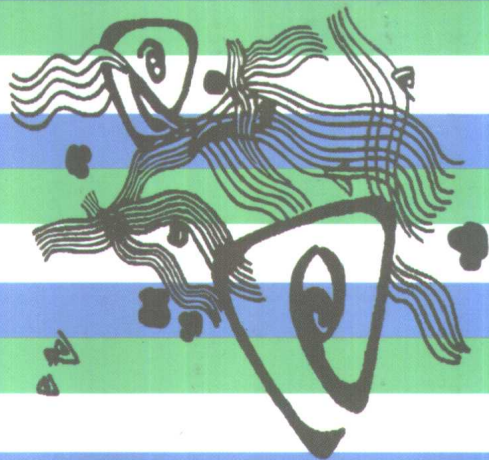


• 华夏英才博士论文文库 •

# 毛细管电泳理论探索

陈 义 / 著



华文出版社

·华夏英才博士论文文库·

# 毛细管电泳理论探索

陈 义 著

华 文 出 版 社

**图书在版编目(CIP)数据**

毛细管电泳理论探索/陈义著. -北京:华文出版社,2001  
ISBN 7-5075-1081-6

I. 毛… II. 陈… III. 毛细管-电泳 IV.0657.8

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2000) 第 84366 号

**华文出版社出版**

(邮编 100800 北京市西城区府右街 135 号)

网址:<http://www.hwcbbs.com>

电子信箱:webmaster@hwcbbs.com

电话(010)83086853 (010)83086663

新华书店经销

北京市通县大中印刷厂印刷

850×1168 32 开本 6.875 印张 160 千字

2001 年 1 月第 1 版 2001 年 1 月第 1 次印刷

\*

定价:18.00 元

## 内 容 提 要

本书主要研究毛细管电泳的理论及其相关问题，通过利用连续方程、踏板理论、统计理论等传统数理工具，力图构建出比较系统或全面的扁、圆毛细管电泳的理论框架。具体内容涉及分离过程描述方程的推导和解，区带在迁移过程中的扩展及其控制，电场对迁移和分离效率的影响，进样理论，检测理论及其问题，扁、圆毛细管电泳系统的比较，不同分离模式的统一表述等。本书主要面对 CE 专业研究人员，同时也适合于有一定数理基础的读者。书中具有结论性意义的重要章节（如第一章、第二章、第六至十章等），也考虑到了非专业读者，包括大学生、研究生以及从事大学和研究生教学的老师。

## 符 号 说 明

$a$	扁管截面半高或毛细管半径, 统称为特征半径	$d_{\delta}$	双电层厚度
$A$	吸光度	$d_{pk}$	通道直径
$A_s$	峰的对称度	$e$	电子电量、自然对数的底
$A'_s$	峰的偏斜因子	$E$	电场强度
$ACE$	亲和毛细管电泳	$EECC$	微乳液电动毛细管色谱
$B, B_i$	各种常数、离子代号	$F$	法拉第常数
$BG$	背景	$g$	重力加速度
$b_i$	常数代号	$g_s$	填料构形因子
$c$	真空中的光束	$g_{\Delta}$	电导率
$C$	浓度、浓度变量或分布函数	$G, G_i$	常数表达式代号
$C_0$	样品的原始浓度	$G_d$	检测器增益
$C^p$	关于 $C$ 的 $p$ 阶原点矩	$h$	液面落差
$CE$	毛细管电泳	$h_p$	峰高, 以 mV 等为单位
$CEC$	毛细管电色谱	$\Delta h$	噪音水平(峰-谷平均高度)
$CGE$	毛细管凝胶电泳	$H$	理论板高
$CIEF$	毛细管等电聚焦	$I$	电流强度, 光强
$CITP$	毛细管等速电泳	$I_{in}$	入射光强
$CZE$	毛细管区带电泳	$I_{out}$	出射光强
$D$	扩散系数	$i$	电流密度
$D_{eff}$	有效扩散系数	$J_E$	热功当量
$D_{Por, buf}$	孔内组分的有效扩散系数	$J_{ij}$	组分 $i$ 的第 $j$ 级解离离子在 $(x, y, z, t)$ 点的通量
$D_{Por, Conv}$	孔内组分表观扩散系数, 由扩散和孔内对流共同决定	$J_m(\alpha_m \rho)$	$m$ 阶贝塞尔函数
$d$	管壁厚度	$k$	扁管宽/高比值
$d_p$	填料粒径	$k_p, k_i$	$p$ 或 $i$ 相的容量因子
		$K_i$	各种平衡常数

