

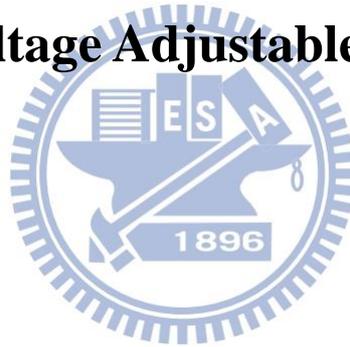
國立交通大學

材料科學與工程學系奈米科技碩士班

碩士論文

臨界電壓可調式延伸閘極電晶體之生醫感測研究

Study of threshold-voltage Adjustable EG-FET as biosensor



研究生：桑崇陞

指導教授：許鈺宗 博士

中華民國一〇二年四月

臨界電壓可調式延伸閘極電晶體之生醫感測研究

Study of threshold-voltage Adjustable EG-FET as biosensor

研究生：桑崇陞

Student：Chung-Sheng Sang

指導教授：許鈺宗 教授

Advisor：Prof. Jeng-Tzong Sheu

國立交通大學

材料科學與工程學系



Submitted to Graduate Program for Nanotechnology

Department of Materials Science and Engineering

College of Engineering

National Chiao Tung University

in partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master

in Nanotechnology

April, 2013

Hsinchu 300, Taiwan, Republic of China

誌謝

時光飛逝，轉眼間兩年多近三年的碩士生涯已要結束，對我這個本來大學本科是純理論的學生，盡入碩士班開始一個需要親手實做、驗證的研究，從化學跨領到材料、電子、生物科技和半導體...，從我的化學背景以及知識來進行研究所所做的實驗，是一場理論和應用的辯證，現在看來就像是一場臨時決定就出發的一場華麗的冒險。很感謝指導教授許鈺宗時時教誨，提供豐富的資源，並且教導我們嚴謹的實驗驗證態度以及有邏輯的分析實驗數據，讓我成為一個獨當一面的研究生。也感謝潘扶民老師在口試時的指導。在研究的期間，感謝陳振嘉學長的教導，雖然沒有相處很長的時間，但是淵博的知識以及真知灼見在實驗上給我很大的幫助，另外在生活上也常常提供不同的看法，讓我有開闊的人生觀。感謝皓恆學長，在實驗上常不吝於教導，就算不是擅長領域也願意陪我一起腦力激盪，也常常陪我在夜深人靜的時候一起實驗，也提供我借宿的地方讓我不用餐風露宿，非常感謝。感謝志偉學長在實驗上的教導，有了他的幫忙，我的實驗常常都能輕鬆上手。也感謝振翔學長以及儒政學長在化學方面的教導讓我受益良多。感謝東育學長在實驗室機台上給予的幫忙。另外我非常感謝實驗室一起努力的夥伴宜澤、華安、珮琳以及宗翰，有你們一起奮鬥、互相切磋、吵鬧的日子，讓我不孤單。感謝上一屆的于聖、承樺、俊良、子瑄以及新怡學長姐們在實驗上的用心教導。另外有了筱淋、婉琪以及嘉哲在實驗上的幫忙以及支持讓我在實驗上能放心全力衝刺，能夠順利完成實驗，謝謝。也非常感謝實驗室所有人在忙碌實驗中舉辦許多出遊、活動，讓我在研究生涯有難忘、溫暖的回憶。感謝新竹的儀婷、省億以及宏農學長的時常邀約。感謝盛琪來自歐洲遙遠的陪伴，讓我不孤獨。感謝皓鈞常約我出去散心。也謝謝台中敬媛的時常關懷。感謝表哥一哲、同學毓閎的經驗分享。感謝在台北所有關心我的大學同學，蘭友會朋友。

最後，這篇論文僅獻給我的家人：爸爸、媽媽、老妹、老哥，如果沒有你們的全力支持做為後盾，不會有這篇論文，非常非常感謝你們。

中華民國一〇二年四月

臨界電壓可調式延伸閘極電晶體之生醫感測研究

研究生：桑崇陞

指導教授：許鈺宗 教授

國立交通大學

材料科學與工程學系奈米科技碩士班

摘要

生醫感測在微量分析物的研究在十幾年來已有長足的發展，無論是光學、電學及其相關領域，其中場效應電晶體(FET)也有廣泛應用。近年來，離子敏場效電晶體以及延伸式閘極場效電晶體也應用於生醫感測的研究，但是一般商業用 FET 在閘極電壓接地時都是處於 off 的狀態以節省電力的耗損，這些元件在用來進行即時(real-time)生醫感測卻是不方便的，因為參考電極不接地去調控電流(I_D)可能會造成量測環境的不穩定，甚至於會出現電化學反應。為了改良量測環境，使用汲極源極控制法(V_{DS} control method)來精準地控制元件臨界電壓(threshold voltage)所在的位置。

我們使用汲極源極控制法(V_{DS} control method)應用於 pH 緩衝溶液的即時量測，同時比較參考電極是否接地以及是否修飾自組裝單分子層(SAM, self-assembled monolayer)對於量測穩定度的比較。實驗的結果看來，使用汲極源極控制法，讓參考電極接地以及表面修飾單分子層改良時漂效應(drift effect)、遲滯效應(hysteresis effect)。為了防止源極以及汲極電壓過大對基板產生漏電以及閘極端的靜電轟擊損壞 FET 元件，加入了一個反向器(inverter)，利用偏移電壓(offset)調控臨界電壓，並用此方法進行 Streptavidin 之即時量測實驗，亦能有對濃度進行分辨，量測極限可達到 42 pM。

關鍵字：臨界電壓、汲極源極控制法(V_{DS} control method)、反向器、pH 緩衝溶液即時量測、鏈梅親和素(Streptavidin)量測。

Study of threshold-voltage Adjustable EG-FET as biosensor

Student: Chung-Sheng Sang

Advisor: Prof. Jeng-Tzong Sheu

Institute of Nanotechnology, Department of Materials Science and Engineering
National Chiao Tung University

ABSTRACT

Recently, real-time measurement in FET biosensor has been studied widely to detect and distinguish analyte in concentration instantly. To avoid unexpected chemical reaction and to provide a reference potential, the reference electrode in solution is kept grounded during experiment. However, under the real-time measurement, the characteristic of commercial FET devices are not suitable due to grounded reference electrode. Besides, the circumstance of device is disrupted by drift effect and hysteresis effect. Drift effect often occurs with construction and reconstruction of electric double layer and hysteresis effect happens with diffusion velocity of different ions in solution and competition of pKa of functional groups (-OH or -NH₂ group) on the sensing chip.

In this study, we investigated two methods, V_{DS} control method and inverter control method to stabilize the circumstance of solution under measurement. We regulated voltage of drain and source and kept gate electrode grounded to adjust the threshold voltage and setpoint. Moreover, inverter control method is designed to source grounded to stabilize FET device. In pH buffer measurement, drift effect and hysteresis effect were improved using V_{DS} control method compared with conventional method. And the results showed that SAM can also stabilize the surface of sensing chip. In streptavidin measurement, concentration of streptavidin can be distinguished by surface potential change, and the limit of detection (LOD) is ~42 pM by using inverter control method.

According to the results of our experiment, we believe that this technique can be applied to the future bio-sensing.

目錄

致謝.....	II
摘要.....	III
ABSTRACT.....	IV
1 Introduction.....	1
1-1 前言.....	1
1-2 場效電晶體(Field-Effect Transistor).....	2
1-2-1 金氧半場效電晶體的操作.....	3
1-2-2 次臨界擺幅(Sub-threshold Swing, SS).....	4
1-2-3 場效電晶體次臨界區域(sub-threshold region)之重要性.....	6
1-3 離子敏場效電晶體(Ionic Sensitive Field-effect-transistor, ISFET).....	7
1-4 延伸式閘極場效電晶體(Extended-Gate Field-Effect-Transistor, EGFET).....	11
1-4-1 表面修飾與延伸式閘極場效電晶體(EGFET)之臨界電壓的關係.....	14
1-4-2 延伸式閘極場效電晶體(EGFET)的優缺點.....	15
1-5 ISFET 和 EGFET 於即時感測所遇到的問題.....	16
1-6 實驗動機和研究目標.....	20
1-6-1 實驗動機.....	20
1-6-2 研究目標.....	20
2 Theory and Device setup.....	21
2-1 金氧半場效電晶體(MOSFET)元件製作.....	21
2-1-1 金氧半場效電晶體元件製程.....	21
2-1-2 金氧半場效電晶體(MOSFET)元件特性.....	25
2-2 源極汲極調控法(V_{DS} control method).....	27
2-3 反向器控制法(inverter control method).....	31
2-4 溶液感測元件材料選擇.....	33
2-5 溶液感測電極面積決定.....	34

2-6	德拜長度(λ_D)的計算以及選擇.....	37
2-7	表面電位變化之換算.....	39
3	Material and Experiment.....	40
3-1	實驗材料及設備.....	40
3-1-1	實驗材料及藥品.....	40
3-2	修飾與實驗架設.....	43
3-2-1	於 ITO 電極上進行表面修飾.....	43
3-2-2	流道及量測裝置架設.....	45
3-3	即時量測流程.....	48
3-3-1	pH 緩衝溶液即時量測(pH buffer solution real-time measurement)	48
3-3-2	Streptavidin 即時量測(Streptavidin real-time measurement).....	51
4	Results and Conclusion.....	52
4-1	實驗結果與討論.....	52
4-1-1	pH 緩衝溶液即時量測結果.....	52
4-1-2	pH 緩衝溶液即時量測結果討論.....	58
4-1-3	Streptavidin 即時量測結果.....	59
4-1-4	Streptavidin 即時量測結果討論.....	62
5	Summary and Future work.....	63
5-1	結論.....	63
5-2	未來展望.....	63
	參考文獻.....	64

