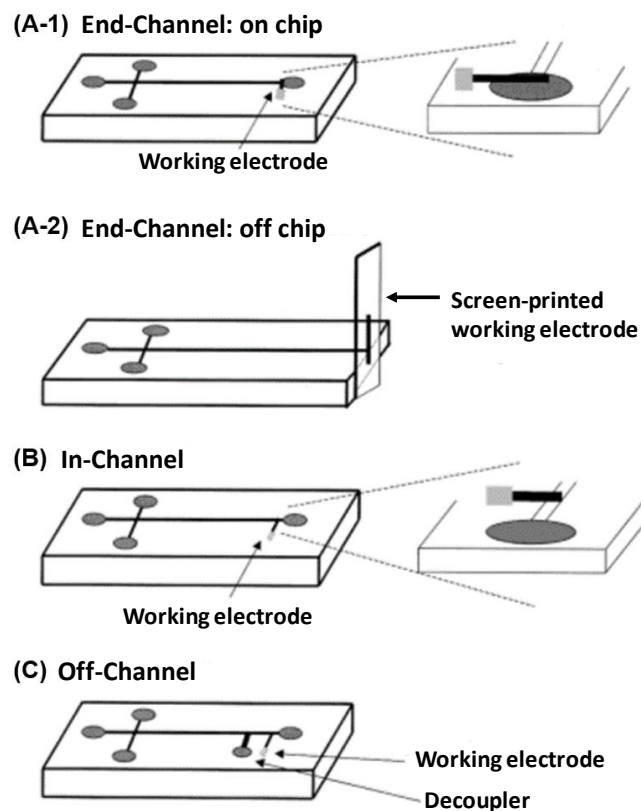


圖 1-12 針對電泳電場影響電化學分析的改善方式。(A-1)End-channel: on-chip, (A-2)End-channel: off-chip, (B)In-channel: 工作電極設計於毛細管末端, (C)Off-channel: 在工作電極前設計一去耦電極[54]。

1.5 電噴灑游離法

在質譜檢測領域中，需要游離源來將樣本游離化後進入質譜儀中。電噴灑游離法為近代最被廣泛使用的游離技術之一。電噴灑游離法的優勢在於架構簡單、成本低廉且可以使分析物游離化成多價電荷離子。當分析物帶多價電荷時會使質荷比下降，讓大分子的分析物能夠更容易被質譜儀量測到，同時也擴大的質譜儀本身的量測極限。作為一發展多年的游離技術，傳統電噴灑游離法使用毛細管作為載體，近年來也開發許多不同的載體供電噴灑游離來使用，下方章節將依序介紹。

1.5.1 電噴灑游離法之發展與原理

電噴灑的概念最早在 1914 年由 Zeleny 所提出[55]，於玻璃毛細管施加一電場，觀察玻璃毛細管末端液體的行為變化。將其行為記錄下來，並提出不同電噴灑模式，為最早對電噴灑的研究。在 1920 年代後針對電噴灑游離法的研究蓬勃發展，如 1925 年 Wilson & Taylor[56]或者是 1926 年 Nolan[57]都是研究液體在均勻電場或強電場中的變化、破壞等。在早期電噴灑研究主要以工業用途為主，尚未進入到化學分析領域。

在 1964 年 Taylor 則針對電噴灑游離進行了更詳盡的研究，當達到臨界電場時，液體將會變得不穩定。液體會端部形成角錐狀結構，此角錐狀液體也被後人稱之為泰勒錐(Taylor Cone)[58]。在 1968 年 Dole 首次將電噴灑游離法與法拉第籠(Faraday Cage)整合，也是將電噴灑游離法帶入分析化學的先驅[59]。Dole 利用電噴灑游離法成功地偵測到分子量高達 51000 amu 的聚苯乙烯和溶菌酶。而在 1984 年，Fenn 首次電噴灑游離法與四極柱式質譜儀整合在一起[60]。利用小管徑毛細管作為流道，施加 2~10 kV 的高電壓於噴嘴處，形成泰勒錐並將溶液噴灑出去。四極柱式質譜儀則作為檢測儀器至於後端，成功地偵測聚乙二醇和蛋白質的多價電荷的訊號。此研究證實了電噴灑游離法能使大分子量分析物帶多價電荷的理論。在 2002 年 Fenn 也因著對分析化學的貢獻獲得了該年度的諾貝爾化學獎，使電噴灑游

離法在化學分析領域的研究蓬勃發展，如紙電噴灑、線電噴灑等。雖然質譜儀作為高靈敏度和高解析度的分析儀器，分析物往往組成複雜在分析上也時常會面臨各種挑戰，如樣本進樣量與樣本消耗等等，都是需要來改善的。

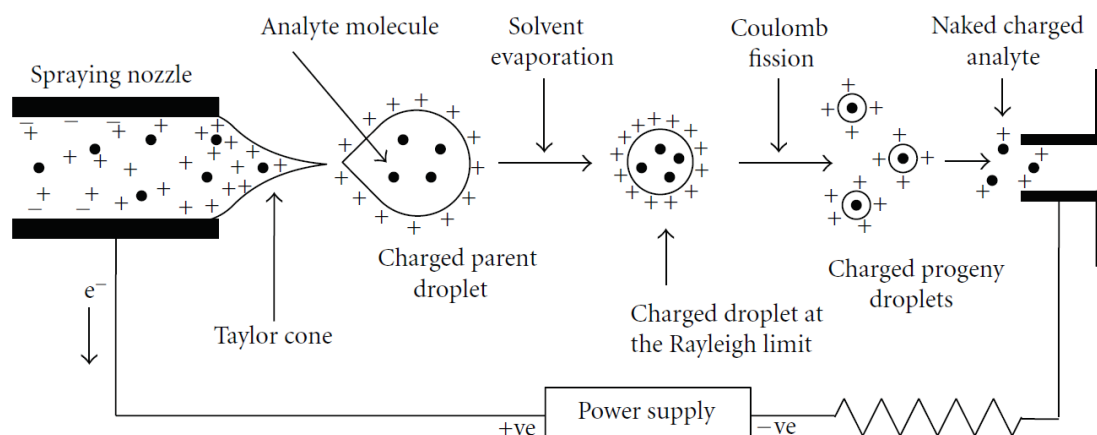
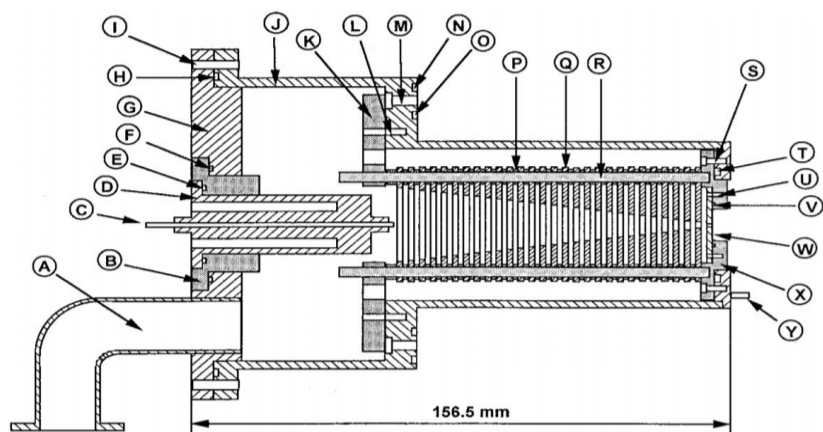


圖 1-13 電噴灑游離法的運作原理[61]

1.5.2 電噴灑聚焦法

在電噴灑游離質譜法中，多數實驗使用毛細管作為微流道。當電噴灑在毛細管尾端形成時，其噴灑張角約為 $90^\circ \sim 120^\circ$ 之間。當分析物被游離化噴灑出去後，會通過質譜儀入口再進入到質譜儀內被偵測。由於質譜入口尺寸極小，導致被噴灑出去的分析物並不會全部進入到質譜儀內。只有少部分分析物會被質譜儀偵測到，甚至濃度較低、含量較少的物質也不容易被偵測到。因此在 1997 年由 Shaffer 首先提出了一離子漏斗(Ion Funnel)的概念[62]，如圖 1-14。透過在毛細管末端和質譜儀之間安裝一自製的離子漏斗裝置來將電噴灑聚焦。離子漏斗由一系列內徑逐漸變小的電極所組成，並施加 RF 和 DC 的電場來控制。讓電噴灑游離在遇到此電場時會受到同性電荷排斥進而向內聚集，最後聚焦在質譜入口。Shaffer 等人提出的離子漏斗由於裝置本身結構複雜，且同時需要 RF 和 DC 供電，使得在操作上不容易使用。為了解決電噴灑張角過大問題且簡化裝置，本研究開發了一靜電聚焦環，成本低、結構簡單，詳細訊息將會在第二章節說明。



(A) stainless steel pumping port; (B) PEEK heated capillary block holder; (C) stainless steel capillary tubing; (D) aluminum heated capillary block; (E) O-ring (O-V020) groove; (F) O-ring (O-V028) groove; (G) stainless steel front flange of the vacuum house; (H) O-ring (O-V154) groove; (I) tapped hole for 8-32 screw; (J) stainless steel vacuum house; (K) PEEK ring (ion funnel holder); (L) tapped hole for 4-40 screw; (M) tapped hole for 8-32 screw; (N) O-ring (O-V152) groove; (O) O-ring (O-V142) groove; (P) ceramic insulating washer; (Q) nickel-coated brass ion funnel electrode; (R) ceramic rod; (S) tapped hole for 2-56 screw; (T) O-ring (O-V125) groove; (U) tapped hole for 0-80 screw; (V) O-ring (O-V014) groove; (W) nickel-coated brass final orifice electrode (conductance limit); (X) final PEEK ring (ion funnel holder); (Y) stainless steel mounting peg.

圖 1-14 Ion Funnel 裝置的配置圖[62]

1.5.3 電噴灑晶片之設計

電噴灑游離法常與相關分離技術整合使用，如毛細管電泳、高效能液相層析等。在毛細管電泳分離方面，此技術已發展成熟，且配合晶片微型化有良好的應用。若將兩者整合最關鍵的問題在於如何讓電噴灑噴嘴與毛細管末端或是微流道出口有良好的銜接。若銜接不佳，會導致晶片效能降低甚至無法運作。現今常見的電泳電噴灑晶片為連接外部毛細管與微型電噴灑噴嘴。在 1997 年 Ramsey 首次將毛細管電泳與電噴灑游離法整合於一微晶片上[63]，在平面玻璃基板上蝕刻一微流道，並將微流道尾端設計為開放式流道，作為電噴灑的噴嘴。除了尾端開口之外，此晶片無需另外對晶片做出修改，也成功地利用離子阱質譜儀偵測到四丁基碘化銨等化合物。此研究雖然架構簡單但由於玻璃的親水性較高，液體在末端容易形成巨大液珠，使得電噴灑游離的效率變差，且噴灑方向較難以控制。在同年 1997 年由 Figeys 等人首先提出連接外部毛細管的作法[64]。研究中將石英毛細管固定於微流道出口端，作為電噴灑的載台，並成功地將未離分的蛋白質混合物噴灑進入離子阱質譜儀

中。雖然在毛細管與流道出口對位的方式還需改善，但此研究還是證明了毛細管電泳與電噴灑游離法整合的可能性。

微型電噴灑噴嘴為目前最廣泛使用的製程之一，其材料包括玻璃、高分子材料、矽等等。此類噴嘴又可以細分為三種類型，晶片角落電噴灑型、外接噴嘴型以及微加工噴嘴型。在2008年由Mellors等人提出在角落進行電噴灑游離的晶片設計[65]，如圖 1-15 所示。透過將流道設計於晶片角落，並在角落製造一缺口。在角落進行電噴灑的好處是不容易產生吸附現象，能有效改善玻璃晶片對於液體吸附的影響，此研究也透過流道設計加長分離距離使分離效果更佳。

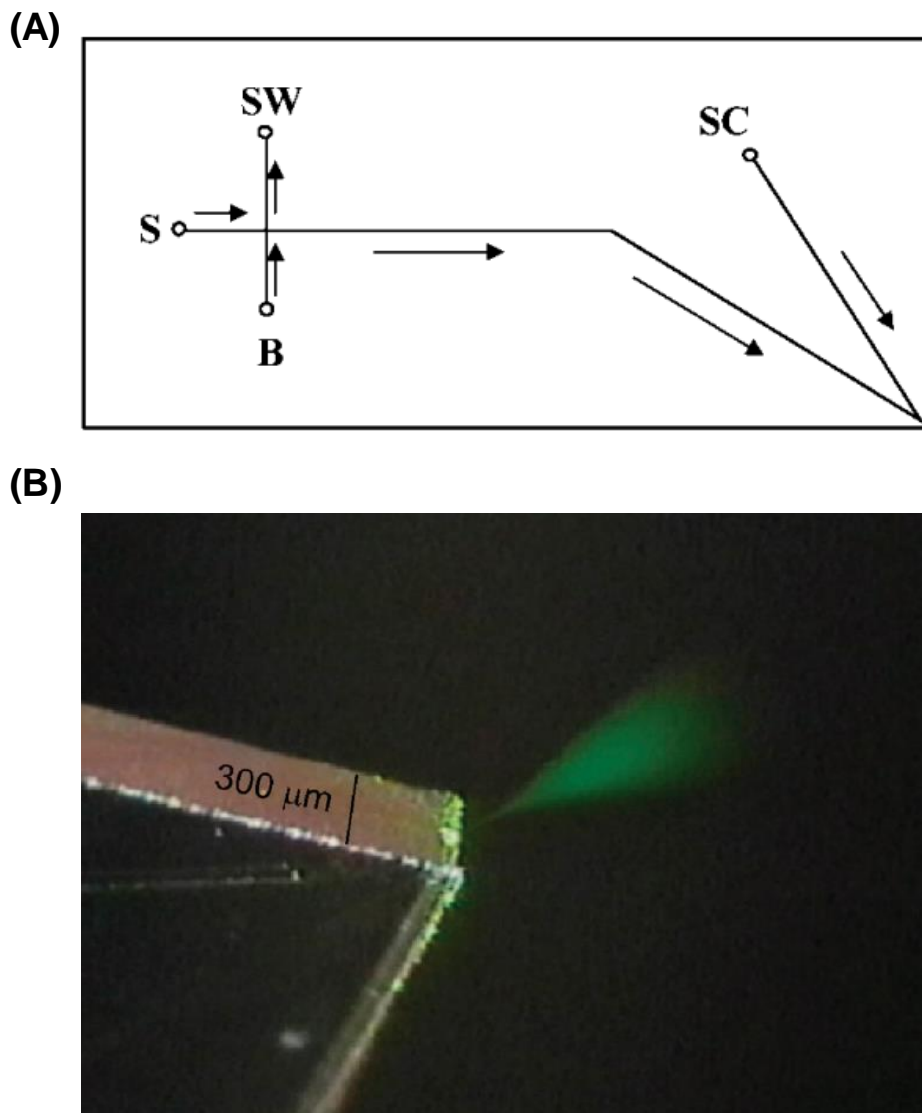


圖 1-15 Mellors 等人提出的晶片角落電噴灑設計[65]。(A)為流道設計，將流道方向導向晶片角落端，並在角落創造一缺口進行電噴灑，(B)為真實電噴灑影像圖。

在 2003 年 Tachibana 的團隊提出了外接電噴灑噴霧器的概念[66]。在流道尾端連接一電噴灑噴霧器的插槽，透過帶有螺旋結構的噴霧器安裝至插槽內，如圖 1-16 所示。此研究可以隨時更換電噴灑噴霧器，可有效地降低分析物殘留互相汙染的問題，並在蛋白質、胰蛋白酶量測皆有不錯的表現。

