

國立交通大學

機械工程學系

碩士論文

整合液體介電泳及毛細管電泳晶片之研究



Integration of Capillary Electrophoresis  
and Liquid Dielectrophoresis

研究生：胡皓宇

指導教授：徐文祥 教授

范士岡 教授

中華民國九十八年九月

整合液體介電泳及毛細管電泳晶片之研究

Integration of Capillary Electrophoresis  
and Liquid Dielectrophoresis

研究生：胡皓宇

Student：Hao-Yu Hu

指導教授：徐文祥 教授

Advisor：Wensyang Hsu

范士岡 教授

Shih-Kang Fan

國立交通大學  
機械工程學系  
碩士論文



A Thesis  
Submitted to Department of Mechanical Engineering  
College of Engineering  
National Chiao Tung University  
in partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of  
Master  
in

Mechanical Engineering

September 2009

Hsinchu, Taiwan, Republic of China

中華民國九十八年九月

# 整合液體介電泳及毛細管電泳晶片之研究

學生：胡皓宇

指導教授：徐文祥 教授

范士岡 教授

國立交通大學機械工程學系（研究所）碩士班

## 摘要

本實驗利用液體介電泳力形成無邊壁之虛擬毛細管流道並在其中進行毛細管電泳分析，進一步調控兩個互相垂直的電場觀察電滲流流速改變情形，並且嘗試利用此一平台完成不同電性粒子分離及 DNA 分離。

在兩板間施加一  $100\text{ kHz}$ 、 $80\text{ Vrms}$  之交流電時，含有  $20\text{ mM}$  Borax 和  $5\text{ mM}$  SDS 緩衝液將會依照下板電極形狀，形成一寬度  $500\text{ }\mu\text{m}$ 、長度  $3\text{ cm}$ 、高度  $25\text{ }\mu\text{m}$  之虛擬流道，接著在此流道兩端施加一直流電場進行電泳分離，當兩端施加電場為  $26.67\text{ V/cm}$  時，利用電中性粒子觀測到最大電滲流流速為  $219.39\text{ }\mu\text{m/s}$ ，此外當我們調控兩板間交流電給予一直流偏壓，亦會觀察到泳速提升現象，而在分離應用方面，開發出數位十字進樣法，成功將樣品注入到流道之間，更進一步完成分析物的分離試驗。

# Integration of Capillary Electrophoresis and Liquid Dielectrophoresis

Student: Hao-Yu Hu

Advisors: Shih-Kang Fan  
Wensyang Hsu

Department of Mechanical Engineering  
National Chiao Tung University

## Abstract

In this study, we propose a capillary electrophoresis (CE) in a wall-less liquid dielectrophoresis (LDEP)-formed virtual microchannel. And further, two perpendicular electric fields are manipulated individually to effect the electroosmotic flow (EOF). The different charged particles and DNA are separated by utilizing the chip.

When a 80 Vrms and 100 kHz signal was applied, the liquid containing 20 mM borax and 5 mM sodium dodecyl sulfate (SDS) was pumped into the virtual microchannel by following the electrode pattern on the bottom plate. The dimensions of the DEP-formed microchannel were 500  $\mu\text{m}$  in width, 3 cm in length, and 25  $\mu\text{m}$  in height. Then, a DC electric field is applied along the virtual channel to execute the electrophoresis process. The EOF at the velocity of 219.39  $\mu\text{m}/\text{s}$  is achieved when the applied DC electric field is 26.67 V/cm. Besides, while increasing the LDEP AC electric field with a DC bias between top and bottom plate, the EOF increased spontaneously. A digital cross-channel injection system is successfully demonstrated and integrated into the chip. By this system, the sample can be injected into the main channel and separated by CE process.

# 誌謝

兩年的碩士生涯，一路上得到許多人的幫助以及祝福，最先的感謝屬於我的父母親，一直以來他們都是我最有力的後盾，讓我無後顧之憂並在家庭的支持下完成學業，再來要感謝我的高雄爺爺奶奶，以及三個阿姨及姨父，他們無私的支持著我，給了我很多的建議和幫助。

而在求知的道路上，我很幸運得到機械系徐文祥老師以及奈米所范士岡老師兩位的指導，徐老師給了我很寬敞的道路以及明確的目標，並教導我做為一個碩士該有的獨立思考能力，范老師亦師亦友且嚴謹的指導我們在研究上的各種問題，讓我學到了很多不只在研究上的學問，也了解了待人接物的道理。

由於得到兩位老師的指導，我也得到兩倍的研究夥伴，首先在徐老師實驗室要先感謝楊老大(涵評)、小白哥(駿偉)、家聖、毅家、罔夫(元德)、謝一哥(一全)等諸位博班高手的協助讓還是菜鳥的我很快的進入狀況，HD(昶志)、拉可(岳剛)、Smile(啟煥)這三位學長也給予我們許多的幫助，也帶領我們歡樂的度過碩一時光，而同窗的胖虎(鎧宇)和小熊(淳旭)更是自我大學時期一路走來的夥伴，還有頭博(軒宇)、溫大哥(鉉明)、澤瑋和我們一起打拼，此外，法師(欣芸)、小江(鎮宇)、小鐘(政涵)、謝大哥(佑明)、該該(正鄰)、Mike(松岳)、芋頭(禹同)這些學弟妹也是很窩心的熱鬧這實驗室。

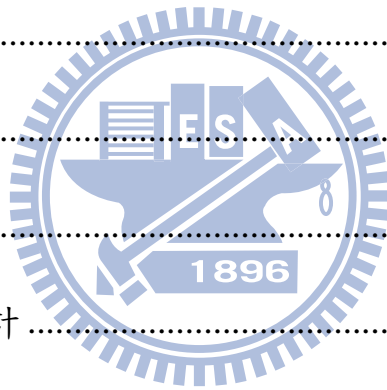
范老師實驗室的邱胖(誠樸)、耀文、上哲這些博班高手和擔任博士後的原銘哥，在我的研究上給了我很多的指教，Ginny(玫蓉)、Newman(于豪)這兩位在我剛進實驗室時，教導我很多本來不知道的知識，小花(青翔)、Peter(帝宇)、Cobiz(家齊)、Terry(庭旭)、Amee(俐淇)這幾位同窗在實驗室是很好的戰鬥夥伴，休閒時也是很棒的玩伴，Ebay(怡蓓)、Nancy(郁珊)、David(鈴濱)、囧強(世強)、志明、小花妹(依縈)、壘玲(莉玲)、羿玆、Eva(采蓉)、正臣這些學弟妹也是臥虎藏龍，更是實驗苦悶的時候額外的活力來源。

最後要感謝清大的黃蘊慈學姐以及交大應化所蘇秀麗學姐在實驗上提供的指教，以及相伴我六年的女朋友棉棉(荏棉)，體貼的她在我研究遇到瓶頸的時候幫我加油打氣，還有太多的人事物需要感謝了，我心懷感激的得到大家的幫忙，在求學的道路上，有你們的參與，真好。

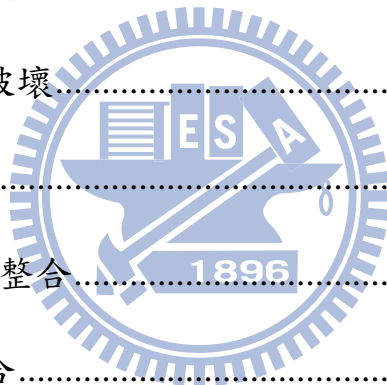
皓宇 於 新竹交通大學

# 目錄

摘要.....	i
Abstract .....	ii
誌謝.....	iii
目錄.....	v
表目錄.....	vii
圖目錄.....	viii
一、 緒論 .....	1
1.1 研究動機.....	1
1.2 文獻回顧.....	5
1.3 研究目標.....	10
二、 原理及概念設計 .....	12
2.1 毛細管電泳.....	12
2.1.1 電泳.....	13
2.1.2 電滲.....	14
2.2 液體介電泳.....	16
2.3 概念設計.....	17
三、 CE-LDEP 晶片改善.....	18
3.1 光罩設計.....	19
3.2 製程介紹.....	20



3.2.1 上板製程.....	21
3.2.2 下板製程.....	23
3.3 實驗介紹.....	25
3.3.1 儀器設備及材料.....	26
3.3.2 量測方式及校正.....	28
3.3.3 LDEP 電場對電滲流速測試.....	30
3.3.4 CE 電場對電滲流速測試.....	34
3.3.5 粒子分離實驗.....	36
3.4 改善介電層破壞.....	38
3.5 結果討論.....	41
四、 CE-LDEP 晶片整合.....	44
4.1 進樣系統整合.....	45
4.2 CE 電極系統整合.....	56
4.3 結果討論.....	60
五、 結論.....	61
5.1 總結.....	61
5.2 未來方向.....	64
參考文獻.....	66





# 表目錄

表 1 直線式流道尺寸.....	19
表 2 實驗使用之藥品配方.....	27
表 3 LDEP 交流電場對電滲流參數表.....	31
表 4 LDEP AC+DC bias 電場對電滲流參數表.....	33
表 5 CE 直流電場對電滲流參數表.....	34
表 6 粒子分離試驗使用之 Polystyrene 粒子.....	36
表 7 粒子分離電壓參數及兩種粒子流動速率.....	37
表 8 介電材料之介電強度.....	38
表 9 電性量測特性表.....	41
表 10 數位十字進樣法電極設計尺寸規格表.....	48
表 11 電極整合結果比較.....	60
表 12 電性量測結果.....	62

# 圖目錄

圖 1 DNA 檢測市場報告 .....	3
圖 2 2006~2011 年全球 MEMS 應用市場規模 .....	4
圖 3 現有的檢測產品 .....	4
圖 4 毛細管電泳泳動模型 .....	8
圖 5 先前電泳分離技術 .....	8
圖 6 文獻回顧整理 .....	9
圖 7 研究目標樹狀示意圖 .....	11
圖 8 電雙層結構以及 Zeta Potential .....	15
圖 9 等效電路圖 .....	16
圖 10 整合系統概念設計圖 .....	17
圖 11 直線式流道 .....	19
圖 12 整體結構示意圖 .....	20
圖 13 上板製程流程圖 .....	22
圖 14 下板製程流程圖 .....	24
圖 15 感應電荷推測 .....	25
圖 16 倒立式螢光顯微鏡 .....	26
圖 17 波形產生器及訊號放大器 .....	27

圖 18 EOF 流速量測法示意圖 .....	28
圖 19 量測法校正實驗示意圖 .....	29
圖 20 虛擬流道中之電場分布圖 .....	30
圖 21 粒子泳動影像 .....	32
圖 22 LDEP 交流電對 EOF 泳速關係 .....	32
圖 23 LDEP 交流電+DC bias 對 EOF 泳速關係 .....	33
圖 24 CE 直流電對 EOF 泳速關係 .....	35
圖 25 粒子分離過程量測圖 .....	37
圖 27 ITO 邊界後移圖 .....	39
圖 26 導角處理前後邊界比較 .....	39
圖 28 導角角度示意 .....	40
圖 29 邊界 ITO 移除法示意圖 .....	40
圖 30 熱像儀量測圖 .....	42
圖 31 Parylene 在試片邊界受熱產生氣泡示意圖 .....	43
圖 32 十字進樣法圖示 .....	45
圖 33 數位進樣法圖示 .....	46
圖 34 分段進樣法圖示 .....	46
圖 35 數位十字進樣法 .....	47
圖 36 插槽式接線組 .....	49

圖 37 控制系統簡圖.....	49
圖 38 LabVIEW 程式.....	51
圖 39 數位十字進樣系統測試圖.....	52
圖 40 數位十字進樣分離法.....	54
圖 41 數位十字進樣流道進樣方式.....	55
圖 42 CE 電極設計.....	56
圖 43 極細白金線加工.....	57
圖 44 液體脫離儲液槽示意.....	58
圖 45 上板鑽孔及部分 ITO 移除示意.....	59



# 一、緒論

## 1.1 研究動機

自從 1950 年代發現了 DNA 開始，人類在生技研究 DNA 上日益的重視已不容忽略。根據相關市場報告書 (圖 1) 預估全球 DNA 診斷市場規模將在 2009 年達到 126 億美元。主要原因是被廣泛應用於製藥、臨床醫學、基因定序和生物醫學上。應用於臨床人類疾病的診斷與監測，目前市場規模有 25 億美元，預估以 13.7% 成長，2009 年達 47 億美元。應用於實驗醫學的 DNA 診斷市場規模，主要是用於診斷疾病及其易感性 (Disease Susceptibility)、胎兒性別測定、器官組織移植和捐血血液篩選。應用最廣泛是於生物製藥和生物技術產業，佔整體 DNA 診斷市場的 52%。主要是用於各種基因的診斷。然而在現今社會注重效率和時間下，毛細管電泳晶片有效的縮短了 DNA 分析的時間，更擁有了微小化以及攜帶方便的優點，符合時代的潮流，更是目前 Lab-on-a-Chip 的發展主流之一，結合 DNA 分析的另重點聚合酶連鎖反應 Polymerase Chain Reaction (PCR)，將可有效的增值和分離 DNA，相信未來將許多生化反應檢測整合在一微小晶片上，成為一個生化檢測系統，將是指日可待。

另一方面，微機電 (Micro Electrical Mechanical System, MEMS) 市場產業日益蓬勃，根據 Yole Development 市場研究機構之報告 (圖 2) 指出，

微機電應用市場處於成長趨勢，由於近年來微小化概念盛行，諸如手機、投影機、PDA 甚至是家庭遊樂器，均廣泛使用到微機電產業相關之技術，特別注意到微流體(Microfluidics)市場在五年內預估市場產值由 444 百萬美元成長到 861 百萬美元，將近兩倍成長，意味著微流體運用在高速、可攜性之生物檢測上逐漸被重視，相關的商品化產品如：安捷倫(Agilent) 推出高效能液相層析晶片 (High Performance Liquid Chromatography Chip, HPLC-Chip) 如圖 3(a)，可搭配液相層析儀及液相層析質譜儀 (Agilent 1200 Series HPLC-Chip/MS system) 進行分析，以及生化分析儀 (Agilent 2100 Bioanalyzer)，可搭配不同的套件進行 DNA、RNA、蛋白質和細胞的分析。而在台灣，2001 年才成立的洄藝科技 (Agnitio Science & Technology)，擁有 BioIC™ (如圖 3(b)) 卡夾式流體平台，可用於臨床即時的檢測，例如尿液或唾液代謝物等的檢測。

然而目前上市之產品主要是以具有流道的連續式流體(Continuous fluidic)為檢測平台，而數位式流體(Digital fluidic)平台相關之運用在商業化產品上尚不明朗，而數位化流體平台具備以下優點：(1)不需要封閉的流道，限制流體的範圍；(2)可程式控制，彈性規劃流體輸送路徑；(3)沒有可動零件 (moving parts) 的幫浦或閥門，一樣可以操控流體運動，以及(4)節省樣本流體，不會浪費在管道之中；此類優點顯示出數位化流體平台有龐大市場潛力。