圖目錄

圖 1 n-type 場效電晶體之示意圖。`	3
圖 2 矽奈米線場效電晶體生物感測器之感測機制示意。施加於閘極上的電壓會 造成通道電導(conductance)的變化[6].....	8
圖 3 A 為矽奈米線接上 BSA-biotin 和 Streptavidin 之示意圖。B 為修飾 BSA-biotin 的矽奈米線場效電晶體(1)加入 SA 後(2)再以 buffer 沖洗(3)之電性變化。C 為沒有修飾 BSA-biotin 之矽奈米線場效電晶體加入 SA 後的電性變化,可以 看出沒專一性鍵結電流幾乎沒有變化。D 為修飾 BSA-biotin 之矽奈米線場 效電晶體加入 binding site 已被佔滿的 SA 後的電性變化不明顯。E 為顯示此 矽奈米線場效電晶體對 SA 的偵測極限約為 25pM。[6].....	10
圖 4 D. Babic 團隊製作延伸式閘極場效電晶體之元件示意圖。[7].....	11
圖 5 D. Babic 團隊製作延伸式閘極場效電晶體之元件俯視圖。[7].....	12
圖 6 不同的電極對應特定的離子與其離子濃度的電性感測, IrO _x 對應 H ⁺ 離子; AgCl 對應 Cl ⁻ 離子; LaF ₃ 對應 F ⁻ 離子。[7]	13
圖 7 修飾對臨界電壓偏移的影響.....	15
圖 8 遲滯效應之示意圖。	17
圖 9 熊慎幹教授團隊之 EGFET 裝置圖[15]。	18
圖 10 熊慎幹教授團隊使 EGFET 逕行 pH 緩衝液進行量測[15]。	18
圖 11 輕摻雜磷(P)離子, 製作 MOSFET 之通道。	22
圖 12 自我對準汲極和源極。	23
圖 13 定義保護層以及金屬層。	24
圖 14 MOSFET 之光罩設計圖。	24
圖 15 元件的 I _D -V _G 量測圖.....	25

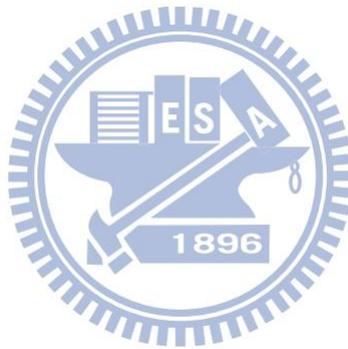
圖 16 元件在 V_D 逐漸增加時之 I_D - V_G 圖	26
圖 17 紅線為原始 FET 之 I_D - V_G 曲線，藍線為調整後 FET 次臨界電壓後的 I_D - V_G 曲線。	27
圖 18 FET 元件的 I_D - V_G 圖，以及其特定電流對應之相對位能圖。	28
圖 19 隨著 V_D 及 V_S 改變所量測出的 I_D - V_G 曲線。	29
圖 20 由圖 19 得出之 V_{th} - V_S 圖	30
圖 21 增加反向器後的 EGFET 示意圖。	32
圖 22 掛載反向器後之 I_D - V_G 曲線。	32
圖 23 改變 DC offset 之 I_D - V_G 圖。	33
圖 24 ITO 接觸面積對 pH-sensitivity 作圖。 [12]	34
圖 25A：PDMS(1)，孔洞直徑 8 mm；B：PDMS(2)，兩個直徑 1.5 mm 孔洞，用於液體注入及導出，一個 3 mm 的孔洞用來固定參考電極；C：兩者結合之圖示。	35
圖 26 不同濃度之 Streptavidin 在修飾 Biotin 之 ITO 晶片上 15 分鐘之螢光圖。	44
圖 27 流道的架設圖。	46
圖 28 ICS 量測圖。	46
圖 29 裝置示意圖。	47
圖 30 左圖為 bare ITO 在 V_G 不接地時的 pH 緩衝溶液即時量測實驗；右圖為 bare ITO 在 V_G 接地，使用 V_{DS} control method 之 pH 緩衝溶液即時量測實驗 ..	52
圖 31 利用圖 30 計算出 bare ITO 之表面電位變化以及其回歸直線。	53
圖 32 由圖 31 計算出 bare ITO 的表面電位殘餘值。	54
圖 33 左圖為 APTES modified ITO 在 V_G 不接地時的 pH 緩衝溶液即時量測實驗；右圖為 APTES modified ITO 在 V_G 接地，使用 V_{DS} control method 之 pH 緩衝溶液即時量測實驗。	55

圖 34 利用圖 33 計算出 APTES modified ITO 之表面電位變化以及其回歸直線。	55
圖 35 由圖 34 計算出 APTES modified ITO 的表面電位殘餘值。	56
圖 36 使用反向器控制法(inverter control method)下以 Bare ITO 以及 APTES modified ITO 進行 pH 緩衝溶液即時量測實驗的結果	57
圖 37 bare ITO 以及 Biotin modified ITO 之 SA real-time measurement。	59
圖 38 將圖 37 的電流變化計算成 ITO 電極之表面電位變化。	60
圖 39 流道中流入不同濃度 SA 之螢光強度。	60
圖 40 SA real-time measurement 之濃度檢量線與 error bar。	61



表目錄

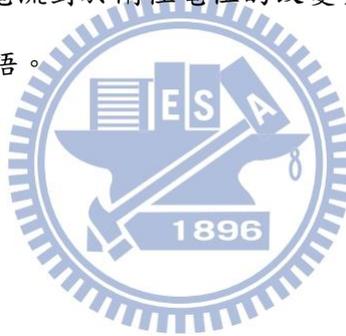
表 一 SiO_2 、 SnO_2 、 $\alpha\text{-WO}_3$ and ITO 在溶液中對 pH-sensitivity 以及 Hysteresis 的比較。[12]	34
表 二 不同稀釋程度之 PBS 所對應之 Debye length。	37
表 三 各種實驗藥品的結構式	41
表 四 三種量測方式對於 ITO 電極修飾與否在 pH 緩衝溶液下的表面電位之改變比較。	58
表 五 SA 濃度與表面電位的變化。	61



1 Introduction

1-1 前言

隨著時代的進步，生物、材料、電子等領域亦蓬勃的發展。單一學門領域的發展的受限往往要求助於其他領域的幫助，於是整合兩種領域以上的新學門如後起之秀般崛起，例如生物化學、材料化學、生醫電子等。當中，結合奈米科技以及生物科技的生醫奈米微機電，將看似無關聯性的半導體元件與生物分子產生了連結：在半導體晶體上透過修飾生物分子技術做為媒介，偵測特定生物分子。以往需要耗費大量檢體才能檢測的分子，藉由元件尺度的微縮化，現在只需要少量檢體即可檢測。此外利用半導體元件在次臨限區(sub-threshold region)時汲極電流對於閘極電位的改變非常敏感，可做到微量感測，對於生醫領域的幫助不可同日而語。



1-2 場效電晶體(Field-Effect Transistor)

一般所稱的場效電晶體所指的是金屬氧化物半導體場效電晶體(Metal-Oxide-Semiconductor Field-Effect Transistor)，簡稱金氧半場效電晶體。結構上是以一個金屬—氧化物—半導體的電容為核心(現在的金氧半場效電晶體多半以多晶矽取代金屬做為閘極材料)。氧化層大多為二氧化矽(SiO_2)，其下是做為基極的矽(Si)，其上則是做為閘極的金屬(或是多晶矽)，這樣的結構可以視為一個平行電容器(capacitor)，氧化層為電容中的介電質(dielectric material)，其電容值由氧化層的厚度與二氧化矽的介電常數(dielectric constant)決定。公式如下：

$$C = \frac{\epsilon A}{d} \quad (1)$$

其中 ϵ 為材料的介電常數；A 為閘極面積(通道長度 \times 通道寬度)；d 為氧化層厚度。

當一個電壓施加在此電容器的兩端，半導體的電荷分不也會隨之改變。考慮一個 n 型的半導體形成的 MOS 電容(電子濃度為 N_A)，一個負偏壓 V_{GB} 施加在閘極與基極端，氧化層表面感應電洞會增加。當 V_{GB} 夠大時，閘極端的電洞濃度會超過電子。因此在這個 n-type 半導體中，電洞濃度超過電子濃度的區域，就是所謂的反轉層(inversion layer)。MOS 電容特性決定了金氧半場效電晶體的操作特性，但是一個完整的金氧半場效電晶體還需要一個提供多數載子(majority carrier)的源極以及接受這些多數載子的汲極。

如圖 1 所示，是一個 n-type 金氧半場效電晶體(簡稱 NMOS)的截面圖。MOS 位於中央，左右兩側則是他的源極與汲極。源極和汲極的特性必須同為 n-type(NMOS)或 p-type(PMOS)。源極與汲極上標示的「 N^+ 」代表此區域為 n-type 雜質的高摻雜濃度區域(heavily doped region)

在這個 NMOS 中，做為通道讓載子通過的是 MOS 電容正下方半導體的表面區域，當正電壓施加在閘極時，電子會被吸附至半導體的表面，形成通道。此時 n 型半導體的多數載子可以經由通道從源極流向汲極。若是給負電壓那麼通道可能無法形成，載子就無法在源極與汲極之間流動。反之，若是 PMOS，情況則相反，給負電壓產生通道，正

電壓則截止通道。

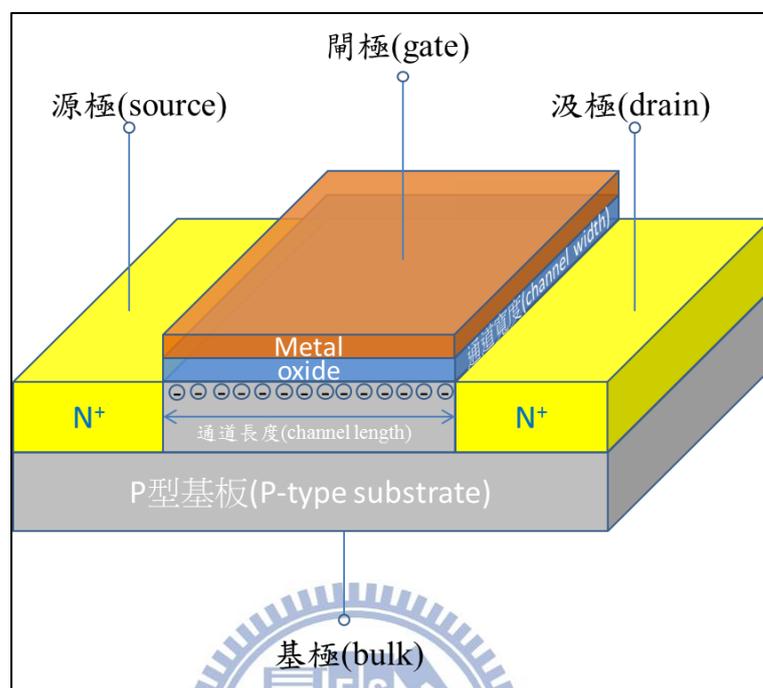


圖 1 n-type 場效電晶體之示意圖。

1-2-1 金氧半場效電晶體的操作

一個常見的加強型(enhancement mode) n-type 金氧半場效電晶體，有下列三種操作區間，其中截止區和線性區的判別是由臨界電壓(threshold voltage, V_{th})決定，公式如下：

$$V_{th} = V_{FB} + 2\psi_{fn} + \frac{\sqrt{2\epsilon_s N_A (2\psi_{fn} - V_{GS})}}{C_{ox}} \quad (2)$$