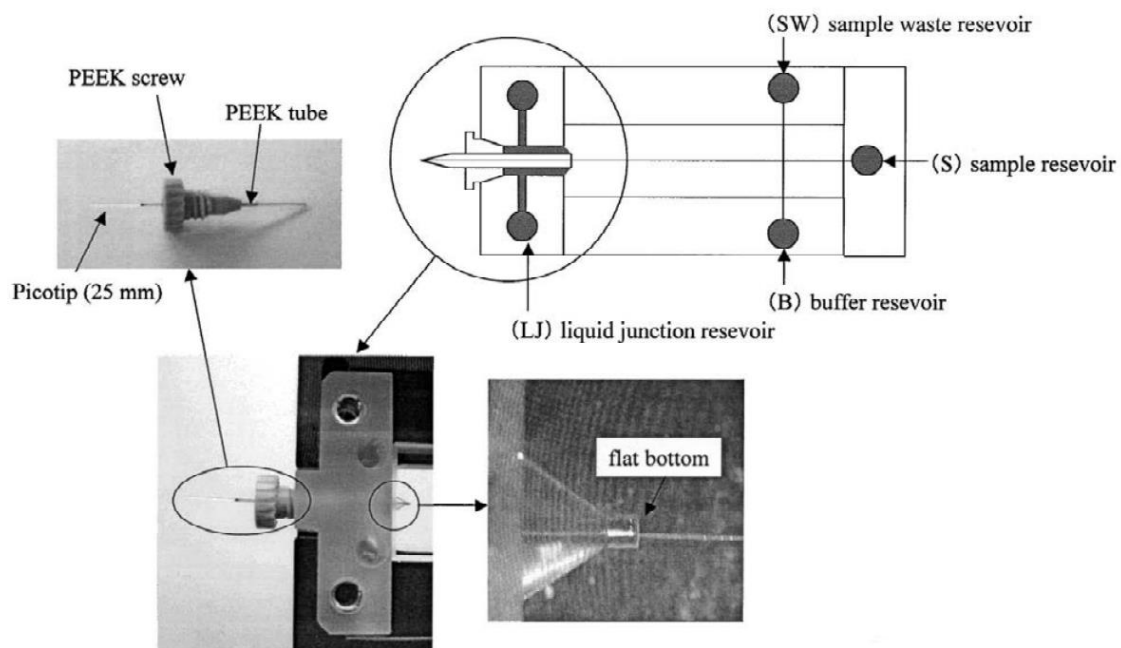


圖 1-16 外接式電噴灑噴霧器示意圖[66]。由 Tachibana 等人提出，在流道尾端設計一插槽，可以自由地更換不同內徑的噴霧器。

傳統電噴灑游離所使用的載體不外乎毛細管、玻璃晶片等等。近年來針對電噴灑游離方式也有許多研究，如紙片電噴灑、線電噴灑，甚至是以樹葉為電噴灑載體[67]的研究蓬勃發展。紙電噴灑(Paper Spray Ionization, PSI)的概念在 2010 年由 Wang 所提出[68]。其設計相當簡單，利用三角形紙片作為載體，並將樣本滴至紙片中央。將電噴灑緩衝液由紙片後方加入，並施加一電場於紙片，不需要額外的噴嘴，樣本會往紙片尖端聚集形成泰勒錐。當溶液間庫倫斥力大於表面張力時，就會產生穩定的電噴灑游離。此技術優勢在於成本低廉、所需樣本量極少且操作簡單，僅需提供一高壓電源，紙片在每次操作完即可丟棄，杜絕了交叉汙染的情況。紙電噴灑也能搭配簡單的紙層析技術來使用，先在紙片上進行分離，再將完成分離的樣

本進行電噴灑，能針對複雜的樣本進行分析，是非常有潛力的快速分析方法。雖然紙片電噴灑具有多項優勢，但在紙基晶片的製作上卻有一些限制。首先需要定義紙片的親水與疏水區域來決定流道位置，且紙基晶片難以製作細小流道。針對紙片本身由於形狀平坦，在尖端的泰勒錐並非如毛細管一樣呈現錐體狀。而是呈現扁長型，且較難以維持長時間噴灑狀態，對於分析化學的定量與定性有一定的影響。

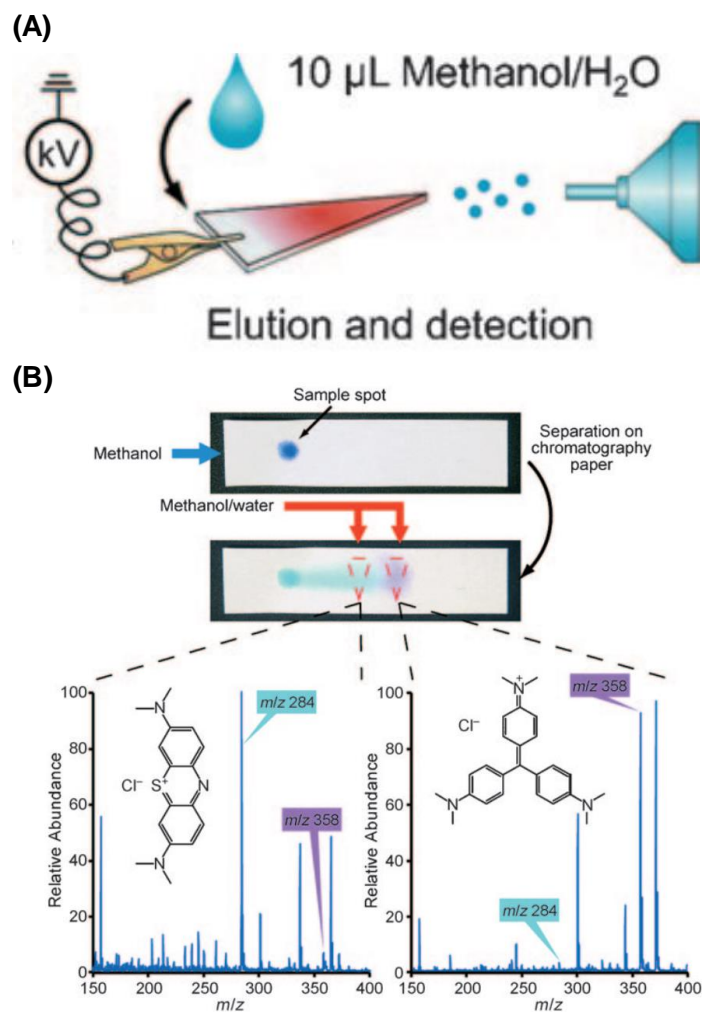


圖 1-17 Wang 等人所提出紙電噴灑示意圖[68]。(A)為紙電噴灑游離的運作機制示意圖，(B)為先利用紙層析將亞甲基藍與甲基紫分離後，在將不同區域剪下進行紙電噴灑的結果圖。

1.6 研究動機與目的

開發整合微型化晶片技術是目前各檢測領域的發展趨勢，為了要取代實驗室大型儀器，讓分析方法普及化、全面化，不再受限於僅專業檢測中心才能進行。近年來本實驗室致力於利用聚酯纖維線製作線微流體晶片，並整合電泳分離與電化學分析。目前已發表的相關研究，多採用相對複雜的製程技術，且當有一電極受損時此晶片等同於失效，必須重新製作新的晶片。在電化學分析也有許多限制，若樣本成分過於複雜也不易於檢測，且無法得知分析物的化學組成與結構等資訊。因此本研究欲提出一可換式模組化的線微流體系統，同時整合電泳分離、電化學偵測與質譜分析於同一晶片上，採用直線型流道設計，簡化晶片架構與操作難度。此外本研究為改善電極損壞晶片失效的問題，開發一可拆卸式電極架構。與以往微流體晶片不同，利用 3D 列印製作出插槽結構，使電極與基板成為可拆卸的模組。使用者能夠自由替換損壞電極，而不需重新製作品片。另外本研究開發一電噴灑游離聚焦技術應用於電噴灑游離上，使用 3D 列印製作靜電聚焦環，透過電場控制來提升質譜儀的離子濃度，同時也提升訊噪比。最後，本研究整合電泳分離電化學偵測與質譜偵測，開發一製程簡單、低成本、電極可替換、且多功能的檢測裝置。

本研究欲提出一可替換式模組化的電泳電化學晶片，實驗目的如下：

1. 將重新設計晶片，並將電泳分離、電化學與質譜偵測整合於同一晶片
 - a. 簡化電泳電化學晶片的加工製程及實驗步驟。
 - b. 將電泳分離、電化學、質譜分析進行整合。
 - c. 解決電極損壞後晶片失效的問題。
2. 將靜電聚焦環系統用於電噴灑質譜偵測
 - a. 透過 3D 列印導電高分子材料電極做為靜電聚焦環
 - b. 將靜電聚焦環進行電噴灑聚焦可行性測試。
3. 將本微流體系統進行廣泛性測試
 - a. 針對標準品、混合物進行電化學與質譜分析。
 - b. 針對靜電聚焦環性能進行測試。

1.7 論文架構

本論文第一章將先簡述研究相關背景與技術，第二章說明材料特性與實驗原理，接下來第三章是實驗架構、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 1-18 所示。



圖 1-18 論文架構圖

第二章 實驗原理與材料特性

本研究最主要的技術，總共分為毛細管電泳分離、電噴灑聚焦、質譜分析三個部分。毛細管電泳分離主要是進行偵測的前處理，利用電場使樣本進行分離，最後再依序被檢測端偵測到。此方法可提升晶片檢測的靈敏度和準確度。電噴灑聚焦技術主要透過本研究開發之靜電聚焦環來進行。在靜電聚焦環上施加一正電場，當電噴灑游離將樣本游離化後，樣本會通過此環。此時帶電的樣本會受到靜電聚焦環電場影響向內移動，來達到聚焦效果。此技術能有效地提升質譜儀的離子強度與訊噪比。質譜分析技術主要是透過質譜儀來量測物質的質荷比。當代測樣本進入到質譜儀後，會受到內部電場影響，隨著荷值比不同，物質行走路徑會有所差異。質譜儀是可以定量與定性的檢測儀器，是目前世界上最靈敏的偵測技術之一。

2.1 毛細管電泳分離

現今在質譜檢測領域，都會進行樣本前處理與分離來提升檢測的精準度。在檢測中心最常使用的分離技術為高效能液相層析與氣相層析，透過此兩種方法能夠非常有效地將樣本分離。由於層析分離時間過長，不適合應用於微流體晶片上。本研究為了有效地提升晶片的檢測效能與縮短檢測時間，將電泳分離整合至晶片上，來取代傳統的層析分離。毛細管電泳分離主要作用力分別為電泳流以及電滲透流，藉由在毛細管兩端施加電場來驅動樣本，使樣本遷移並分離。電泳流是指溶液中帶電離子會朝向相反電性端移動，因此不同帶電離子會朝向不同方向前進。由於電滲透流速度會遠大於電泳流速度，因此在正電場環境下，帶負電離子還是會朝向陰極端前進。帶正電離子會最先到達陰極偵測端，再來是中性離子，最後才是帶負電的離子通過。帶電離子在溶液中電泳流結合電滲透流的速度計算方式如公式(4)所示。

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

v ：分析物移動速度(Velocity of an Analyte)

μ_{eo} ：分析物的電滲透流遷移率(Electroosmotic Mobility of an Analyte)

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

l ：毛細管分離長度(Separation Length of a Capillary Tube)

2.2 電噴灑游離法

2.2.1 一般電噴灑游離

典型電噴灑游離法是使用內徑為 300 ~ 500 μm 且充滿溶液的毛細管，透過施加一高壓電於毛細管，使毛細管噴嘴端形成電噴灑游離。電噴灑游離又可以分為三個階段，分別是帶電液滴形成(泰勒錐形成)、溶劑揮發與液滴爆裂、生成氣相多價電荷離子。

(一) 帶電液滴形成(泰勒錐形成)

當毛細管前端被施加高壓電，內部溶液的帶電離子會受到此電場影響，往相反電荷方向前進。若施加一正電場且地端至於毛細管前端出口，此時帶正電離子會朝向前端移動。當大量的離子集中到出口端時，會因溶液的表面張力在出口形成泰勒錐。當施加電場強度夠高時，離子之間的庫倫斥力會突破溶液表面張力飛出，產生電噴灑游離。

(二) 溶劑揮發與液滴爆裂

帶電液珠從泰勒錐被噴灑出來後，其數量龐大且大小不一。這些帶電液珠會持續受到電場牽引往地端(質譜入口)前進。在飛行過程中，帶電液珠中的溶劑會快速且大量蒸發，導致液珠體積急速縮小，液珠的電荷密度會逐漸增加。當這些體積縮小液珠內帶電離子庫倫斥力大於表面張力時，液珠會再次爆裂成更小的帶電液珠。此過程會在進入質譜儀之前發生多次，直到溶劑揮發完畢。

(三) 生成氣相多價電荷離子

電噴灑游離法目的是要將帶電液珠游離成多價電荷的氣相離子。其生成的機制目前有兩種較被科學家們所接受，單一離子理論(Single Ion in Droplet Theory, SIDT)和離子揮發理論(Ion Evaporation Theory, IET)。在 1968 年由 Dole 等人提出的單一離子理論[59]，主要述說電噴灑游離後爆裂的小液珠會再不斷爆裂和揮發。當溶劑全部揮發完後，液珠上原有的電荷會全部轉移到分析物上，透過電荷的轉移形成多價電荷的氣相離子。1976 年由 Irivarne 和 Thormson 所提出的離子揮發理論[69]，內容主要述說當帶電液珠爆炸多次後，分析物可能會受到液珠表面同性電荷的排斥力而被逐出。同時部分電荷會被帶出，形成多價電荷的氣相離子。目前學界大多接受離子揮發理論，但由於電噴灑游離到質譜儀的時間、距離都極短，所以關於電噴灑游離法多價電荷離子產生的機制仍然有存疑。

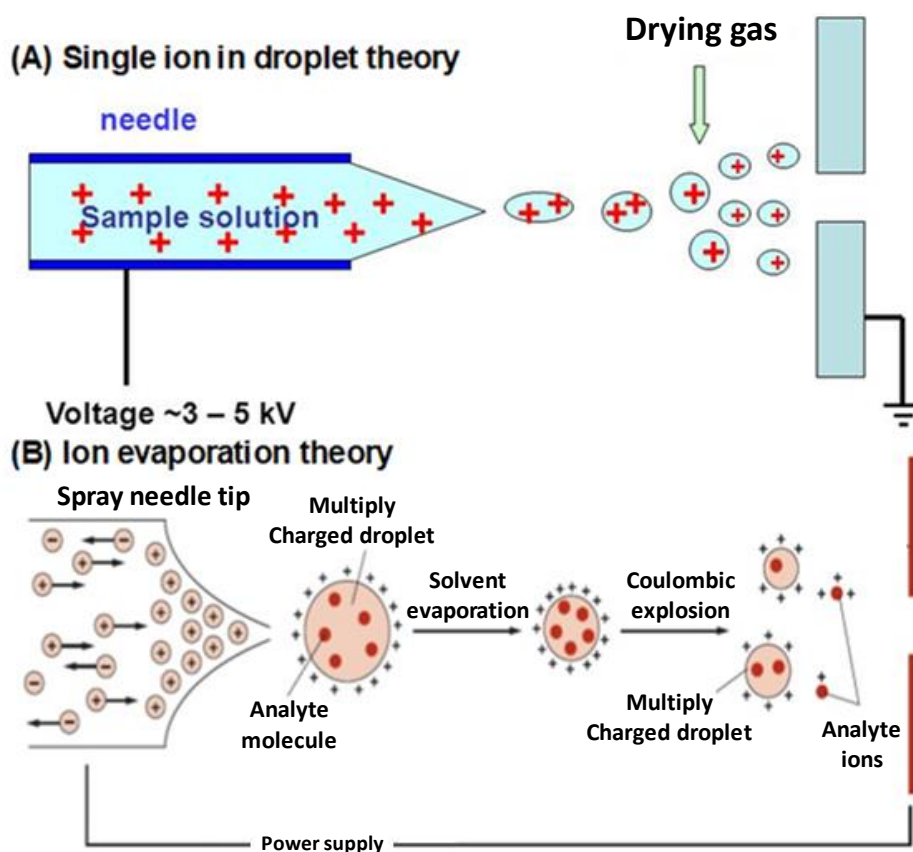


圖 2-1 電噴灑游離的多價電荷離子形成機制。(A)單一離子理論(Single ion in droplet theory, SIDT)，(B)離子揮發理論(Ion evaporation theory, IET)。

2.2.2 電噴灑聚焦

現今電噴灑游離質譜法所面臨的問題在於電噴灑游離噴灑張角過大，而質譜入口尺寸極小，導致部分游離化離子無法進入質譜儀內，或是濃度過低而無法被偵測到。為了改善此類問題，增加進入質譜儀內的樣本數，在 1997 年由 Shaffer 等人提出的離子漏斗裝置[62]。Shaffer 等人利用鎳銅合金製作多環型聚焦裝置，裝置總長度為 156.5 公分，作為毛細管與質譜入口間的接口。當分析物從毛細管噴灑出後，這些帶電離子團會經過逐漸縮小的環形離子漏斗。此裝置會通入一直流電與一交流電來控制電場，透過控制電場將帶電離子向內聚集。此研究在量測細胞色素 C 有良好的結果，使用離子漏斗後質譜離子強度與未使用相差了約十倍，證實了此裝置能夠有效地增強質譜儀的偵測能力。雖然離子漏斗能夠有效地提升離子強度，但此裝置製作過程複雜且只能應用於毛細管上，其他游離源則無法使用。離子漏斗本身結構複雜，需要同時控制直流電與交流電，在操作上也十分不容易。故本研究欲使用簡單製程與架構來達到電噴灑聚焦效果。

電噴灑噴灑型態為霧態圓錐狀，本研究欲利用一靜電聚焦環來控制帶電液珠。在靜電聚焦環上通入一 0.0 V 到 1.5 kV 的直流高壓電，而這些帶電液珠會受到此環形電場影響向中心聚集，如圖 2-2 所示，藉此達到縮小電噴灑張角的效果。