$K_Q$	功热当量, 为热功当量的倒数	$Q_S$	样品的总质量
$K_A$	电导	$Q_{inj}$	进样体积
$l$	光程	$R$	气体普适常数, 毛细管外半径
$L$	毛细管有效长度、迁移长度	$R_C$	浓度响应
$L_{tot}$	毛细管总长	$R_m$	质量响应
$m$	离子的相对淌度	$R_R$	电阻
$M$	单位时间通过检测器的样品质量	$R_s$	分离度
$MP$	$C^p$ 在毛细管横截面上的平均值	$S$	毛细管横截面积
$MECC$	胶束电动毛细管色谱	$S_p$	峰面积
$n_i$	$i$ 的绝对折射率、分子数	$S_r$	切变面积
$n_p$	样品在溶剂中的分子数	$t$	各种时间变量
$n_s$	样品在固定相 $P$ 上的分子数	$t_{in}$	进样时间
$N$	效率符号, 理论板数	$t_R$	保留时间、出峰时间
$NGCE$	非胶毛细管电泳	$t_{stc}$	聚焦时间
$OTCEC$	开管毛细管电色谱	$T$	透光度、温度
$pI$	等电点	$T_0$	毛细管轴心温度
$P_L$	单位长度电功率	$T_1$	毛细管内壁处温度
$P_v$	单位体积电功率	$T_3$	毛细管外温度
$P_w$	电功率	$U$	势能
$PCEC$	填充毛细管电色谱	$V$	电势差或电压
$q$	粒子所带的电量	$W_{1/2}$	峰半高宽
$Q_{v, i}$	$i$ 的容积	$W_{bl}$	谱图峰底宽度, 以距离为单位
$Q_E$	热量	$W_E$	电场力所做的功
$Q_{inj}$	进样量(摩尔数)	$ZN$	区带
$Q_M$	单位时间通过检测器的样品质量	$Y_j$	$j$ 的摩尔分数
		$\alpha, \alpha_i$	解离度、比率、百分比
		$\alpha_m$	摩尔消光系数
		$\beta$	淌度的温度系数
		$\gamma$	弯曲因子、活度系数

$\Gamma$	误差	$\nu$	记录仪的走纸速度
$\delta$	区带宽度	$\rho$	电阻率
$\delta_0$	区带的初始宽度	$\rho_{buf}$	缓冲液的密度
$\epsilon$	介电常数	$\sigma$	根方差
$\epsilon_0$	真空介电常数	$\sigma_{ad}$	电荷的体密度
$\epsilon_r$	相对介电常数	$\nu_{OS}$	电渗速度
$\zeta_{OS}$	毛细管管壁的电动势	$\nu$	速度、权和速度
$\eta$	粘度	$\nu_{inj}$	进样速度, 电迁移进样时 等于 $\nu$
$\theta_{crt}$	临界折射角	$\nu_H$	合速度
$\theta_G$	检测器衰减倍数	$\phi$	相比、扩散系数的温度系 数
$\Theta$	管壁上定域电荷的面密度	$\phi_A^0$	稀释比(背景同离子在初 始区带中的浓度与主体浓 度的比值)
$\vartheta$	孔隙度	$\phi^S$	实用进样比(样品与背景 的浓度比)
$\kappa$	传热系数	$\phi_1^i$	进样比(初始区带中组分 浓度与背景同离子浓度的 比值)
$\kappa_1$	载体的热传导系数	$\phi_{Per}$	颗粒内的孔洞率
$\kappa_2$	管壁的热传导系数	$\phi_{Out}$	颗粒间的填隙率
$\kappa_3$	毛细管外环境的热传导系 数	$\Psi$	电势或电场变化系数
$\lambda$	波长		
$\Lambda$	摩尔电导		
$\mu_{em}$	淌度、迁移率		
$\mu_{OS}$	电渗率		
$\mu_{em}^0$	绝对淌度		
$\mu_H$	合淌度		

# 序

毛细管电泳是一种新型的液相分析方法，具有微量、高效、快速、洁净和高自动化的突出特点，在经过了十多年的高速发展之后，现正进入成熟和全面推广应用的阶段。毛细管电泳在医药、临床、环境、生命科学、化学、化工等方面具有广泛的用途，并已被普遍认同。世界上许多先进的分析、生物、医药等实验室都因此装备了毛细管电泳仪器，各种创新性研究得以在新的起点上展开。随着研究的深入，关于毛细管电泳的书籍也迅速出版，它们的内容也涉及到了理论问题，但侧重点则是实验技术。事实上，关于毛细管电泳理论分析的专门书籍，尚未见出版。为此，我们汇集了自己多年来关于毛细管电泳理论研究的结果和体会，结成此册，以为抛砖引玉之用。