截止區(次臨界區)(cut-off or sub-threshold region)

當閘極和源極間的之電壓 V_{GS} 小於臨界電壓(threshold voltage, V_{th})時，這個金氧半場效電晶體是處於「截止」(cut-off)的狀態，電流無法通過這個金氧半場效電晶體。在真實的情況下，因為載子的能量遵循玻茲曼分布(Boltzmann distribution)而有所差別。雖然當 $V_{GS} < V_{th}$ 的情況下，金氧半電晶體的通道沒有形成，但仍有具高能量的載

子能從半導體表面流至汲極，因此量測上截止區仍有微小電流的發生。

線性區(三極區)(linear or triode region)

當 $V_{GS} > V_{th}$ 、且 V_{DS} (源極與汲極之偏壓) $< V_{GS} - V_{th}$ ，則此 NMOS 為導通的狀況，也就是半導體的表面通道以然形成。此時 NMOS 的行為類似於一個壓控電阻 (voltage-controlled resistor)，汲極的電流大小(I_D)為：

$$I_D = \mu_n C_{ox} \frac{W}{L} \left((V_{GS} - V_{th}) V_{DS} - \frac{V_{DS}^2}{2} \right) \quad (3)$$

其中， μ_n 是載子遷移率(carrier mobility)、 W 是閘極寬度(gate width)， L 是閘極長度(gate length)，而 C_{ox} 則是閘極氧化層的單位電容大小(unit capacity)。此時 MOSFET 的電流對數-電壓關係在此區為線性關係，因此稱為線性區。

飽和區(saturation region)

當 $V_{GS} > V_{th}$ 、且 $V_{DS} = V_{GS} - V_{th}$ 的情況下，這個金氧半場效電晶體是處於電流導通的情況，但是隨的汲極電壓的增加，超過閘極電壓時，會使的接近汲極的反轉層電荷為零，通道反而消失，此種狀態稱為夾止(pinch off)狀態。此時

$$I_D = \frac{\mu_n C_{ox} W}{2 L} (V_{GS} - V_{th})^2 \quad (4)$$

1-2-2 次臨界擺幅(Sub-threshold Swing, SS)

在元件特性曲線中的次臨界區域(Sub-threshold region)有一個特性為次臨界擺幅 (Sub-threshold Swing, SS)，其定義如下：

$$SS \equiv \left[\frac{\partial(\log I_D)}{\partial V_G} \right]^{-1} \quad (5)$$

在 $\log I_D - V_G$ 圖中，是在圖中的次臨界區域(Sub-threshold region)之斜率倒數。

次臨界擺幅(SS)可以代表元件是否接近理想。在理想情況下，公式可以以下式表示：

$$SS \equiv \ln 10 \left(\frac{kT}{q} \right) \quad (6)$$

其中 k 為波茲曼常數，數值為 $1.3806505 \times 10^{-23} \text{ JK}^{-1}$ ；

T 為絕對溫標下之溫度；

q 為一個電子的帶電量，數值為 $1.602 \times 10^{-19} \text{ C}$ 。

當在室溫下，理想的元件其次臨界擺幅約(SS)為 60 mV/decade ，也就是閘極電壓(V_G)變化 60 mV 時，源汲極電流(V_{DS})會有一個十倍的變化。

當元件是處於不理想的情形下時，例如：閘極氧化層與基板的介面或是閘極氧化層與金屬接觸之介面有缺陷，使得電荷被困在缺陷中，造成閘極電壓無法正常開啟或關閉通道，此時公式(6)變成下式：

$$SS \equiv \ln 10 \left(\frac{kT}{q} \right) \left(\frac{C_{ox} + C_{it}}{C_{ox}} \right) \quad (7)$$

其中 C_{ox} 是閘極氧化層的電容；

C_{it} 是介面缺陷造成的等效電容。

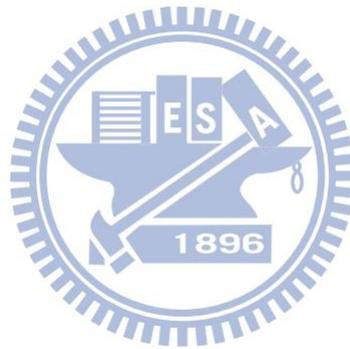
當介面處的缺陷增加時， C_{it} 會上升，於是造成次臨界擺幅(SS)增加。也就是說，要造成電流(V_{DS})十倍的增加或減少就需要更多的閘極電壓改變量(ΔV_G)。因此我們可以用 SS 數值的大小去初估元件的好壞與是否接近理想。

場效電晶體在次臨界區域有如此靈敏的特性，於是就有了場效電晶體在生醫感測領域的應用，例如：離子敏場效電晶體(ISFET)、延伸式閘極場效電晶體(EGFET)。

1-2-3 場效電晶體次臨界區域(sub-threshold region)之重要性

在 ISFET 以及 EGFET 的量測機制中都是利用其 FET 的 I_D-V_G 曲線中的次臨界區域 (Sub-threshold region) 做為感測區域 (sensing region)。然而 I_D-V_G 曲線中的次臨界區域的位置以及範圍由公式(2)可知受到元件離子摻雜濃度(N_A)、氧化層的電容(C_{ox})、flap band voltage(V_{FB})等在製程時被決定，次臨界區域(sub-threshold region)兩邊的就是”on” region 以及”off” region，這兩個區域對於閘極電壓的改變並不靈敏，在感測時並不會使用到那些區域。

因此，如果要進行實驗，必須要選擇次臨界區域的範圍大，次臨界擺幅(SS)要小，量測的工作區域要落在次臨界區域中，量測的靈敏度才會較高。而這些都跟次臨界區域息息相關。



1-3 離子敏場效電晶體(Ionic Sensitive Field-effect-transistor, ISFET)

自從金屬氧化物半導體場效電晶體隨著時代進步、科技的發展，已經被大量應用於半導體領域，以及為此為基礎架構的元件，例如：氣體感測器、光學感測器...等等。而離子敏場效電晶體(ISFET)，亦是其中之一。離子敏場效電晶體的概念首先由 P. Bergveld 於 1970 年的 IEEE 期刊中發表[1]。離子敏場效電晶體(ISFET)的工作原理是將金屬氧化物半導體場效電晶體(MOSFET)的金屬閘極去除，並將之置於待測溶液中，使其閘極氧化層與水溶液接觸，因閘極氧化層表面對水溶液中離子感應到的介面電位改變，以達到感測水溶液離子濃度之目的。

因為離子敏場效電晶體具有離子選擇電極(Ion selective electrode)的功能，也同時具有場效電晶體的特性，因此具有傳統電極沒有的優點[2-5]，例如：

1. 可微小化、有利於進行微量量測。
2. 具有高輸入阻抗與低輸入阻抗，為一良好的阻抗交換器，提高訊雜比。
3. 可以與 MOSFET 製程相容，製作時間可以縮短且大量生產。

離子敏場效電晶體(ISFET)的特點，就是利用身為場效電晶體的特性，其擁有一段 I_{DS} 變化對 V_G 變化非常敏感的 sub-threshold region，在這段區域中微小的 V_G 變化會使 I_D 有指數級數的變化，其變化的程度，是由元件的製程決定，可以由元件的 sub-threshold swing 計算得知。與其他感測器比較，例如螢光感測器，因待測物濃度與螢光訊號強度呈正比，因此離子敏場效電晶體在待測物濃度與訊號強度呈指數正比，表現可說是相當的優異。

於 2001 年美國 Harvard university 的 Charles M. Lieber 團隊發表了一篇 nanowire 場效電晶體應用於生物感測器的期刊[6]。他們利用 Vapor-Liquid-Solid (VLS)方式製備系奈米線，並將其放置於晶片表面之電極上使之形成一場效電晶體，此時 nanowire 便可視為一個場效電晶體中的電流通路，在其表面所接觸之溶液環境和所帶電荷皆會影響其電導。在 nanowire 表面上修飾生物素(biotin)，如果具有專一性的蛋白質(例如：Streptavidin, SA)

通過時，會與原本被修飾在表面的生物素產生鍵結，蛋白質本身所帶之電荷會連帶的影響 nanowire 之電導(conductance)。

而此期刊中矽奈米線場效電晶體亦可當作一種離子敏場效電晶體(ISFET)。Charles M. Lieber 團隊使用的是 P-type 矽奈米線場效電晶體，當矽奈米線場效電晶體表面物質所帶電荷為正時，可視為對元件施加一正電壓，使 P-type 通道之載子空乏，進而造成電晶體的電流以及電導(conductance)下降。反之亦然，若接上物質所帶電荷為負，則可視為對元件施加一負電，造成 P-type 通道載子聚集，進而使矽奈米線場效電晶體電流及電導上升，如圖 2，達到辨識待測物質分子之目的。

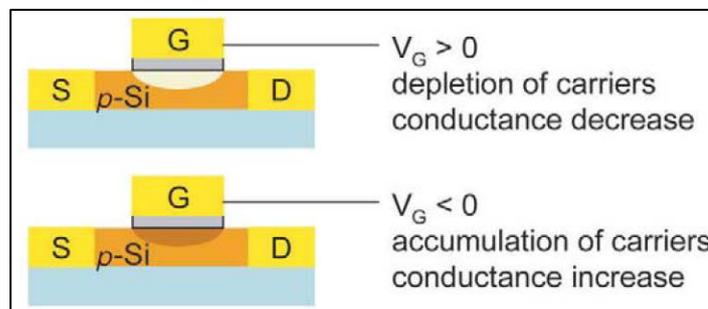


圖 2 矽奈米線場效電晶體生物感測器之感測機制示意。施加於閘極上的電壓會造成通道電導(conductance)的變化[6]