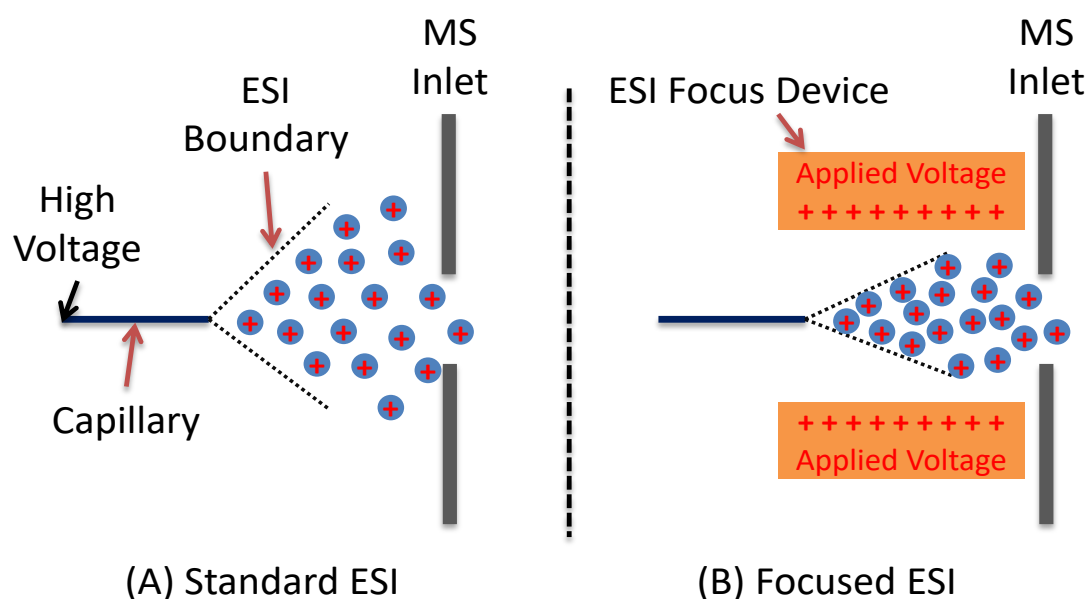


圖 2-2 電噴灑聚焦示意圖(A)標準電噴灑游離(B)利用電場來控制帶電液珠

2.3 質譜分析

質譜儀(Mass Spectrometry, MS)為世界上最靈敏的分析儀器之一，主要根據樣品的質荷比對樣品進行分類。常用於農藥、食品與微生物分析等等。只需要少量的樣本即可獲得良好的分析結果，且為即時偵測。依據設計和構造不同，質譜儀有許多種類型，如四極柱式、離子阱式、時間飛行式與傅立葉轉換式。由於質譜儀造價昂貴大部分只有檢測中心或大型實驗室才會使用。質譜儀內所要求的真空度極高，至少都要達到 10^{-5} Torr 以下真空度，故都需搭配強力抽真空系統。

質譜分析過程大致上可以分為四個步驟，如圖 2-3 所示，分別為樣本注入、游離源、質量分析、離子偵測。在樣本注入前通常會先將樣本分離，為了提高質譜儀的檢測能力，通常會搭配高效能液相層析(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)[70]或氣相層析(Gas Chromatography, GC)[71]來使用。樣本都會經過長時間分離再進入到質譜儀內，然而 HPLC 與 GC 皆需要很長時間並且容易存在樣本殘留的問題。為了減少檢測時間且同時保有分離效果，在微晶片領域常使用電泳分離來取代層析法。

游離源部分，目的主要是將樣本游離成帶電的氣態離子進入質譜儀內。常使用的游離法又可以分為傳統真空游離技術，如電子撞擊游離法(Electron Impact Ionization, EI)[72]與化學游離法(Chemical Ionization, CI)[73]，以及現代有機游離源，如電噴灑游離法、介質輔助雷射脫附游離法(Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization, MALDI)[74]和大氣壓力化學游離法(Atmospheric-Pressure Chemical Ionization, APCI)[75]。質量分析原理主要是進入到質譜儀內離子會受到加速電場作用，形成離子束並進入到質量分析器內。在質量分析器中透過電場或磁場的控制使不同質荷比離子在空間/時間上分離，或是只篩選特定質荷比離子留下。質譜儀種類就是按照質量分析器的不同來區分。最終被分離或篩選過後的離子會進入偵測器被偵測到，偵測器主要工作是紀錄感應電流或是撞擊產生的電流，來分析撞擊物訊號。

偵測器又有許多種類，如法拉第杯、電子倍增管以及微通道板。法拉第杯可以用於離子數量較多且真空度較低的質譜儀內，為較老舊的偵測方法。電子倍增管則需使用在真空度較高且離子數量較少的環境中，如四極柱式、離子阱式。微通道板的原理與電子倍增管相似，主要是透過多次倍增二次電子來放大訊號，大多應用於時間飛行式質譜儀上。

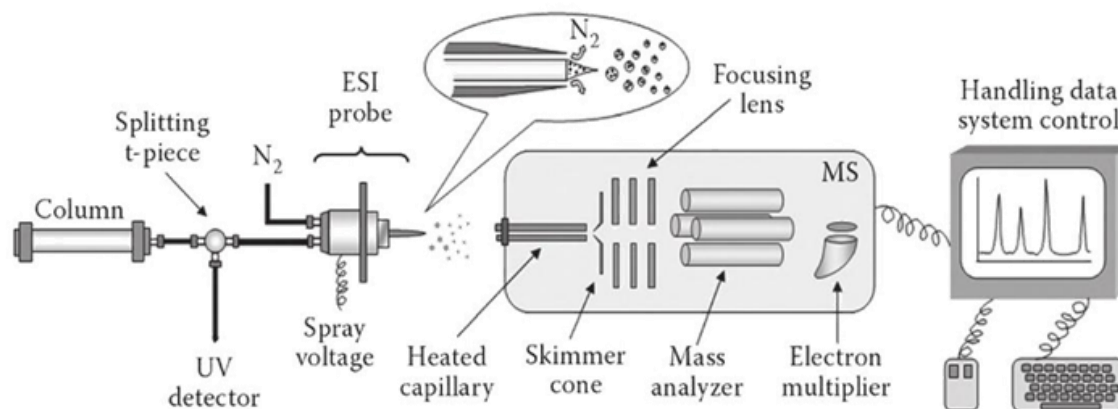


圖 2-3 質譜儀的分析過程示意圖。大致上可以分為四個步驟，樣本注入、游離源、質量分析與離子偵測[76]。

第三章 實驗設計與架構

本章節首先將於第一節詳細說明本可換式模組化線微流體晶片與靜電聚焦環的設計與製作；第二節則針對可換式模組化線微流體晶片的實驗架設與實驗流程進行介紹；第三節則對於電泳電化學與質譜檢測進行詳細的介紹，包含電化學、質譜的游離及偵測系統。其中主要說明電泳分離參數、電化學設定以及質譜儀參數之設定；第四節則是完整說明此晶片的架構，包含設計、製程以及實際樣本操作的詳細介紹；第五節則會說明整體的實驗設計和檢測目標，完整呈現本研究的構想設計與理念；最後第六節詳細說明本研究所使用的溶液配置和比例。

3.1 可換式模組化線微流體晶片的設計與製作

線微流體不同以往的微流體晶片，採開放式液體流道，可以由外部注入樣本。本研究採單一直線型流道設計，使用單一條聚酯纖維線作為流道，成為樣本注入和電泳分離的平台。樣本可以使用市售定滴管來注入，且可以依照使用者的需求在線上不同位置注入樣本，操作簡單容易。在電泳電化學微流體晶片中，電極通常使用網版印刷或濺鍍的方式製作，且電極會直接製作在晶片基板上。這樣的設計會造成使用者無法自由改變電極間距和更換損壞電極。電泳分離則是會距離會影響到樣本分離效果，當需要改變電泳分離距離時，只能重新製作新的晶片。當晶片中有電極損壞時，晶片視同報銷無法繼續使用。為了能自由改變電極位置，並同時更換受損電極而不需重新製作。本實驗創新開發可換式電極設計，利用插槽式結構如同樂高積木，可以自由在晶片上擺放所需電極。當有電極損壞時能立即更換損壞電極，有效地改善傳統電泳電化學晶片的缺點。

3.1.1 可換式電極的設計與製作

圖 3-1 所示，為本研究所開發之可換式電極的結構示意圖。圖中為電極的三大結構設計，包含手掌、手指和卡榫(Tenon)。此電極使用商用 3D 製圖軟體(SolidWorks)

進行繪製，電極手掌區域主要是作為與電化學恆電位儀連接的位置，長 7 mm，寬 2 mm，高 1 mm。電極手指主要作為聚酯纖維線和樣本接觸的區域，手指的指寬為 400 μm ，長度為 7 mm。卡榫則是負責與基板的插槽連接，為可換式電極的關鍵設計。

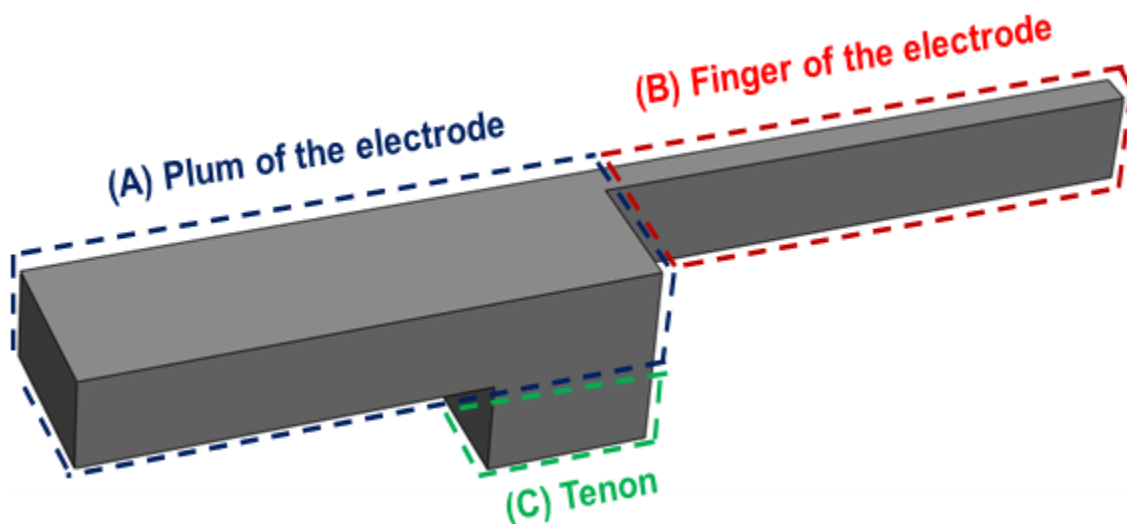


圖 3-1 可換式電極的設計示意圖。(A) 手掌：與電化學恆電位儀電極連接之區域 (B) 手指：與聚酯纖維線以及樣本接觸之區域 (C) 卡榫：與底下基板插槽連接的位置。

本研究使用 3D 列印機如圖 3-2 (Ultimaker 3 Extend, 3DMart, USA)來印製可換式電極，將繪製好圖檔輸出成 3D 列印機所使用的.gcode 檔，再將檔案匯入 3D 列印機中來製造。本研究所使用 3D 列印機具有雙噴頭的設計，可以同時列印兩種材料，但此步驟僅需不導電的高分子材料作基底，故只需使用單一噴頭。在材料選擇方面，選擇不導電的高分子材料 ABS(ABS Filament 3.0 mm, Ultimaker, USA)作為基材。ABS 具有強化學耐性、高強度且不容易受到有機溶劑破壞，非常適合作為電化學、質譜分析晶片的基材。由於上述優點本研究選擇 ABS 高分子材料來作為電極基底。3D 列印時噴頭溫度將會設定在 220 $^{\circ}\text{C}$ ，加熱板溫度調升為 60 $^{\circ}\text{C}$ ，每層厚度設定為 0.1 mm，列印速度為 60 mm/s。由於本研究所使 3D 列印機的最小列印線寬大約為 0.4 mm，故在電極設計時將與樣本接觸手指指寬設定為 0.4 mm，使電極大小能夠保持最小的狀態。3D 列印夠同時印製大量可換式電極，電極一致性也

能夠提升。完成 3D 列印後，將印製完成的電極與基板組裝形成電極陣列(Electrode Array)。



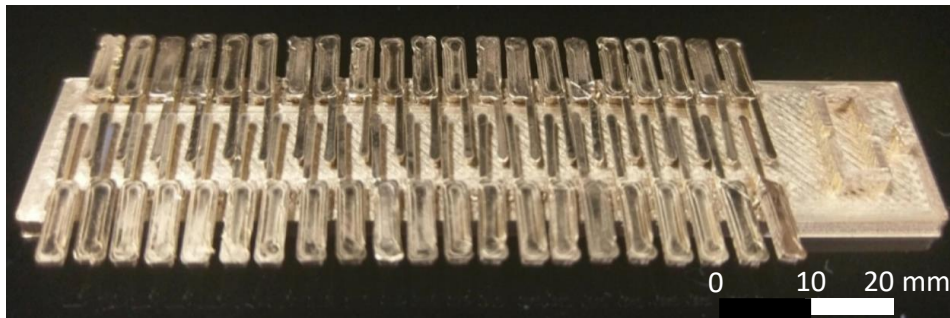
圖 3-2 本研究所使用的 3D 列印機(Ultimaker 3 Extend)

接下來將會進行金屬濺鍍，所使用濺鍍系統為本研究室自行開發的三槍式濺鍍系統，如圖 3-3 所示。將組合好的電極陣列放入真空艙體內，並開始濺鍍所需金屬材料，如金、銀、白金等等。在濺鍍開始之前，需先將真空艙體抽至 7.5×10^{-6} Torr，並將直流高壓功率設為 150 W，濺鍍時間為 10 分鐘。不同以往製程只能將少量晶片進行濺鍍，此製程能同時且大量濺鍍約 200 個可拆式電極。圖 3-4 為濺鍍完成之電極陣列，在單一個陣列上有 42 個可換式電極，金屬能夠有效地沉積於表面。傳統晶片製程，若要濺鍍三極式電化學系統(金、白金、銀)，還需要額外設計遮罩來避免金屬交叉汙染。本研究提出之可換式電極完美地改善了這樣複雜的製程，讓使用者免去複雜步驟，且能夠大量製造所需金屬電極。



圖 3-3 本研究室三槍式真空濺鍍系統

(A) Au



(B) Ag



圖 3-4 濺鍍完成之電極陣列。(A)金，(B)銀

3.1.2 微流體晶片的設計與製作

在晶片設計上，本研究設計一雙排式插槽基板作為晶片的主體，並在兩端在架上一條聚酯纖維線作為流道，如圖 3-5 所示。晶片可以針對不同電泳分離距離、不同電化學電極配置，自由地擺放電極位置和間距。本研究開發之晶片主要由三部分組成，包括電泳分離區、電化學檢測區以及 ESI-MS 區。在電泳分離區設計上，本研究採用一高壓電電極(High Voltage Electrode, HV)和一去耦電極(Decoupler Electrode)所組成。在 HV 電極上施加一高壓電來驅動樣本前進。去耦電極主要是作為地端，負責將電泳分離的高電壓導入地端，藉此減少電泳電場對於後方電化學量測的影響。在電化學偵測區，由金（工作）、白金（輔助）和銀/氯化銀（參考）電極組成的三電極電化學系統，用於偵測樣本以及電流峰值。當樣品進入到電化學偵測區時，將會在工作電極（Au）處發生氧化還原反應，並在輔助電極（Pt）測量到氧化還原電流。參考電極（Ag / AgCl）則是為工作電極（Au）提供一穩定參考電位，每個電化學電極之間距離為 1.0 mm。最後為 ESI-MS 區，此時會將所有電極斷路，並額外施加一 7.0 kV/cm 的高電場。此高電場做為電噴灑游離區的動力，並在聚酯纖維線前端形成泰勒錐。當液體庫倫斥力大於液體表面張力時，將會形成電噴灑游離，透過此方法將樣本送入質譜儀進行分析。另外在電泳分離區之前，我們設計了一儲液槽來填充緩衝液，使系統在運作上可以更加穩定。

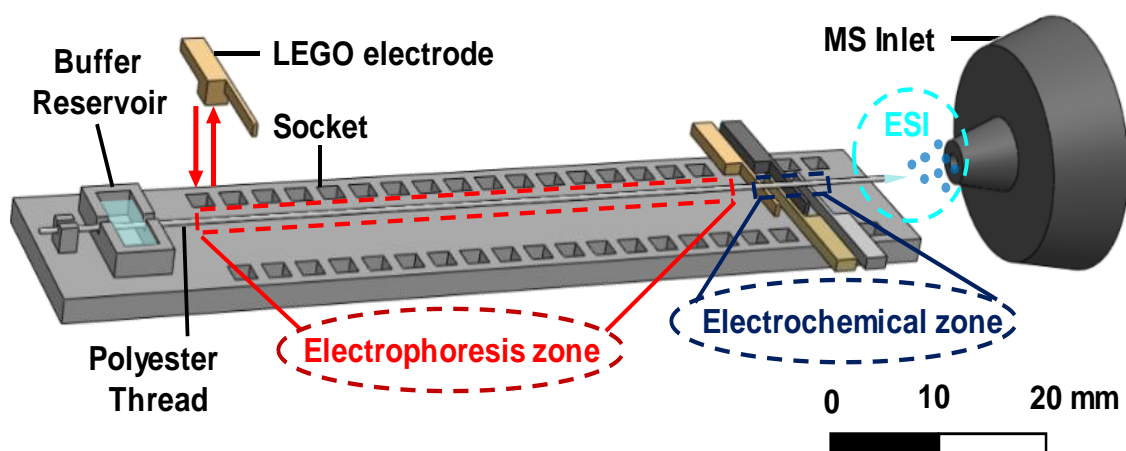


圖 3-5 可換式模組化線微流體晶片的設計圖。可以分為三個主要部分：電泳分離區、電化學區和 ESI-MS 區。

3.1.3 靜電聚焦環的設計與製作

本研究另外開發一靜電聚焦環置於聚酯纖維線前端與質譜入口之間各 0.5 mm。使用商用 3D 製圖軟體(SolidWorks)繪製一內徑為 10.0 mm 的圓環結構，並使用 3D 列印機製作，如圖 3-6 所示。由於靜電聚焦環本身需為可導電材料，在材料選用上，使用 ABS 混合導電碳黑的 ABS 導電高分子(Conductive ABS)作為圓環材料。下方支撐基底則為不導電的 ABS 高分子材料。參雜導電碳黑 ABS 電阻值約為數十 k Ω ，剛好符合高壓電的使用不容易發熱。3D 列印機能夠同時列印此兩種材料，故製程相對簡單。靜電聚焦環會與一直流高壓電源供應器連接，提供 0 ~ 1500 V 的高電壓，來使帶電離子向內集中，達到聚焦效果。