毛细管电泳的发展，是以概念的创新为开端、以技术（进样和检测）的创新为突破的。后来的许多进步，比如凝胶电泳、管壁涂层技术、电渗控制技术、基于激光的各种检测技术、与质谱或核磁共振技术的联用等等，与其说是理论上的突破，不如说是技术和技巧上的突破。所以，实验技术和技巧的创新在推动毛细管电泳发展上具有巨大的作用。可能正是由于这种原因，关于毛细管电泳的理论研究相对滞后，许多问题至今很少或几乎没有涉及。比如，关于毛细管电泳各分离方法间的关联或系统化、关于紫外检测的非线性化及其解决策略、关于不同进样机制的相互包含及其克服措施等。这在一定程度上制约了毛细管电泳的发展。我们在早期（1985年以前）也没有意识到这一点，后来，由于在检测上碰到问题（当时没有毛细管电泳专用的检测器），才开



始了比较系统的理论思考，并利用现成的数理工具进行推导和演算，得到了一些简单、有用的结论和解决问题的方法。这些结果一直指导着我们的研究工作，但多数结果未曾公开发表过，现在予以“曝光”，希望对同行以及其他读者也会有所帮助。

客观地讲，要从理论上全面系统地研究毛细管电泳，作者没有这种水平。为了使本书有一定的参考价值，我们也同时吸收了部分国际同行的研究成果。

本书是以作者的博士学位论文，即关于扁毛细管电泳的理论及实验研究为基础写成的，同时融合了随后相当长时间内的研究成果，它们涉及到了扁、圆毛细管电泳的许多共同性问题。因此，我们对扁、圆毛细管电泳进行并列处理，并作必要的比较，这种处理大概还是第一次，可以算作本书的一大特色吧。

理论研究的角度和可用的数理工具都很多。经典的理论如几何学、微积分、光学、电磁学、流体力学、数理方程、化学工程学等可以使用，新近的一些理论如耗散理论、控制论、模糊数学、系统论、信息论等也同样可以使用，尤其是在研究毛细管电泳过程中的非线性问题时。但是，无论采用何种方法、何种工具，其所得到的结果必需是准确、简明和实用的，否则意义不大。正是基于这一原则，我们主要以物质传输理论和踏板理论作为研究工具。物质传输理论建立在数理方程的基础之上，各种形式连续方程的解法都是现成的，而且当其与数理统计理论联用时，可直接关联踏板理论，产生优美的理论链接。

在分离科学中采用踏板理论，始于色谱研究，并已成为统治性理论。虽然，踏板理论包含有许多不合理的假设（比如各种因素的互不作用），但鉴于其在色谱中的影响以及毛细管电泳和色谱的相似性，它也被完全移植到毛细管电泳中来。本书并不准备打破这一规矩。

本书的第一章概括地介绍了毛细管电泳的原理方法以及表述

方法；第二章着重讨论了焦耳热效应以及相关的背景知识；第三章讨论了电泳过程中物质传输的各种动力和描述方程，为第四、五章作准备；第四、五章讨论了扁、圆毛细管电泳系统中区带的迁移过程及其变化；第六章利用第二、四、五章的结果讨论了毛细管电泳中影响分离效率的诸多因素，并对扁、圆毛细管系统进行了详尽的比较，目的是为设计实验提供优化依据或思路；第七章专门讨论了电场变化对分离效率的不利和有利影响，这对如何充分利用电场来实现高效电泳分离具有现实意义；第八章利用踏板理论，对毛细管电泳效率及其影响因素进行了全面的分析，并由此得到了一些可用于参考的实验设计指标；第九章专门探讨毛细管电泳检测器的问题，包括间接检测中大家可能都很关心的系统峰问题；最后一章集中讨论了进样方法及其问题，着重研究进样机制相互交叠和进样量校正的问题。

本书之能完成，是和国家自然科学基金委员会、中国科学院、化学研究所、分子科学中心等有关部门的资助和支持分不开的。与本册子有关的资助项目包括国家杰出青年基金，国家重点基金，中国科学院院长基金、“九五”重大基金，国家创新基地资助课题，化学所所长基金等。本书还得到华夏英才基金的专门资助并由华文出版社出版。作者在此一并谨致忱谢！