如何將前述之生物檢測系統有效的借由微機電技術以達到微小化之目的，將是未來幾年重要的趨勢和展望。

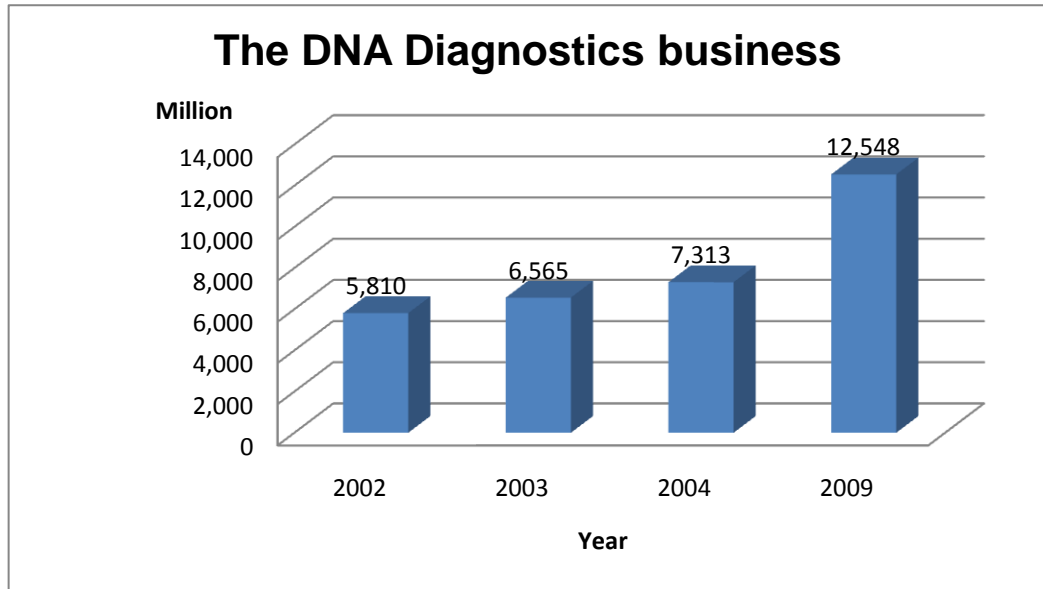


圖 1 DNA 檢測市場報告

Business Communications Company, Inc. , Aug, 18, 2004

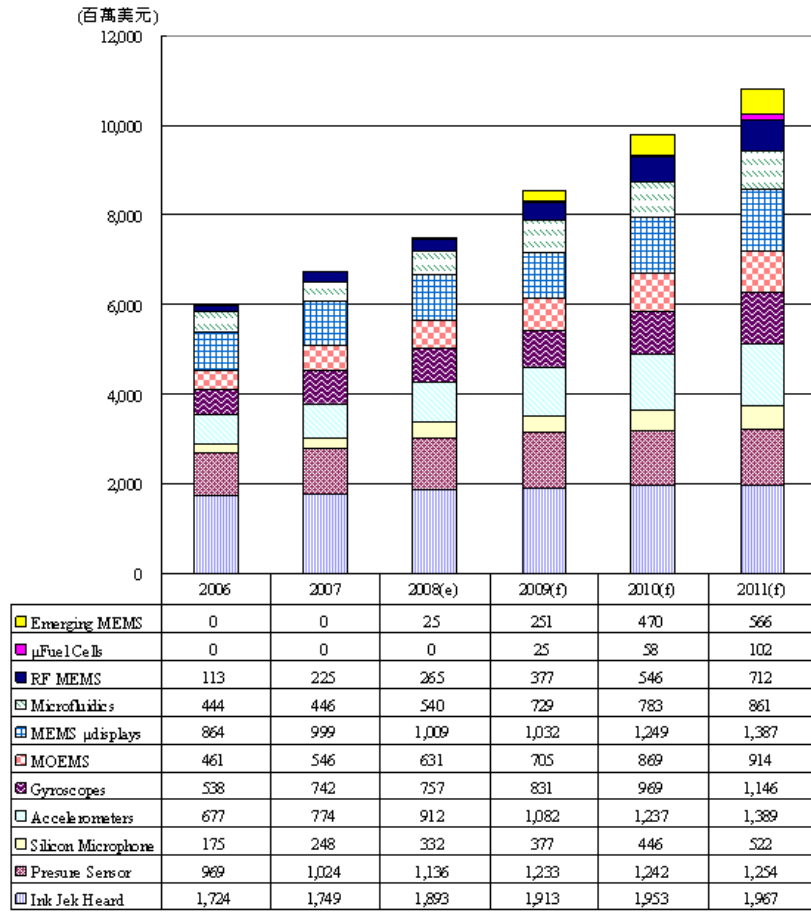


圖 2 2006~2011 年全球 MEMS 應用市場規模

Source : Yole Development ; 拓璞產業研究所整理，2008/03

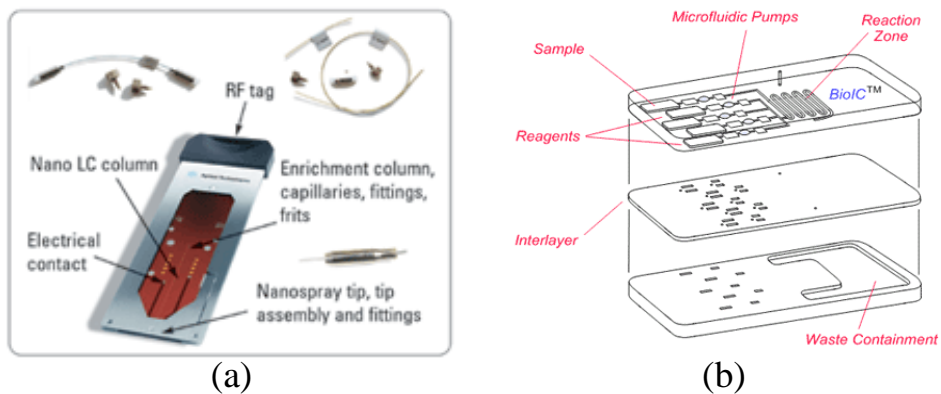


圖 3 現有的檢測產品

(a) Agilent HPLC-Chip (b) AgnitioST BioIC™



## 1.2 文獻回顧

電泳技術發展百年多的歷史，早在 1808 年就發現電泳現象，但在 1937 年才發展成為一種分離方式由瑞典科學家 Tiselius 設計了世界上第一台自由電泳儀，建立了移界電泳法 (moving boundary, EP)，成功地將人類血清蛋白質分離，使得人們更了解血清的成份，藉此偉大突破發展，在 1948 年更榮獲諾貝爾獎[1]。1979 年 Mikkers[3]提出以 200  $\mu\text{m}$  內徑的玻璃毛細管和聚四氟乙烯毛細管進行區帶電泳 (zone electrophoresis) 試驗，成功利用較小內徑的毛細管來控制焦耳熱。

1981 年，Jorgenson 和 Lukacs[4]提出以內徑 75  $\mu\text{m}$  的玻璃毛細管柱，在充滿緩衝溶液的毛細管兩端施加 30 kV 的電壓來分離衍生化的胺基酸，同時利用螢光偵測器作線上偵測，有效的提高偵測靈敏度，確立了毛細管區帶電泳的理論與基礎是利用離子所帶電荷及分子本身大小的比值不同，將彼此分離。而毛細管區帶電泳是一種僅能分離帶電物質的技術，中性物質因本身不帶電，在電場中只會受到電滲流的影響而造成遷移，其本身中性物質和中性物質之間在電場中並不會有速度上的差異，因此早期無法應用毛細管區帶電泳來進行分離。

日本科學家 Terabe [5]在 1984 年突破了這個限制，發展出微胞電動毛細管層析技術 (micellar electrokinetic capillary chromatography, MECC or MEKC)，在緩衝溶液中加入界面活性劑，當界面活性劑達到臨界微胞濃

度 (critical micelle concentration, CMC)以上時，界面活性劑形成微胞，利用中性物質在微胞相及溶液相間不同的分配係數而達到分離的效果。

1987年，Cohen 和 Karger[6]將傳統的凝膠電泳技術應用在毛細管，提出了毛細管凝膠電泳技術 (capillary gel electrophoresis)。此外還有利用不連續的緩衝溶液系統所造成的電場差異使得分析物依照其在不同電場下有不同的電泳速率進行分離，稱為毛細管等速電泳法 (capillary isotachopheresis, CITP) 技術[7]。

由於毛細管電泳技術具有：(1)分離效率高；(2)樣品用量少；(3)分析速度快等特性，近年來毛細管電泳得以在各方面應用持續發展，為人類帶來更多的貢獻。

近年來，毛細管電泳 (Capillary Electrophoresis, CE)已成為分析化學領域中發展最快的一種微量分離技術。其原理是將帶有不同電荷或質量的離子，利用其質荷比的不同，在緩衝溶液中受到外加直流電場的作用時會產生不同的遷移速率，進而達到分離的目的。同時，毛細管電泳較傳統電泳更為特殊的就是電滲(Electroosmosis, EO)之存在，其泳動模型如圖 4 所示。在分析過程中，由於緩衝容受到電雙層(Electric Double Layer, EDL)所產生之影響，在兩端施加直流電場而形成之電滲流，這一個現象使得中性物質被緩衝液帶動而不是被電場影響而泳動。毛細管電泳中存在之電泳 (Electrophoresis, EP)加上電滲將得到的遷移率(Migration)，為整個分析過

程時間長短的一項重要依據。

數位流體乃是近年來發展出來的全新概念，2001 年 T. B. Jones 提出之液體介電泳(Liquid Dielectrophoresis, LDEP)[8]為一利用不均勻電場使液體極化而趨向高電場的現象，而 T. B. Jones 也首先用此現象製造出一條符合其電極形狀之液柱。

2006 年 Y.-C. Lin, et al. 提出了用 LDEP 形成之閥件(Valve)，可以整合利用在數位化流體平台上，以取代傳統管路流體需要使用之實體閥件。2007 年 C.-P. Chiu, et al. 提出了使用 LDEP 現象之微混合器(Micro Mixer)[9]，此設計在微小尺度下之混合效果更為顯著。

2008 年邵啟煥等人首度提出 CE-LDEP[10]，將毛細管電泳整合進 LDEP 形成之虛擬流道(Virtual Channel)並利用此一元件分離不同長度之 DNA(圖 5)，使用開放式流道(Open Channel)有利於終端檢測分析並可搭配前述之數位流體技術整合成數位式流體晶片，此外也利於進樣(Inlet)取樣(outlet)，這是在封閉管路中較不易達成之結果。然而，分離結果解析度不佳，也是需要改進之缺點之一。綜觀以上文獻整理成圖表如下(圖 6)

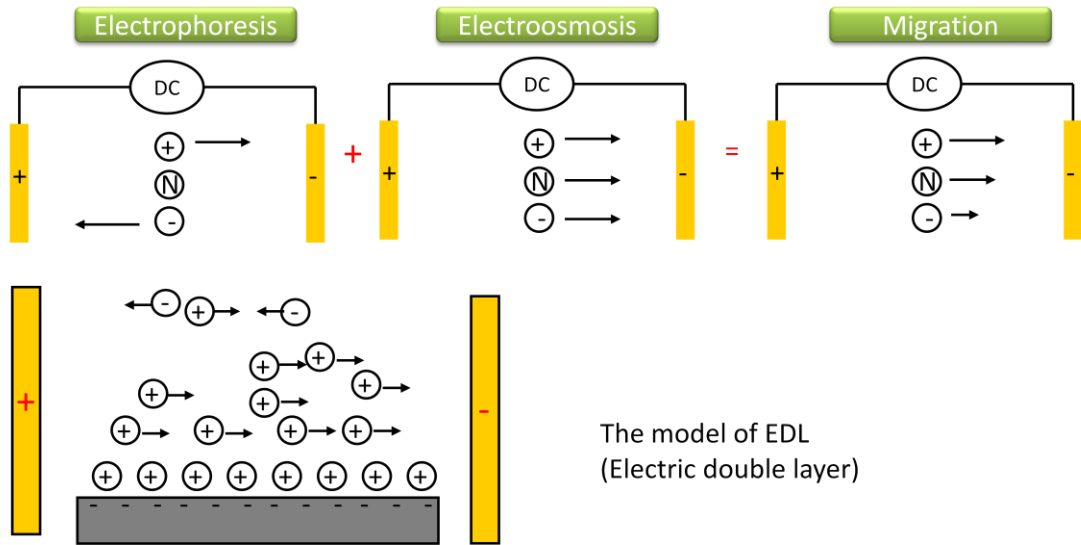
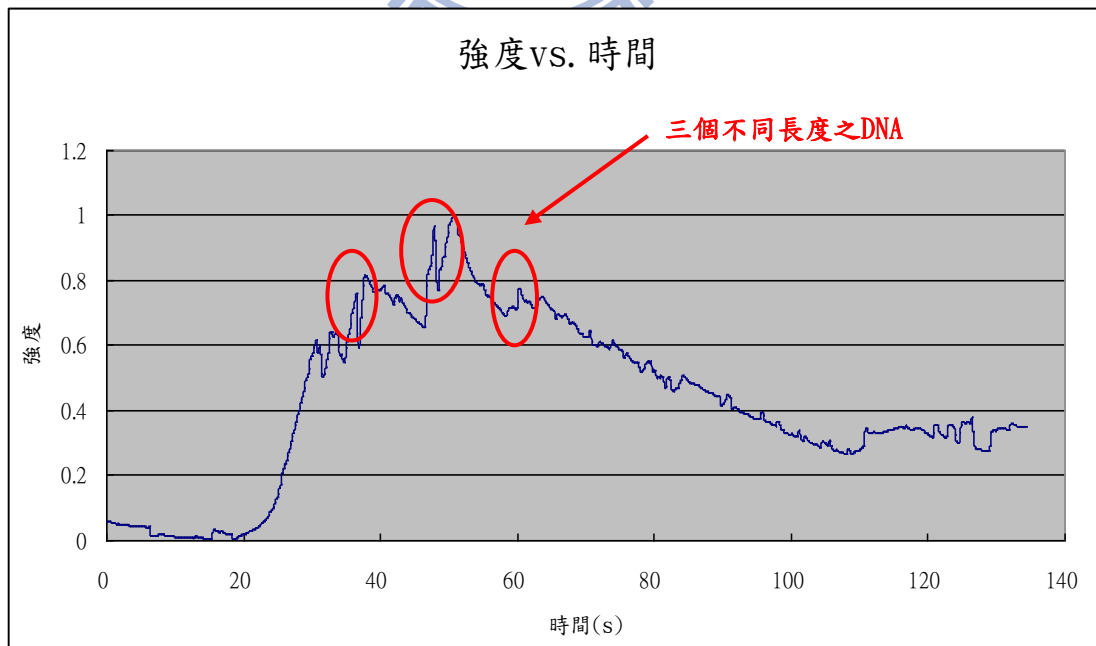
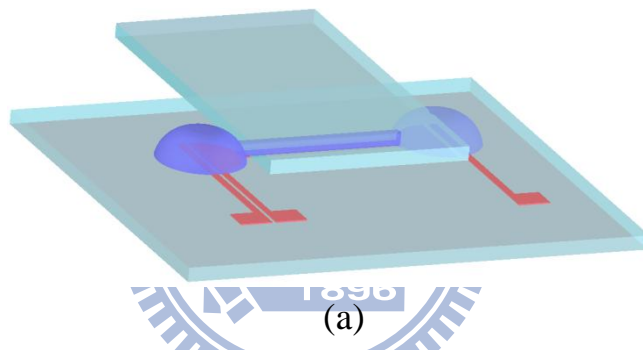


圖 4 毛細管電泳泳動模型



(b)

圖 5 先前電泳分離技術(a)CE-LDEP 晶片 (b)DNA 分離偵測

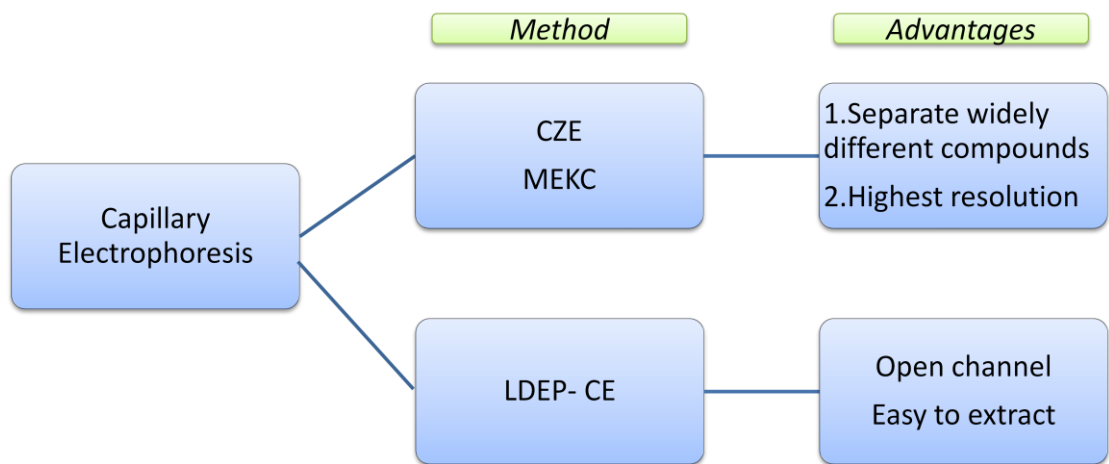


圖 6 文獻回顧整理



## 1.3 研究目標

- **提升 CE-LDEP 晶片之效率**

由於 CE-LDEP 晶片目前分析效率不佳，且分離效率不高，如何有效提高晶片效率將是本研究一大重點，電泳分析著重之高解析度訊號，以避免雜訊影響為首要考量，而影響因子可能為電場施加後產生之熱導致擴散嚴重，使得樣品有重疊區域。

此外加強 CE 電場提升電泳速度乃是很常見的手法，但現階段製程無法加到太高的電場(約為 33.3 V/cm)，未來在製程方面也期提升製程穩定性。

- **將進樣及取樣系統整合至 CE-LDEP 晶片**

有別於傳統封閉管路，開放式的虛擬流道之優勢就是隨時可以外加或是取出樣品本，傳統如需要做萃取(Extraction)等動作，還需要添加額外的化學試劑或是直接將毛細管截斷，整合進樣取樣系統將可使分離完成後的樣本單種類的取出可以做分析或是萃取至後端實驗，而萃取後的純化樣品也可以被整合入數位化的流體平台，用介電濕潤(Electrowetting on Dielectric, EWOD)。(圖 7)

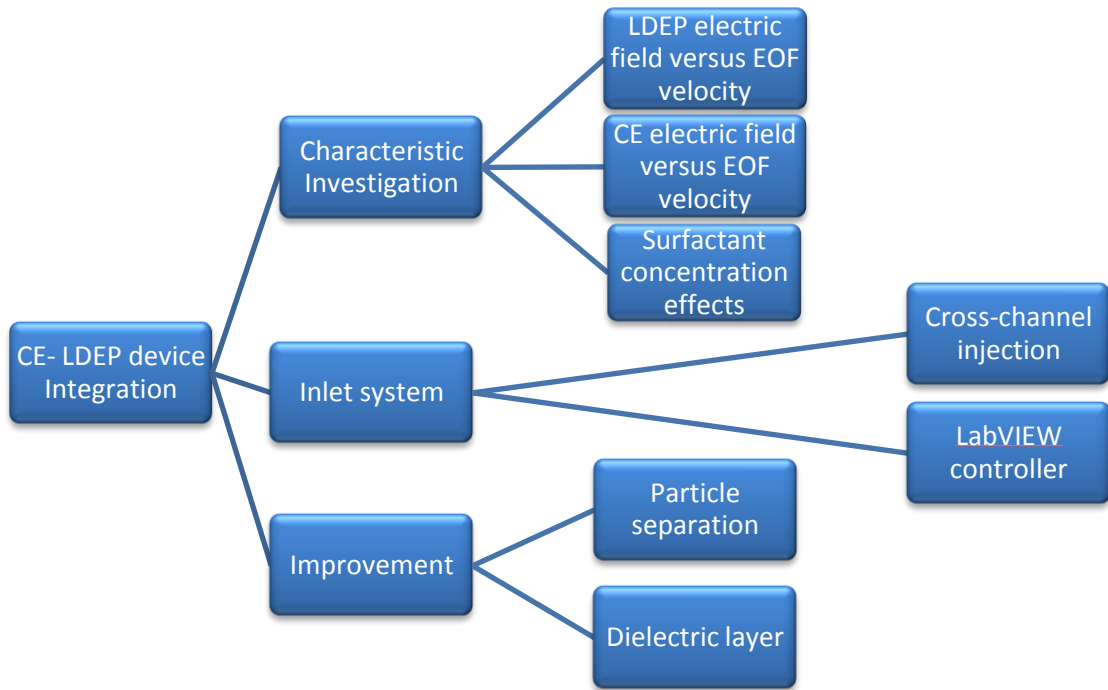


圖 7 研究目標樹狀示意圖



## 二、原理及概念設計

### 2.1 毛細管電泳

毛細管電泳 (Capillary Electrophoresis)，乃是眾多分析化學中的其中一環，有別於傳統的膠體電泳，毛細管電泳使用的緩衝劑主要是液相的，而非傳統膠體電泳使用之洋菜膠或是濾紙，此外，毛細管電泳最大的特色乃是在毛細管內的分離現象，最早使用的熔矽石英管 (Fused Silica)其表面會解離出  $\text{Si-O}^-$  致使表面帶負電，進而導致。