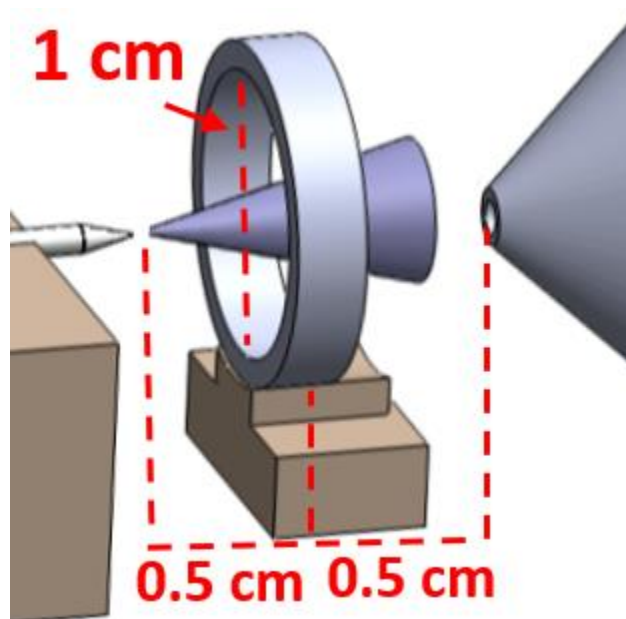


圖 3-6 本研究開發之靜電聚焦環示意圖。靜電聚焦環內徑為 10 mm，放置於聚酯纖維線、質譜入口之間，距離皆為 0.5 mm。

3.2 可換式模組化線微流體晶片系統

本章節將詳細說明可換式模組化線微流體晶片系統的實驗架設與流程。圖 3-7 為實驗架設圖，進行電泳分離的 CE 電極和去耦電極皆使用金(Au)電極，CE 電極與高壓電源供應器的輸出端相接。提供此高壓電源之型號為 Bertan 230-10R，最大能夠提供 10.0 kV 的高壓電，其接地端與去耦電極相接形成電泳分離迴路。CE 電極與去耦電極之間的距離為 50.0 mm，電場梯度為 100 V/cm。在去耦電極後方為三極式電化學系統，距離為 1 mm。由一個工作電極(Au)、一個輔助電極(Pt)和一個參考電極(Ag/AgCl)所組成，電極順序為工作電極、輔助電極、參考電極。三電極系統與電化學恆電位儀的工作電極、輔助電極、參考電極相接，三電極手指之間距離皆為 1.0 mm。恆電位儀會提供一電位至工作電極使通過電極之樣本產生氧化還原反應，並於輔助電極量測氧化還原電流或電壓訊號，最終繪製成電化學圖譜呈現在電腦上。參考電極則提供一準確且穩定的電位為工作電極電位之標準。本研究的參考電極使用真空濺鍍技術將銀濺鍍至電極表面，再將電極泡入 10.0 mM 氯化鐵(FeCl₃)溶液中進行 30 秒氯化，最終得到一銀/氯化銀的參考電極。

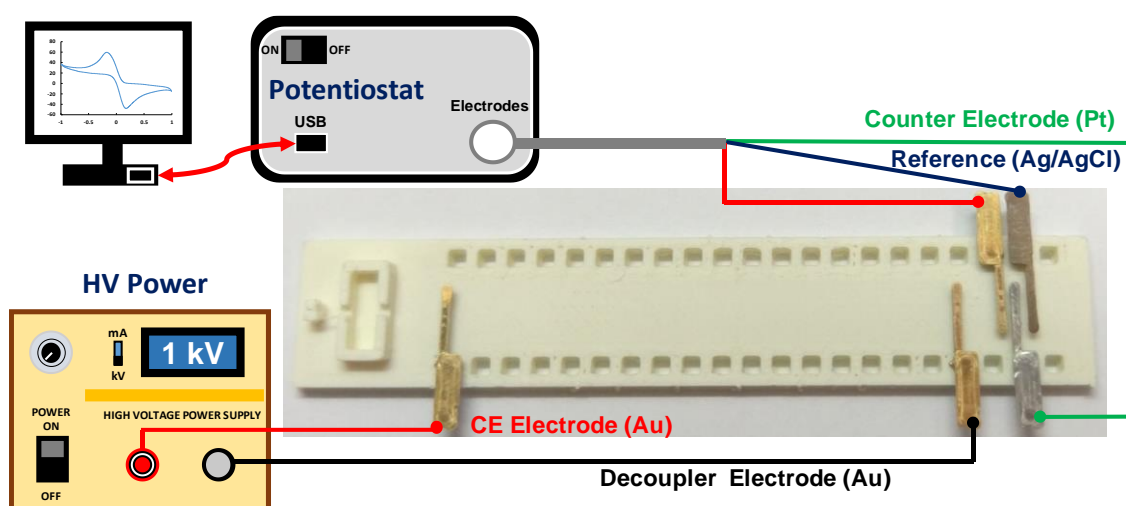


圖 3-7 可換式模組化線微流體晶片系統的實驗架設圖

在實驗方面，由於線微流體的特點，樣本能夠透過外部給樣方式進行，只需少量樣本 $0.2\ \mu\text{L} \sim 0.5\ \mu\text{L}$ 即可。實驗流程大致上可以分為四個步驟，樣本注入、電泳分離、電化學偵測和電噴灑游離質譜偵測。首先在晶片上架設一條聚酯纖維線作為流道，樣本注入部分，本研究使用市售定滴管(Pipette)來吸取和注入樣本，吸取約 $0.2\ \mu\text{L} \sim 0.5\ \mu\text{L}$ 樣本。為了能夠讓樣本有足夠的分離距離，將樣本滴定於 CE 電極前方。滴定完成後開啟直流高壓電源供應器，於 CE 電極上施加 $0.5\ \text{kV}$ 的高壓電，隨即進入到電泳分離階段。此時樣本會受到電泳電場的影響開始遷移，電泳分離長度為 $5.0\ \text{cm}$ ，樣本會因質量、帶電量、大小不同而有不同的遷移速率，藉此達到分離效果。

當樣本通過去耦電極時代表分離完成，並進入到電化學偵測區。在電化學偵測階段，完成分離的樣本會依序通過三極式電化學電極並被恆電位儀所偵測到。由於去耦電極的設計，樣本通過去耦電極後驅動力只剩下線本身毛細作用力。所以在設計上三極式電化學系統必須非常靠近去耦電極，讓樣本能夠馬上被偵測。完成電化學偵測後，樣本將會繼續往聚酯纖維線前端移動。此時會將所有的電極斷路，並額外連接一高壓電約 $7.0\ \text{kV}$ 進行電噴灑游離，樣本會受到此電場作用向線前端推進形成泰勒錐並噴灑游離，最終被質譜儀所偵測到。

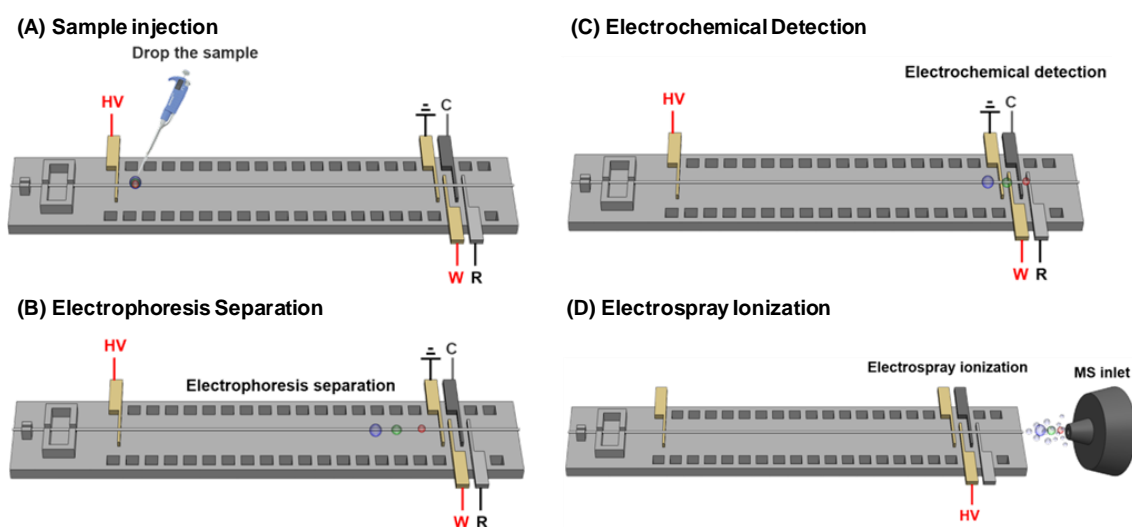


圖 3-8 可換式模組化線微流體晶片系統的實驗流程圖。(A)樣本注入，(B)電泳分離，(C)電化學偵測，(D)電噴灑游離質譜偵測。

3.3 電泳電化學與質譜檢測系統

本研究檢測方法分為兩種，分別是電化學偵測與質譜檢測。經過電泳分離後樣本會進入到電化學偵測區，透過恆電位儀對工作電極施加 $-1.0 \sim 1.0$ V 的氧化還原電位。樣本會在工作電極表面發生氧化或還原反應，反應電位的掃描速率為 0.1 V/s。完成電化學偵測後，透過線電噴灑游離法將樣本脫附游離化形成帶電離子。質譜入口為一負壓設計會吸引帶電離子，進入到質量分析器後，帶電離子會受到電場和磁場的影響。因質荷比有所差異會產生不同的加速度，並篩選出特定質荷比區間。篩選過後的離子最終會撞擊偵測器產生電流訊號，再經過後端分析處理繪製成即時的質譜訊號圖。本研究所使用之質譜儀為 LCQ 離子阱式質譜儀(LCQ DECA XP Plus, Thermo Fisher Scientific, USA)，如圖 3-9 所示，並無額外搭配任何層析裝置。本研究將質譜儀原有進樣源拆下，將微流體晶片放置於質譜入口前端取代原有的進樣口。離子阱式質譜儀(Ion Trap)本身特性為體積較小、有較廣泛的功能性，透過電場和磁場將離子囚禁在真空艙體中，真空度條件須達到 10^{-5} Torr 以下才有較佳的解析能力。離子阱另一個優勢在可於單一質譜儀內進行二次質譜分析(MS-MS)，有別於其他種類的質量分析器需經過串聯才能進行。本研究所使用之離子阱式屬於三維四極柱式，由四極端蓋和環形電極所組成，透過切換直流和無線射頻來控制交變電場。在本研究中質譜儀參數設定如下：質譜儀提供線電噴灑游離所需的電壓為 7.0 kV，聚酯纖維線前端與質譜入口保持 10 mm 的距離。以硼酸鈉(Sodium Borate)與去離子水配置 1.0 mM 的電噴灑緩衝溶液，質譜入口毛細管溫度設定為 150 °C，通道偏移電壓設定為 20.0 V，入口電壓設定為 6.0 V。在進行質譜檢測時須特別注意噴灑端與質譜入口之間的電場，目前線電噴灑所使用電場為 7.0 kV/cm 能夠穩定產生泰勒錐。若電場梯度過高可能會導致聚酯纖維線前端直接對質譜入口放電，導致質譜儀的分析器發生損壞，因此將距離保持在 10 mm 以上確保能夠在安全環境下進行實驗。



圖 3-9 本研究使用之 LCQ 離子阱式質譜儀

3.4 實驗設計與檢測目標

為了檢驗可換式模組化線微流體晶片系統的各项效能，將實驗設計分為四大部分，分別為：(一)可換式電極的性能測試、(二)電泳電化學的效能分析、(三)線電噴灑的效能與樣本檢測、(四)靜電聚焦環的效能分析。

(一) 三極式電極的性能測試

三極式電極製作的好壞，直接地影響電化學偵測效果，因此本實驗將利用長時間電流穩定度測試與兩種氧化還原標準樣本鐵氰化鉀、多巴胺來進行分析。電流穩定度測試將聚酯纖維線架設於晶片上，並只加上 1.0 mM 濃度的硼酸鈉緩衝液，進行 300 秒的電流量測，藉此來判斷本三電極系統的穩定性。電極性能測試利用循環伏安法來量測鐵氰化鉀和多巴胺，樣本被直接注入於三極式電極上，透過循環的電壓掃描來量測氧化還原電流，並分析訊號峰值，若有明顯的氧化還原峰就能證明本研究製程所製造的電極具有良好的電化學反應能力。

(二) 電泳電化學的效能分析

本研究利用安培偵測法來判斷電泳分離效能，透過量測 10 mM 鐵氰化鉀與 10 mM 多巴胺混合溶液來判別電泳效能。若兩者的氧化或還原峰在不同時

間有明顯的電流訊號，可以證明本研究電泳分離有良好效果。在電化學量測上配置 10.0 mM、1.0 mM、0.1 mM、0.01 mM 的赤血鹽來檢驗其量測極限和響應值。

(三) 線電噴灑的效能與樣本檢測

本研究使用聚酯纖維線作為創新電噴灑媒介，進行各種樣本的質譜偵測。使用電泳分離將複雜混合物分離後，再進行電噴灑游離，於質譜圖上記錄不同時間之質譜訊號。最終比較質譜圖差異來判斷電泳電噴灑游離之效能，以及檢測是否有較低濃度的樣本被偵測到。

(四) 靜電聚焦環的效能分析

利用 USB 數位攝影機來觀察在不同聚焦電場下電噴灑張角的變化。電場施加為 0.0 V/cm 到 3000.0 V/cm，並量測每 200.0 V/cm 角度變化，來檢驗靜電聚焦環對於電噴灑聚焦的效能。配置不同濃度的極性樣本咖啡因(Caffeine) 10.0 ppm、1.0 ppm、100.0 ppb 和 10.0 ppb。將樣本電噴灑游離後，觀察有使用靜電聚焦環和沒有使用靜電聚焦環的質譜離子濃度變化，並分析兩者比例關係，來判斷靜電聚焦環對於樣本離子濃度提升的效能。量測生物樣本 10.0 mM T7 Peptide 的訊號，來驗證有使用靜電聚焦環訊噪比是否有提升。判斷是否有較低質荷比訊號被量測到，並與一般電噴灑模式所測得之訊號進行質譜圖比較。

3.5 實驗溶液配製

- (一) 可換式模組化線微流體晶片系統所使用的緩衝液，使用去離子水與硼酸鈉調配 1.0 mM 濃度，使用量約為 100.0 μ L。
- (二) 電噴灑聚焦緩衝溶液為市售層析級甲醇和去離子水以 1:1 比例進行調配，每次注入量約為 20.0 μ L。
- (三) 本實驗電化學量測，使用氧化還原標準樣本鐵氰化鉀 (Potassium

Hexacyanoferrate(III), Showa, Japan), 俗稱赤血鹽, 以去離子水調配至濃度 10.0 mM 備用。

(四) 電噴灑的極性標準樣本咖啡因(Caffeine (Sigma-aldrich, USA)), 以去離子水配置 10.0 ppm、1.0 ppm、100.0 ppb 和 10.0 ppb 備用。

(五) 本實驗使用生物樣本 T7 Peptide 以去離子水配置濃度 10.0 mM 備用, 並使用滴定管施加於聚酯纖維線上。

(六) 本實驗選用生醫樣本多巴胺(Dopamine, DA (Sigma-aldrich, USA))以去離子水配置 10.0 mM 備用。

(七) 本實驗使用市售樣本能量飲料紅牛(Redbull, Austrian)), 此樣本不須經過前處理, 直接使用定滴管施加於聚酯纖維線上。

第四章 實驗結果與討論

4.1 可換式電極效能分析

本研究利用 3D 列印與真空濺鍍技術製作三極式電化學電極，分別為金工作電極、白金輔助電極以及銀/氯化銀參考電極。參考電極在完成銀濺鍍後，需要進行氯化反應。在進行電化學偵測前只需將銀電極放入 10.0 mM 氯化鐵溶液中浸泡約 30 秒鐘，即可完成銀/氯化銀參考電極的製作。為了測試本研究製作之可換式電極的效能，需要進行標準氧化還原樣本的循環伏安法量測，來檢視電極是否能與樣本有良好氧化還原反應。循環伏安法是透過施加一循環電位來得到物質的氧化還原電流訊號。利用電化學恆電位儀來調控起始電位與終點電位，並以固定速率來改變電位值完成一個量測循環，最終繪製分析物之 CV 圖。當電位從低往高電位掃描時，分析物會產生一還原電流，反之當電位從高往低電位掃描時分析物會產生一氧化電流。本研究選用標準的氧化還原樣本赤血鹽作為測試樣本，其化學式為 $K_3[Fe(CN)_6]$ ，在水中將會解離為 K^+ 和 $[Fe(CN)_6]^{3-}$ ，以去離子水配置 10.0 mM 濃度的赤血鹽溶液。