由于作者水平所限，书中错误和不妥之处在所难免，敬请读者指正并预致谢意！

陈 义

# 目 录

## 第一章 导 论

第一节	沿 革	(1)
第二节	毛细管电泳仪器系统	(2)
第三节	基本分离模式	(3)
第四节	主要特点	(4)
第五节	应 用	(5)
第六节	基础理论	(9)
一、	双 电 层	(9)
二、	出峰时间	(11)
三、	淌度、绝对淌度及有效淌度	(12)
四、	电渗、电渗率及合淌度	(14)
五、	相分配与权均淌度	(17)
第七节	毛细管电泳的统一表述	(18)
第八节	分析窗口	(20)

## 第二章 毛细管电泳中的热效应

第一节	焦 耳 热	(23)
一、	电功与电功率	(23)
二、	焦耳—楞次定律	(24)
三、	毛细管中的电致发热	(25)
第二节	温度分布	(27)
一、	空管内温度分布	(27)

二、圆形和扁形毛细管温度分布比较 .....	(32)
三、温度分布的完整表示 .....	(32)
第三节 温度对粘度和分配系数的影响 .....	(33)
第四节 迁移速度随温度的变化 .....	(34)
第五节 温度对扩散系数的影响 .....	(36)
第六节 环境温度波动对电泳重现性的影响 .....	(37)

### 第三章 毛细管电泳中的物质输运过程

第一节 物质输运模型 .....	(40)
一、基本分析 .....	(40)
二、混合区带的分离 .....	(41)
第二节 描述方程 .....	(41)
一、样品的解离 .....	(41)
二、连续方程 .....	(42)
三、理想电泳的通量方程 .....	(43)

### 第四章 圆毛细管电泳系统

第一节 圆管传输方程 .....	(48)
第二节 区带质量的变化 .....	(51)
第三节 区带质心的变化 .....	(53)
第四节 区带方差 .....	(56)
第五节 区带的对称性 .....	(58)

### 第五章 扁毛细管电泳系统

第一节 扁管传输方程 .....	(60)
------------------	------

第二节	解一 ( $p=0$ )	(62)
第三节	解二 ( $p=1$ )	(63)
第四节	解三 ( $p=2$ )	(67)
第五节	解四 ( $p=3$ )	(69)

## 第六章 电泳效率

第一节	扁、圆毛细管电泳的效率方程	(71)
第二节	扁、圆管电泳效率的基本比较	(74)
第三节	极限电泳效率	(75)
第四节	电压对电泳效率的影响	(76)
第五节	毛细管长度对电泳效率的影响	(80)
第六节	初始区带宽度对电泳效率的影响	(83)
第七节	温度对电泳效率的影响	(86)
第八节	pH 及电渗对电泳效率的影响	(87)
第九节	分离度	(88)
第十节	小结	(89)

## 第七章 电致加宽与电场浓缩

第一节	引言	(91)
第二节	电泳系统中浓度与淌度的关系	(91)
第三节	区带电场与样品浓度的关系	(94)
第四节	区带浓度分布	(95)
第五节	电致加宽与扩散加宽的比较	(98)
第六节	电场畸变实验研究	(99)
第七节	区带浓集	(101)
第八节	各类加宽因素的比较	(104)

第九节 小 结	(107)
---------	-------

## 第八章 毛细管电泳效率的踏板理论表示

第一节 电泳效率的测定与表述方法	(109)
第二节 初始分布	(112)
第三节 检测加宽	(113)
一、检测池	(113)
二、响应时间	(114)
三、接口加宽	(115)
第四节 分离加宽	(116)
一、轴向扩散	(117)
二、涡流扩散	(119)
三、电场加宽与聚焦	(119)
第五节 传质加宽	(121)
一、固定相传质	(121)
二、缓冲液传质	(123)
三、孔洞滞留传质	(125)
第六节 热加宽	(126)
第七节 微观不均匀性	(131)
第八节 总方程	(133)

## 第九章 检测器理论

第一节 检测器类型	(137)
第二节 检测器线性的测定	(138)
第三节 检测器的线性与动态响应范围	(140)
第四节 噪 音	(141)

第五节	检测器的响应与灵敏度	(143)
第六节	紫外吸收检测器	(145)
一、	紫外检测的原理与灵敏度	(146)
二、	毛细管检测池的非线性问题	(148)
三、	改善毛细管检测线性和灵敏度的方法	(161)
第七节	间接检测	(163)
一、	引言	(163)
二、	基本描述	(164)
三、	单组分体系	(166)
四、	多组分体系	(166)
五、	三元体系实例分析	(167)
六、	系统峰	(169)

