# 第九章 高效毛细管电泳法
# （high performance capillary electrophoresis,HPCE）

电泳：电场中带电离子在电场力的作用下，以不同的速度向其所带电荷相反的电极方向迁移的现象。

不同离子所带电荷及性质的不同，迁移速率不同，可实现分离。

利用电泳现象对某些化学或生物物质进行分离分析的方法和技术叫电泳法或电泳技术。

按形状分类：U型管电泳、柱状电泳、平板电泳

按载体分类：滤纸电泳、琼脂电泳、聚丙烯酰胺电泳、自由电泳

操作烦琐，分离效率低，定量困难，无法与其他分析相比。

1981年　Jorgenson、Luckas——高效毛细管电泳

两项重要改进：

一、采用0.05mm内径的毛细管，热量散发快，减小了温度效应，电压可以很高；

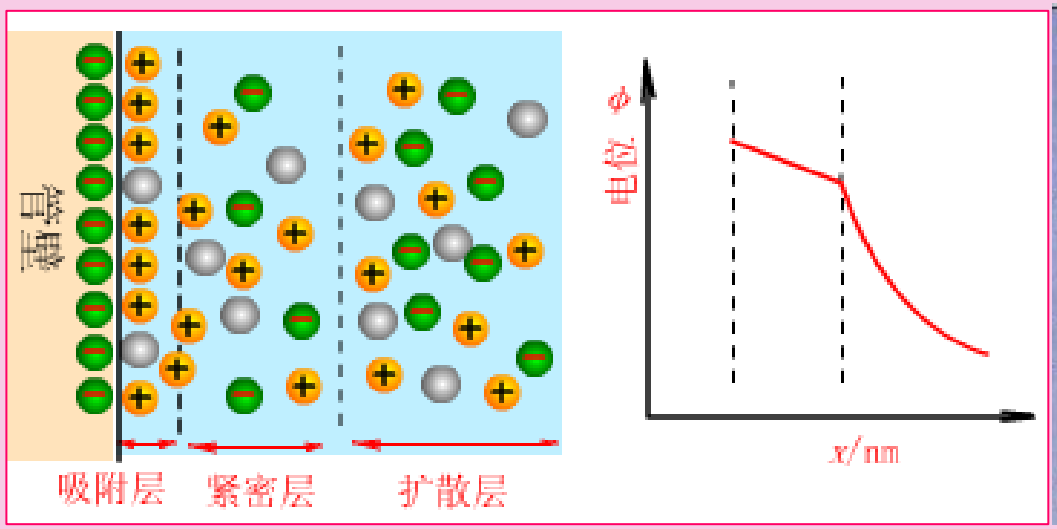
二、采用高达数千伏的电压,推动力大，柱径变小，柱长增加。

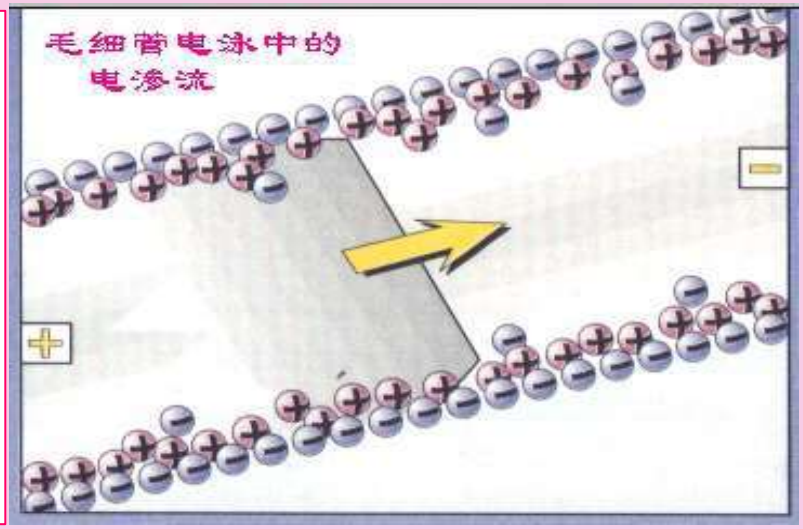
理论塔板数高达几十万块/米，特殊柱子可以达到数百万。

# HPCE中的电渗现象与电渗流

石英毛细管柱内充液pH>4时，内壁表面电离成-SiO-,吸引溶液中正离子，形成双电层。在高电场的作用下，带正电荷的溶液表面及扩散层向阴极移动，溶剂化的阳离子引起柱中溶液整体向负极移动。形成电渗流（electroosmotic flow，EOF）。