圖 4-1 為 10.0 mM 赤血鹽的循環伏安法量測，電化學恆電位儀起始電位設定為 -1.0 V，終點電位設定為 1.0 V，掃描速率設定為 0.1 V/s。使用定滴管將 10.0 μ L 的赤血鹽滴在三電極的表面進行量測。實驗結果顯示，CV 圖中顯示在 0.2 V 時赤血鹽有明顯的氧化峰，強度約為 -50.0 μ A。在 -0.2 V 時有明顯的還原峰，峰值強度約為 60.0 μ A。圖 4-2 為生物樣本多巴胺的循環伏安法量測 CV 圖，同樣以去離子水調配 10.0 mM 多巴胺，並將起始電位設定為 -1.0 V，終點電位設定為 1.5 V，掃描速率為 0.1 V/s。實驗結果如圖所示，多巴胺在 -0.1 V 時有明顯的還原峰出現，強度約為 60.0 μ A，在 1.23 V 時有明顯的氧化峰值，強度約為 -90.0 μ A。此兩結果證實了本研究所製造的三極式電化學系統在循環伏安法的量測有良好的表現，並能夠進行後續的電泳分離電化學偵測。

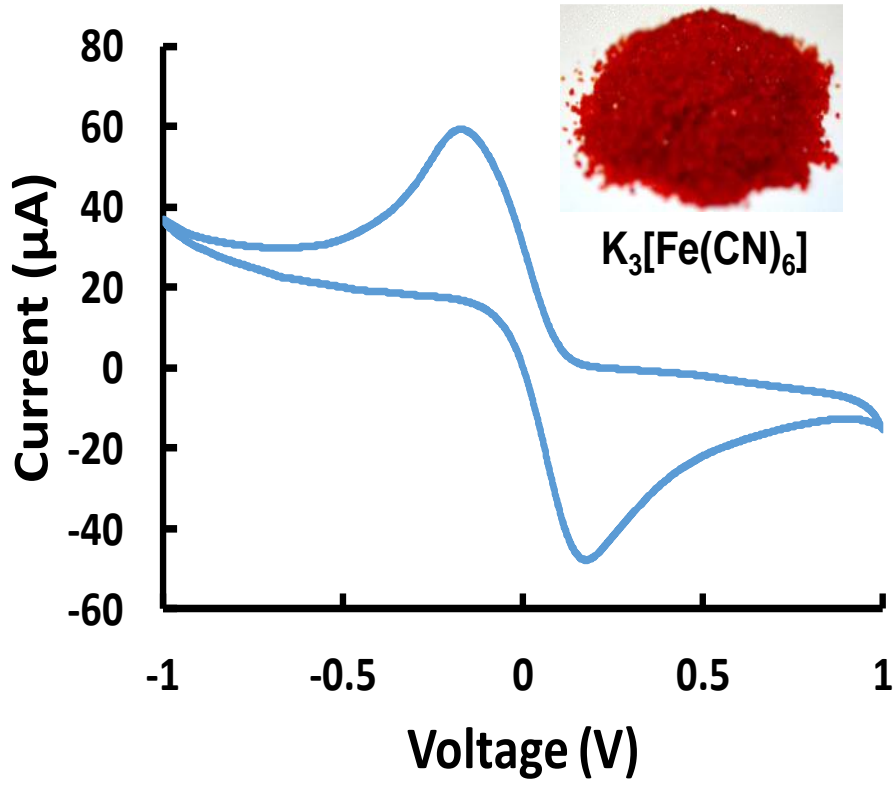


圖 4-1 10.0 mM 赤血鹽之循環伏安法量測圖

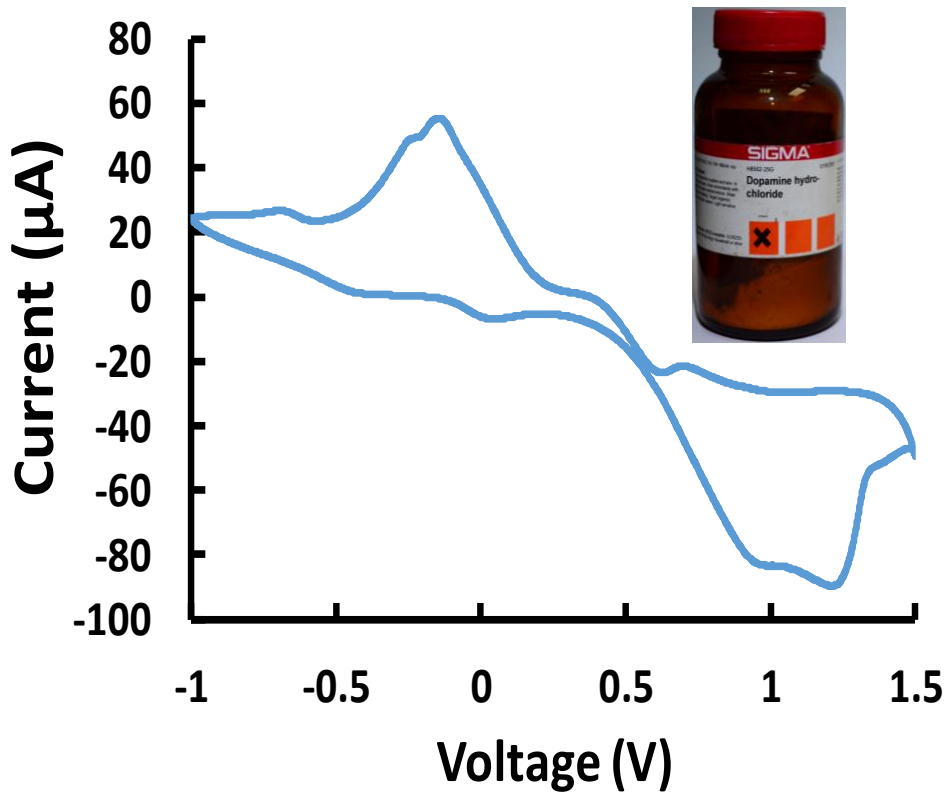


圖 4-2 10.0 mM 生物樣本多巴胺之循環伏安法量測圖

4.2 晶片分離效能與穩定度分析

本研究開發之可換式模組化線微流體晶片，透過電化學安培偵測法來偵測複雜樣本與混合物。分析訊號分離狀況與電流值改變，藉此判斷電泳分離是否能有效地運作。在電泳電化學晶片中，皆需要緩衝液來帶動分析物。緩衝液主要是來減緩 pH 值的改變，本研究選用硼酸鈉(Sodium Borate)作為緩衝液，因其非常容易溶於水中、無色，一般作為緩衝液用於 DNA 凝膠電泳、分析化學領域中。以去離子水配置 1.0 mM 硼酸鈉作為緩衝液於後續量測使用。

4.2.1 電流穩定度分析

為了確定電泳電化學量測系統穩定性，本研究進行了 500 秒的長時間安培偵測法量測，如圖 4-3 所示。將聚酯纖維線架設於晶片上，在儲液槽中添加 1.0 mM 硼酸鈉作為緩衝液。此時硼酸鈉會因為聚酯纖維線的毛細作用力而被吸入。當緩衝液浸潤了整條線後，開啟電化學恆電位儀開始安培偵測。電泳分離電場為 100 V/cm，工作電極電位設定為 0.5 V，並進行 500 秒量測。實驗結果如圖所示，其橫軸為時間，縱軸為電化學恆電位儀所量測的電流值。在 500 秒量測中電流值始終保持在穩定的 $-0.4 \mu\text{A}$ ，透過儲液槽設計，讓緩衝液可以自動補充，維持線本身濕潤度，證明了本系統能夠長期進行量測且能夠保持穩定電流值響應。

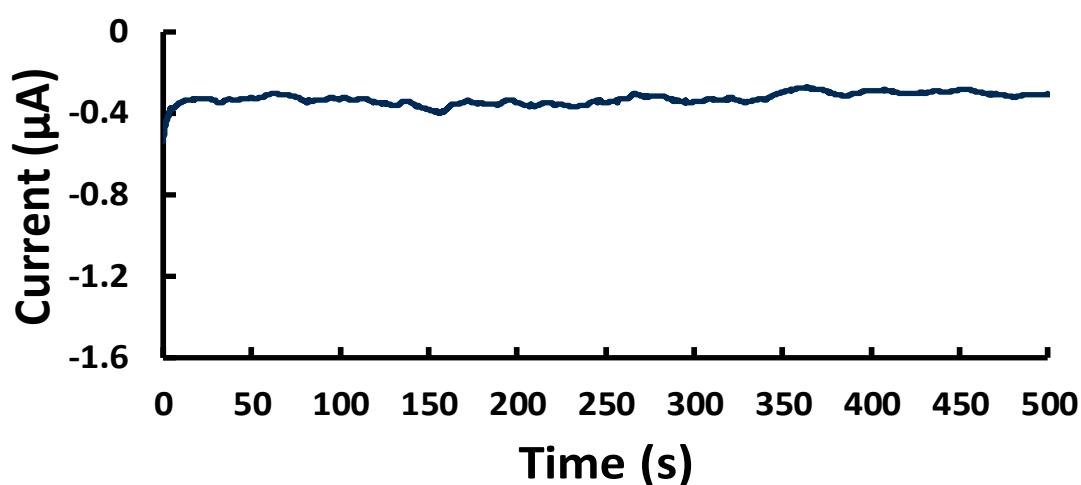


圖 4-3 500 秒之電流穩定度測試圖

4.2.2 電泳電化學效能分析

本實驗將前人開發之電泳電化學架構應用於可換式模組化微流體晶片上，並透過直線型聚酯纖維線作為電噴灑質譜法的游離端。圖 4-4 為針對單一生醫樣本 AA(Ascorbic Acid)俗稱維生素 C 的電化學安培偵測法結果。電泳分離強度為 100 V/cm，分離距離為 5 cm，並使用定滴管施加 0.5 μ L 的 AA 樣本，電化學恆電位儀的偵測電位設定為 0.5 V。由電泳電化學檢測結果圖顯示，在偵測時間約 240 秒時有明顯氧化峰出現，且其峰值強度 $\Delta \mu$ A 約為 -6。此結果證明，本研究使用之可換式模組化微流體晶片應用於電泳電化學偵測是可行的。針對電泳分離的效果測試，本研究將 10.0 mM 濃度的赤血鹽溶液與 10.0 mM 濃度的多巴胺溶液進行 1:1 等比混合，藉此來觀察在電化學偵測時，兩者氧化還原峰是否能被電泳有效地分離開來。

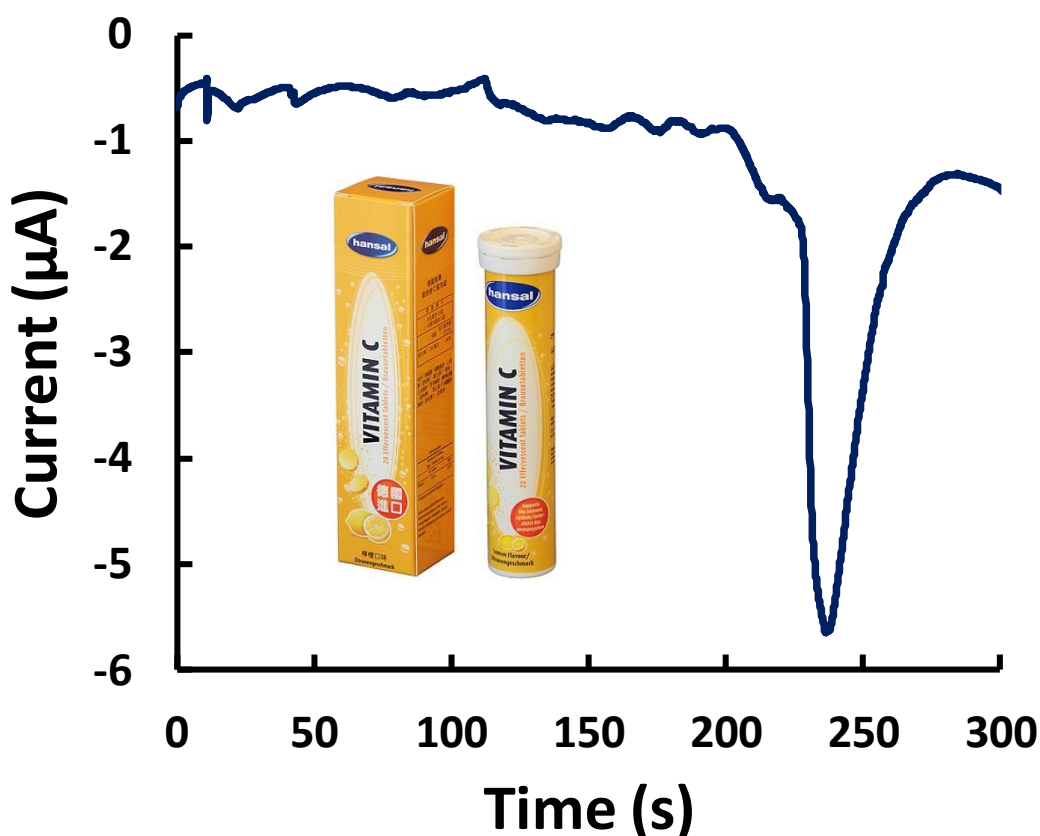


圖 4-4 市售維他命 C 錠之安培偵測法量測圖

圖 4-5 為赤血鹽和多巴胺混合溶液的安培偵測法結果圖，電泳分離電場為 200.0 V/cm，分離距離為 5.0 cm，電化學恆電位儀的工作電極電位設定 0.5 V。結果如圖所示，在偵測時間約 75 秒時獲得多巴胺的電流峰值訊號，其峰值電流強度 $\Delta\mu\text{A}$ 約為-1.0。而在偵測時間約 100 秒時得到赤血鹽的電流訊號峰值，其峰值電流強度 $\Delta\mu\text{A}$ 約為-0.4。從結果可以得知赤血鹽與多巴胺在本研究開發之可換式模組化線微流體晶片下確實被有效地分離開來並被偵測，證明了本研究所使用毛細管電泳分離技術能分離混合物且有不錯的效果。

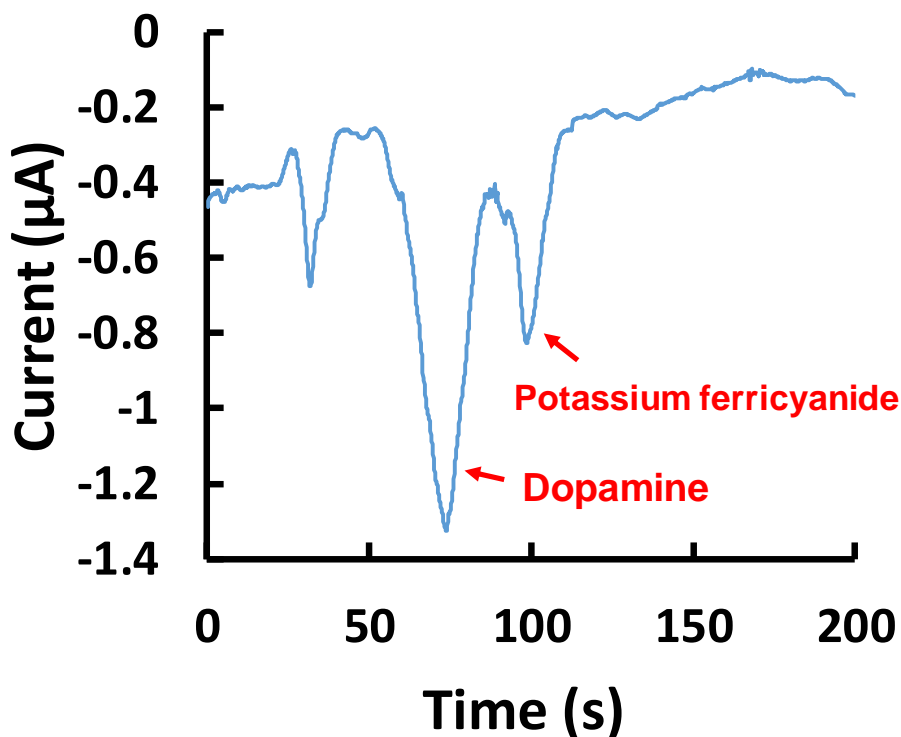


圖 4-5 10.0 mM 赤血鹽混合 10.0 mM 多巴胺溶液之安培偵測法量測圖

在食品樣本與天然物成分中，通常由許多複雜的物質所組成，因此本研究將電化學偵測與質譜偵測搭配使用。質譜儀最小偵測極限為 50.0 m/z，分子量太小的成分或金屬離子可以利用電化學檢測。利用電泳分離技術在晶片上事先將樣本分離，使線微流體晶片的檢測範圍、分析物的判別能力大幅提升。本研究進一步使用複雜組成的食物樣本，驗證其電化學偵測與質譜偵測之效能。圖 4-6 為市售能量飲料紅牛安培偵測法結果圖。紅牛樣本不需要經過樣本前處理，只需要使用定滴管將其滴