而矽奈米線場效電晶體亦可感測溶液中之離子，例如：做為一個 pH 感測器。溶液中不同 pH 值(不同氫離子濃度)會使矽奈米線場效電晶體表面電荷不同。溶液 $[H^+]$ 越高，則矽奈米線場效電晶體帶正電荷越多，造成電導下降；反之亦然，溶液 $[OH^-]$ 越高，則矽奈米線場效電晶體帶負電荷越多，電導上升，如圖 2。Charles M. Lieber 團隊在矽奈米線上修飾(3-Aminopropyl)trimethoxysilane (APTMS) silane，silane 上的氨基帶的電荷對溶液中 pH 值敏感，因此溶液 pH 值改變會造成矽奈米線場效電晶體的 conductance 跟著改變，因此是一個靈敏的 pH 感測器。

Lieber 團隊的量測結果如圖 3，感測目標為 streptavidin，他們先在矽奈米線上物理吸附 BSA-biotin，再利用 biotin 對 streptavidin 的生物專一性結合，streptavidin 的負電荷造成矽奈米線場效電晶體得 conductance 上升，如圖 3B。圖 3C 為未修飾 BSA-biotin 之矽奈米線，若處於有 streptavidin 之溶液，則 streptavidin 將不會與之形成鍵結，因此由電性的量測圖中不會有明顯的變化。圖 3D 為修飾 BSA-biotin 之矽奈米線場效電晶體處於有 streptavidin 的溶液中，但此 streptavidin 已經跟四倍濃度的 d-biotin 產生鍵結，使得 streptavidin 對 biotin 的 binding site 已經幾乎被佔滿。因此電性結果之有些微的影響，由此可看出修飾後 ISFET 對生物專一性有良好的辨別性。圖 3E 則代表此感測器對 streptavidin 的偵測極限約為 25pM。



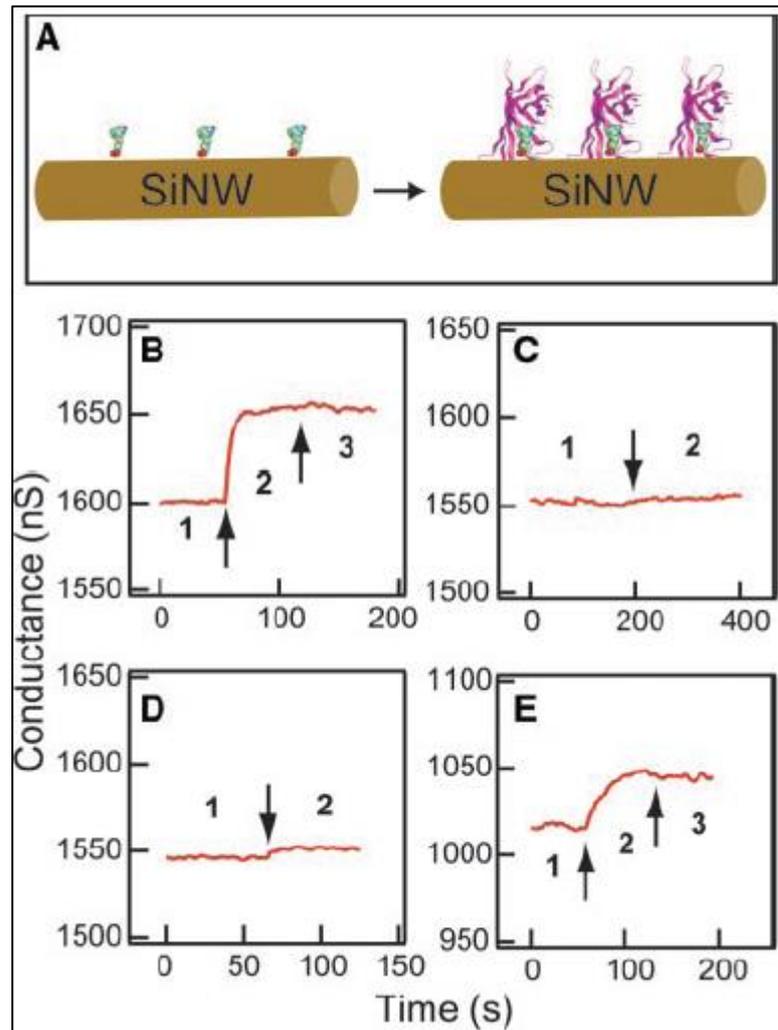


圖 3 A 為矽奈米線接上 BSA-biotin 和 Streptavidin 之示意圖。B 為修飾 BSA-biotin 的矽奈米線場效電晶體(1)加入 SA 後(2)再以 buffer 沖洗(3)之電性變化。C 為沒有修飾 BSA-biotin 之矽奈米線場效電晶體加入 SA 後的電性變化，可以看出沒專一性鍵結電流幾乎沒有變化。D 為修飾 BSA-biotin 之矽奈米線場效電晶體加入 binding site 已被佔滿的 SA 後的電性變化不明顯。E 為顯示此矽奈米線場效電晶體對 SA 的偵測極限約為 25pM。[6]

1-4 延伸式閘極場效電晶體(Extended-Gate Field-Effect-Transistor, EGFET)

延伸式閘極場效電晶體(EGFET)的概念首先被美國賓州大學的 D. Babic 團隊在 1983 年所提出[7]。延伸式閘極場效電晶體(EGFET)的概念是將離子敏場效電晶體(ISFET)的閘極(Gate)用導線延伸出來，連接到外部的一個電極，如圖 4 及圖 5 所示。將整個量測的工作分成兩個部分，由電極感測溶液中離子濃度的變化或是與生物分子的專一性鍵結；而後將其表面電位由導線傳送到場效電晶體(FET)的閘極氧化層表面。當表面電位傳到閘極表面時可視為有一電壓施加在閘極上，影響通道載子的傳輸，進而造成電性、電流的變化。D. Babic 團隊將 FET 的閘極和負責感測的電極 (sensitive layer) 連接，中間的導線使用 guard 保護以防止雜訊干擾。

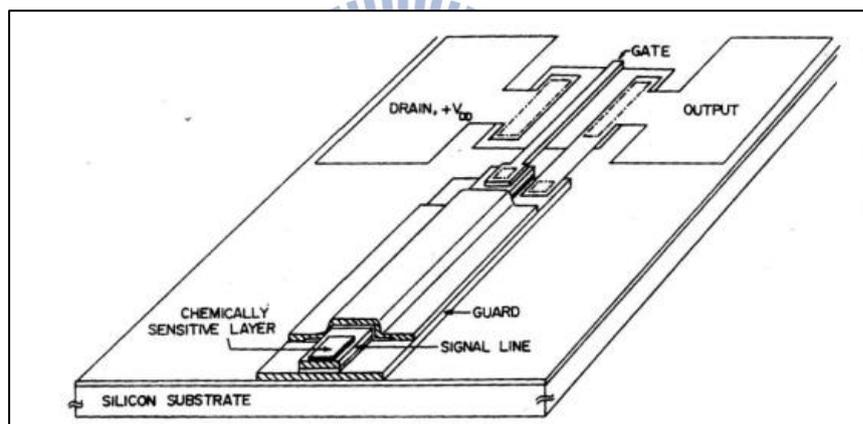


圖 4 D. Babic 團隊製作延伸式閘極場效電晶體之元件示意圖。[7]

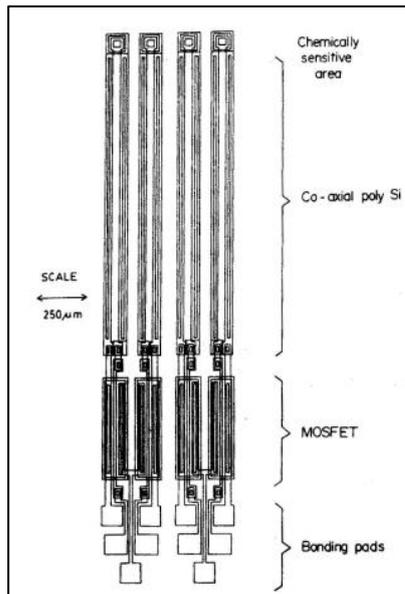


圖 5 D. Babic 團隊製作延伸式閘極場效電晶體之元件俯視圖。[7]

實際做離子溶液的量測時，D. Babic 團隊使用不同特定的電極表面材質來感測不同的離子溶液。使用的電極有 IrO_x 、 AgCl 、以及 LaF_3 ，感測的目標離子為 H^+ 、 Cl^- 、 F^- 離子。由圖 6 顯示，不同的電極對於不同的離子的感測靈敏性。 IrO_x 電極對 H^+ 離子濃度的能斯特響應(Nernstian response)在 pH 值介於 0 到 14 都可以觀察到； AgCl 電極則對 Cl^- 離子濃度大於 10^{-4}M 時有能斯特響應； LaF_3 電極對 $[\text{F}^-]$ 大於 10^{-3}M 時候有能斯特響應。

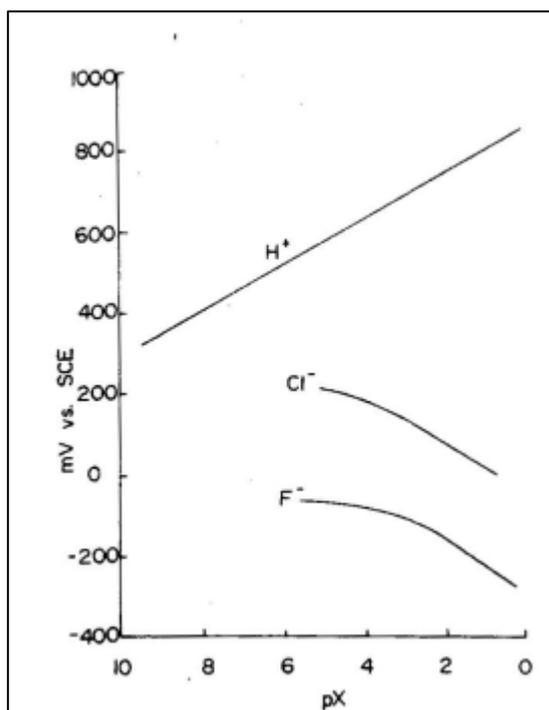


圖 6 不同的電極對應特定的離子與其離子濃度的電性感測， IrO_x 對應 H^+ 離子； AgCl 對應 Cl^- 離子； LaF_3 對應 F^- 離子。[7]