电渗流的大小用电渗流速度$v_{电渗流}$表示



# HPCE中电渗流的方向

电渗流的方向取决于毛细管内表面电荷的性质

石英毛细管带负电荷，电渗流流向阴极；

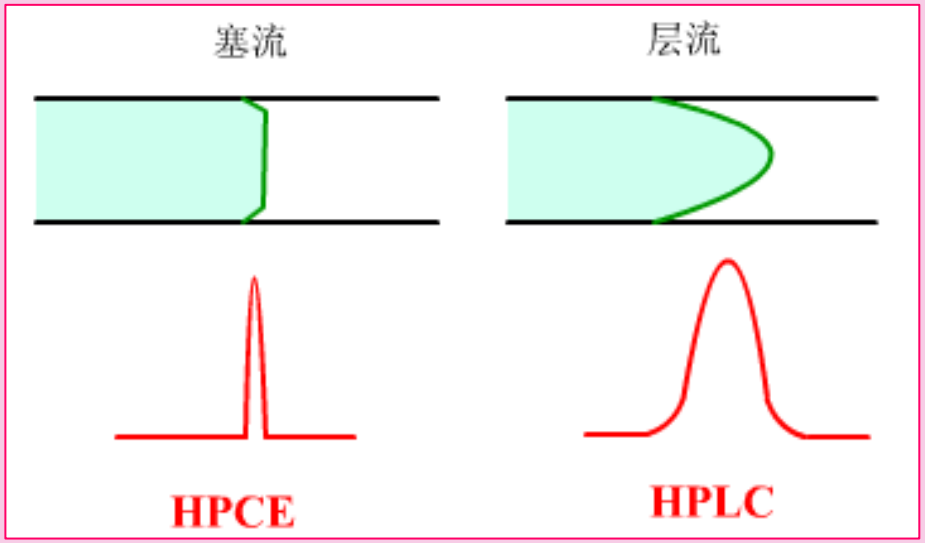
改变电渗流方向的方法：

1（1）毛细管改性　　表面键合阳离子基团；

2（2）加电渗流反转剂

内充液中加入大量的阳离子表面活性剂，将使石英毛细管壁带正电荷，溶液表面带负电荷。电渗流流向阳极。

# HPCE中电渗流的流形



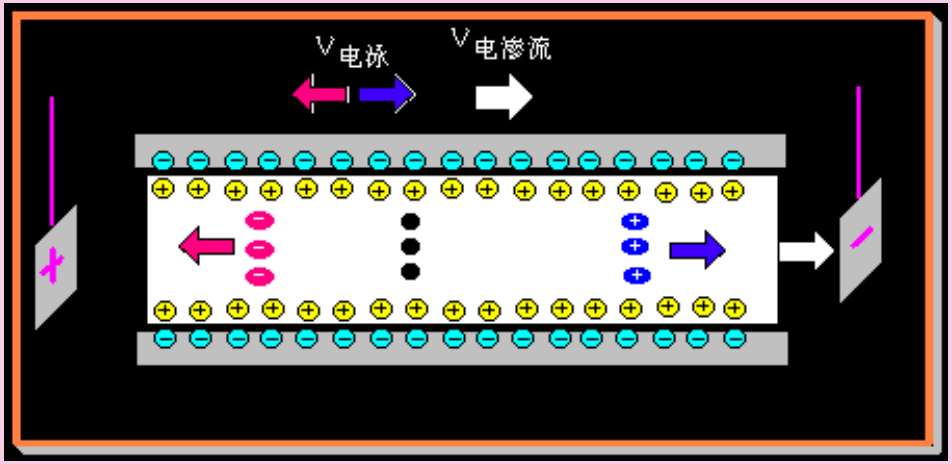

电荷均匀分布，整体移动，电渗流的流动为平流，塞式流动，谱带展宽很小

液相色谱中的溶液流动为层流，抛物线流型，引起谱带展宽较大

# 影响电渗流的因素

电场强度
毛细管材料
电解质溶液性质
添加剂
温度

# 分离过程




电场作用下，电泳现象和电渗流现象。

♥带电粒子的迁移速度=电泳+电渗流；两种速度的矢量和。

♥ 正离子：两种效应的运动方向一致，在负极最先流出；

♥ 中性粒子无电泳现象，受电渗流影响，在阳离子后流出；

♥ 阴离子：两种效应的运动方向相反。$v_{电渗流} > v_{电泳}$时，阴离子在负极最后流出，在这种情况下，不但可以按类分离，除中性粒子外，同种类离子由于受到的电场力大小不一样也同时被相互分离。

# 五、HPCE中的参数与关系式

## parameters and relation in HPCE

### 1. 迁移时间（保留时间）

HPCE兼具有电化学的特性和色谱分析的特性。有关色谱理论也适用。

$$t = \frac{L_{eff}}{v_{app}} = \frac{L_{eff}}{U_{app} \cdot E} = \frac{L_{eff} \cdot L}{U_{app} \cdot V}$$

$V$—外加电压；$L$—毛细管总长度；$L_{eff}$—毛细管有效长度；$U_{app}$—表观迁移率；

### 2. 分离效率（塔板数）

在HPCE中，仅存在纵向扩散，$\sigma^2 = 2Dt$

$$n = \frac{U_{app}VL_{eff}}{2DL} = \frac{U_{app}EL_{eff}}{2D}; \qquad n = 5.54\left(\frac{t_R}{Y_{1/2}}\right)^2$$