不同於傳統膠體電泳，毛細管電泳除了包括了電泳力以外，還多了一個由毛細管壁解離形成的帶電表面，這一表面所形成的電雙層 (Electro double layer, EDL) 包含了固定層 (Stern layer) 及擴散層 (Diffusion layer)。

以下章節將介紹電泳電滲及液體介電泳。



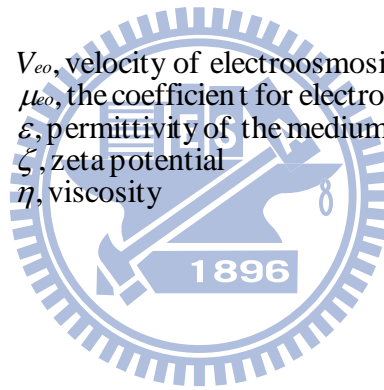
## 2.1.1 電泳

電泳(Electrophoresis)，此一現象乃是依照分析物帶電量及其質量等物理特性差異，也就是質荷比的不同，在一直流電場環境下形成之不同大小之泳動力，帶正電荷之分子向負電端移動，而負電荷分子向正電端移動，而不帶電之中性電分子不受影響。而電泳速率可以由公式計算得到：

$$V_e = \mu_e \times E = \mu_e \times (V/L) \quad (1)$$

$$\mu_e = q/6\pi\eta r \quad (2)$$

$V_{eo}$ , velocity of electroosmosis  
 $\mu_{eo}$ , the coefficient for electroosmosis  
 $\epsilon$ , permittivity of the medium  
 $\zeta$ , zeta potential  
 $\eta$ , viscosity



## 2.1.2 電滲

電滲(Electroosmosis)此一現象由於電雙層存在而當外加一直流電場引起的整體緩衝液之泳動，進而帶動粒子移動之現象，而這也是中性電粒子能被移動的手段之一，而泳動速度由以下公式可以計算得到。

$$V_{eo} = \mu_{eo} \times E = \mu_{eo} \times (V/L) \quad (3)$$

$$\mu_{eo} = \varepsilon\zeta/\eta \quad (4)$$

$V_{eo}$ , velocity of electroosmosis  
 $\mu_{eo}$ , the coefficient for electroosmosis  
 $\varepsilon$ , permittivity of the medium  
 $\zeta$ , zeta potential  
 $\eta$ , viscosity

值得一提的，電泳電滲在 CE-LDEP 晶片共有一直流電場，也就是 CE 直流電場所以公式(3)(4)中的  $E$  為同一大小之數值；另外，公式(4)之 zeta potential( $\zeta$ )乃是電雙層模型中滑動面(Shear plane)處之電位，其示意圖如下(圖 8)。此外在 Schasfoort [2]等人的論文中也提到除了利用不同 pH 值之溶液改變 zeta potential 以外，也可以在管壁上加電壓進而改變 zeta potential，以改變 EOF 的手法，而本文將嘗試使用外加電場去改變之。

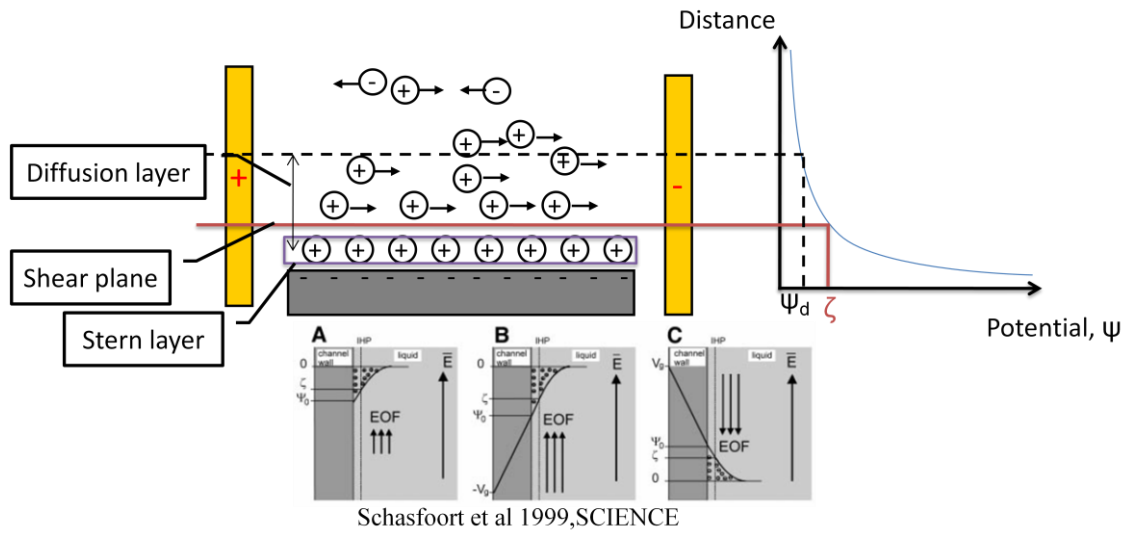


圖 8 電雙層結構以及 Zeta Potential



## 2.2 液體介電泳

液體介電泳(Liquid dielectrophoresis)係由物質在不均勻電場下極化現象不同所導致之泳動力。操作平台之等效電路圖如下(圖 9)，實驗上使用之頻率為 100 kHz，則大部分電壓降在液體中，反之當頻率為低頻(ex.1 kHz)時，則大部分壓降落在介電層中。在這樣的高頻電壓下使得明顯的液體介電泳現象，低頻則會有電濕潤之現象(EWOD)這又是另外一項數位流體操控手法。

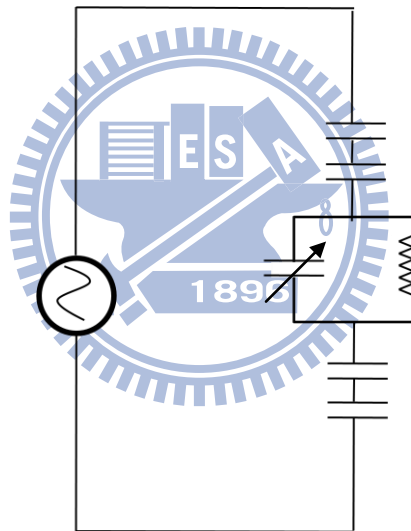


圖 9 等效電路圖

## 2.3 概念設計

將前述提到之目標系統化整理，初步設計之架構如圖 10 所示，其中可以大致分成

- 進樣系統
- 毛細管電泳-液體介電泳分離系統
- 取樣系統

以上三系統為主要架構，最終目標將是成功將其整合成一晶片，以期達到晶片實驗室(Lab-on-Chip)之目標

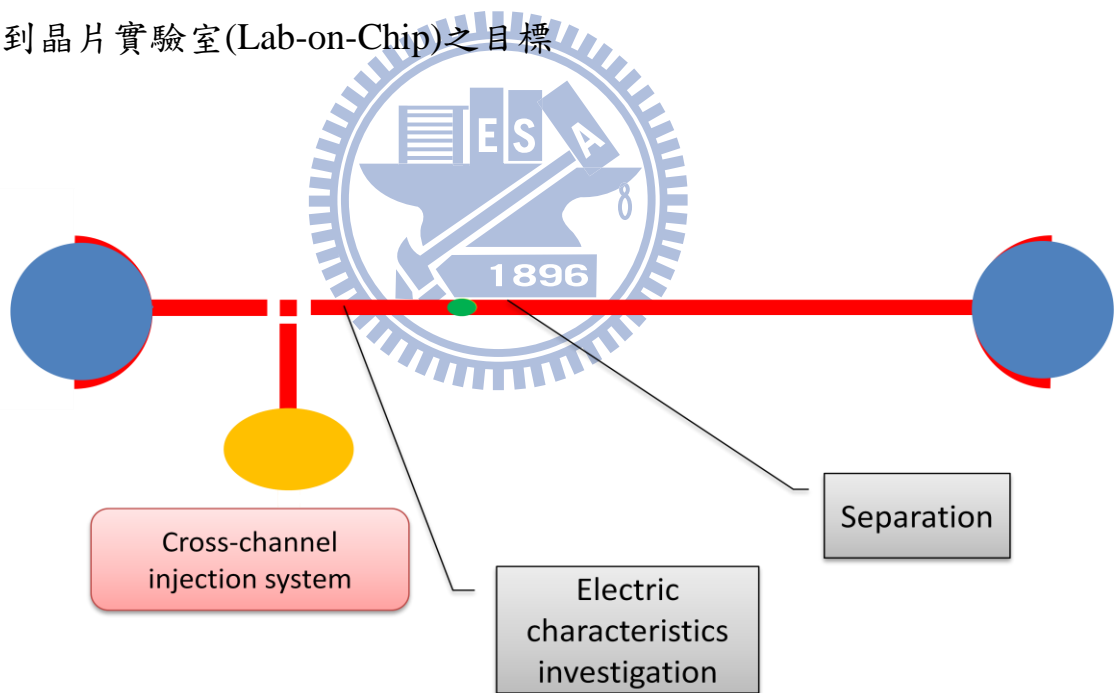


圖 10 整合系統概念設計圖

### 三、CE-LDEP 晶片改善

基於前述邵啟煥等人於 2008 年發表之 CE-LDEP 晶片，本章將對此一晶片做基本特性之量測，並將就之前的缺點做改善，諸如：分析效率不佳、解析度不高以及介電崩潰等問題去做改進。以下將介紹實驗及實驗將用到的光罩、藥品、設備及其他細節。



### 3.1 光罩設計

使用光罩設計程式 L-EDIT 撰寫光罩，光罩設計採用直線式流道(圖 11)，此流道之尺寸表列於下(表 1)，採用此一直線流道生成之電場，藉由前面敘述之液體介電泳力可以生成 3 cm 長之虛擬流道，此外在主流道外兩側則是 CE 電極，其功能為提供 CE 所需要的 DC 電場，而這個設計也期望能達到實驗室晶片(Lab-on-a-Chip)的目的，故將全部使用到的電極用在同一道光罩上，而本章實驗測試著重在 EOF 流速及電場交互關係研究，CE 電極的操作將在第四章晶片整合提到。

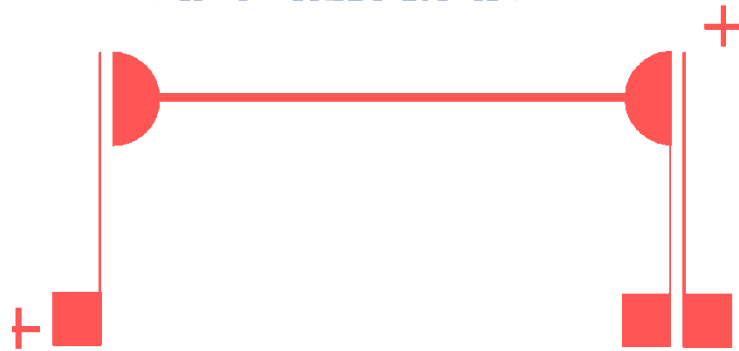


圖 11 直線式流道

表 1 直線式流道尺寸

流道長	流道寬	儲液槽半徑	接觸電極大小	導線寬度
3 cm	500 $\mu\text{m}$	3 mm	3 mm	100 $\mu\text{m}$

## 3.2 製程介紹

元件製程分為上下兩板製程，使用的是氧化銻錫玻璃 (ITO Glass) ITO 是一種透明且具有導電性的陶瓷材料，廣泛使用在觸控面板製造上，而這裡使用 ITO 主要是為了方便倒立式螢光顯微鏡觀測，而製程主要是在國立交通大學博愛校區無塵室完成。製程大致完成之示意圖列於下圖 12

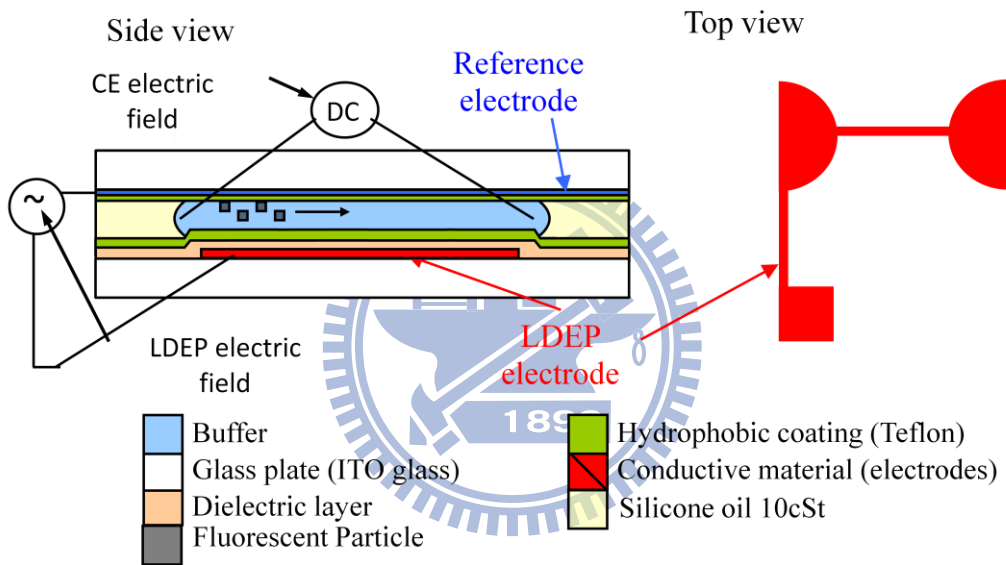


圖 12 整體結構示意圖



### 3.2.1 上板製程

將 ITO 玻璃切割成  $33 \times 40$  mm 之小片，上板之尺寸較為重要，必須要覆蓋下板整段流道並露出下板電極，所以切割上使用較為精準之玻璃切割平台。

製程圖如圖 13 所示，切割好之玻璃由於在切割過程中產生之細微碎屑以及手觸碰可能導致油脂、組織細胞等生物有機汙染，而這些汙染源將會影響到後續表面加工(Surface Machining)介面間之附著性(Adhesion)，所以將試片放入丙酮(Acetone)中並置入超音波震盪器(Ultrasonic Resonator)清潔五分鐘後再用去離子水(De-Ionic Water)沖洗過再浸泡至異丙醇(IPA)中，此一手法為保障無殘留丙酮在試片表面，因丙酮難溶於水，故需要異丙醇幫助清潔之，而之後使用加熱板(Hot Plate)加熱  $120^{\circ}\text{C}$  5 分鐘，去除水氣，在於角落貼上真空膠帶以利接下來沉積 Parylene C 之後裸露電極之用。處理好之空片放入 Parylene C 沉積系統(Parylene Deposition System, PDS)，沉積厚度約  $2 \mu\text{m}$  之 Parylene C 薄膜，上蓋即完成。

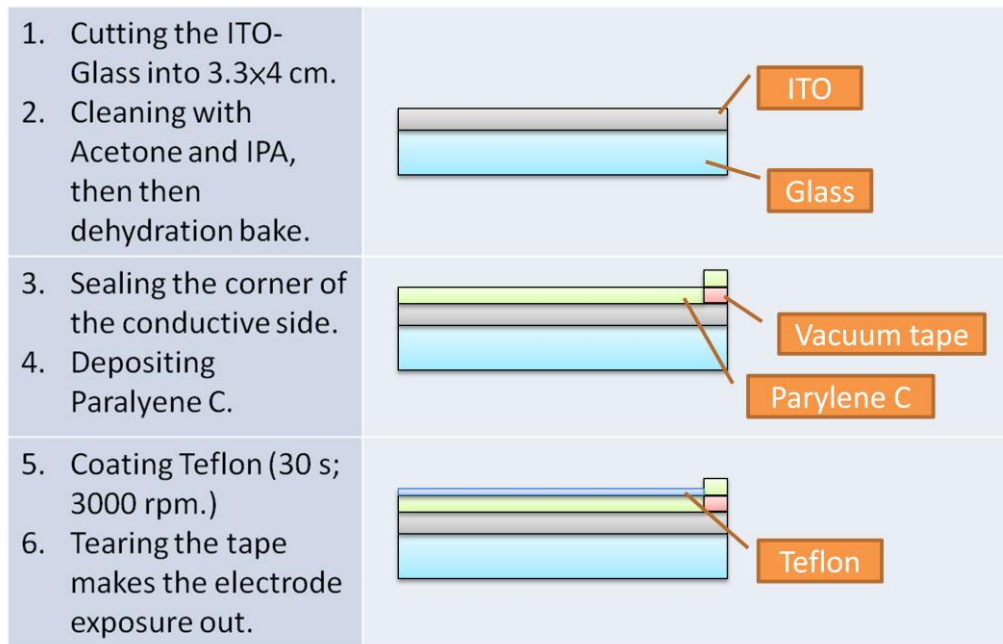
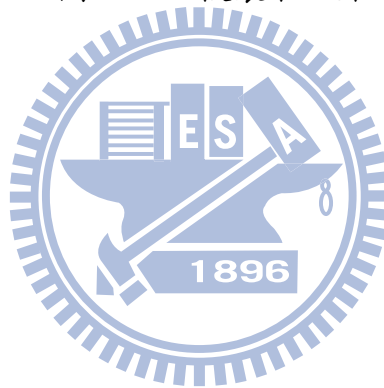


圖 13 上板製程流程圖



## 3.2.2 下板製程

下板製作上需要使用微影製程技術，下板使用之 ITO 玻璃片為 40× 50 mm，而在製備及清潔上，與上板製作並無異，而之後需旋塗光阻 (Photoresist)，這裡使用 AZ-P4620 型號之正型光阻 (Positive Photoresist) 旋塗 3000 r.p.m 定義厚度為 20  $\mu\text{m}$ ，特別注意到光阻對於玻璃的附著性 (Adhesion) 並不好，所以在旋塗之前也可以斟酌使用 HMDS (hexamethyldisilazane) 做玻璃表面修飾，再將之放置於 90°C 加熱板上軟烤 (Soft Bake) 五分鐘，接著使用 UV 曝光機 (Aligner) 曝光，曝光強度約為 40  $\text{mW}/\text{cm}^2$ ，曝光五秒後用 FHD-5 顯影液顯影，再用 DI water 定影。圖刻完成之試片去硬烤 (Hard Bake) 120°C 十分鐘後再用王水 ( $\text{HCl}:\text{HNO}_3:\text{DI water}; 3:1:6$ ) 45°C 蝕刻約三分五十秒，即可將多餘之 ITO 移除，特別注意到王水蝕刻參數隨 ITO 厚度有所差異，而厚度與片電阻 (Sheet resistance) 有關，此處為 20  $\Omega/\square$ ，厚度約為 300 nm，此步驟完成後需用三用電表量測是否有短路，確定無誤之後，將試片放入丙酮去除光阻再放入異丙醇浸泡清洗之後用 120°C 加熱烤乾，接下來將電極部分貼上膠帶，理由同上板，為方便裸露出介電層下之電極。接著將試片旋塗上一層 SU8-2002 負光阻做為下板介電層，轉速為 4500 r.p.m. 厚度約為 1  $\mu\text{m}$ ，之後軟烤 90°C, 5 分鐘後，在不具任何光罩下對全部的光阻曝光 5 秒，此一動作為加強負型光阻結構強度，再將之硬烤 120°C, 10 分鐘即完成。