因此，根據想要量測的分析物，可以改變不同的感測電極材料去量測，以達到最大的量測靈敏度是延伸式閘極場效電晶體的優勢之一。

1-4-1 表面修飾與延伸式閘極場效電晶體(EGFET)之臨界電壓的關係

延伸式場效電晶體中臨界電壓的公式除了公式(2)之外，有另一個和溶液和修飾有關的公式如下：

$$V_{th} = E_{ref} + \phi_{ij} - \phi_{eo} + \chi^{sol} - \frac{\phi_{ms}}{q} - \frac{Q_{ox} + Q_{ss} + Q_B}{C_{ox}} + 2\phi_f \quad (8)$$

其中 E_{ref} 為參考電極的電位；

ϕ_{ij} 為參考電極和溶液間的介面電位；

ϕ_{eo} 為(延伸式)閘極和溶液間的介面電位；

χ^{sol} 為閘極表面的偶極矩電位；

ϕ_{ms} 為矽-金屬的功函數；

Q_{ox} 、 Q_{ss} 為氧化層和氧化層-矽間的累積電荷；

Q_B 為矽基材裡的空乏電荷。

其中只有 ϕ_{eo} 是溶液中感測電極上作表面修飾會產生改變的參數，因此在感測電極上面做修飾會造成臨界電壓的改變(V_{th} shift)。由公式可得知，當修飾分子帶正電時，臨界電壓偏移是向負的方向偏移；反之當修飾分子帶負電時，臨界電壓向正的方向偏移。如圖 7。

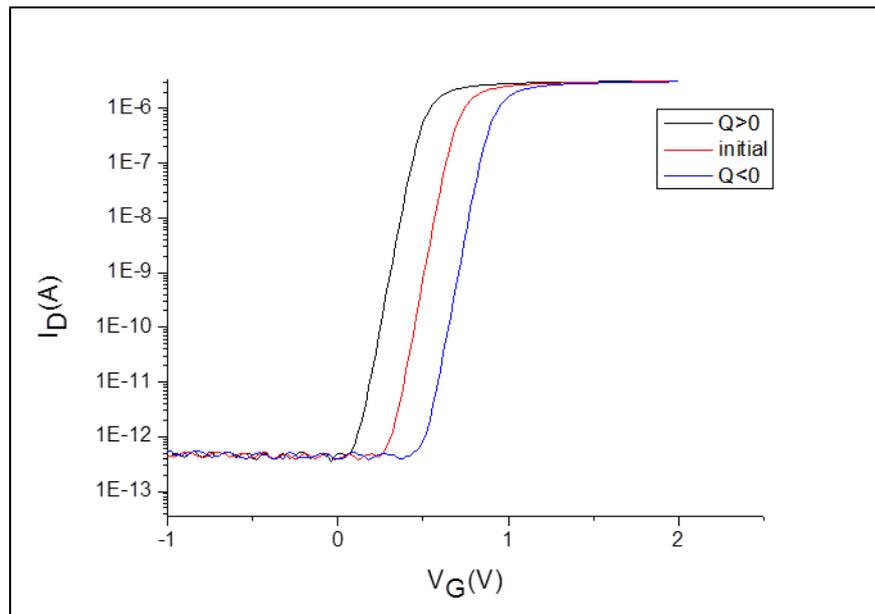


圖 7 修飾對臨界電壓偏移的影響



1-4-2 延伸式閘極場效電晶體(EGFET)的優缺點

延伸式閘極場效電晶體(EGFET)的出現，有一些特點：

1. 電性量測晶片(FET)和溶液感測晶片可以分開製作。若電性量測晶片特性不變，可以重複使用，只更換溶液感測晶片，節省製作的成本。
2. 電性感測元件(FET)的訊號容易受外界雜訊影響，可以將其放入法拉第籠(Faraday cage)中以隔絕靜電感應以及電磁波，留下需待測液體流經的溶液感測晶片在外面，增加量測的靈敏度。
3. 溶液不直接和電性量測晶片(FET)接觸，減少因溶液造成的漏電。
4. 可以根據目標待測物，改變感測電極的材料，以達到最大的對待測物之靈敏度。

但是延伸式閘極場效電晶體也因設計複雜的關係，多了一些需克服的缺點：

1. 因走線的增加造成更多寄生電容(parasitic capacitance)、寄生電阻(parasitic resistance)的產生，也增加了漏電的可能性。
2. 設計複雜，有時可能增加製程成本。

1-5 ISFET 和 EGFET 於即時感測所遇到的問題

由於結構上的關係，溶液感測元件通常存在兩種非理想效應影響其元件之特性如下：

1. 時漂效應(drift effect)

時漂是指在固定的量測環境下，元件之輸出訊號會隨時間漂移。

一般發生的原因是感測元件表面與溶液會形成電雙層(electric double layer)，而電雙層達到平衡之前電訊號會緩慢上升或下降，直到形成完整的電雙層，訊號方趨於穩定。日本的 Maki Shimoda 團隊於 2007 年在 Analytical Sciences 發表了一篇期刊，發現溶液和金電極接觸到形成完整的電雙層需要至少 30 分鐘 [8-10]。

當 EGFET 的溶液感測晶片由一 pH 值之溶液浸入另一 pH 值溶液時，原本穩定的電雙層會遭到破壞，再重新開始形成電雙層，剛開始電訊號會緩慢增加，經過一段長時間後，最後電壓變化可能會超過能斯特響應於 25°C 之 59.16 mV/pH 的理論值。

2. 遲滯效應(hysteresis effect)

遲滯是指當溶液濃度改變後再次改變回原始溶液進行量測時，得到的輸入電位與前一次量測所得知結果不一致，亦稱為記憶效應。其主要原因可視為 pH 響應的延遲。而 pH 響應主要由感測膜電位之響應所造成，並且與溶液成分有關。

因為 H^+ 和 OH^- 離子大小不同， H^+ 離子之擴散速率大於 OH^- 離子，因此會產生不對稱的遲滯效應。於高 pH 值溶液時，因 OH^- 離子為多數離子，其擴散速率較慢，因此遲滯量也較大。如圖 8。 [11-14]

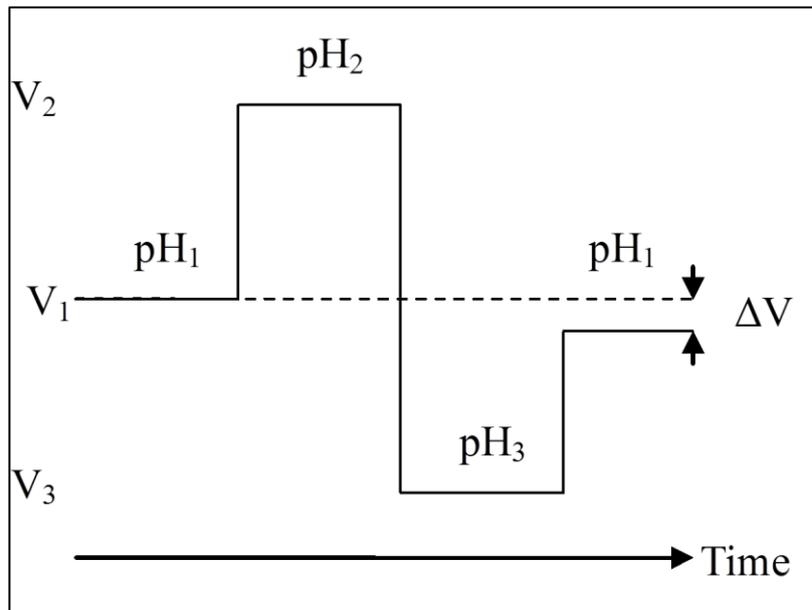


圖 8 遲滯效應之示意圖。



除了感測元件端所遇到的兩種效應，場效電晶體(FET)端也遇到一些問題：

3. 次臨界區域(subthreshold region)的位置

次臨界區域的位置以及範圍由公式(2)可知受到元件離子摻雜濃度(N_A)、氧化層的電容(C_{ox})、flap band voltage(V_{FB})等製程因素決定。因此我們若給特定源極、汲極電壓，次臨界區域就被決定了。在即時量測(real-time measurement)時，量測工作點若不設定在次臨界區域內，ISFET 以及 EGFET 就失去了其靈敏的優勢[18]。

圖 9、圖 10 是中原大學熊慎幹教授團隊於 2000 年的 Material Chemistry Physics 發表的期刊中，利用 EGFET 裝置，使用 SnO_2 作為感測電極量測 pH 緩衝溶液[15]。

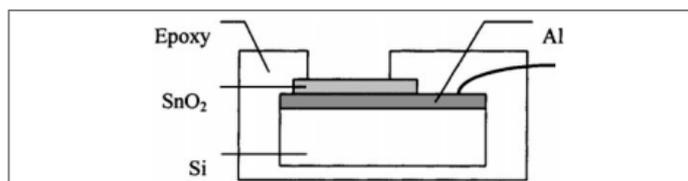


Fig. 1. Cross-section of sensing structure.

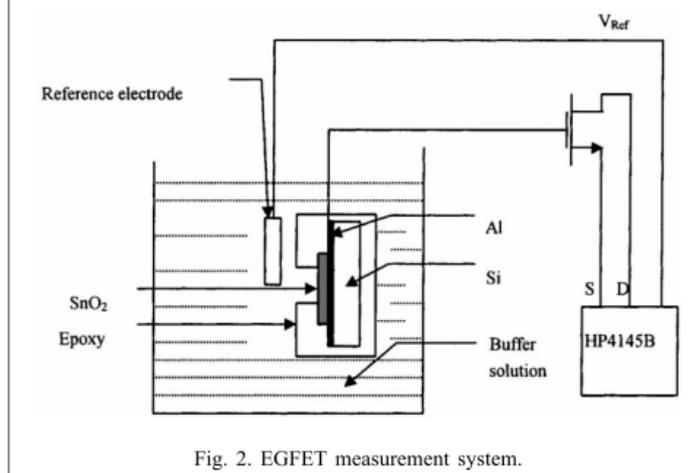


Fig. 2. EGFET measurement system.