定至聚酯纖維上進行電泳分離與偵測。電泳電場強度為 100.0 V/cm，分離距離為 5.0 cm，電化學恆電位儀偵測電位設定為+0.5 V。使用定滴管在 CE 電極前滴下 0.5 μL 能量飲料紅牛進行電泳分離。紅牛中金屬離子含量多寡依序為鈉離子(38 mg/100 g)、鈣離子(13 mg/100 g)、鉀離子(3 mg/100 g)，結果表明成功檢測 Red-Bull 中的金屬離子，在 150 秒、175 秒、300 秒時有明顯的訊號峰值，其最大電流峰值 $\Delta\mu\text{A}$ 約為 1.2。此結果再次證明電泳電化學測量系統在本研究所設計的晶片中是可行的。

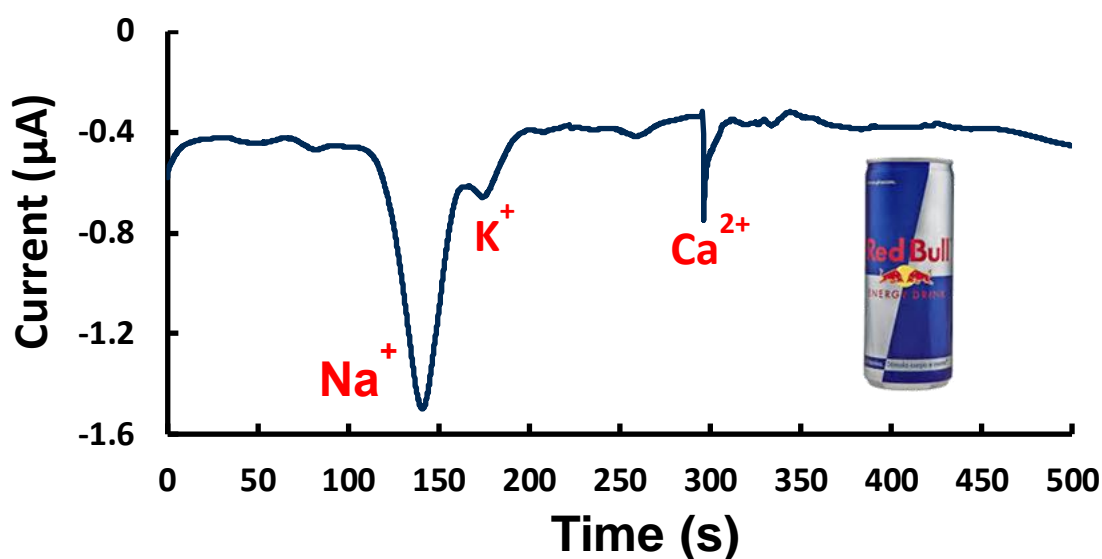


圖 4-6 市售能量飲料紅牛之安培偵測法量測圖

4.3 電噴灑游離質譜法效能分析

電噴灑游離質譜法幾乎能夠完成大部分的樣本分析，其擁有高分辨率、高解析、高靈敏度以及檢測範圍廣的優勢。一般在質譜儀前端還會搭配樣本分離技術，如高效能液相層析、氣相層析、電泳分離等等，藉此提升質譜儀的效能。本研究使用電泳分離作為前端分離樣本的機制，並將其實現於線微流體晶片中。為了進一步測試電泳電化學與電噴灑質譜法整合的性能，本研究檢測了能量飲料紅牛的內容物。圖 4-7 顯示了在電泳分離、電化學偵測結束後進入質譜儀的結果 (A) 0~2 分鐘 (B) 2~3 分鐘 (C) 3~5 分鐘後能量飲料紅牛質譜圖。質譜儀之掃描範圍設定為 100 ~

250 m/z，電噴灑游離電場強度為 7 kV/cm。本研究質譜儀背景訊號為 149 m/z 塑化劑，故於圖 4-7 中皆有出現。結果表明，菸酸(Niacin)在 0~2 分鐘內被偵測到。在 2~3 分鐘清楚地檢測到雙醣鏈基多醣(Biglycan)和泛酸(Pantothenic Acid)。其他低含量的物質，包括咖啡因(Caffeine)，肌醇(Inositol)，維生素 B6(Vitamin B6)和脫水果糖，在 3~5 分鐘內通過質譜法被測量到。針對訊號 176 m/z 葡萄糖醛酸內酯(Glucuronolactone)其本身為中性分析物，故在電泳分離無法對其作用，導致於圖 4-7 中三張質譜圖中皆有出現。圖 4-7 顯示了電泳分離效果良好，紅牛內容物被有效地分離開來，並且證明在可換式模組化線微流體晶片上可以有效地完成電泳分離、電化學偵測與質譜分析。

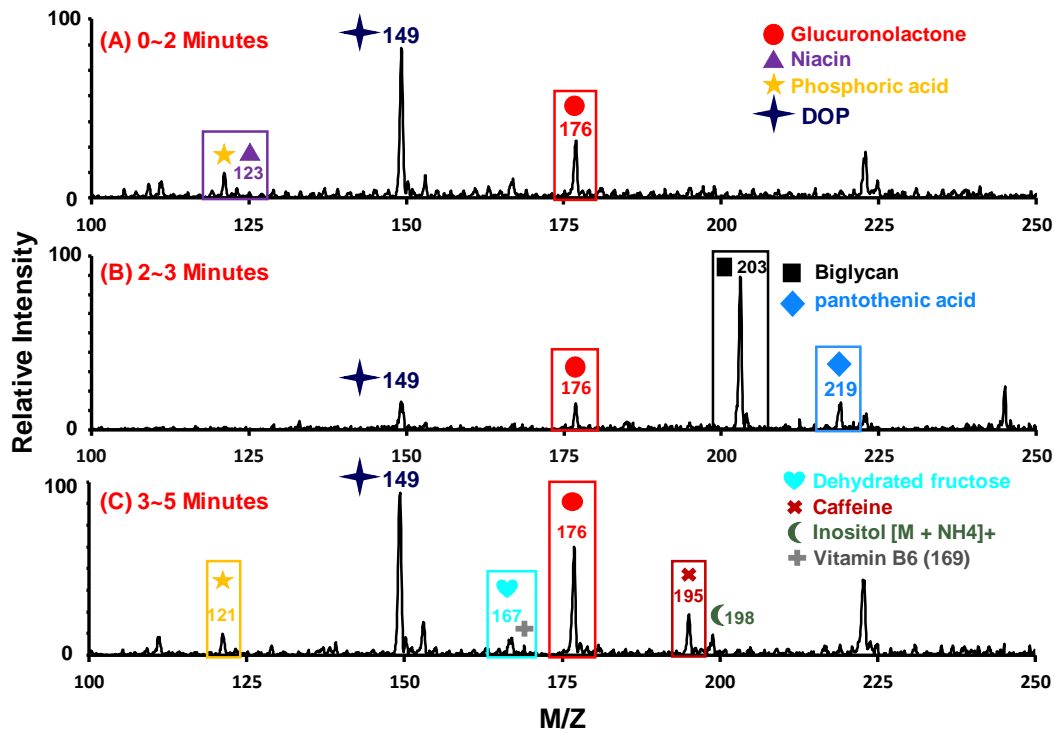
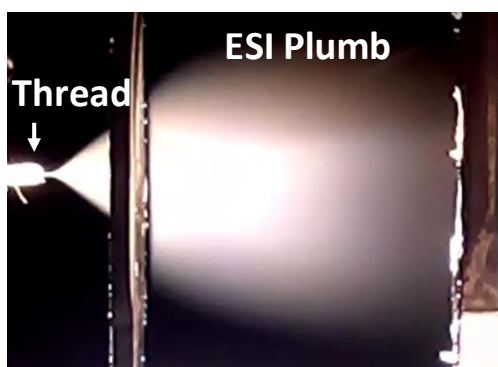


圖 4-7 市售能量飲料紅牛之質譜偵測圖(A)為偵測時間 0 ~ 2 分鐘之質譜圖，(B)為 2 ~ 3 分鐘之質譜圖，(C)為 3 ~ 5 分鐘之質譜圖。其組成物相對複雜，其中含量較多的醣類能夠被限制在 2~3 分鐘，含量較低的物質如維他命 B6、咖啡因、肌醇皆能有效地被偵測到，透過電泳分離、電化學偵測與質譜偵測的整合，本研究所開發之 CE-EC-MS 晶片檢測效能大幅增加。

4.4 電噴灑張角分析

電噴灑游離法目的在於將分析物游離化進入質譜儀中被檢測。由於質譜儀入口非常小，導致只有少量的樣本會進入到質譜儀內。為了改善此問題，本研究開發一靜電聚焦環，透過電場施加使電噴灑的張角向內集中，達到聚焦的效果。此外希望透過此裝置來提升質譜儀的離子偵測效能以及訊雜比。圖 4-8 為本實驗創新開發之靜電聚焦環技術的實際影像圖，透過 USB 數位攝影機取得實驗的即時影像並進行比較，藉此判斷靜電聚焦環的聚焦效果。圖 4-8 (A)為正常電噴灑游離法的噴灑張角大小約為 80° ，電噴灑電壓為 7.0 kV，此時靜電聚焦環尚未給予聚焦電壓。圖 4-8 (B)為電噴灑聚焦後的影像圖，由圖可知當靜電聚焦環通電後，電噴灑游離的帶電離子會受到環形電場影響向內聚集，藉此達到聚焦作用。

(A) Normal ESI



(B) With Focus Ring

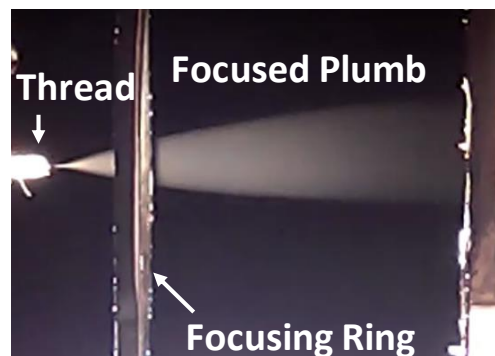


圖 4-8 電噴灑游離的實際影像圖。(A)為一般的電噴灑游離張角大小，(B)為靜電聚焦環通電後的電噴灑張角。可以觀察到電噴灑游離法的噴灑張角明顯地受到環形電場影響，有效地將其向內聚集。

為了能夠更精準地控制電噴灑游離，並找到最佳聚焦參數，本研究針對不同的聚焦電場進行測試，如圖 4-9 所示，並使用數位攝影機記錄在不同聚焦電場下的電噴灑影像進行分析。將影像中電噴灑張角量測並繪製為橫坐標為聚焦電場強度，縱座標為噴灑角度的結果圖。實驗結果如圖，起初未添加靜電聚焦環的電噴灑角度為 78° ，隨著聚焦電場強度提升，電噴灑張角角度也會改變。當聚焦電場越高時電噴

灑角度會隨之遞減，呈現近線性的遞減。而最終在 2.8 kV/cm 時，達到了電噴灑游離最小角度 30°，利用靜電聚焦環可以有效地縮減電噴灑張角達到 48°，且決定係數(R^2)達到了 0.967，證實了靜電聚焦環的功效。

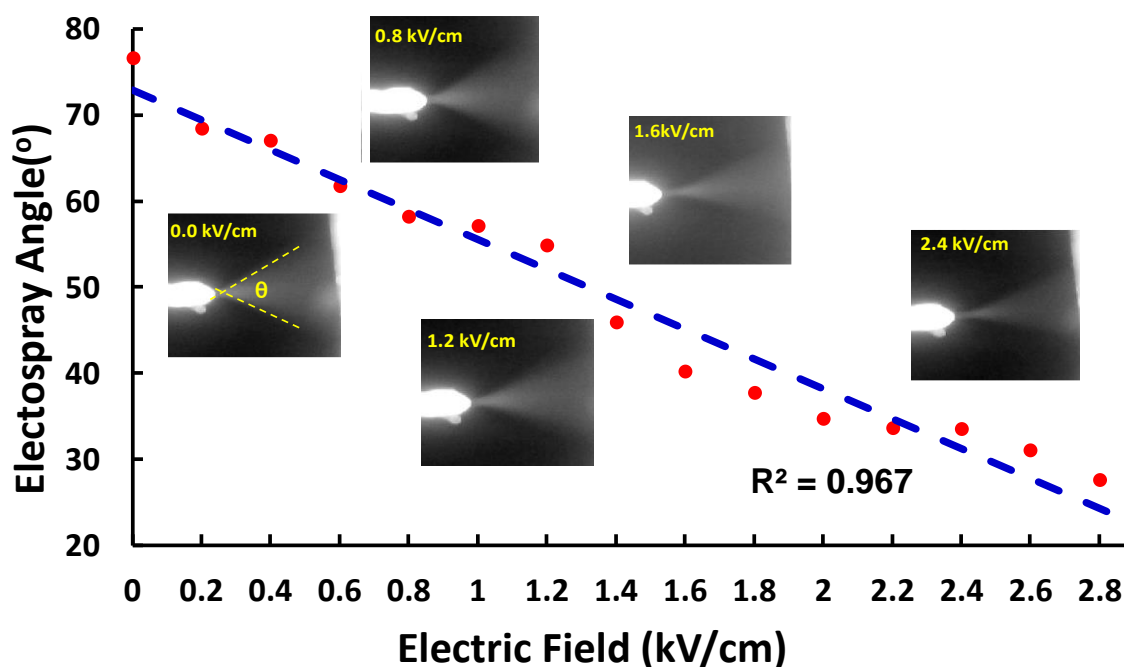


圖 4-9 電噴灑張角大小量測圖。透過控制靜電聚焦環電場變化來改變電噴灑游離噴灑張角。

4.5 靜電聚焦環效能分析

本研究利用直型式線微流體作為電噴灑游離的載體，利用定滴管將定量分析物滴於聚酯纖維線上，透過電噴灑游離法將分析物游離化並噴灑出去，最終被質譜儀所偵測。電噴灑游離雖然有成本低、檢測快速等優勢，但由於其噴灑角度過大，質譜儀入口則非常小，可能導致部分樣本、低濃度樣本、複雜樣本無法被有效地檢測。故本研究發展一靜電聚焦環來改善電噴灑游離的噴灑張角以及質譜儀的檢測，並透過分析質譜儀的離子強度與質譜圖，來判斷靜電聚焦環的效能與最佳的聚焦電場參數。

4.5.1 總離子濃度分析

本研究使用甲醇-去離子水配置甲醇水 (1:1) 作為電噴灑游離法的緩衝溶液。電噴灑游離法電場強度設定為 7.0 kV/cm，聚酯纖維線前端與質譜入口距離為 10.0 mm，質譜儀入口溫度設定為 150 °C。靜電聚焦環電場強度從 0.0 kV/cm 增加至 3.6 kV/cm。圖 4-10 顯示隨著聚焦電場變化的總離子強度圖，從起始零聚焦電場到 1.2 kV/cm 區間，總離子強度會緩慢地增加，此聚焦電場區間被稱為緩慢增加區。在 1.2 kV/cm 至 2.8 kV/cm 間，質譜儀總離子強度達到了質譜儀飽和上限，到達了 10^{10} 以上的總離子強度，此區被稱為飽和區。而當聚焦電場到達 2.8 kV/cm 後，由於靜電聚焦環電場開始壓抑電噴灑游離法的電場強度，使電噴灑游離強度逐漸下降。這導致了質譜儀偵測到的總離子強度逐漸減少，甚至更少於未添加聚焦電場時的離子強度，而此區被稱為遲緩區。由結果可以得知在聚焦電場為 1.6 kV/cm 到 2.8 kV/cm 時有最好的效果，靜電聚焦環對於離子濃度偵測有明顯且穩定地提升。