扩散系数小的溶质比扩散系数大的分离效率高，分离生物大分子的依据。

# 3. 分离度

$$R = 0.177 \cdot \frac{\Delta U}{U_{平均}} \sqrt{\frac{U_{app} V L_{eff}}{DL}}$$

$$U_{平均} = \frac{U_{app1} + U_{app2}}{2}$$

影响分离度的主要因素；工作电压V；毛细管有效长度与总长度比($L_{eff}/L$)；有效淌度差。分离度可按谱图直接由下式计算：

$$R = \frac{2(t_2 -$$

# 高效毛细管电泳的特点



## 1. 仪器简单、易自动化

电源、毛细管、检测器、溶液瓶

## 2. 分析速度快、分离效率高

在3.1min内分离36种无机及有机阴离子，4.1min内分离了24种阳离子，$10^5$～$10^7$/m 理论塔板数；

## 3. 操作方便、消耗少

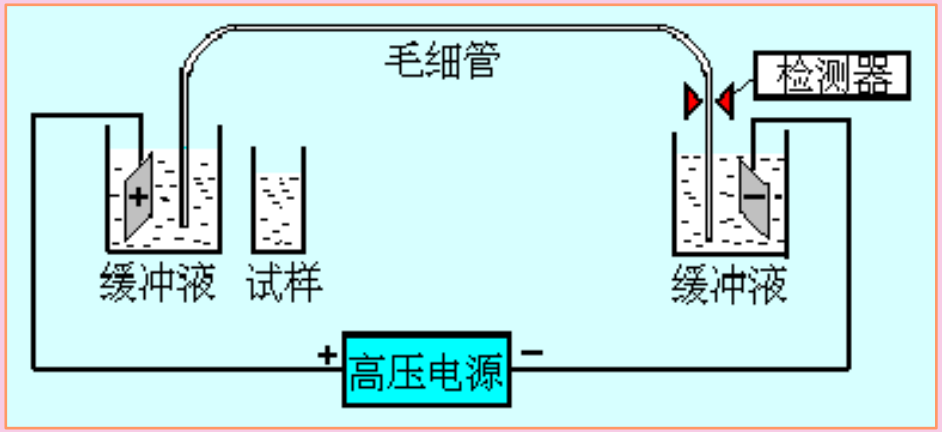
进样量极少（nl级），水介质中进行；

## 4. 应用范围极广

有机物、无机物、生物、中性分子；生物大分子等；

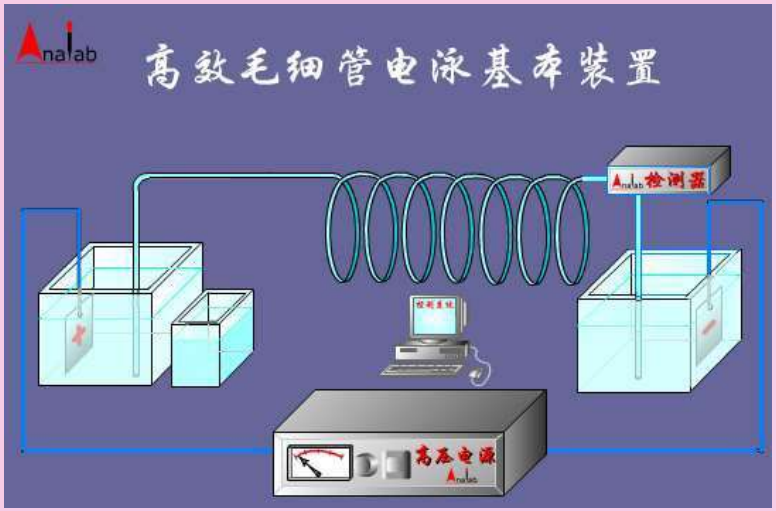
分子生物学、医学、药学、化学、环境保护、材料等；

# 仪器流程与主要部件




- 电压：0～30kV；
- 分离柱不涂敷任何固定液；