圖 9 熊慎幹教授團隊之 EGFET 裝置圖[15]。

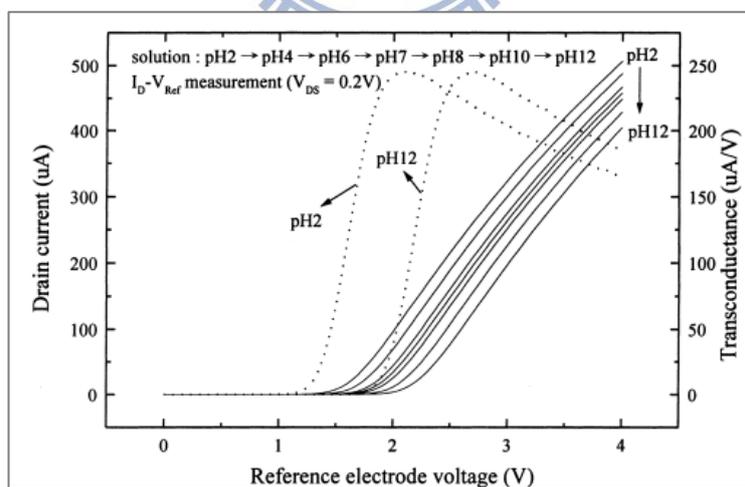
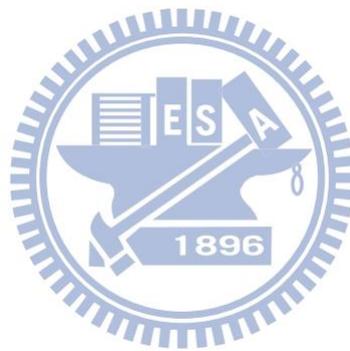


圖 10 熊慎幹教授團隊使 EGFET 逕行 pH 緩衝液進行量測[15]。

圖 10 中 SnO₂ 電極對於 I_D - V_G 曲線的變化量換算出的 pH 緩衝液的靈敏度為 58 mV/pH。但是因為 FET 的特性，其在參考電極電壓為 0 V 時在 off 的範圍，因此這種 FET 直接拿來做即時量測實驗有實際上的困難。



1-6 實驗動機和研究目標

1-6-1 實驗動機

離子敏場效電晶體(ISFET)以及延伸式閘極場效電晶體(EGFET)的研究已經發展了近三十年，雖然它們擁有高靈敏度以及短時間偵測的優點，然而因為實驗環境跟溶液相關，受到來自於溶液的干擾很多，因此仍然有許多問題需要解決，例如：時漂效應、遲滯效應...等。去一一釐清問題並解決它們需要花費許多時間。尤其對於即時量測而言，等待溶液在感測電極表面重新建立雙層膜 (electric double layer)，要等電訊號穩定，不再隨時間漂移需要等待 30 分鐘以上 [8-10]，對於實驗就麻煩許多；此外 FET 元件因其次臨界區域的位置，並非都適合進行即時量測。為了解決這些問題，我們研究在量測時參考電極是否接地以及是否進行表面修飾對於量測穩定度的影響，以及研究如何調動 FET 的 I_D-V_G 曲線，使 EGFET 裝置適合進行即時量測實驗



1-6-2 研究目標

本實驗分為兩大部分，將延伸式閘極場效電晶體(EGFET)分成兩個部分：感測電極晶片以及電性量測晶片(MOSFET)。首先我們要先設計出一個可以簡單且準確能調動 MOSFET 的 I_D-V_G 曲線且不會對元件造成永久性的傷害的方法，例如閘極漏電、次臨界擺幅變大...等。除了確定可以自由控制元件 I_D-V_G 曲線的方法外，也進行感測電極晶片以及流道的設計。之後將流道、感測電極以及電性量測電極結合，進行 pH 緩衝溶液即時量測，觀察電流變化量以及其穩定度，希望利用其方法可以有效改善量測穩定度。

此外也使用 EGFET 裝置系統進行 Biotin-Streptavidin 即時量測，希望變化量對 Streptavidin 濃度有辨識能力。

2 Theory and Device setup

2-1 金氧半場效電晶體(MOSFET)元件製作

本實驗所選用的是 silicon on insulator(SOI)，晶向(100)之晶片。而 SOI 晶片為 60 nm 的矽在 200 nm 二氧化矽絕緣層之上。在 SOI wafer 上再進行微影、離子佈植、蝕刻和薄膜製程定義出金氧半場效電晶體(MOSFET)元件。

2-1-1 金氧半場效電晶體元件製程

(1) 成長氧化層

利用 LPCVD 成長 10 nm 之矽氧化層，保護離子佈植(ion implantation)時表面不被破壞。

(2) 離子佈植

利用電子束微影定義出離子佈植區，以劑量為 $3 \times 10^{11} \text{ cm}^{-2}$ ，輕摻雜磷(P)離子，目標是把矽的電阻從 2~3 M Ω ，改變到 200~250 \pm 15% K Ω ，成為 MOSFET 的通道。如圖 11 所示。



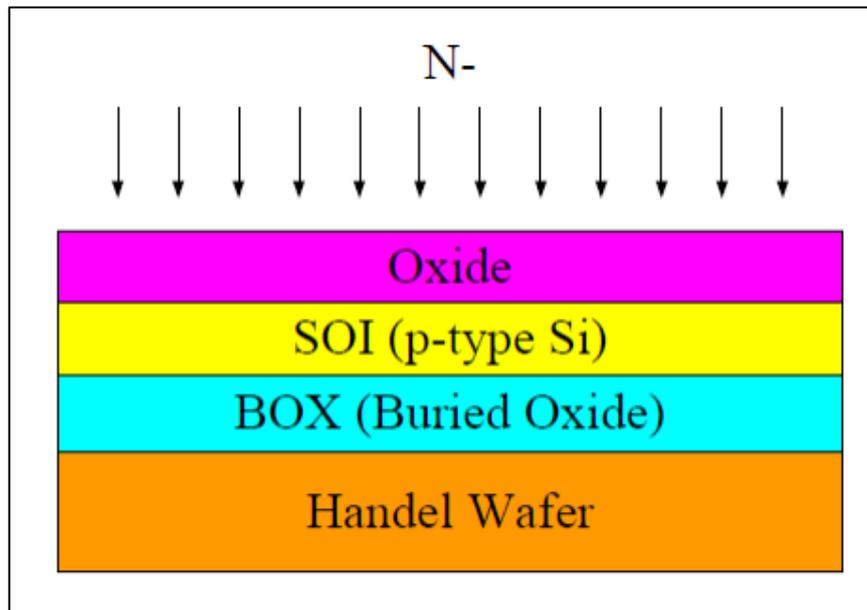


圖 11 輕摻雜磷(P)離子，製作 MOSFET 之通道。



(3) Poly etch

將非離子佈局區的 poly-Si 區蝕刻掉，留下低摻雜離子佈植的定義區。

(4) Self-Align N+ implantation

成長一層保護矽，塗佈光阻，利用微影技術定義出保護層(passivation layer)，此保護層可以讓接下來的源極(source)和汲極(drain)之 N+重摻雜(能量為 25 KeV，劑量為 $3 \times 10^{15} \text{ cm}^{-2}$)自我對準。摻雜完成後去除光阻。如圖 12 所示。

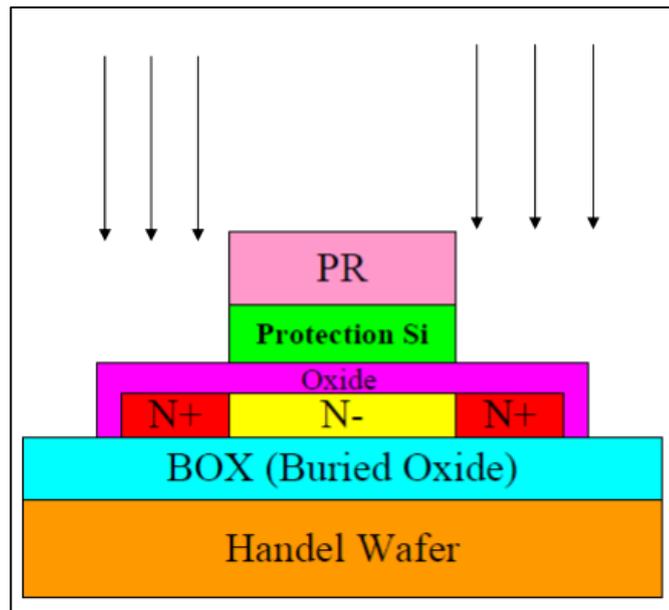


圖 12 自我對準汲極和源極。

(5) 定義保護層、多晶矽閘極、以及金屬接觸

沉積 7 nm 的 doped N^+ poly-Si，定義寬度 $2\ \mu\text{m}$ 的寬度。沉積 TEOS 300 nm 當保護層。用光阻定義金屬接觸，然後使用 TEL 5000 進行乾式蝕刻。最後沉積 400 nm 的 Al 金屬接觸，如圖 13。

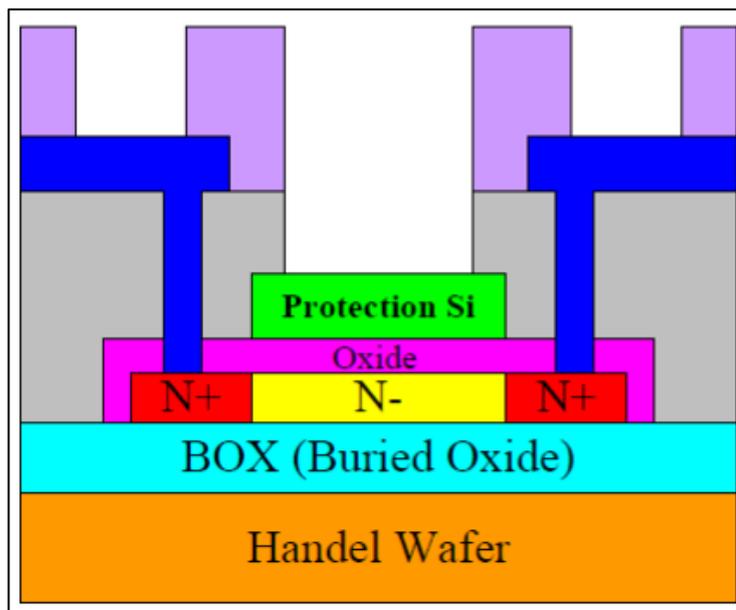


圖 13 定義保護層以及金屬層。

圖 14 為元件的光罩設計圖檔，我們使用 autoCAD 進行光罩設計。一片 chip 上有上下個四個 die，左右各 5 個 die，總計共 18 個 die。其中所有的 die 共用一個 common source 以及一個 substrate。每個 die 當中 gate length 為 $2\ \mu\text{m}$ ，channel length 為 5 根 500nm 之 nanowire。