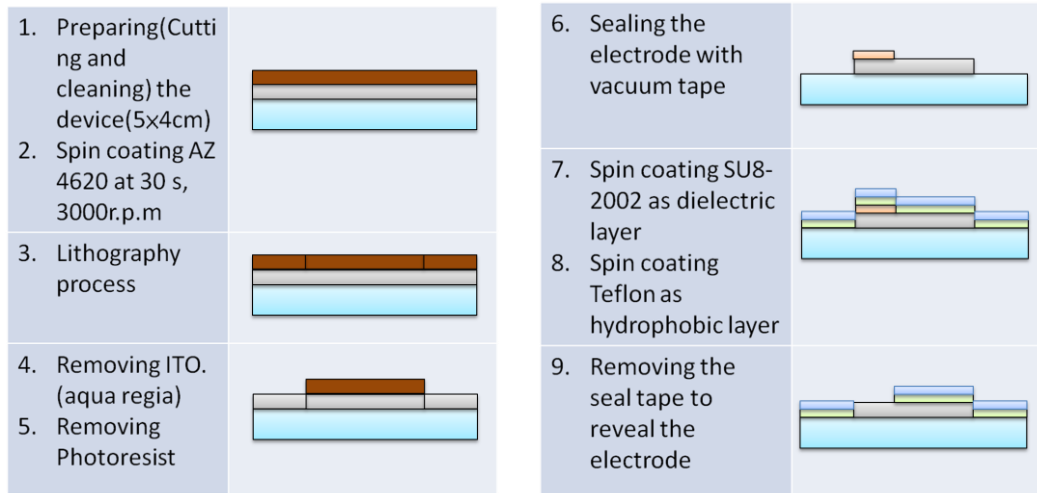


圖 14 下板製程流程圖



### 3.3 實驗介紹

在了解基本原理後，針對實驗目的而設計幾項實驗，主要著重在基本特性之量測及測試能調控及改變之因子，以期之後在系統整合上能有所置喙之處。其中第一要印證之重點在於前一章節提到之公式(4)其中的 zeta potential 是否同樣能被 CE-LDEP 晶片上複雜的電場調控，我們假設施加 LDEP 電壓在上下兩板會致使表面產生感應電荷(Induced charge)進而提高 zeta potential(圖 15)，在後續實驗中將會探討其可行性，如證實可行，則對於 CE-LDEP 分離效率將有很大幫助，意味著可以調控不只 CE 方向電場強度，亦可透過 LDEP 電場加強提高速率。

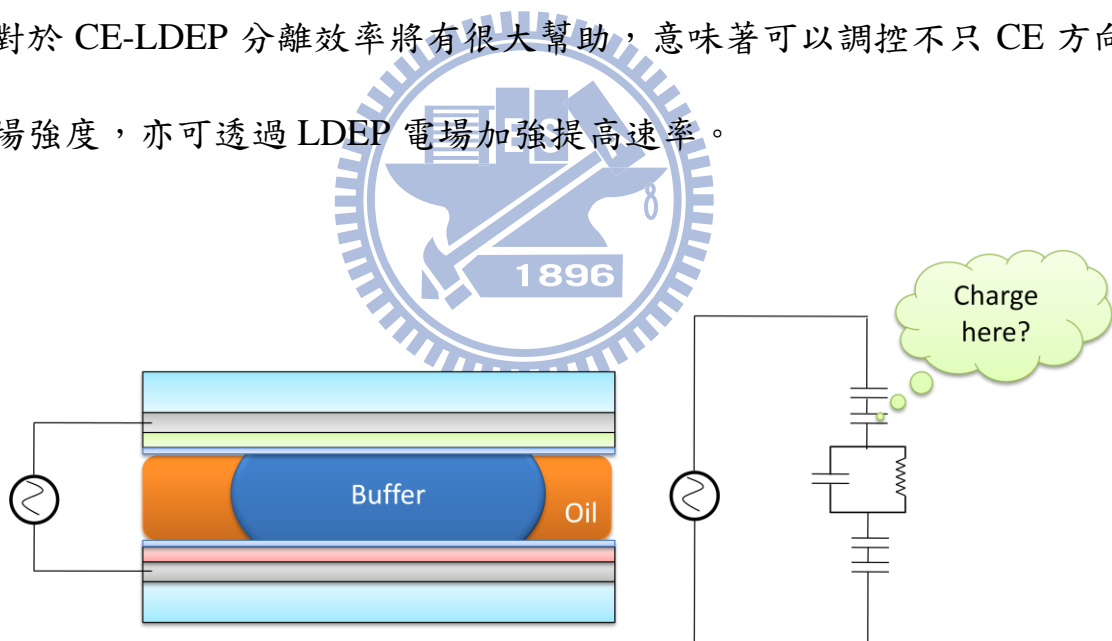


圖 15 感應電荷推測

### 3.3.1 儀器設備及材料

實驗過程需要用到之量測儀器主要是 Olympus 倒立式螢光顯微鏡 (Fluorescence Microscopy, FM)(圖 16)由於選用之粒子為螢光粒子，所以必須使用此一設備，而選用之原因乃是需要較強及單純的光訊號，如在一般光源下看普通粒子，其影像不易於 PIV 量測，且需要將曝光時間延長，導致粒子在 CCD 錄製下變成棒狀(Rod shape)，將不易量測。

而在電壓訊號來源則選用 Agilent Function Generator 及放大器(圖 17)，這些儀器在架設後使用示波器校正無誤後，方開始實驗。

實驗過程中使用到之化學藥品則表列於下(表 2)



圖 16 倒立式螢光顯微鏡

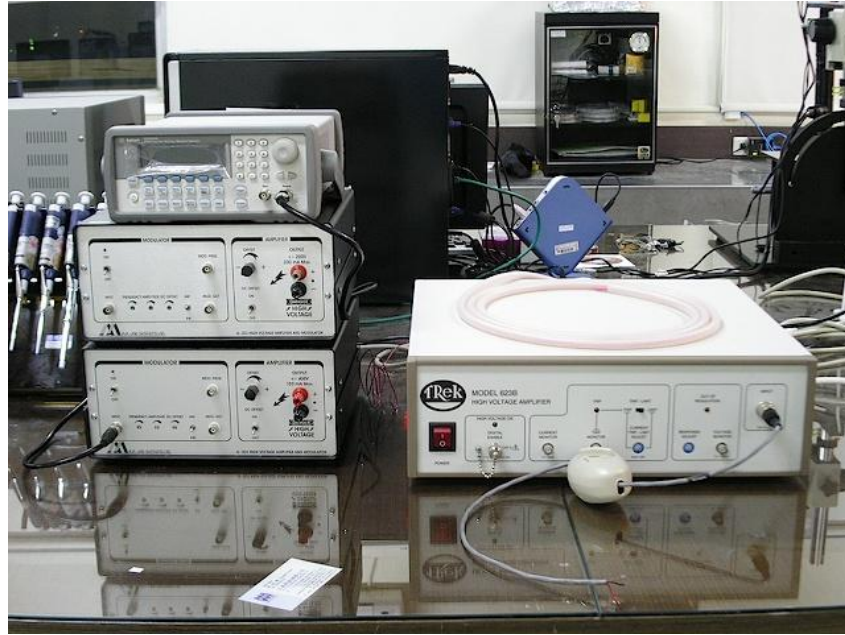


圖 17 波形產生器(左上)及訊號放大器(左下兩台)

表 2 實驗使用之藥品配方

Buffer	Sodium Borate 20 mM+ SDS 5 mM
Particle	Fluorescent Polystyrene bead 5 $\mu$ m
Medium	Silicone oil 10cSt

### 3.3.2 量測方式及校正

為了量測電滲流流速，且考慮手邊可用儀器，選定類似粒子影像流速 (Particle Image Velocity, PIV) 量測法之形式來檢測 EOF 流速，但正統 PIV 設備需要同步器，且大多定義在較大尺寸流場下，微流場另外稱做  $\mu$ PIV，但  $\mu$ PIV 架設複雜，且對於實驗需求其實是大材小用，因此採用此一概念簡化，而改用稀釋過的中性電螢光粒子液 (DI water : PS bead; 10:1) 去進行流速檢測 (圖 18)，此方法亦可稱為中性物標定法。這邊不採用原液以避免太大量的粒子反而會致使影像不易解析，稀釋液在顯微鏡下得到清晰可分之成像後，進一步做了校正試驗 (圖 19)，校正試驗使用注射器幫浦 (Syringe Pump) 給定一已知流速，再由拍攝得到影像計算出流速，得到之結果比對已知流速發現誤差極小 (1% 以下) 固選用此方式進行流速量測。

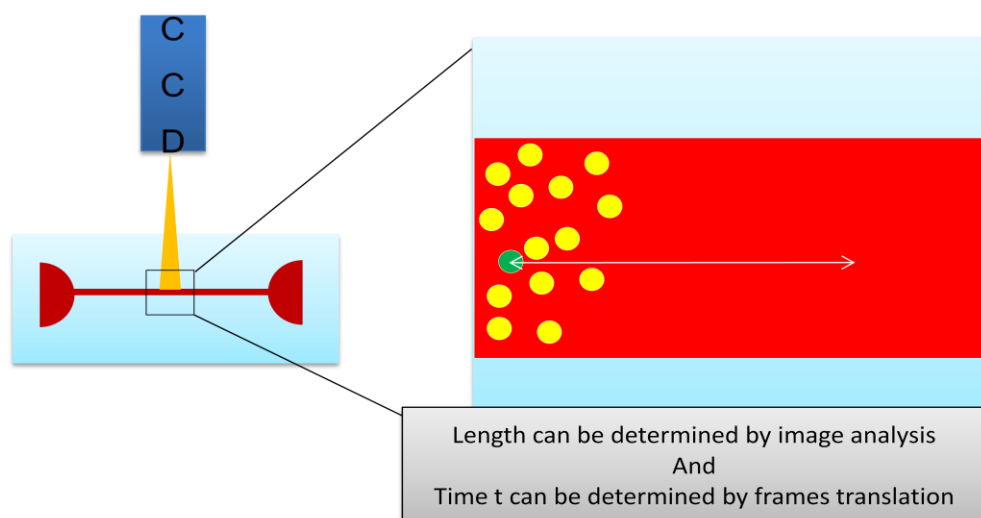


圖 18 EOF 流速量測法示意圖



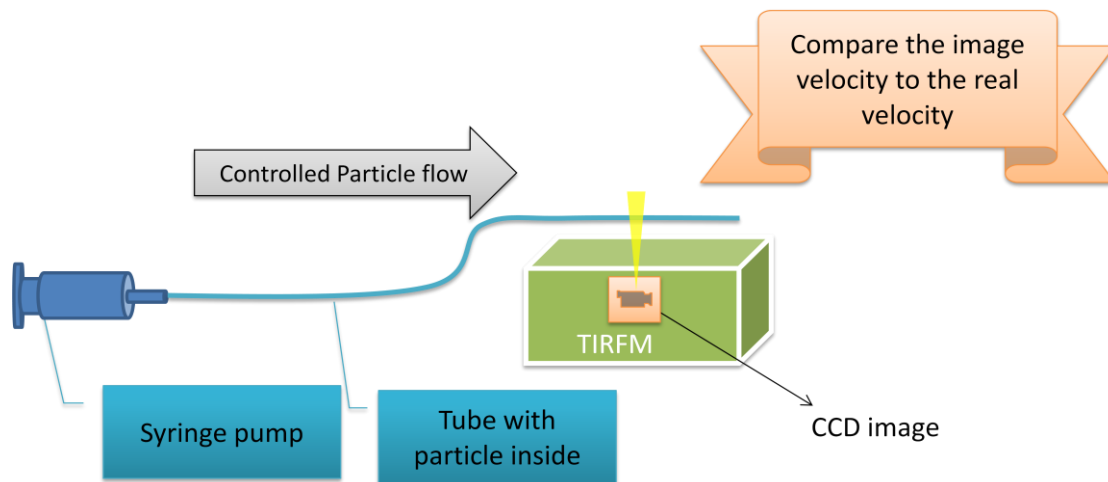


圖 19 量測法校正實驗示意圖



### 3.3.3 LDEP 電場對電滲流速測試

由於採用無實體邊壁拘束，本晶片在操作上同時存在兩個相互垂直的電場，分別稱做 LDEP 及 CE 電場，前者為 AC 交流電場，後者為 DC 直流電場(圖 20)，第一步測試了調控 LDEP 方向電場。

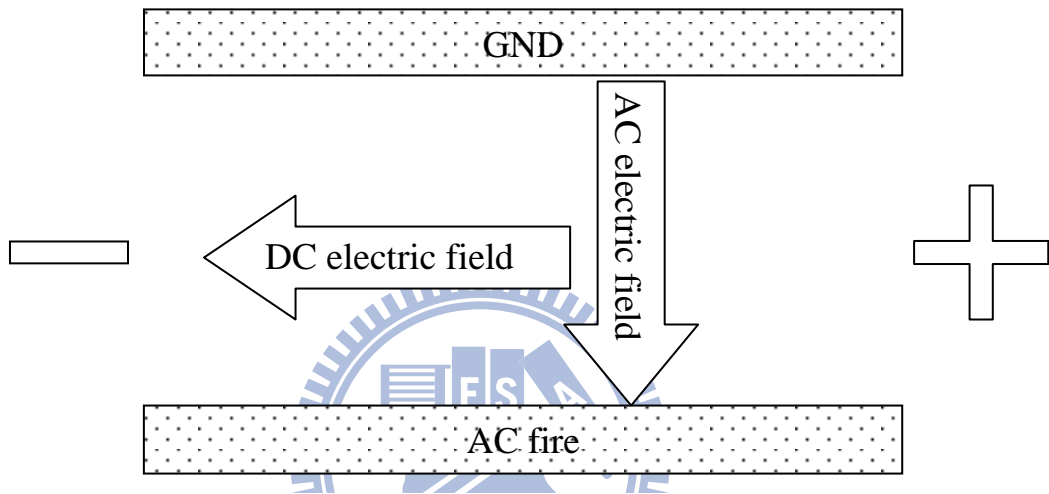


圖 20 虛擬流道中之電場分布圖

實驗設定參數如下(表 3)，在測試前才將 Teflon 旋塗並靜置十分鐘，以確保最外層接觸到液體的表面是最新的，否則老化現象(Aging)會導致表面能下降，直接反映到液體接觸角(contact angle)的變小，也意味著疏水性變差。實驗時將 FM 架設後使用 UV 光，調整濾鏡為：U—MNBV2(NBV) 激發 420—440 nm 接收 475 nm 即可看到螢光粒子，接下來先將 10 cSt silicone oil 充滿在兩板之間，並在兩端儲液電極(Reservoir)滴上緩衝液，開啟 LDEP 電場，即可形成 LDEP 流道，接著在兩端施加 CE 電場即可形成泳動，並拍攝記錄下。

表 3 LDEP 交流電場對電滲流參數表

項目	參數
LDEP 電壓	固定 100 kHz，輸出電壓調控在 2.0~3.5 V <sub>pp</sub> ，放大 40 倍
CE 電壓	維持 1 V <sub>dc</sub> 放大 40 倍
拍攝曝光時間	20 ms

實驗中使用 CCD 記錄到粒子泳動行為並拍攝影像(圖 21)，再依其泳動 1 mm 所花時間計算得到結果，計算精度到 1/30 秒，得到趨勢圖如圖 22 所示。

另外，考慮到 Schasfoort 等人之研究，我們嘗試額外施加一個 DC 直流電在上下兩板間，以期改變 zeta potential 進而操控 EOF，而操作上如前一個實驗所述，差異僅在 LDEP 交流電訊號中多給予一個 DC bias，測試參數如表 4 所示，而量測到的結果如圖 23 所示。