## 第十章 进样方法研究

第一节	扩散进样	(173)
第二节	电动进样	(177)
第三节	压力进样	(178)
一、	圆毛细管系统	(178)
二、	扁毛细管系统	(180)
三、	扁、圆毛细管压力进样的统一表示	(181)
第四节	粘附进样	(182)
第五节	进样机制的相互包含	(183)
一、	进样量的修正	(183)
第六节	进样时间的校正	(195)
第七节	校正的进样(总)方程	(198)
第八节	初始区带方差的校正	(199)

# 第一章 导 论

## 第一节 沿 革

毛细管电泳 (CE) 的历史, 可以上溯到 20 世纪中叶, 其时发展成功的有毛细管等速电泳, 并有人开始探讨毛细管区带电泳<sup>[1-3]</sup>。自 1974 年 Virtanen 的工作<sup>[4]</sup>和 1979 年 Mikkers 等人<sup>[5]</sup>的研究以后, 现代毛细管电泳的出现已经不可避免。但虽然如此, 里程碑式的工作则是于 1981 年由 Jorgenson 等人首先完成和报道的<sup>[6]</sup>。此后, 毛细管电泳经历了从逐渐加速到飞速发展的阶段。目前的发展速度仍然极快。

大家公认, 毛细管电泳是继高效液相色谱之后, 分离科学中的重大飞跃事件。毛细管电泳的出现不仅为分离科学带来了新的春天, 而且为解决许多极其困难的分离问题带来了新的希望。CE 可用于细胞甚至单细胞<sup>[7-15]</sup>、单分子的分析中<sup>[16-17]</sup>。现在, 利用 CE 特别是阵列 CE<sup>[18-24]</sup>, 已可以实现高速、超高速的 DNA 测序工作; 相信不久, 我们还可以利用类似的技术进行有效的蛋白质组学研究。此外, 在新药的生产与质量控制、微量蛋白质的测序与结构研究等方面, CE 也发挥出了巨大作用。凡此种种, 都说明毛细管电泳方法具有重大的价值和发展前景。

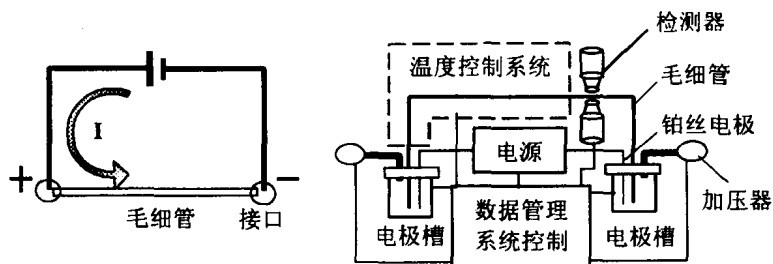
尽管毛细管电泳的发展飞快, 而且关于毛细管电泳方法介绍的书籍已经出版了很多<sup>[25]</sup>, 但至今没有一本比较专门的, 对毛细管的理论研究进行总结和系统介绍。这对于充分理解和正确运用毛细管电泳这一类新的方法和技术是非常不利的。为此, 我们谨将自己多年的理论研究体会, 加上国外的一些理论研究成果



果，构筑成册，希望会对毛细管电泳的理论研究工作有所促进。

## 第二节 毛细管电泳仪器系统

从电学角度理解，CE 是一种由金属导线和填充有电解质溶液之毛细管共同构成的导电回路，如图 1—1A 所示。其更详细的结构示意于图 1—1B，其中包含如下基本组成部分：



A. CE 电学原理图示

B. CE 实用装置功能模块示意图

图 1—1 毛细管电泳装置原理与结构

1. 毛细管：用作分离通道和电流通路，由透明的绝缘材料如石英、硬玻璃、塑料等制成，内径多在  $25\text{--}100\mu\text{m}$  之间，可向下扩展到  $2\mu\text{m}$  或更细、向上扩展至  $500\mu\text{m}$ ；毛细管长度常选择在  $20\text{--}60\text{cm}$  之间，短可以缩至  $5\text{--}7\text{cm}$ （以实现快速分离），长可以延至  $100\text{cm}$ ；
2. 直流高压电源：用于驱动分离，能输出  $30\text{kV}\times 250\mu\text{A}$  或  $50\text{kV}\times 100\mu\text{A}$  的功率；
3. 进样机构：能实现柱上直接进样并可随时改变进样方向，常备的方法是电动和压力（包括重力或真空）进样系统；
4. 电极与电极槽：用于金属导线和毛细管的沟通；
5. 检测系统：最常用者为柱上紫外吸收检测器，荧光或激