- 紫外或激光诱导荧光检测器；

（可检测到：$10^{-19}$～$10^{-21}$ mol/L）



# 1. 高压电源

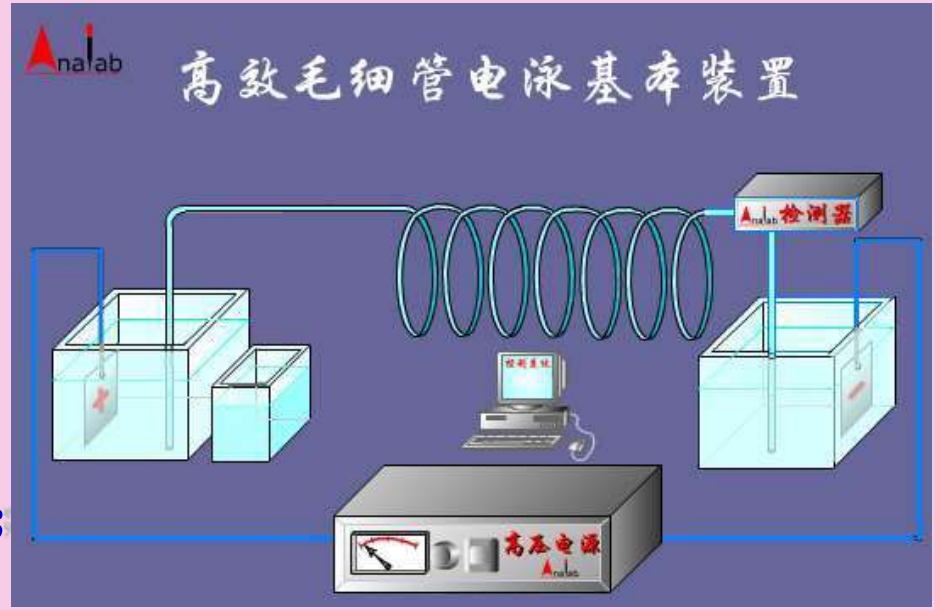
（1）0～30 kV 稳定、连续可调的直流电源；

2（2）具有恒压、恒流、恒功率输出；

3（3）电场强度程序控制系统；

（4）电压稳定性：0.1%；

（5）电源极性易转换；




# 2. 毛细管柱

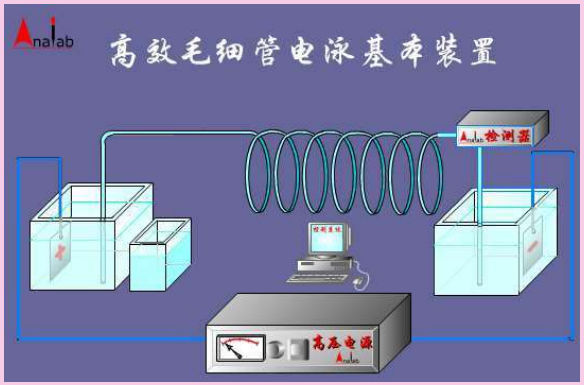
（1）材料：石英：各项性能好；玻璃：光学、机械性能差；

（2）规格：内径20～75μm，

外径350～400μm；长度<=1米

## 3. 缓冲液池

化学惰性，机械稳定性好




## 4. 检测器

要求：具有极高灵敏度，可柱端检测；

检测器、数据采集与计算机数据处理一体化

| 类型 | 检测限/mol | 特点 |
| --- | --- | --- |
| 紫外-可见 | $10^{-13}$～$10^{-15}$ | 加二极管阵列，光谱信息 |
| 荧光 | $10^{-15}$～$10^{-17}$ | 灵敏度高，样品需衍生 |
| 激光诱导荧光 | $10^{-18}$～$10^{-20}$ | 灵敏度极高，样品需衍生 |
| 电导 | $10^{-18}$～$10^{-19}$ | 离子灵敏，需专用的装置 |