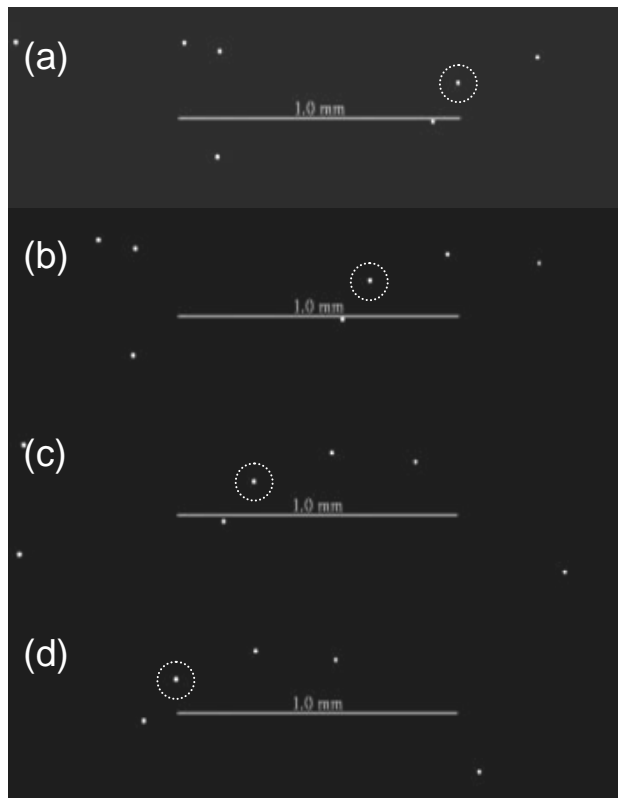


圖 21 粒子泳動影像

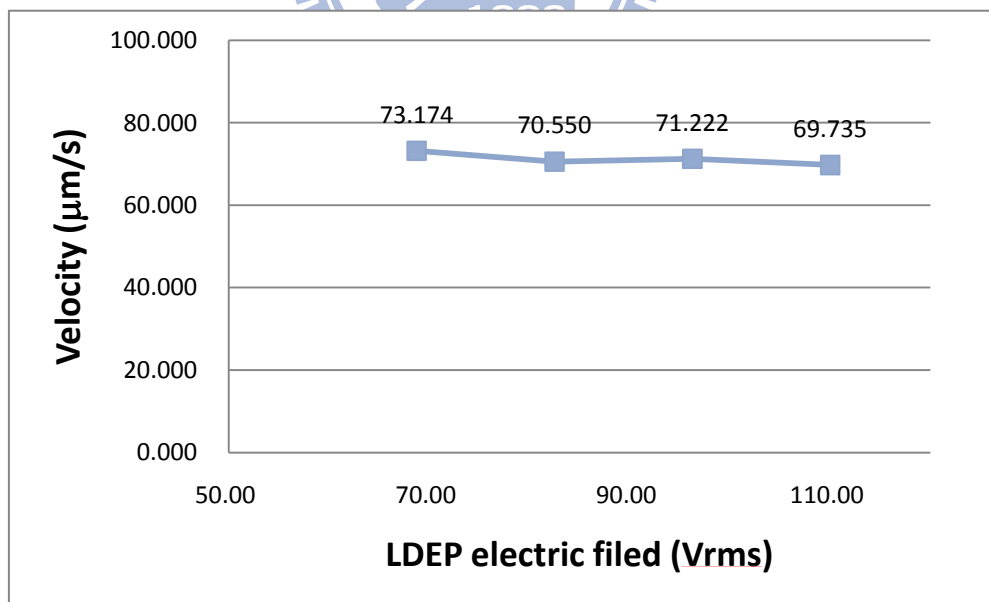


圖 22 LDEP 交流電對 EOF 泳速關係

表 4 LDEP AC+DC bias 電場對電滲流參數表

項目	參數
LDEP 電壓	AC:固定 100 kHz，80 V <sub>rms</sub>
	DC bias:從 0 V <sub>dc</sub> 開始每 1 V <sub>dc</sub> 量測一次。
CE 電壓	維持 1 V <sub>dc</sub> 放大 40 倍
拍攝曝光時間	20 ms

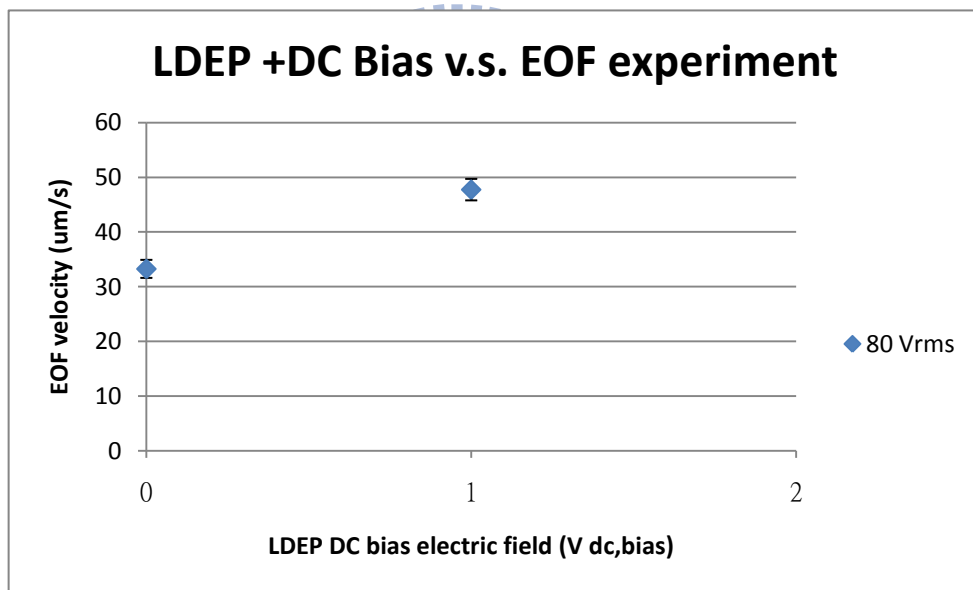


圖 23LDEP 交流電+DC bias 對 EOF 泳速關係

而現階段僅測試出兩點，其原因在於 AC+DC bias 後經過四十倍放大器，其造成的 RMS 值過大，使介電層的電壓負荷更強，同時伴隨則很強的加熱效果，此一影響下，造成實驗失敗機率大增，也因此目前僅定性觀察到 DC bias 可以提高 EOF 而無定量量測。

### 3.3.4 CE 電場對電滲流速測試

在探討過 LDEP 電場之影響後，接下來則調控 CE 電場對電滲流速知影響，由前面章節提到，根據公式(3)電滲流速和電場成正比，淌度(Mobility)在溶液 pH 值、黏度和介電常數 不變的狀況下視為定值。本實驗之參數如表 5 所示，同樣在流道成型後，施加 CE 直流電場在兩端儲液槽，拍攝下泳動情形並計算粒子泳動速度做圖如圖 24

表 5CE 直流電場對電滲流參數表

	參數
LDEP	固定在 80 Vrms (3 Vpp 放大 40 倍)
CE	測量 20 Vdc~100 Vdc，以 20 V 為級距增幅。
拍攝曝光時間	20 ms

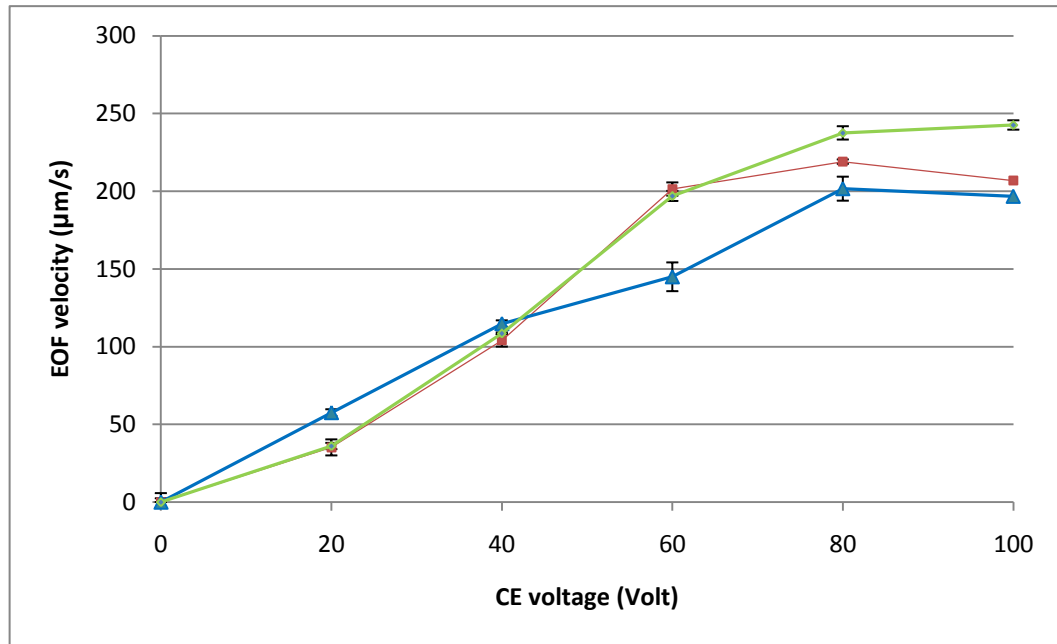


圖 24CE 直流電對 EOF 泳速關係

此一時驗定量量測出 CE 電場和 EOF 泳速關係，而這也符合電場正比於泳速之關係，其中特別發現到當電壓提高到 80V 時，出現飽和的現象，這在傳統毛細管電泳並不常見，期可能原因在於過熱，因本系統並無額外散熱，過高的溫度致使兩端儲液槽的緩衝液體沸騰並形成一往外之拖引力，因此會有一飽和點存在。

### 3.3.5 粒子分離實驗

基於前述實驗，本節對於本平台的分離效果測試做了測試，本實驗採用不同表面修飾之 Polystyrene Bead，除原本的 5  $\mu\text{m}$  fluorescent Polystyrene 以外，也採用 3  $\mu\text{m}$  表面有 carboxylate ( $-\text{COO}^-$ ) 修飾的 Polystyrene。(表 6)，這邊特別加入的 carboxylate 修飾粒子其表面解離成  $\text{COO}^-$  致使此一型粒子表面帶一負電，在本實驗中，首要目的就是將此兩種不同帶電及不同大小之粒子做一分離測試，根據電泳理論，添加此一帶負電粒子其電泳速率應較中性帶電粒子小，又電泳和分析物之大小亦有反比關係，因此預期負電粒子將會和中性電螢光粒子分離。

實驗架設上和前面量測實驗無異，但由於所使用之螢光顯微鏡為單色 CCD，故在觀測上會看到負電粒子呈現出黑色，而不是本身所染色知紅色。同樣，在架設好實驗後，致使晶片生成 LDEP 成型之虛擬流道，而後在兩端施加一直流電場，並記錄之，泳動過程如圖 25 所示，當施加 LDEP 電壓為 80 Vrms，CE 電壓為 40 Vdc 時，觀察到的流動速度分別記錄在表 7。

表 6 粒子分離試驗使用之 Polystyrene 粒子

Item	Diameter	Dyed	Modifier	Charge
Particle A	5 $\mu\text{m}$	Fluorescent	Non	Neutral
Particle B	3 $\mu\text{m}$	Red dyed	Carboxylate	Negative



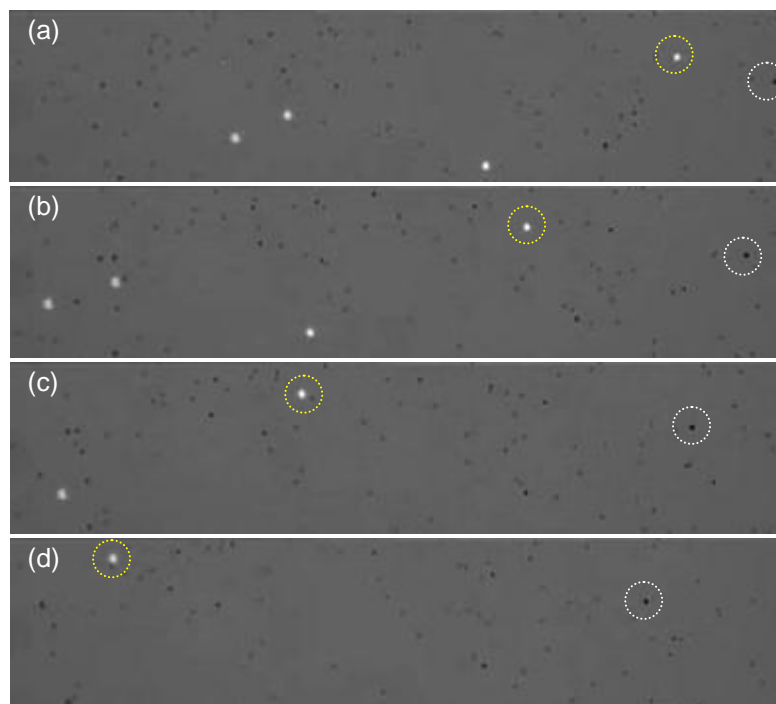


圖 25 粒子分離過程量測圖，黃框為螢光粒子  
白框為 carboxylate 修飾紅色粒子

表 7 粒子分離電壓參數及兩種粒子流動速率

LDEP voltage	80 Vrms
CE voltage	40 Vdc
Particle A velocity	83.57 $\mu\text{m/s}$
Particle B velocity	52.54 $\mu\text{m/s}$

### 3.4 改善介電層破壞

實驗上最常遇到的失敗情形為介電層破壞，此一破壞行為主因為介電崩潰(breakdown)，介電材料可操作之範圍有一崩潰強度之限制，如果操作電壓超過其崩潰強度，則介電崩潰後產生之電流將致使電極短路而燒毀，也因此研究並改善介電層穩定性，將是一大重要課題，且也是最基本也最直接提升晶片可靠度的手段之一。關於介電層的選用上，主要採用 Parylene C 和 SU8-2002 為主，個別的介電強度表列如下表 8。

表 8 介電材料之介電強度

SU8-2002	112 Volt/ $\mu\text{m}$
Parylene C	267.72 Volt/ $\mu\text{m}$

決定介電材料後，根據前一章節圖 13 及圖 14 所表示，上板介電層為 Parylene C，下板為 SU8-2002，根據此一配置操作，在 LDEP 電壓開啟時，結構還算穩定，但是當 CE 電場加入後，系統有可能產生破壞，據觀察，其破壞位置集中在上板的兩個邊界，而根據 ANSYS 電場模擬得到在邊界上是電場最大處亦應證了邊界致使介電層破壞的關聯性，然而，根據表 8 的資料，Parylene C 介電強度應足以支撐該邊界之電場，而實驗過程中同樣會發生崩潰破壞，因此我們考慮到上板邊界雖在 Parylene 的包覆下，但是該區塊為一直角，Parylene 的包覆性將受到考驗，為避免此一可能，我們嚐試了兩種方式，其一為邊界導角(圖 26)，使用 200 號水沙紙

進行邊界研磨導角，清潔後置入 PDS 沉積 Parylene C 即可，而導角後的 ITO 也會往內退縮，如圖 26 所示。

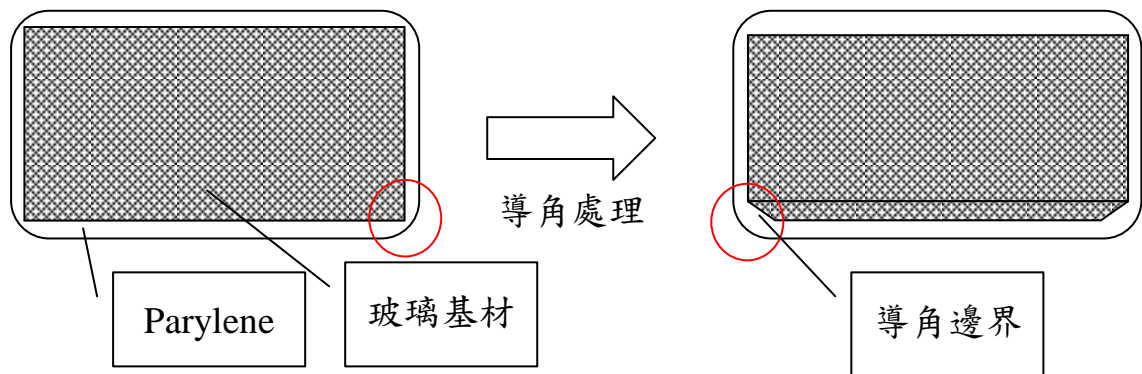


圖 26 導角處理前後邊界比較



圖 27 ITO 邊界後移圖。左圖為左邊界，右圖為右邊界

經此一方法，實驗後可以發現導角角度影響甚鉅，如導角角度過小，液體難以導入兩板之間，如導角角度過大，則包覆性仍舊不佳(圖 28)。



圖 28 導角角度示意

經實驗測試，角度大過於 49.31 度則容易電解，小於 41.63 度則液體難以導入，然而，此一方法目前採用人工研磨，角度控制不易，因此另外架構另一個方式為邊界 ITO 移除如圖 29 所示，利用簡單的黃光製程將一小部份的 ITO 移除，在這樣的狀況下 Parylene 將會把 ITO 的邊界也完全包覆，而此一方法在測試上顯著提高試片壽命，為目前最佳方法之一。

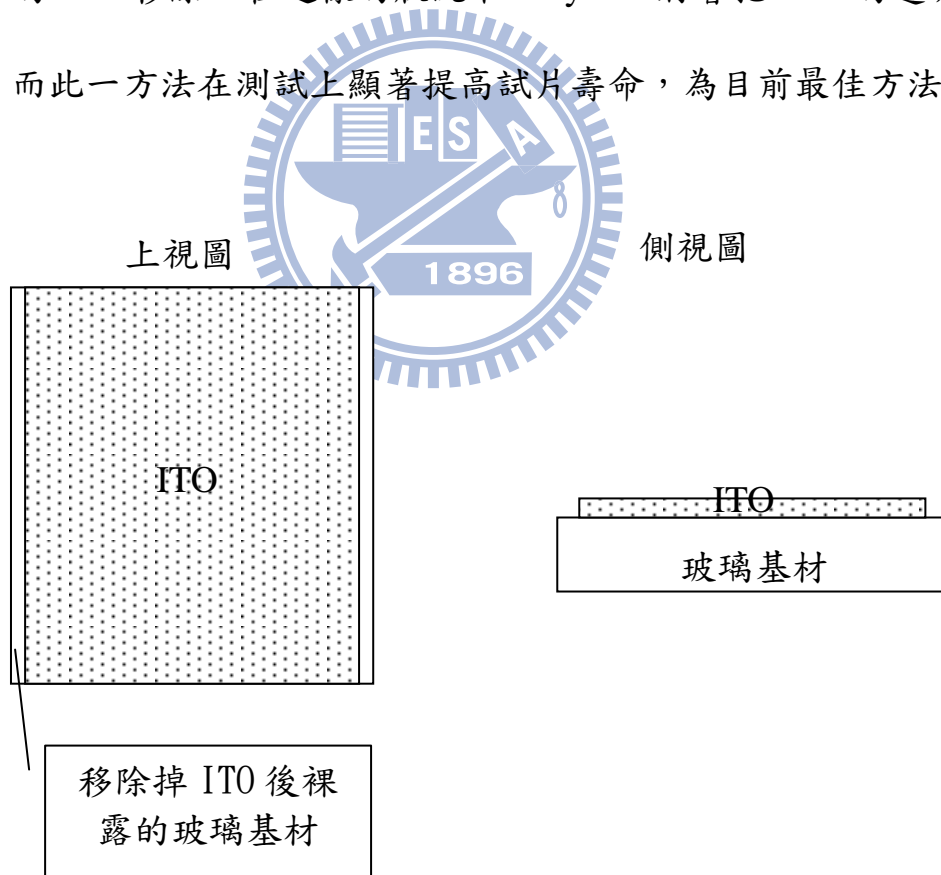


圖 29 邊界 ITO 移除法示意圖

### 3.5 結果討論

為了改善晶片分析效率及解析度，本章探討數種電性量測，由於此晶片除了一般的直流電場外，還有一垂直於流道的交流電場，在如此複雜的電場環境下，這兩個電場的操作是有必要被了解的，而根據本章的實驗結果，其操作特性表列如下表 9