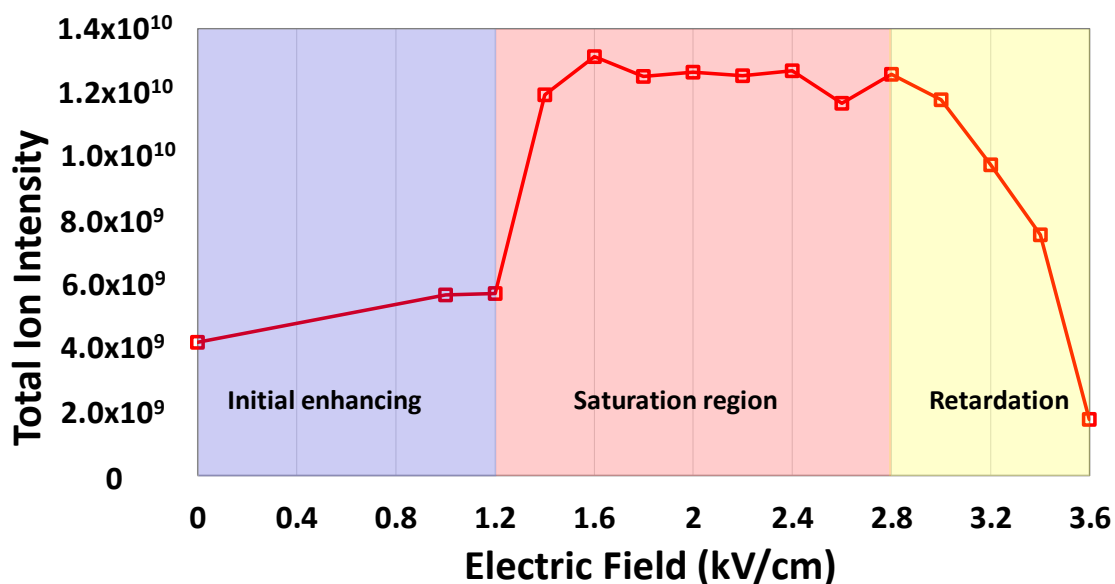


圖 4-10 隨聚焦電場變化的總離子強度量測圖

4.5.2 標準樣本檢測

本研究使用質譜分析常見極性樣本咖啡因(Caffeine)做為檢測對象，而咖啡因也是生活中常會被攝取到的物質。本實驗調配了 10.0 ppb、100.0 ppb、1.0 ppm 以及 10.0 ppm 不同濃度咖啡因，並使用定滴管吸取 0.5 μL ，直接滴定於聚酯纖維線上進行電噴灑游離。聚酯纖維線前端距離質譜入口為 10.0 mm，質譜入口溫度設定為 150 $^{\circ}\text{C}$ ，並施加 7.0 kV/cm 高電場於聚酯纖維線上，靜電聚焦環電場設定為 2.4 kV/cm。圖 4-11 為不同濃度咖啡因的離子強度比較圖，橫座標為不同濃度咖啡因，縱座標為相對的離子強度。質譜儀主要偵測訊號為分子量 194 g/mol 為咖啡因訊號，並將訊號的離子強度記錄下來繪製成圖 4-11。實驗結果說明，藍色為未加入靜電聚焦環的咖啡因離子強度，相較於紅色部分四種濃度咖啡因離子強度皆明顯較少。證明了加入 2.4 kV/cm 聚焦電場的偵測結果明顯地提升了質譜儀偵測離子強度，也確實地將電噴灑游離後咖啡因離子送入質譜儀內，且此方法能夠在一分鐘內得到分析結果，檢測流程簡單且快速。

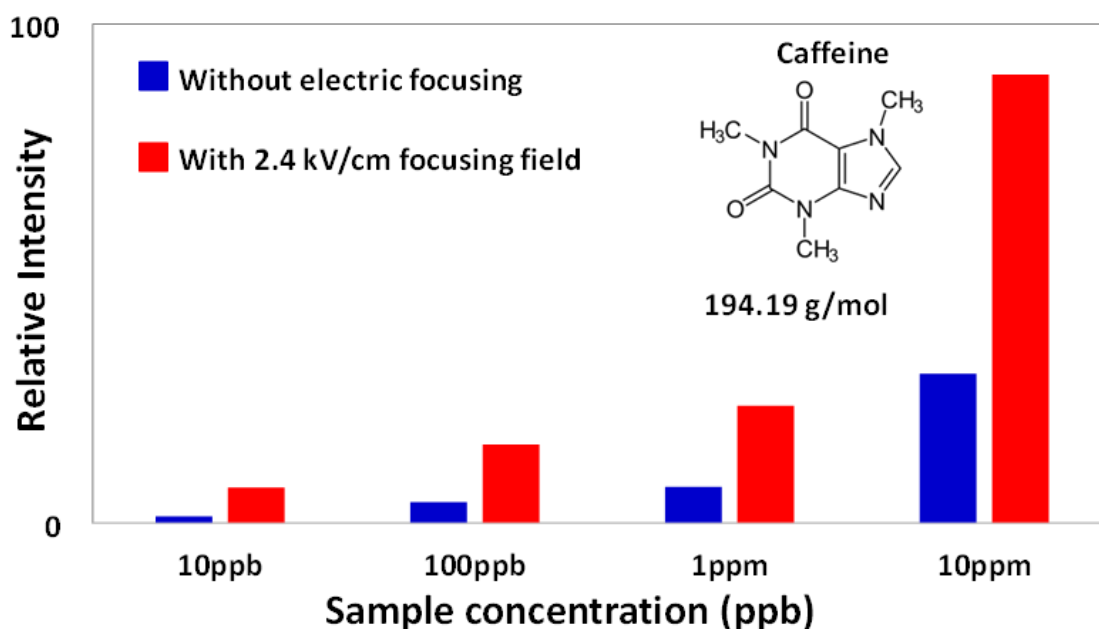


圖 4-11 不同濃度咖啡因的離子強度比較圖。藍色為未加入靜電聚焦環之訊號，紅色為加入 2.4 kV/cm 聚焦電場之訊號。

4.5.3 生物樣本檢測與訊雜比分析

本研究使用生物樣本 T7 Peptide 進行電噴灑聚焦效能測試，以及確認靜電聚焦環是否能有效地提升質譜儀的訊雜比。T7 Peptide 在質譜儀中質荷比約為 826.4 m/z，利用去離子水配置 1.0 ppm T7 Peptide 樣本，並使用定滴管吸取 0.5 μ L 直接滴於聚酯纖維線上。聚酯纖維線前端與質譜入口距離為 10.0 mm，電噴灑游離電場設定為 7.0 kV/cm，質譜入口溫度設定為 150 $^{\circ}$ C，靜電聚焦環電場強度設定為 2.6 kV/cm。圖 4-12 為 1.0 ppm 的生物樣本 T7 Peptide 的質譜偵測圖，(A)為正常電噴灑游離情況，質譜儀所偵測到 T7 Peptide 離子濃度約為 8.56×10^6 。圖 4-12(B)為加入聚焦電場 2.4 kV/cm 的質譜圖。圖中顯示質譜儀偵測到 T7 Peptide 的離子濃度提升至 5.85×10^7 。相較於無聚焦的訊號，離子濃度得到了 6.8 倍提升，且質荷比較小的 T7 Peptide 碎片 804.13 m/z 有明顯地成長。

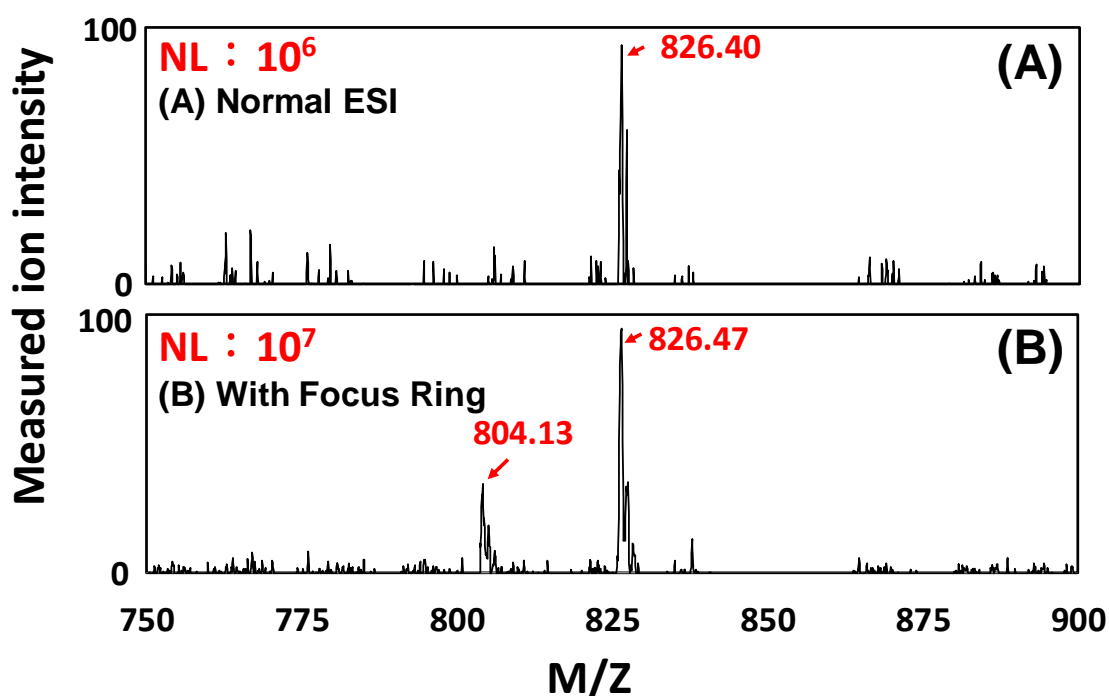


圖 4-12 1.0 ppm 的生物樣本 T7 Peptide 的質譜偵測圖。(A)為未加入靜電聚焦環之質譜圖，(B)為加入靜電聚焦環之質譜圖。

第五章 結論與未來展望

5.1 結論

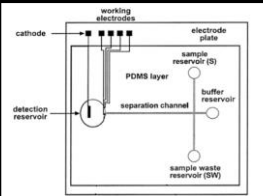
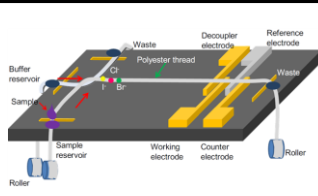
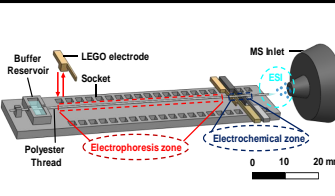
本研究所開發之可換式模組化線微流體系統，用於電化學和質譜檢測，成功地利用可換式電極設計取代前人傳統電極設計。可換式電極採用 3D 技術和真空濺鍍技術製作而成，將晶片的製作步驟與時間大幅簡化縮短，3D 列印能夠同時大量製作電極且一致性高。此外由於可換式電極設計，電泳電化學晶片可以任意組裝所需電極與位置，不同以往前人所製作的電泳電化學晶片。若有電極損壞時只需將損壞電極拆下，更換上新電極即可繼續使用，不需要重新製作品片，為本研究的創新之處。另外本研究利用直線型線微流體設計作為流道，可以自由地將樣本滴至聚酯纖維上任一位置。整個晶片的實驗自由度非常高，且能夠隨意調動電泳分離距離，而不需要重新製作品片。本研究針對電噴灑游離質譜法，開發了一靜電聚焦環裝置。此技術使用 3D 列印製作靜電聚焦環，製程簡單、快速、操作簡單，只需施加一聚焦電場即可有效地縮小電噴灑張角。本實驗使用影像與質譜儀分析來判別電噴灑聚焦技術的效果，結果顯示在 2.8 kV/cm 的聚焦電場下，電噴灑張角有效地縮減至 30°，縮減幅度達到 48°。此外本研究量測不同濃度之咖啡因，發現在電噴灑聚焦技術下，質譜離子強度皆有大幅的提升，在 10 ppb 非常低濃度下也有明顯地提升。在聚焦電場 2.6 kV/cm 下量測生物樣本 T7 Peptide 離子強度，得到了 6.8 倍的提升，且訊雜比從 70 提升至 260，提升了 3.7 倍。

另外本研究利用電化學循環伏安法來檢測三極式電極系統的效能，透過量測標準氧化還原樣本赤血鹽與生物樣本多巴胺。結果顯示皆有明顯的氧化峰與還原峰，赤血鹽氧化峰與還原峰電流為 -50 μA 和 60 μA ，多巴胺氧化峰與還原峰電流為 -90 μA 與 60 μA 。本研究透過檢測赤血鹽與多巴胺混合溶液，以及市售能量飲料 Red Bull 來確定電泳分離電化學晶片的檢測效能。本系統使用電泳分離樣本，即可對成分組成複雜樣本進行有效地電化學偵測，樣本在電泳分離作用下皆有分離開來。在聚酯纖維線尾端施加高壓電形成電噴灑游離，將分離完成的能量飲料 Red

Bull 游離化並噴灑進入質譜儀中。在電場 7.0 kV/cm 的強度下，電噴灑游離能夠在晶片上穩定發生。質譜結果顯示紅牛中菸酸，葡萄糖醛酸內酯、咖啡因、雙醣鏈蛋白和泛酸等等主要成分在不同時間內被檢測到。上述結果證明本研究開發之 CE-EC-MS(電泳-電化學-質譜)晶片有良好的檢測效能，使複雜樣本、低濃度樣本在電化學、質譜分析中能夠被有效地檢測到。

本研究成功地開發一整合電泳分離、電化學檢測和質譜分析的線微流體晶片，並將其應用於食品、生物樣本的分離、檢測。傳統製程與檢測流程相對複雜與困難，本研究透過創新的電極設計與線微流體整合，材料便宜、製作流程簡單，且整合兩種檢測技術，達到互補效果。可換式電極更是顛覆了傳統晶片的思維，利用卡榫設計，將晶片本身與電極兩者分開製作，提供使用者更高自由度來組合所需的晶片。當傳統電泳晶片有一電極損壞時意味著晶片本身將失去作用，本研究開發之晶片可以立即地更換損壞電極，讓使用者不須重新製作，大幅減少晶片製作的時間與成本。此外本研究需要樣本量較少，針對樣本無須進行前處理，且聚酯纖維線為可拋棄式流道，避免了樣本交叉汙染問題。綜合上述，本研究開發之可換式模組化線微流體晶片，為電化學分析和質譜分析提供了一種新穎、快速的檢測方法，在食品安全檢測、生醫檢測領域有極大的發展潛力。

表 5-1 歷代電泳晶片比較圖

Methods			
Items			
Detection	Electrochemistry	Electrochemistry	Electrochemistry & MS
Deposition	Au, Pt, Ag	Only Au	Au, Pt, Ag
Electrodes	Can't be removed	Can't be removed	Replaceable
Process	Masking, Screen printing, Sputtering	CNC, Hot pressing, Masking, Sputtering	3D printing, Sputtering
Fabrication	1~5 at a time	5 at a time	100 up

5.2 未來展望

本研究目前所開發之可換式模組化線微流體系統，整合了電泳分離、電化學以及質譜檢測，將兩種檢測方法連貫性地整合於晶片上。由於可換式電極的設計，可以讓使用者針對不同需求做出不同的電極配置，如血液的分離、不同帶電離子的分離或去除，都是可以在此架構上發揮的。只需要改變電極的位置，透過實驗架構設計確實很有可能將許多檢測方式或是分離機制實現。甚至能一次得到許多結果進行比對，且能大幅降低檢測時間與晶片的製作，更能達到微流體晶片低成本和高效能的忠旨。另一方面，本研究線微流體系統非常具有潛力、高自由度，不同於傳統晶片，線微流體能在聚酯纖維線上任意位置添加樣本，可以進行大量且快速的檢測，也不須擔心有交叉汙染的情況。但在樣本分離的效能上，面對複雜樣本的分離是非常具有挑戰的。本研究室前人有針對紙微流體卡匣系統進行研究，能夠在紙片上有良好的分離效果和可控性佳，能夠穩定地控制樣本的流動和分離。若本研究之系統未來能與其進行整合，將紙微流體的技術應用於本微流體晶片上，如圖 5-1 所示，勢必能更有效地來將樣本分離，必能對未來大量複雜之樣本的檢測來幫助益。