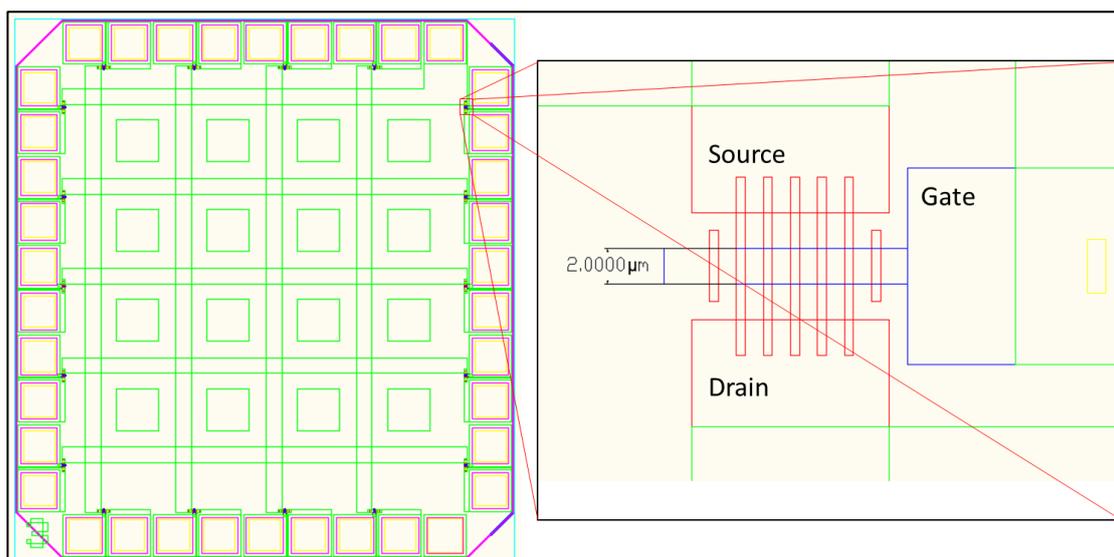


圖 14 MOSFET 之光罩設計圖。

2-1-2 金氧半場效電晶體(MOSFET)元件特性

電性量測實驗是使用 Agilent-4156 經由 probe station 進行下針量測。圖 15 為元件的 I_D - V_G 電性曲線， V_{DS} 為 0.1 V ($V_D = 0.1$ V, $V_S = 0$ V)， V_G 為 sweep 從 -1 V 掃至 1 V。元件的 V_{th} 在約為 -0.6 V 處，on/off current 在 8 個 order 左右，次臨界擺幅(Sub-threshold Swing)約為 61 mV/decade。

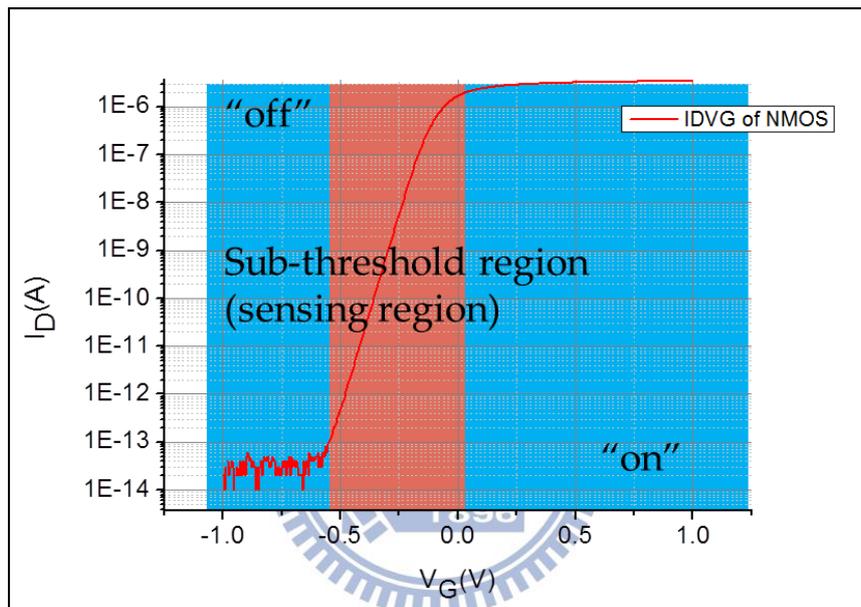


圖 15 元件的 I_D - V_G 量測圖

由公式(2)可得知，當 $V_{DS} \ll (V_G - V_{th})$ 時，公式可以簡化為下式...：

$$I_D = \mu_n C_{ox} \frac{W}{L} (V_{GS} - V_{th}) V_{DS} \quad (9)$$

在公式(6)中，操作在飽和區時元件的 μ_n 、 C_{ox} 、 W 、 L 受元件的影響，在此為常數，而 V_{GS} 以及 V_{th} 都不變因操作條件而不變，此時 I_{DS} 就可和 V_{DS} 成正比，由圖 16 可知，

隨 V_{DS} 提高，量測靈敏的 subthreshold region 範圍也呈等比例增加，此時公式符合量測的趨勢。

$$V_{D,sat} = V_{GS} - V_{th} \quad (10)$$

在公式(7)中，當 V_{DS} 等於 $(V_G - V_{th})$ 時(例如：在飽和區時 V_G 為 0.5 V， V_{th} 約為 -0.5 V， $(V_G - V_{th})$ 為 1 V)在此時若 V_D 大於 1 V 時，元件內的通道開始呈現夾止現象(pinch-off condition)，公式(2)即不能簡化成式(6)，而簡化成公式(4)， I_D 和 V_{DS} 不再呈正比關係，此時 subthreshold region 的增加會變成和 V_G 成正比。

圖 16 是元件在 V_D 逐漸增加之 I_D - V_G 圖，由圖可知：在 V_{DS} 提高時，量測靈敏的 subthreshold region 範圍也會較大。在圖中，若 V_{DS} 太大(如大於 1 V 時)，則會造成 GIDL (Gate-induced drain leakage)的發生；此外，如上段所描述， V_{DS} 過大時 sub-threshold region 的增加也會減緩。反之，若 V_{DS} 太小，可利用於即時量測之 subthreshold region 太小，將不利於量測；於是我們選用 $V_S = 0$ V， $V_D = 100$ mV($V_{DS} = 100$ mV)之中間值，以得到最佳的操作條件。

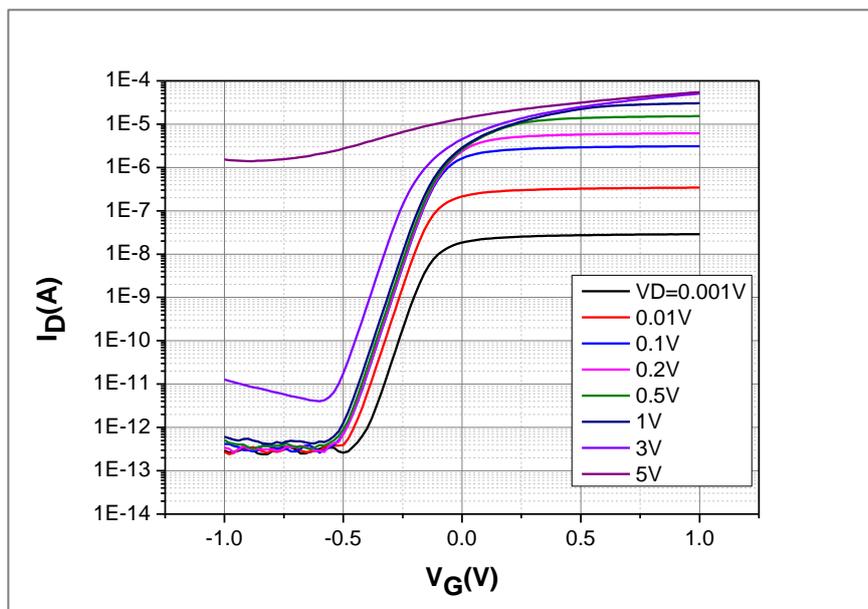


圖 16 元件在 V_D 逐漸增加時之 I_D - V_G 圖

2-2 源極汲極調控法(V_{DS} control method)

在第一章有提到，一般 commercial FET 特性大多在 $V_G = 0$ V 時都是 off 的狀態，在延伸式閘極場效電晶體這個系統裡進行即時量測(real-time measurement)時，若參考電極給的電壓(V_{ref})給予接地時，電流將是元件的漏電流，在這個條件下元件是無法用來進行量測的。因此，若要調整汲極電流(I_D)到我們可以量測的 subthreshold region 強制參考電極，有兩種方法：1. 改變參考電極電壓(V_{ref})，調整汲極電流(I_D)至工作點(setpoint)；2. 維持參考電極電壓(V_{ref})接地，調整次臨界電壓(subthreshold region)，控制汲極電流(I_D)在工作點(setpoint)。如圖 17。

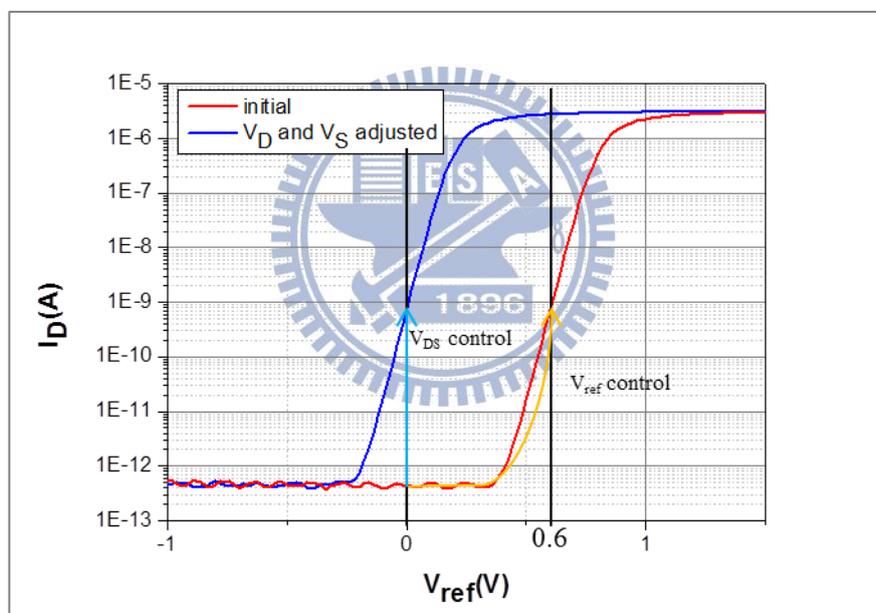


圖 17 紅線為原始 FET 之 I_D - V_G 曲線，藍線為調整後 FET 次臨界電壓後的 I_D - V_G 曲線。

圖 17 中，我們想要將電流(I_D)調整至 setpoint(例如， 10^{-9} A)。黃色箭號是方法一，直接調整參考電極電壓(V_{ref} control)，這個方法非常直觀且簡單，但是缺點是參考電極電壓將遠離 0 V，可能造成溶液中離子狀態的不平衡，甚至可能因為參考電極和 ITO 電極間過大的電壓差造成電化學反應。而淺藍色箭號是第二種方法，這個方式不改變參考電極電