表 9 電性量測特性表

操作電場	現象
LDEP 交流電調控	調控下電滲流速並無顯著差異。
LDEP 交流加直流偏壓調控	在定交流電壓下，增強直流偏壓則泳速定性上有增加現象。
CE 直流電調控	電滲流速正比於電場。

而本章同時將檢測物改用粒子(Polystyrene bead)，此一做法成功觀測到兩種電性不同之粒子分離現象，也是此一試片首度能目視觀測出具體分離行為的一項進步，此外，在過去常會觀察到道流道中間的介電崩潰破壞現象，因此在介電層的選用及結構設計上我們也做了調查，在採用跟前人使用相同的介電材料的狀況下，發現到介電崩潰的問題可能來自於邊界的包覆不良、加熱致使介電層劣化、緩衝液和介電層起化學變化或是過高的導電率致使電流過大。而我們測試了邊界包覆現象之研究，確實發現經

過導角處理後的邊界其包覆性較佳，因此單一試片的存活時間也有效提升，然而，這邊也發現當電壓持續增大，最終仍然會破壞試片，可能的改進手段應是更換介電強度更高的材料，或是採用導電性較低，或是非鹼金族的緩衝液[12]，避免掉以上這些可能的破壞條件，預期最後還需要改進散熱問題，原因在於本晶片的電場複雜，除了 Joule heating 以外，AC 電場加熱[13]行為為另一熱源來源，事實上經過一個簡單的熱像儀(Thermo Vision Camera, TVC)量測，得到粗略的加熱事實如圖 30 所示

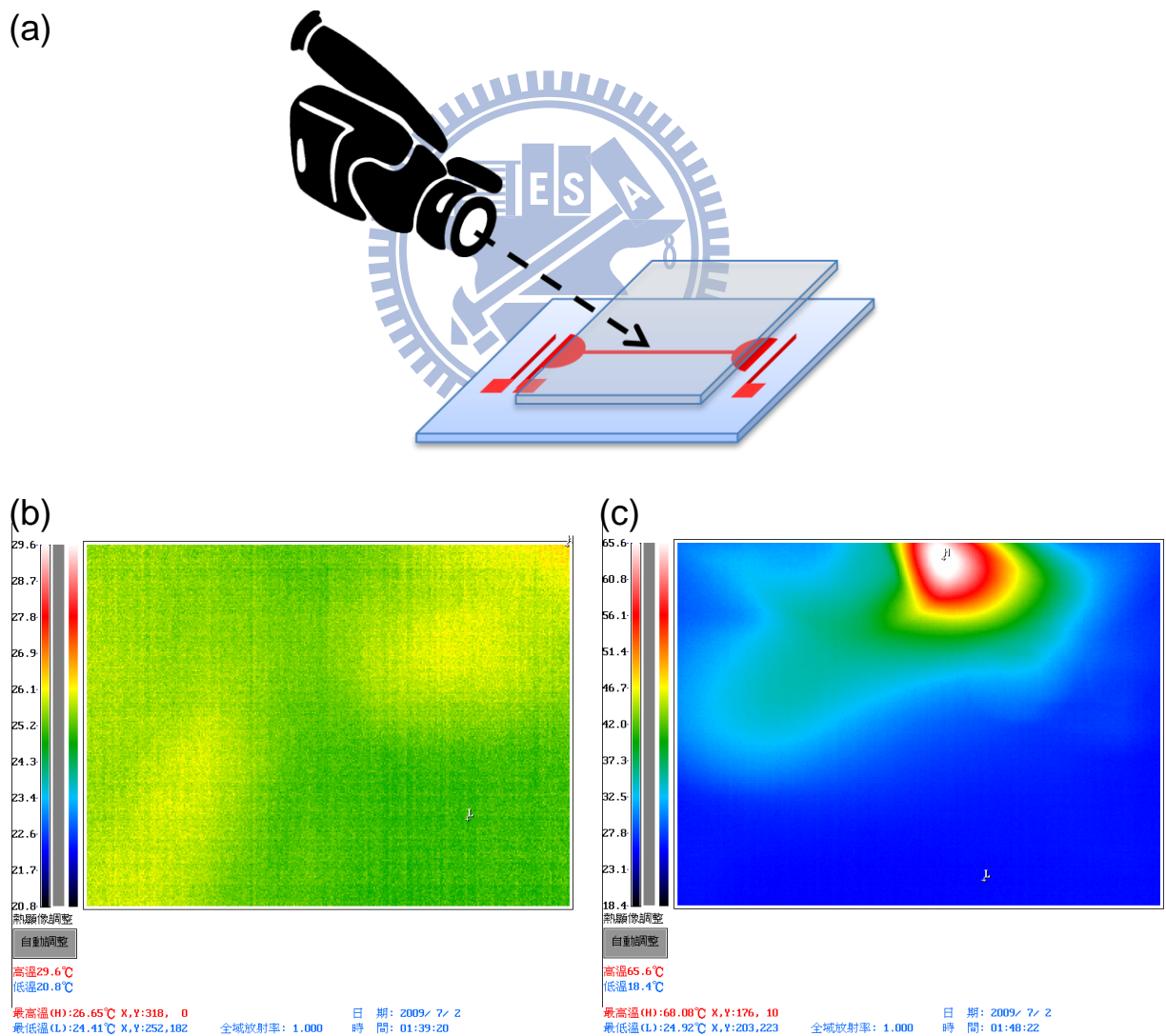


圖 30 熱像儀量測圖。(a)架設圖；(b)加電壓前；(c)加電壓後。

量測位置在流道中間，而一開始得到的溫度約略為室溫 26.65 度，當 40 Volt DC 電壓加入之後溫度在約 10 秒間及竄升為 88.87 度，而另外也量測過 AC 電場，同樣會對流道有加熱現象，意味者兩個交互電場均會對流道加熱，而此一加熱也是導致 Parylene 脫落的原因之一(圖 31)，也因此前面所作的導角處理，同時也是為了避免容易發生此一狀況。

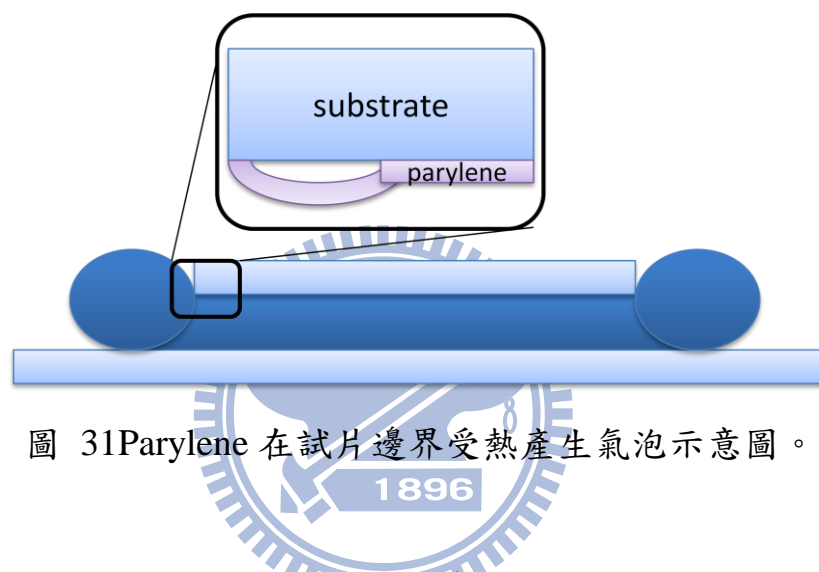


圖 31 Parylene 在試片邊界受熱產生氣泡示意圖。

本章探討的除了晶片的電性量測外，也採用了不同的檢測物，以得到更容易觀察量測的泳動影像，同時對於過於容易介電崩潰破壞的原因做了相關研究及探討，接下來後面將就晶片整合進行實驗及探討。

## 四、CE-LDEP 晶片整合

繼上一章討論晶片特性及改善晶片穩定性之測試，為達到多元系統整合之實驗室晶片(Lab-on-a-Chip)，在本章即討論了相關之測試及實驗。

待整合的系統有以下幾點：

- 進樣系統
- CE 電極系統
- 取樣系統
- 偵測系統

以上系統在整合前操作相當不易，甚至造成實驗上的窒礙，原因在於，各個系統均須額外架設，整合前亦無法成為單一模組，而整合的重要性，在於實驗實驗室晶片系統，以期微小化此一檢測晶片，同時不用額外增加其他的操控單元，例如，前面所提到的測試，在未整合前，需要先行將檢測物滴入管路中，並且，在實驗途中還需要人為置入探針施加直流 CE 電場，如整合電極進入試片，則會在操作上更為簡單，且也更邁向實驗室晶片此一目標，而在本章就將介紹其中的整合進樣系統以及 CE 電極系統。



## 4.1 進樣系統整合

以進樣系統為整合過程的第一步，根據 2008 年邵啟煥等人[10]提出的論文中，曾經嘗試過十字進樣法(圖 32)、數位進樣法(圖 33)以及分段進樣法(圖 34)，在前面章節所使用的亦為分段進樣法，然後分段進樣法並非理想之進樣系統，樣品須先行注入才可蓋上上板，意味著封裝上將是非常的繁瑣且不易成為量產可用之穩定晶片。

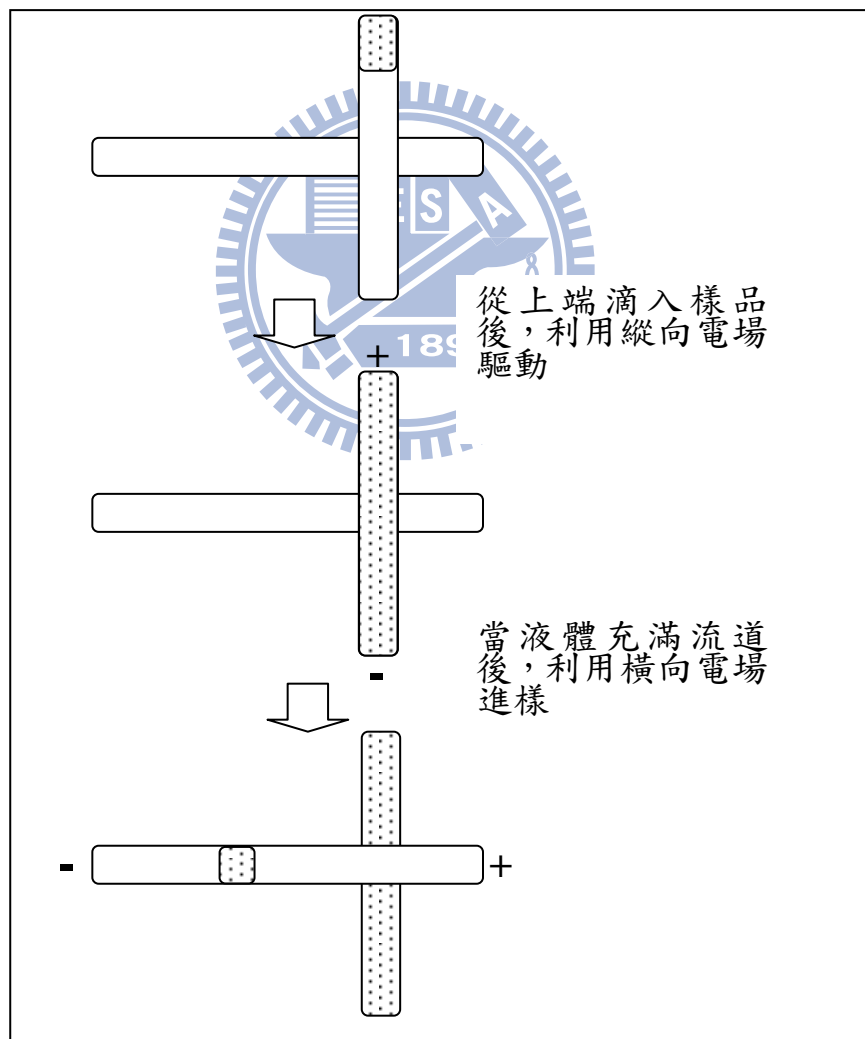


圖 32 十字進樣法圖示

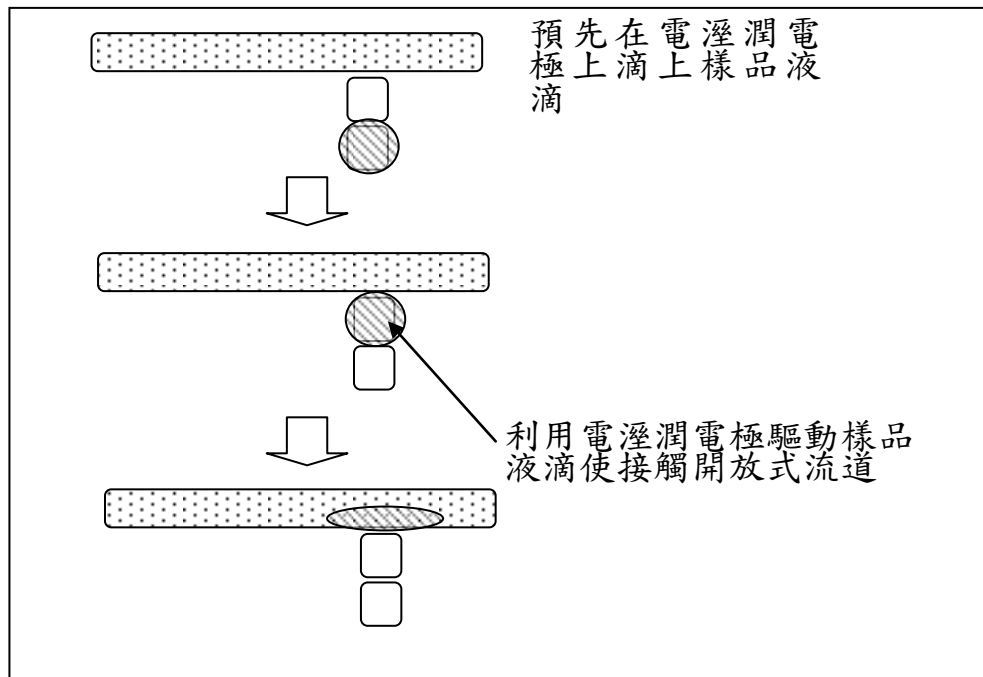


圖 33 數位進樣法圖示

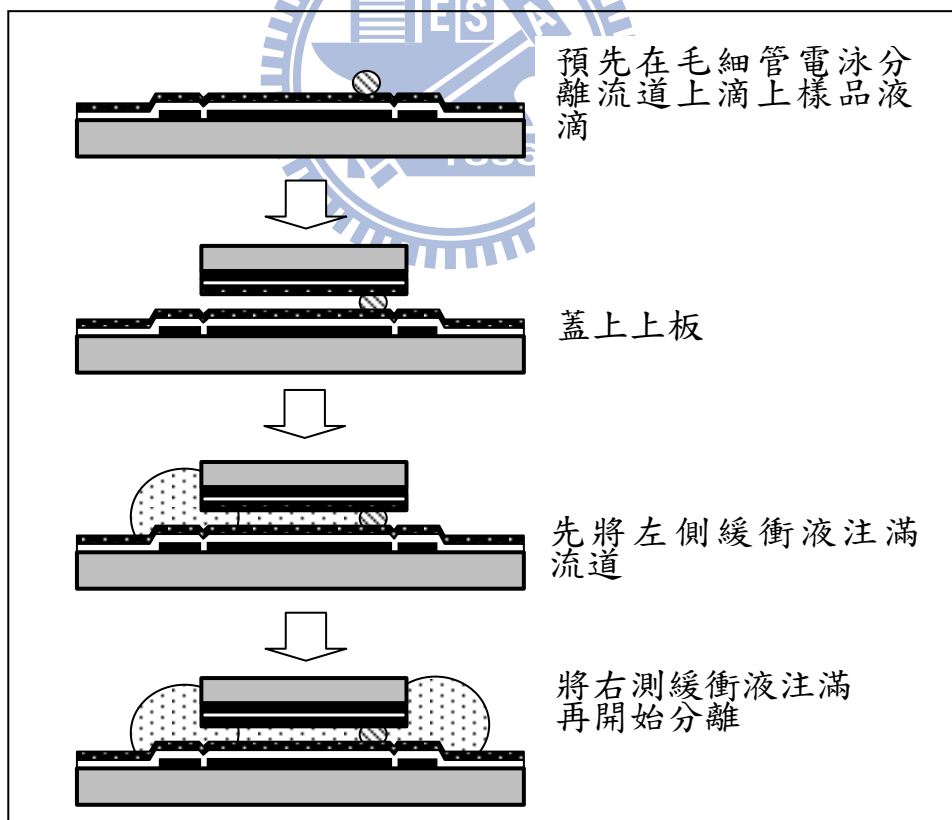


圖 34 分段進樣法圖示

在分析十字進樣法及數位式進樣法之缺點後，參考范士岡老師等人提出之 LDEP 虛擬流道操作法[14]，設計一新型光罩如下圖 35，並命名為數位十字進樣法。

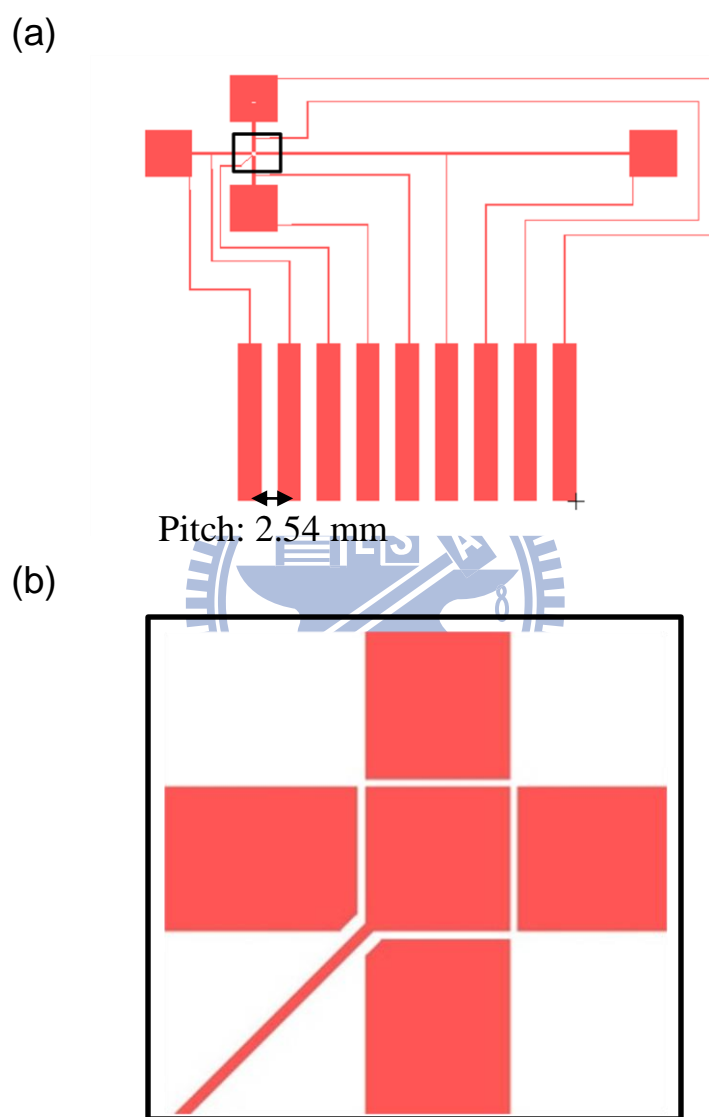


圖 35 數位十字進樣法(a)全觀 (b)十字處放大圖

此一電極設計包含了導線、電極、流道以及儲液槽，而相關規格表列於表 10，此電極設計上採用排列式電極，而電極尺寸上特別根據一般電

子材料中的插槽 (slot)，而這邊採用 26 pin\*2 的插槽，剩下的 pin 腳做為備用，其電極距(Pitch)規格定為 2.54 mm，此一設計乃是為了方便架設連結到由 LabVIEW 程式所控制之對外連結器(DAQ)，也因此這邊特別製作了專用於本晶片的特別接線組，本接線組包含了 26 插槽、杜邦線材以及公轉公排針組，而此線另一端點則接到繼電器電路盤(Relay Board)，此一電路盤一端接向 DAQ，另外一端輸出到插槽線組，具體系統連接表示在圖 37。