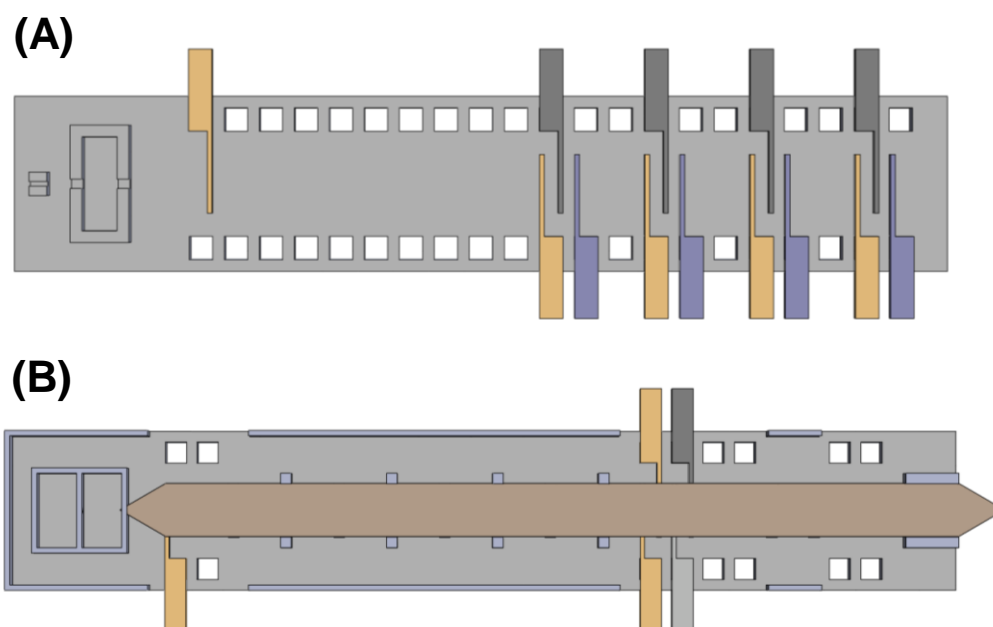


圖 5-1 未來可換式模組化微流體的應用。(A)多組三極式電化學架構，(B)紙微流體與可換式模組化系統整合概念圖。

參考文獻

- [1] A. T. Woolley, K. Lao, A. N. Glazer, and R. A. Mathies, "Capillary electrophoresis chips with integrated electrochemical detection," *Analytical Chemistry*, vol. 70, no. 4, pp. 684-688, 1998.
- [2] R. S. Martin, A. J. Gawron, S. M. Lunte, and C. S. Henry, "Dual-electrode electrochemical detection for poly (dimethylsiloxane)-fabricated capillary electrophoresis microchips," *Analytical Chemistry*, vol. 72, no. 14, pp. 3196-3202, 2000.
- [3] R.-H. Horng, P. Han, H.-Y. Chen, K.-W. Lin, T.-M. Tsai, and J.-M. Zen, "PMMA-based capillary electrophoresis electrochemical detection microchip fabrication," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 15, no. 1, p. 6, 2004.
- [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, no. 5, p. R15, 2007.
- [5] P. N. Nge, C. I. Rogers, and A. T. Woolley, "Advances in microfluidic materials, functions, integration, and applications," *Chemical reviews*, vol. 113, no. 4, 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, no. 1, p. 016505, 2012.
- [7] 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, no. 5123, pp. 895-897, 1993.
- [8] 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, no. 9, p. 1758, 2007.
- [9] K. W. Oh and C. H. Ahn, "A review of microvalves," *Journal of micromechanics and microengineering*, vol. 16, no. 5, p. R13, 2006.
- [10] R. M. Tiggelaar *et al.*, "Fabrication of a high-temperature microreactor with integrated heater and sensor patterns on an ultrathin silicon membrane," *Sensors and Actuators A: Physical*, vol. 119, no. 1, pp. 196-205, 2005.
- [11] 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, no. 6, p. 726, 2001.
- [12] R. Müller and D. Clegg, "Automatic paper chromatography," *Analytical Chemistry*, vol. 21, no. 9, pp. 1123-1125, 1949.
- [13] 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, no. 8, pp. 1318-1320, 2007.
- [14] 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, no. 1, pp. 124-129, 2008.
- [15] K. Abe, K. Suzuki, and D. Citterio, "Inkjet-printed microfluidic multianalyte chemical sensing paper," *Analytical chemistry*, vol. 80, no. 18, pp. 6928-6934, 2008.
- [16] 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, no. 9, pp. 1497-1500, 2009.
- [17] 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, no. 50, pp. 19606-19611, 2008.
- [18] W. Dungchai, O. Chailapakul, and C. S. Henry, "Electrochemical detection for paper-

- based microfluidics," *Analytical chemistry*, vol. 81, no. 14, pp. 5821-5826, 2009.
- [19] H. Liu and R. M. Crooks, "Three-dimensional paper microfluidic devices assembled using the principles of origami," *Journal of the American Chemical Society*, vol. 133, no. 44, pp. 17564-17566, 2011.
- [20] X. Li, J. Tian, and W. Shen, "Thread as a versatile material for low-cost microfluidic diagnostics," *ACS applied materials & interfaces*, vol. 2, no. 1, pp. 1-6, 2009.
- [21] D. R. Ballerini, X. Li, and W. Shen, "Flow control concepts for thread-based microfluidic devices," *Biomicrofluidics*, vol. 5, no. 1, p. 014105, 2011.
- [22] G. Zhou, X. Mao, and D. Juncker, "Immunochromatographic assay on thread," *Analytical chemistry*, vol. 84, no. 18, pp. 7736-7743, 2012.
- [23] 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, no. 3-4, pp. 723-730, 2013.
- [24] C.-W. Lin and C.-H. Lin, "Capillary electrophoresis and electrospray ionization on a single-thread microfluidic system for rapid mass spectrometry detection," in *2016 IEEE 29th International Conference on Micro Electro Mechanical Systems (MEMS)*, 2016, pp. 485-488: IEEE.
- [25] F. F. Reuss, "Sur un nouvel effet de l'électricité galvanique," *Mem. Soc. Imp. Natur. Moscou*, vol. 2, pp. 327-337, 1809.
- [26] C. Gelfi, M. Perego, S. Morelli, A. Nicolin, and P. G. Righetti, "Analysis of antisense oligonucleotides by capillary electrophoresis, gel-slab electrophoresis, and HPLC: a comparison," *Antisense and Nucleic Acid Drug Development*, vol. 6, no. 1, pp. 47-53, 1996.
- [27] J. Kerckaert, "Highly simplified analytical or preparative slab gel electrophoresis," *Analytical biochemistry*, vol. 84, no. 2, pp. 354-360, 1978.
- [28] C. S. Effenhauser, A. Manz, and H. M. Widmer, "Glass chips for high-speed capillary

electrophoresis separations with submicrometer plate heights," *Analytical Chemistry*, vol. 65, no. 19, pp. 2637-2642, 1993.

- [29] T. Kaneta, S. Tanaka, and H. Yoshida, "Improvement of resolution in the capillary electrophoretic separation of catecholamines by complex formation with boric acid and control of electroosmosis with a cationic surfactant," *Journal of Chromatography A*, vol. 538, no. 2, pp. 385-391, 1991.
- [30] H. Shadpour, H. Musyimi, J. Chen, and S. A. Soper, "Physiochemical properties of various polymer substrates and their effects on microchip electrophoresis performance," *Journal of Chromatography A*, vol. 1111, no. 2, pp. 238-251, 2006.
- [31] 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, no. 17, pp. 10390-10396, 2009.
- [32] T. Bayraktar and S. B. Pidugu, "Characterization of liquid flows in microfluidic systems," *International Journal of Heat and Mass Transfer*, vol. 49, no. 5-6, pp. 815-824, 2006.
- [33] C. L. Copper, "Capillary electrophoresis: part i. theoretical and experimental background," *Journal of chemical education*, vol. 75, no. 3, p. 343, 1998.
- [34] D. Maynes and B. Webb, "Fully developed electro-osmotic heat transfer in microchannels," *International journal of heat and mass transfer*, vol. 46, no. 8, pp. 1359-1369, 2003.
- [35] 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, no. 24, pp. 11348-11352, 1994.
- [36] M. Castaño-Álvarez, M. T. Fernández-Abedul, and A. Costa-García, "Amperometric PMMA-microchip with integrated gold working electrode for enzyme assays,"

- Analytical and bioanalytical chemistry*, vol. 382, no. 2, pp. 303-310, 2005.
- [37] Y. S. Shin *et al.*, "PDMS-based micro PCR chip with parylene coating," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, vol. 13, no. 5, p. 768, 2003.
- [38] J. Wang *et al.*, "Towards disposable lab-on-a-chip: Poly (methylmethacrylate) microchip electrophoresis device with electrochemical detection," *Electrophoresis*, vol. 23, no. 4, pp. 596-601, 2002.
- [39] 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, no. 17, pp. 1926-1932, 1992.
- [40] P. A. Limbach and Z. Meng, "Integrating micromachined devices with modern mass spectrometry," *Analyst*, vol. 127, no. 6, pp. 693-700, 2002.
- [41] P. Lindberg, A. Hanning, T. Lindberg, and J. Roeraade, "Fiber-optic-based UV-visible absorbance detector for capillary electrophoresis, utilizing focusing optical elements," *Journal of Chromatography A*, vol. 809, no. 1-2, pp. 181-189, 1998.
- [42] J. Webster, M. Burns, D. Burke, and C. Mastrangelo, "Monolithic capillary electrophoresis device with integrated fluorescence detector," *Analytical chemistry*, vol. 73, no. 7, pp. 1622-1626, 2001.
- [43] J. Wang, "Electrochemical detection for capillary electrophoresis microchips: A review," *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, vol. 17, no. 13, pp. 1133-1140, 2005.
- [44] R. D. Smith, J. A. Loo, C. G. Edmonds, C. J. Barinaga, and H. R. Udseth, "Sensitivity considerations for large molecule detection by capillary electrophoresis-electrospray ionization mass spectrometry," *Journal of Chromatography A*, vol. 516, no. 1, pp. 157-165, 1990.
- [45] J. Wang, B. Tian, and E. Sahlin, "Integrated electrophoresis chips/amperometric detection with sputtered gold working electrodes," *Analytical chemistry*, vol. 71, no.

- 17, pp. 3901-3904, 1999.
- [46] E. M. Richter, J. A. Fracassi da Silva, I. G. R. Gutz, C. L. do Lago, and L. Angnes, "Disposable twin gold electrodes for amperometric detection in capillary electrophoresis," *Electrophoresis*, vol. 25, no. 17, pp. 2965-2969, 2004.
- [47] D. P. Manica, Y. Mitsumori, and A. G. Ewing, "Characterization of electrode fouling and surface regeneration for a platinum electrode on an electrophoresis microchip," *Analytical chemistry*, vol. 75, no. 17, pp. 4572-4577, 2003.
- [48] A. J. Gawron, R. S. Martin, and S. M. Lunte, "Fabrication and evaluation of a carbon-based dual-electrode detector for poly (dimethylsiloxane) electrophoresis chips," *Electrophoresis*, vol. 22, no. 2, pp. 242-248, 2001.
- [49] W. Vielstich, "Cyclic voltammetry," *Handbook of fuel cells*, 2010.
- [50] J. Wang, G. Chen, M. P. Chatrathi, and M. Musameh, "Capillary electrophoresis microchip with a carbon nanotube-modified electrochemical detector," *Analytical chemistry*, vol. 76, no. 2, pp. 298-302, 2004.
- [51] P. D. Voegel, W. Zhou, and R. P. Baldwin, "Integrated capillary electrophoresis/electrochemical detection with metal film electrodes directly deposited onto the capillary tip," *Analytical chemistry*, vol. 69, no. 5, pp. 951-957, 1997.
- [52] P. Ertl, C. A. Emrich, P. Singhal, and R. A. Mathies, "Capillary electrophoresis chips with a sheath-flow supported electrochemical detection system," *Analytical chemistry*, vol. 76, no. 13, pp. 3749-3755, 2004.
- [53] N. A. Lacher, S. M. Lunte, and R. S. Martin, "Development of a microfabricated palladium decoupler/electrochemical detector for microchip capillary electrophoresis using a hybrid glass/poly (dimethylsiloxane) device," *Analytical chemistry*, vol. 76, no. 9, pp. 2482-2491, 2004.
- [54] W. R. Vandaveer IV, S. A. Pasas, R. S. Martin, and S. M. Lunte, "Recent

- developments in amperometric detection for microchip capillary electrophoresis," *Electrophoresis*, vol. 23, no. 21, pp. 3667-3677, 2002.
- [55] J. Zeleny, "Instability of electrified liquid surfaces," *Physical review*, vol. 10, no. 1, p. 1, 1917.
- [56] C. Wilson and G. Taylor, "The bursting of soap-bubbles in a uniform electric field," in *Mathematical proceedings of the Cambridge philosophical society*, 1925, vol. 22, no. 5, pp. 728-730: Cambridge University Press.
- [57] P. Nolan, "XXXIII. The character of the ionization produced by spraying water," *The London, Edinburgh, and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, vol. 1, no. 2, pp. 417-428, 1926.
- [58] G. I. Taylor, "Disintegration of water drops in an electric field," *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences*, vol. 280, no. 1382, pp. 383-397, 1964.
- [59] M. Dole, L. L. Mack, R. L. Hines, R. C. Mobley, L. D. Ferguson, and M. B. Alice, "Molecular beams of macroions," *The Journal of chemical physics*, vol. 49, no. 5, pp. 2240-2249, 1968.
- [60] M. Yamashita and J. B. Fenn, "Electrospray ion source. Another variation on the free-jet theme," *The Journal of Physical Chemistry*, vol. 88, no. 20, pp. 4451-4459, 1984.
- [61] S. Banerjee and S. Mazumdar, "Non-covalent dimers of the lysine containing protonated peptide ions in gaseous state: electrospray ionization mass spectrometric study," *Journal of mass spectrometry*, vol. 45, no. 10, pp. 1212-1219, 2010.
- [62] S. A. Shaffer, K. Tang, G. A. Anderson, D. C. Prior, H. R. Udseth, and R. D. Smith, "A novel ion funnel for focusing ions at elevated pressure using electrospray ionization mass spectrometry," *Rapid communications in mass spectrometry*, vol. 11, no. 16, pp. 1813-1817, 1997.
- [63] R. Ramsey and J. Ramsey, "Generating electrospray from microchip devices using

- electroosmotic pumping," *Analytical Chemistry*, vol. 69, no. 6, pp. 1174-1178, 1997.
- [64] D. Figeys, Y. Ning, and R. Aebersold, "A microfabricated device for rapid protein identification by microelectrospray ion trap mass spectrometry," *Analytical chemistry*, vol. 69, no. 16, pp. 3153-3160, 1997.
- [65] 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, no. 18, pp. 6881-6887, 2008.
- [66] 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, no. 1-2, pp. 181-192, 2003.
- [67] J. Liu, H. Wang, R. G. Cooks, and Z. Ouyang, "Leaf spray: direct chemical analysis of plant material and living plants by mass spectrometry," *Analytical chemistry*, vol. 83, no. 20, pp. 7608-7613, 2011.
- [68] 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. 49, no. 5, pp. 877-880, 2010.
- [69] J. Iribarne and B. Thomson, "On the evaporation of small ions from charged droplets," *The Journal of chemical physics*, vol. 64, no. 6, pp. 2287-2294, 1976.
- [70] M. MESBAH, U. PREMACHANDRAN, and W. B. WHITMAN, "Precise measurement of the G+ C content of deoxyribonucleic acid by high-performance liquid chromatography," *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, vol. 39, no. 2, pp. 159-167, 1989.
- [71] R. P. Adams, *Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry*. Allured publishing corporation Carol Stream, IL, 2007.
- [72] T. D. Märk and G. H. Dunn, *Electron impact ionization*. Springer Science & Business

Media, 2013.

- [73] A. G. Harrison, *Chemical ionization mass spectrometry*. Routledge, 2018.
- [74] F. Hillenkamp, M. Karas, R. C. Beavis, and B. T. Chait, "Matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry of biopolymers," *Analytical chemistry*, vol. 63, no. 24, pp. 1193A-1203A, 1991.
- [75] A. P. Bruins, T. R. Covey, and J. D. Henion, "Ion spray interface for combined liquid chromatography/atmospheric pressure ionization mass spectrometry," *Analytical Chemistry*, vol. 59, no. 22, pp. 2642-2646, 1987.
- [76] L. M. Nollet and F. Toldrá, *Food analysis by HPLC*. CRC Press, 2012.

論文原創性報告

柏輝的碩士論文

原創性報告

5%	3%	1%	3%
相似度指數	網際網絡來源	出版物	學生文稿

主要來源

1	etd.lib.nsysu.edu.tw 網際網絡來源	2%
2	Submitted to National Sun Yat-sen University 學生文稿	1%
3	Submitted to National Chung Hsing University 學生文稿	<1%
4	Submitted to Tunghai University 學生文稿	<1%
5	Submitted to National Taiwan Normal University 學生文稿	<1%
6	Liu, M., and N. X. Sun. "Voltage control of magnetism in multiferroic heterostructures", Philosophical Transactions of The Royal	<1%

自述

姓名：劉柏輝 (Po-Hui, Liu)

出生日期：1995/08/15

性別：男

出生地：台北縣

電子信箱：m063020025@student.nsysu.edu.tw

學歷：

國立中山大學 機械與機電工程研究所 碩士 2017/09~2019/06

國立中山大學 機械與機電工程學系 學士 2013/09~2017/06

桃園市立南崁高中 語文專長班 2010/09~2013/06

發表著作：

國際研討會：

1. Lin-Kai Weng, **Po-Hui Liu**, Che-Hsin Lin, “Dual Ion Source Composed of Helium Plasma and Electrospray Ionizations for Ambient Mass Spectrometry Detections” *The 5th Taiwan-Japan Workshop on Plasma Life Science and Technology (TJPL)*, Kaohsiung, Taiwan, 13-16 December, 2018
2. **Po-Hui Liu**, Che-Hsin Lin, “Thread-based Electrospray Ionization Combining an Electrostatic Focus Ring for High Performance Mass Spectrometry Applications” *The 14th International Conference on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems (2019 NEMS)*, Bangkok, Thailand, 11-14 April, 2019
3. **Po-Hui Liu**, Che-Hsin Lin, “Gold (working), Platinum (counter) and Silver (reference) Novel LEGO®-concepted Microfluidic Chip for Capillary Electrophoresis Separation, Electrochemical and Mass Spectrometry Detections” *The 20th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems, Transducers 2019 (2019 Transducers)*, Berlin, Germany, 23-27 June, 2019



國內研討會：

1. 劉柏輝 林哲信,“創新 LEGO®概念微流體晶片應用於毛細管電泳分離、電化學和質譜分析檢測”第十七屆精密機械與製造科技研討會(*Precision Machinery and Manufacturing Technology, PMMT*), 屏東, 台灣, 五月, 2019