# 进样方式

进样量：毛细管长度的1%-2%；纳升级、非常小；

## 流体力学进样方式

1（1）进样端加压

2（2）出口端抽真空

3（3）虹吸进样

# 电动进样方式

毛细管一端插入样品瓶，加电压；

$$\text{进样量} = \frac{(\mu_{eo} \pm \mu)V}{}$$

进样不均：电歧视现象，淌度大的离子比淌度大的进样量大；

离子丢失：淌度大且与电渗流方向相反的离子可能进不去；

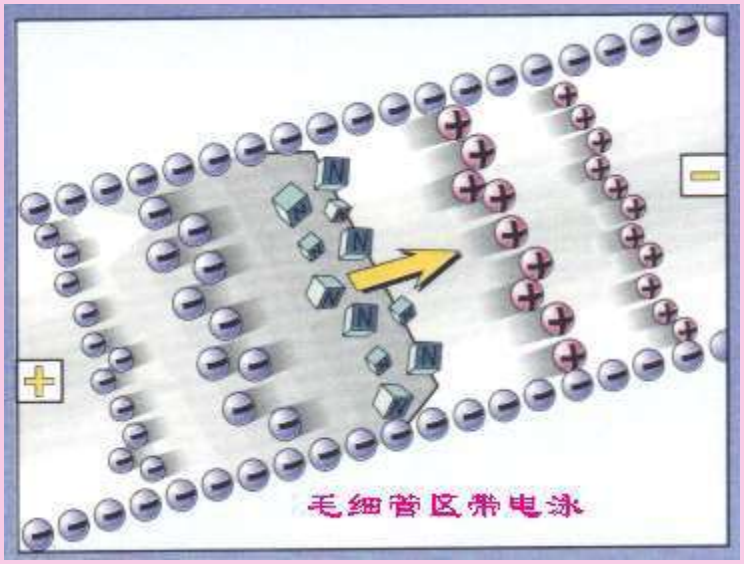
特别适合黏度大的试样

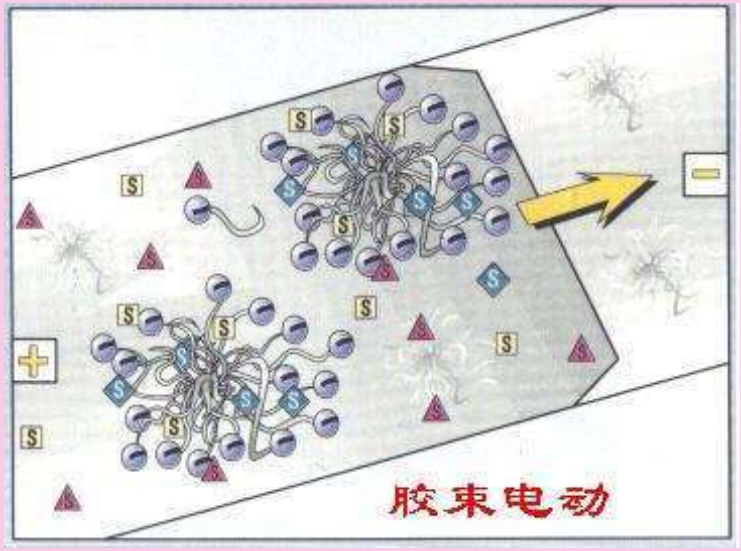
# 分离类型

八种分离类型

根据试样性质不同，采用不同的分离类型；

每种机理的选择性不同



# 毛细管区带电泳

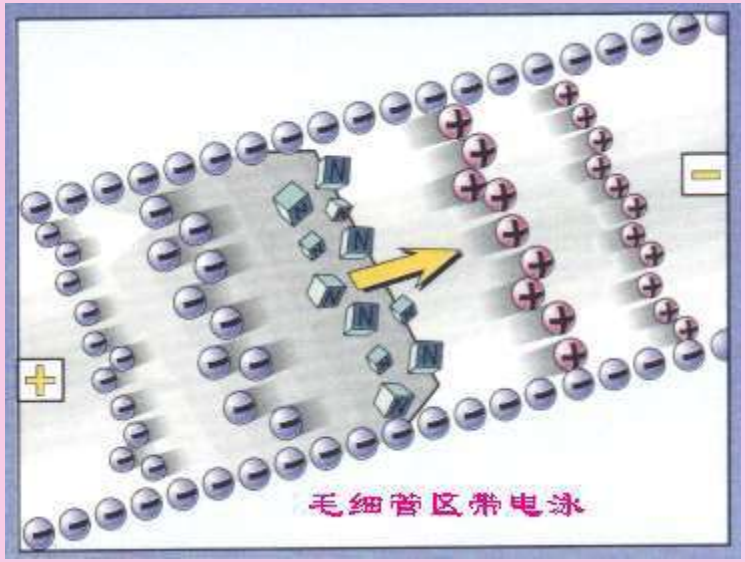
## capillary zone electrophoresis， CZE

带电粒子的迁移速度=电泳和电渗流速度的矢量和。

正离子：两种效应的运动方向一致，在负极最先流出；

中性粒子：无电泳现象，受电渗流影响，在阳离子后流出；

阴离子：两种效应的运动方向相反；$v_{电渗流} > v_{电泳}$时，阴离子在负极最后流出，在这种情况下，不但可以按类分离，同种类离子由于差速迁移被相互分离。




最基本、应用广的分离模式；

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：https://d.book118.com/548137143112006031