表 10 數位十字進樣法電極設計尺寸規格表

項目	尺寸
導線寬	10 $\mu\text{m}$
電極	Pitch: 2.54 mm
導線間隙(Gap)	10 $\mu\text{m}$
流道寬	500 $\mu\text{m}$
主流道長	全長為 3.0 cm
分流道位置	位於主流道左起 4 mm 處
儲液槽大小	5×5 mm

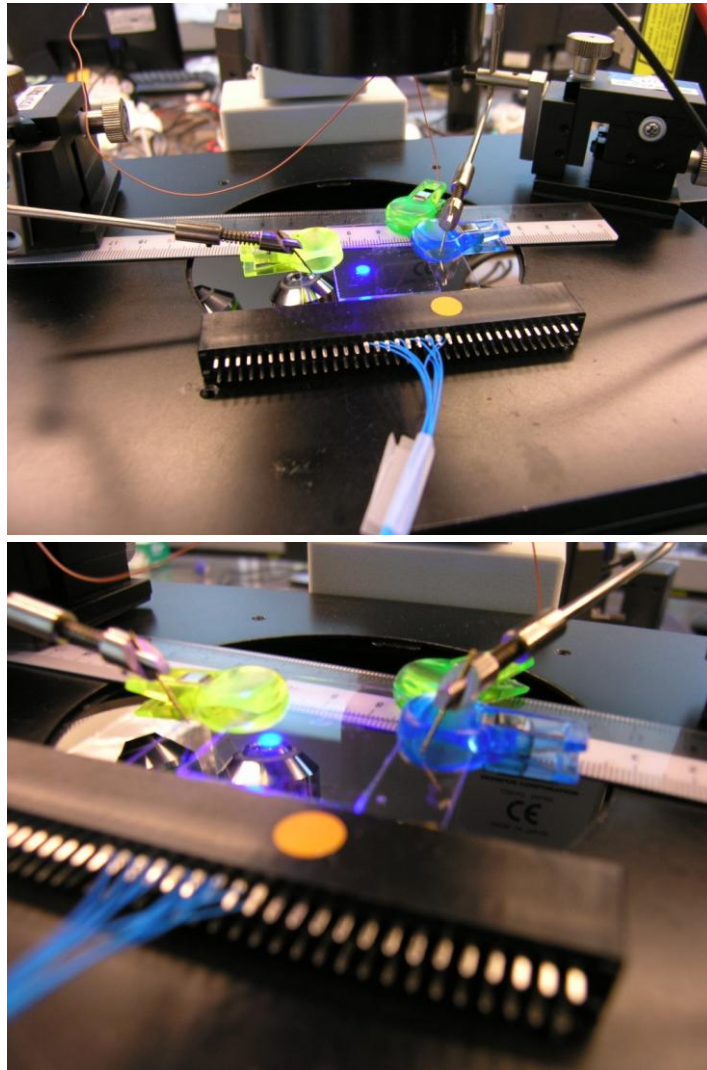


圖 36 插槽式接線組

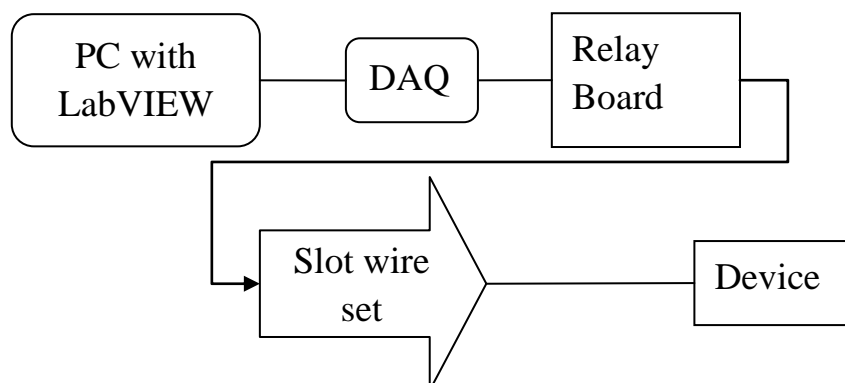


圖 37 控制系統簡圖

前面提到，控制介面為採用虛擬儀控程式 LabVIEW 所編寫之多流道控制器(圖 38)，而本流道控制器，採用布林陣列(Boolean array)去分別控制九個相對應在繼電器板上的繼電器，而這些繼電器則在接受來自 DAQ 傳出之 5 V 電壓後開啟或是關閉，進而調控相對應的電極是否通路，如非通路，則進入電極之電壓將為 0 V，配合上前面所介紹的整套電路設備，則進行實驗將格外順利。

實驗上我們進行進樣系統可行性測試以及實際採用兩種不同電性粒子的進樣分離實驗，前者將使用染色後的去離子水(De-Ion water, DI)做為進樣過程的標的物；後者則是根據前面實驗而進行正式測試，原因在於在螢光顯微鏡下，不易觀測到流道生成過程，因此需要先行了解流道成型過程以確保實驗是正確被執行的。



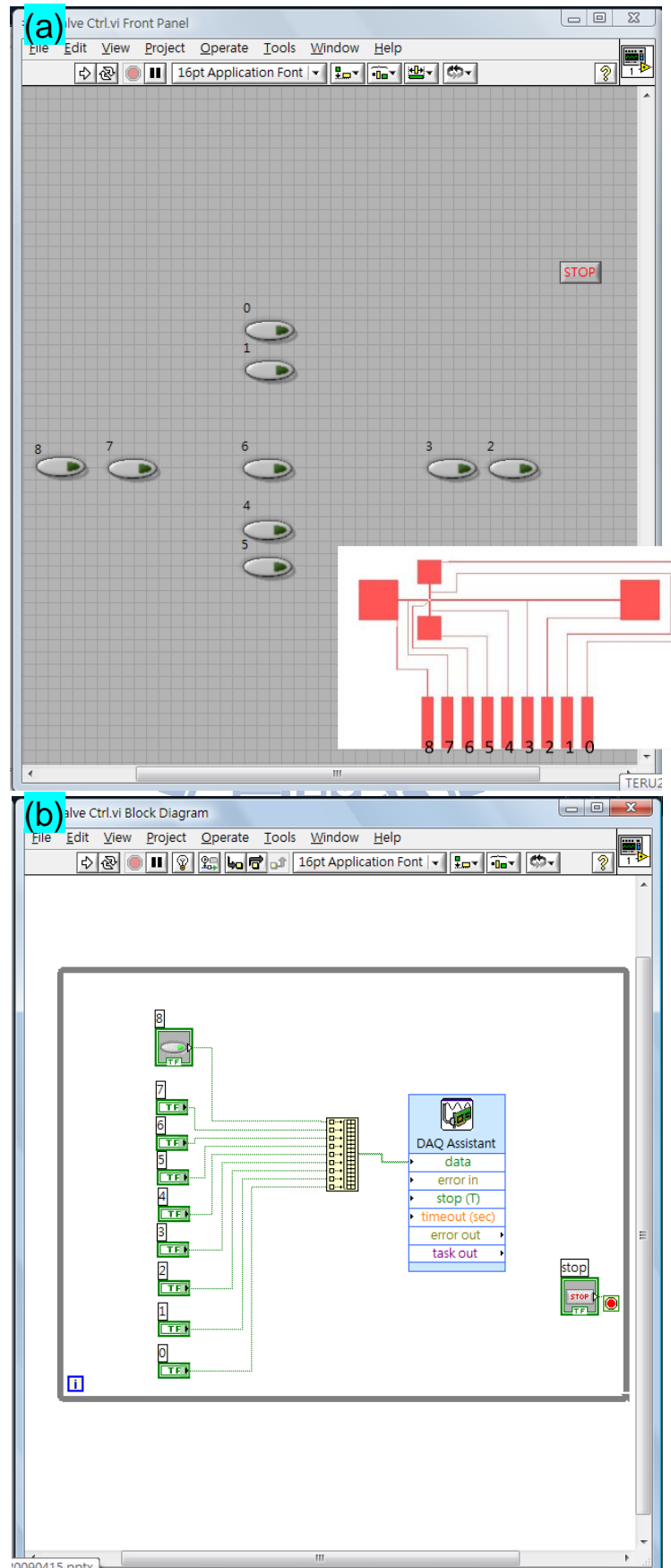


圖 38LabVIEW 程式(a)控制面板，右下角為相對應電極(b)程式內容

首先要測試此一系統的操作特性，以下除了前面使用到的緩衝液以外，另外使用了紅色染劑染色後的 DI water 溶液當作待測物，而在實驗前，先將樣品放入上儲液槽，而緩衝液放入左及右方的儲液槽，此時將上板蓋下，並以雙面膠定義出 25  $\mu\text{m}$  厚的流道高，並以 LabVIEW 程式操作流道之成型，如圖 39 所表示，此為其中一種操作型式，先將三向流道電極開通，使液體進入電極，此時先不打開中間電極，待三向液體完全填充流道後，開啟中間電極，使三流道連結，並致使樣品進入主流道，最後切斷進樣流道即可。

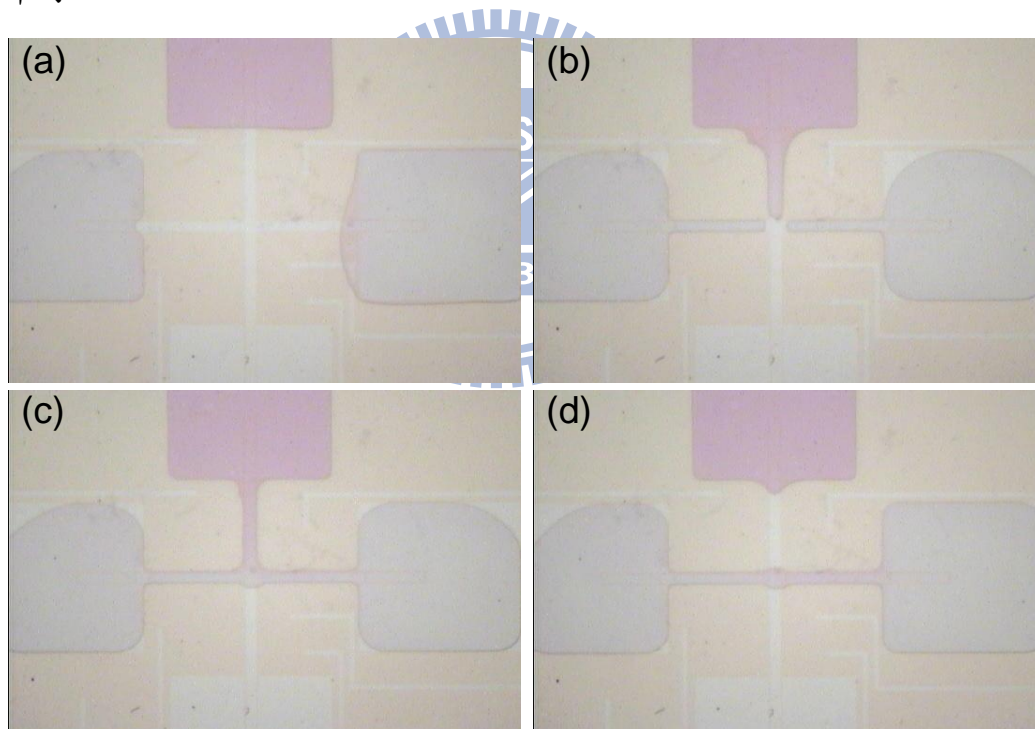
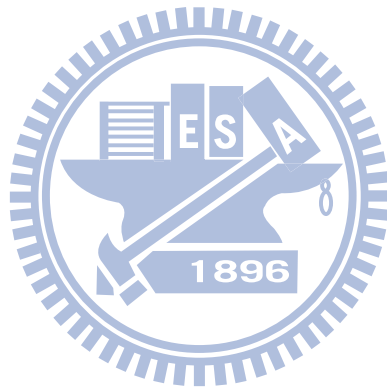


圖 39 數位十字進樣系統測試圖。(a)初始狀態，上端為染紅色之 DI water，左右為 borax 緩衝液(b)開啟左右及上端流道電極，致使液體注入個別流道(c)開啟中間流道，致使三個流道連結，而樣品同時進入(d)進樣完成，關閉進樣流道，使主要流道保持。



由測試結果，我們發現此一進樣型式，是可行的，也有有效的改善先前遭遇到的邊界擴散效果，樣品進入到流道後僅緩慢的做區域擴散，接下來則測試混合兩種不同粒子的待測物，是否同樣可在此一晶片系統上操作，操作手段及過程均相同，所記錄到的結果如圖 40 所示



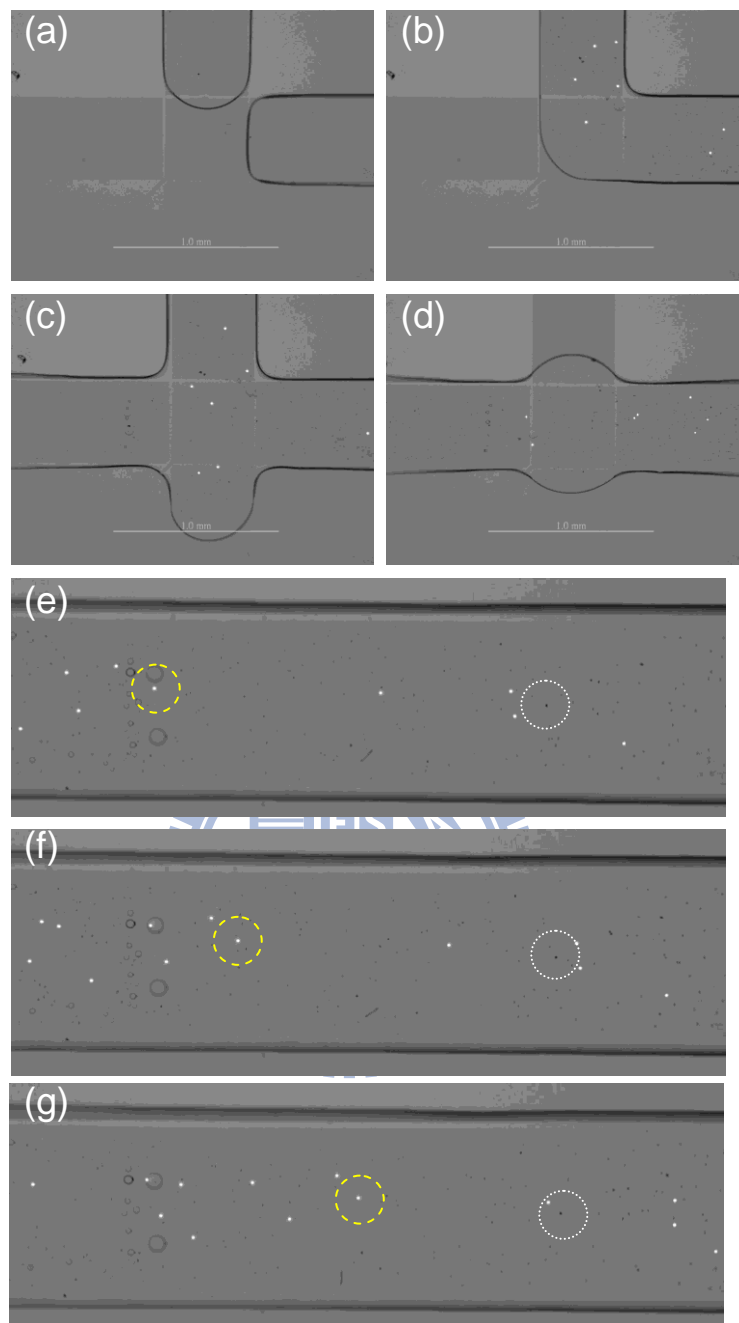


圖 40 數位十字進樣分離法。

(a)-(d)微流道建立集樣本進樣過程，(e)-(g)為主流道中分離情形，黃色長虛線指示出螢光中性電粒子，白色短虛線為紅色帶負電粒子。

根據實驗所得結果，我們可以採用此一多段電極流道，來達成進樣系統整合的目的，同時，根據流道的設計，我們可以分別建立流道，當其中之一的流道電極損壞時，亦可由其他流道代替，而進樣的型式也有多種操作方法，端看流道建立的次序(圖 41)。

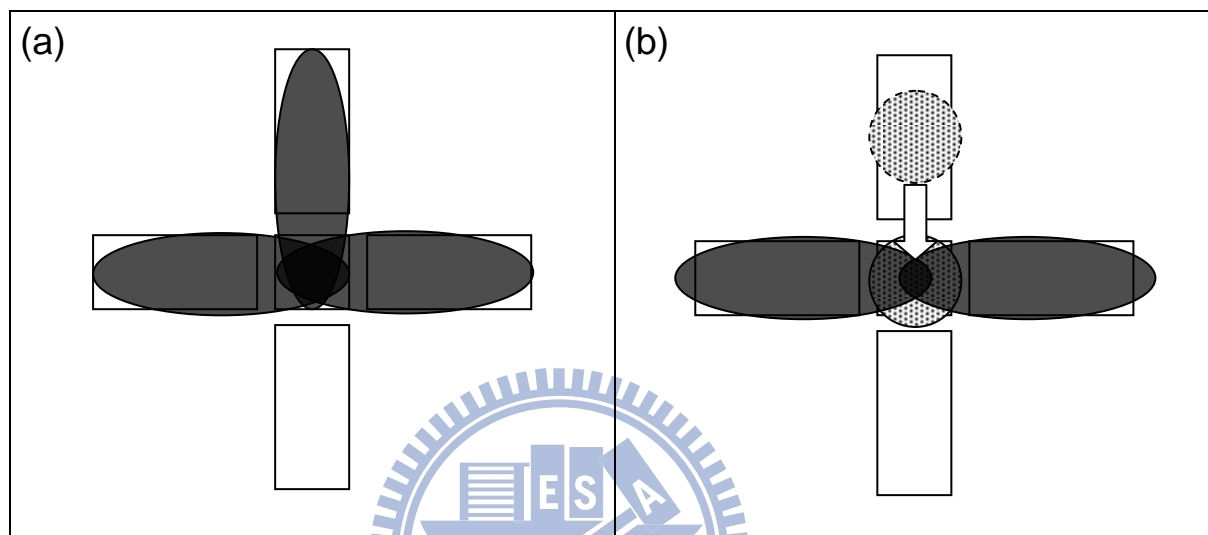


圖 41 數位十字進樣流道進樣方式。

(a)同時在流道中間匯集進樣(b)上端先行進樣至中心電極再建立主流道。

## 4.2 CE 電極系統整合

本章節將對於前述實驗所遇到的 CE 電壓施加問題做一設計及討論，原先未整合的電極，是採用外加探針插入近兩端儲液槽的方式，而此一方式在實驗上會遭遇到的缺點如：操作不易、配線複雜、佔據額外操作空間以及不利於整合式實驗式晶片之發展，由其最後一項因素更是受限於額外插針，進而無法將整體晶片封裝成一可攜帶的原件。

因此在電極整合上討論了數種可能操作型式如：ITO 額外定義之晶片上電極、側向插針、開洞式電極(圖 42)，而這三種方式均實際測試過。

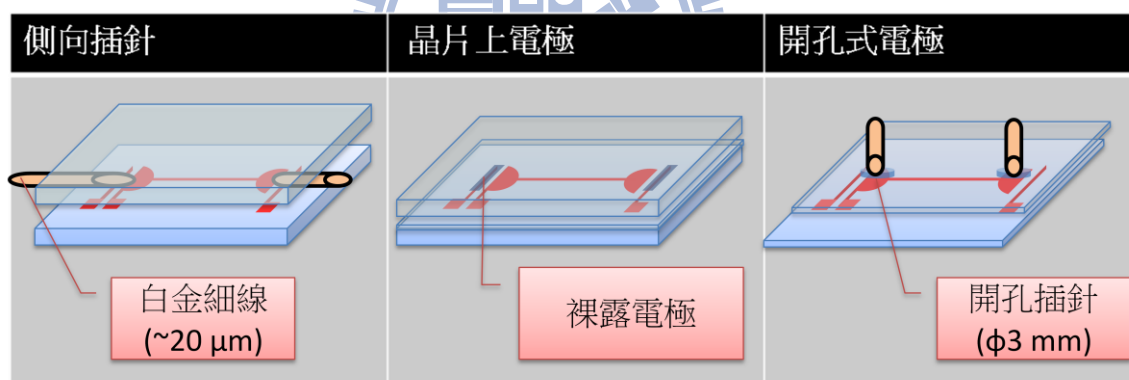


圖 42CE 電極設計

首先在測試側向插針法，一開始採用雙面銅膠帶做為電極插入，然而雙面銅膠厚度約在 50  $\mu\text{m}$ ，遠大於上下兩板間距(25  $\mu\text{m}$ )，因此後來選用白金極細線做為插入探針，此一線材線徑僅 20  $\mu\text{m}$  小於上下板間距，在實際操作上如不而外補強，此細線再用鱷魚夾夾持的時候容易斷裂，因此

需要在額外加工製作附上銅膠帶做為夾持端(圖 43)，而實際上使用，側向插針法會導致兩板間液體沿著插針處所形成的毛細現象而拉出兩板間，造成緩衝液、樣品以及填充矽油外漏，而且線材如不夠水平，則有可能導致上板邊界碰觸後立即短路破壞，使用上並不理想。



圖 43 極細白金線加工

而晶片上電極，在做黃光微影時，額外定義一條電極，之後再去除其表面的介電層及疏水層使電極裸露，進而達到電極整合製晶片的目的是，而此方法在實做上，會遇到樣品並不會停留在儲液電極上，其主因在於裸露的電極相對周遭為親水表面，會使樣品離開儲液電極(圖 44)，導致虛擬流道成形困難，因此，可能要再另外設計別的電極光罩，以改善可用性。

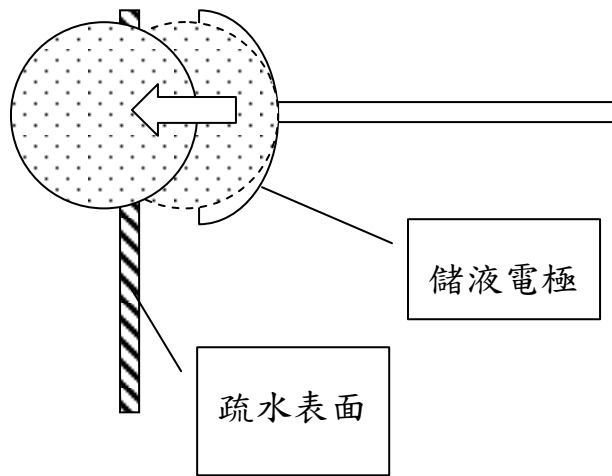


圖 44 液體脫離儲液槽示意

而最後一項電極整合方式，開孔插針，也是基於前面對於介電層改善測試而發展出來，首先在上板位於儲液槽的先利用黃光微影技術移除部分 ITO 電極，在於該處鑽出直徑為 3 mm 的孔洞(圖 45)，這邊特別將部分 ITO 移除是希望介電層能將 ITO 的邊界完整包覆，此一操作是根據前章節對於介電層邊界探討的結果而進一步改善，而此一方試將探針由開孔端置入，有利於改善前兩種方式遭遇到的問題，不過在現階段電極還沒有完全整合進平台，在之後可能可以在上板背面加工電極，以達到電極整合的目的。

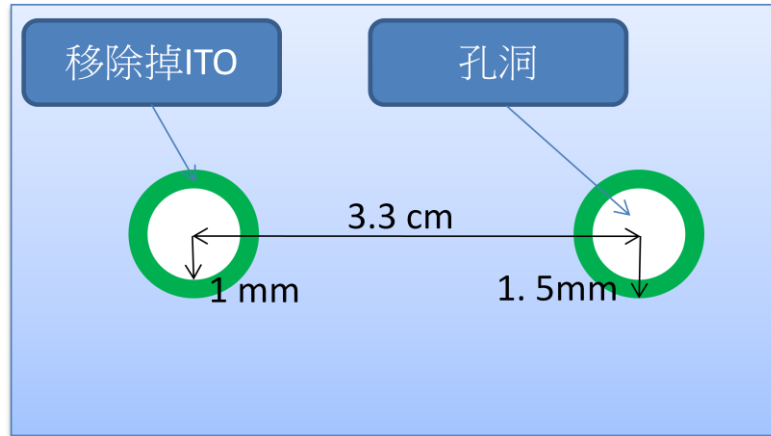


圖 45 上板鑽孔及部分 ITO 移除示意



## 4.3 結果討論

在本章節提出了晶片整合中的兩項系統，其中進樣系統在改善之前遭遇到困難後，得到了現在較為穩定的數位十字進樣系統，而此一系統的開發將有助於我們將分析物用更便利、更乾淨也更一致性的進樣手段，而電極整合方面，在本章也測試了三種整合方式，而其結果表列於下(表 11)：

表 11 電極整合結果比較

方法	結果
側向插針	易導致液體沿電極外洩，並且有可能碰觸到上板邊界導致漏電流而損壞晶片。
晶片上電極	去除表面塗布後的電極具親水性，導致緩衝液被拉離儲液槽，進而導致流道流體供應量不足而中斷。
開孔電極	目前最可行的手法，惟電極尚需將之嵌入至晶片上，可以在之後將電極走線在上板背面。

系統的整合其最終目的是開發出實驗室晶片，而除了本章討論的兩項系統整合，尚有其他需要整合的系統，也將在未來一一嘗試。



## 五、結論

基於以上主要兩部分的實驗，以及相對應的設計及研究，得到的結果將有利於我們改良晶片以及更加了解如何操作此一晶片，我們將在本章對於本晶片開發及改進，下最後的結論，以及對於晶片未來可能改進及應用方向做探討。

### 5.1 總結

在開發出之 CE-LDEP 晶片上，進一步改善其穩定性及進樣系統整合，在研究中討論了各種電性操作的可能性以及遭遇到的困難，也測試出兩種交互電場下，毛細管電泳的行為，而在介電層結構研究上，也成功將同樣電壓下之試片壽命提高，因此，在本研究中，我們得到以下結論：

- 電性量測：

在本晶片的交互電場下，我們做了多種調控電場的試驗，並將得到的結果表列如下(表 12)：

表 12 電性量測結果

操作電場	結果
LDEP electric field(AC)	EOF 流速並無改變，意味著此一操作無法改變試片的 Zeta potential。
LDEP electric field(AC+DC bias)	當直流電偏壓加強的時候，定性觀測到流速提升，此一偏壓有助於提高 Zeta potential。
CE electric field(DC)	測試上吻合 EOF 計算公式，電場強度和 EOF 流速成正比關係，但是當施加電壓提升到 80 V 將會飽和，此一現象應為焦耳加熱影響。

- 介面活性劑濃度影響：

在同樣的 20 Volt CE 電壓下，緩衝液分別添加 5 mM 和 10 mM 的 SDS 得到流速分別為 40  $\mu\text{m/s}$  和 20  $\mu\text{m/s}$ ，造成此一結果和高濃度 SDS 會提高離子強度以及緩衝液黏性有關[15]。

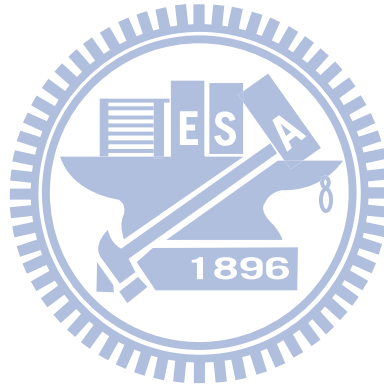
- 進樣系統開發

成功採用數位十字進樣法將進樣系統整合在晶片之上，用此一手

段可以避免樣品的邊界擴散速度過快，而分段電極提供不同的進樣操作型式。

- 介電層穩定性

在研究介電層包覆性，以及 ITO 玻璃邊界結構上，將原本的上板邊界適度的予以導角加工處理，借由此一手段，改進邊界電極包覆性不佳而致使漏電流破壞介電層及電極現象，處理後之試片相較於位處理之試片，在同樣操作電壓下，有更長的操作壽命，由原本小於一分鐘提升至三分鐘。



## 5.2 未來方向

在了解本研究探究之課題後，本品在未來的發展上主要將以以下幾點方向做為努力目標：

- 偵測方法：

現階段採用之檢測法尚有許多缺點，僅以螢光顯微鏡做為偵測手段帶來解析度差、無法定量分析樣品成分和較多來自外在的偵測誤差，因此在未來可以發展，偵測方式的改進，諸如採用電化學檢測法(Electrochemical detection, ECD)、雷射誘發螢光偵測法(Laser-induced fluorescence, LIF)、熱透鏡偵測法(Thermal lens spectroscopy, TLS) 以及質譜儀偵測法(Mass spectroscopy, MS)等，而其中又以電化學檢測法最適合使用在本晶片上，因其可能額外將電極製作在晶片上，甚至也有絲網印刷法(Screen printing)製成的片狀電極，亦有助於晶片微小化整合。

- 取樣系統：

本晶片一大特色在於側向並無實體邊界拘束，也因此在此檢測過程中將分離純化的樣品取出將是可能的一大技術，而在本研究中已將進樣系統整合進入，而後端尚需取樣電極設計，即可達到額外將樣品分離並且個別取出的操作型式。

- 模組整合：

此一晶片亦可往模組化的方向去做改善，模組化後可在前段加入另一 PCR 模組，即可在將檢測物進樣至 PCR 模組放大後再進入本晶片做進一步分析，而本晶片在液體傳輸以及流道建成上，均無實體邊壁拘束，因此如何設計利用此一優勢進行跨平台的整合系統，也是值得發展的一項技術。

- 增加耐用性：

由於本晶片遭遇相當複雜的操作電壓以及相對應的熱效應，因此如何進一步提升晶片的耐用性將會是未來要優先改進的課題，在本研究中首先採用改變邊界結構對於晶片介電破壞的改善方式，但在長遠發展上，使用更穩定的介電材料將是治本的手段，須要考慮到該材料的介電強度、對於高溫的耐受度以及是否方便套用現行製程。

- 適用性開發：

晶片在現階段已採用過不同電性之 Polystyrene 微球以及實驗室自行製作的 DNA 片段和標準 DNA marker，更進一步要研究否可以將此一晶片套用到多樣的分析物上，如全血、血清、蛋白質等，適用於多種分析物，本因是毛細管電泳之優勢，僅需更換相對應的緩衝液即可對不同的分析物做分離檢測，進一步探究晶片對多種類分析物的分離可行性將是未來需要努力的目標之一。

## 參考文獻

- [1] Tiselius, Trans Faraday, “A new apparatus for electrophoretic analysis of colloidal mixtures,” Soc., Vol. 33, pp. 524-531, 1937.
- [2] Schasfoort, R.B.M., Schlautmann, S., Hendrikse, J., & Berg, A. van den.(2000). Field-effect flow control for microfabricated fluidic networks. Science, 1999 (nr: 286), (pp. 942-945). ISSN 0036-8075.
- [3] F. E. P. Mikkers. F. M. Eveeraers and T. P. E. M. Verheggen, J. Chromatogr., Vol. 169, pp. 11-20, 1979.
- [4] J. W. Jorgenson. and K. D. Lukacs.,” Capillary zone Electrophoresis,” Science, Vol. 222, pp. 266-272, 1983.
- [5] S. Terabe, K. Otsuka, K. Ichikawa, A. Tsuchiya and T. Ando, “Electrokinetic separations with micellar solutions and open-tubular capillaries,” Anal. Chem., Vol. 56, pp. 111- 113, 1984.
- [6] A. S. Cohen and B. L. Karger, J.Chromatogr., Vol. 397, pp. 409-417, 1987.
- [7] Y. Yan, R. Dadoo, R. N. Zare, D. J. Rakestraw, D. S. Anex, Anal. Chem., Vol. 68, pp. 2726-2730 , 1996.
- [8] T. B. Jones, “Liquid dielectrophoresis on the microscale”, Journal of Electrostatics, vol. 51-52, pp. 290-299, 2001.
- [9] C.-P. Chiu, W.-J. Chen, and S.-K. Fan, “Enhanced Droplet Mixer by LDEP on Spiral Microelectrodes”, in Digest Tech. Papers IEEE Int. Conf. on Nano/Micro Engineered and Molecular Systems, Bangkok, Thailand, Jan. 2007, pp. 951-954.
- [10] 邵啟煥，”以液介電泳原理開發應用於 DNA 分析之新式毛細管電泳晶片”，國立交通大學機械工程學系碩士論文，民國九十七年。
- [11] C. Werner, U. Konig, A. Augsburg, C. Arnhold, H. Korber, R. Zimmermann, H. J. Jacobasch “Electrokinetic surface characterization of biomedical polymers—a survey”. Colloids Surf A, vol. 159, pp. 519–529, 1999.
- [12] 楊涵評，”可撓式高分子基板應用於數位微流體平台之研究”，國立交通大學機械工程學系博士論文，民國九十六年。

- [13] 魏仁宏，” 整合熱電阻與介電質加熱法於介電濕潤數位微流體平台以實現微液滴同時加熱與操控” ，國立交通大學機械工程學系碩士論文，民國九十六年。
- [14] S.-K. Fan, W.-J. Chen , T.-H. Lin , T.-T. Wang and Y.-C. Lin, "Reconfigurable liquid pumping in electric-field-defined virtual microchannels by dielectrophoresis," Lab-on-a-Chip, Vol. 9, Feb. 2009, pp. 1590–1595.
- [15] Garcia C. D., Dressen B. M., Henderson A., Henry C. S., “Comparison of surfactants for dynamic surface modification of poly(dimethylsiloxane) microchips,” Electrophoresis, Vol. 26, Feb. 2005, pp. 703-709.