壓($V_{ref} = 0\text{ V}$)，藉由改變 V_D 以及 V_S 之大小進而位移元件的 I_D - V_G 曲線使之在 V_{ref} 為 0 時與工作點重合。這個方法就稱之為源極汲極控制法(V_{DS} control method)。

這個方法也非常直觀，圖 18 中是我們在章節 2-1 所製作出的 FET 所量測出的 I_D - V_G 圖以及其相對位能圖，其中紅色為 $V_D = 0.1\text{ V}$ ， $V_S = 0$ 時的 I_D - V_G 曲線，此時 V_G 接地時的電流(I_D)已經接近 saturation region，此時其相對位能圖可以在圖 18A 中。如果我們想要降低電流，那麼我們可以利用方法一直接降低閘極電壓(例如，降至 -0.3 V)，使其相對位能上升，電流下降至我們需要的工作點，如圖 18B。

我們也可以利用方法二(V_{DS} control method)，維持 V_G 接地，同時升高源極以及汲極電壓($V_D = 0.4\text{ V}$ ， $V_S = 0.3\text{ V}$)，以降低其相對位能，得到相同的相對能位圖，此時我們也能得到相同的工作點電流。

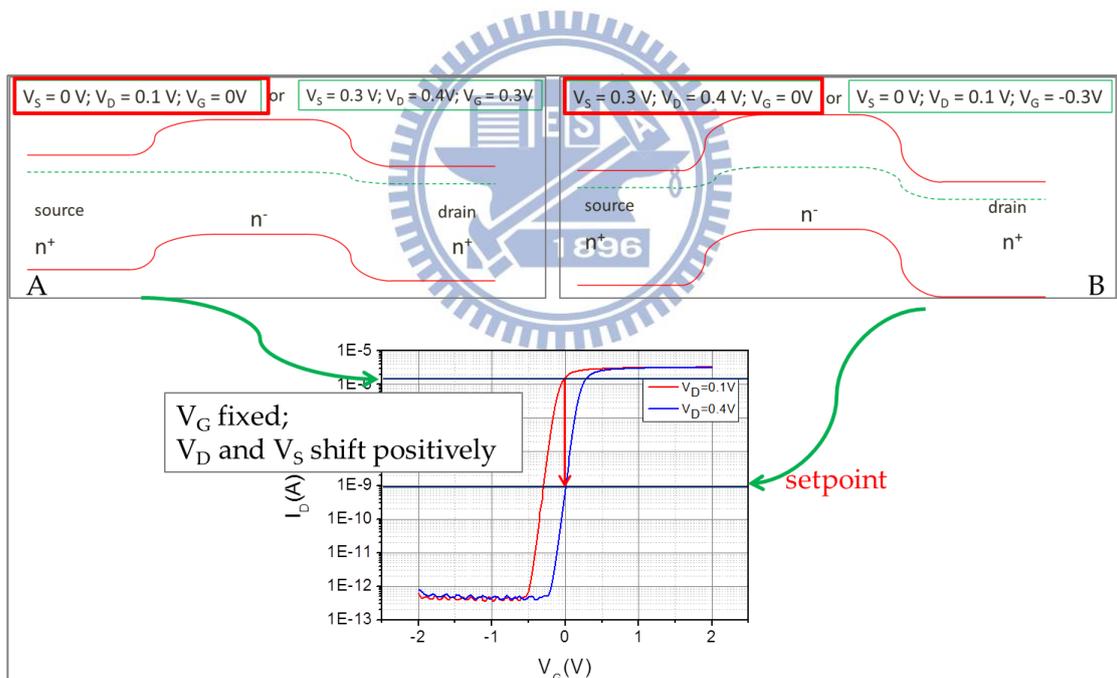


圖 18 FET 元件的 I_D - V_G 圖，以及其特定電流對應之相對位能圖。

在圖 18 中元件 I_D - V_G 圖可以看到，紅線與藍線的次臨界擺幅(SS)都是 61 mV/decade ，on/off ratio 也相同。經過計算後兩 I_D - V_G 曲線的 threshold voltage 相差 300 mV ，表示因為

V_D 以及 V_S 都上升 300 mV。由相對位能圖也可以解釋：若 V_D 和 V_S 同時上升 300 mV，則 V_G 也要升高 300 mV 以得到相同的相對位能(相同的汲極電流(I_D))。

於是我們也同時改變不同的 V_D 以及 V_S (V_{DS} 仍然為 100 mV)，獲得 I_D - V_G 曲線如圖 19。圖中是以 V_D 以及 V_S 同時每增加 100 mV，繪出之 I_D - V_G 曲線，並且由圖中可得知隨著汲極電壓(V_D)和源極電壓(V_S)越大， I_D - V_G 曲線有向正向偏移之趨勢。

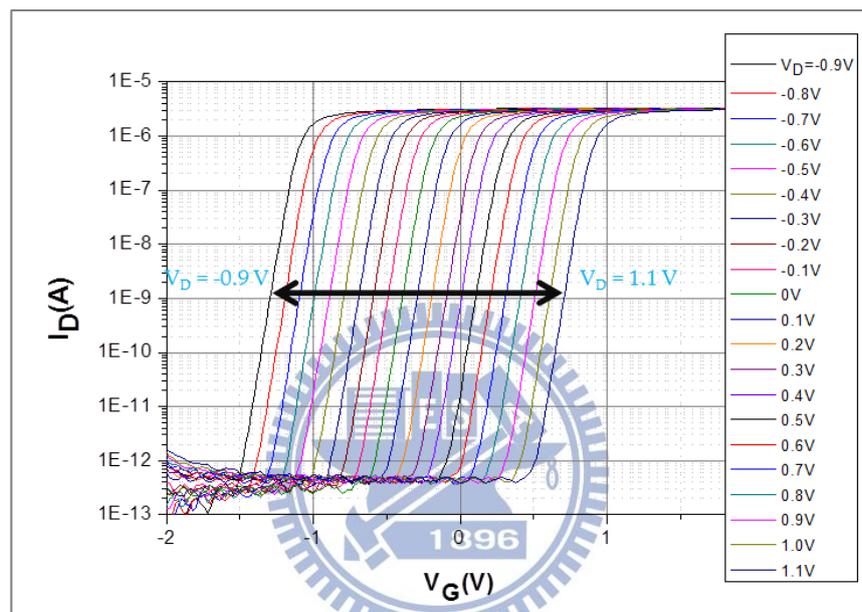


圖 19 隨著 V_D 及 V_S 改變所量測出的 I_D - V_G 曲線。

圖 20 是由圖 19 的 I_D - V_G 圖計算出 threshold voltage(V_{th})，並以 V_{th} 對 V_S 做圖。可以從 V_{th} - V_S 圖之斜率看出， V_{th} 和 V_S 成正比且 R^2 為 0.9999。換句話說 V_S (以及 V_D)若上升或下降 100 mV，則整條 I_D - V_G 曲線會同時向負或向正位移 100 mV。我們可以利用 V_{DS} control method 精確地調整曲線到我們想要的位置。這個方法我們將會在下一章的進行量測的應用。

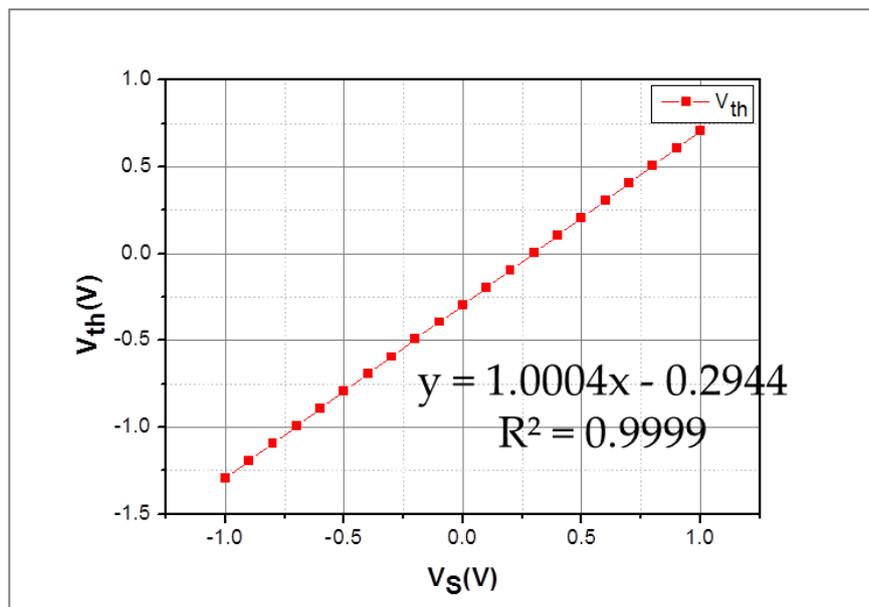


圖 20 由圖 19 得出之 V_{th} - V_S 圖



2-3 反向器控制法(inverter control method)

反向器控制法(inverter control method)也是相當直觀的看法，我們將一個 unit-gain amplifier 加入在感測電極和 FET 元件的閘極之間，利用接法可將之視為一個反向器 (inverter)，如圖 21 所示。反向器的好處是可以防止來自外界對於 FET 元件閘極的靜電轟擊(electrostatic attack)，此外我們讓汲極電壓(V_D)維持在 0.1 V，源極電壓(V_S)維持接地，以保持 FET 元件本身的穩定(汲極與源極和基板若有太大的壓差，會增加汲極、源極對基板的漏電)。此外我們利用控制反向器上 DC offset 來調整臨界電壓的位置，掛載反向器之後的 I_D - V_G 曲線如圖 22，由圖可知反向之後的(DC offset = 0 V) I_D - V_G 曲線和原始 NMOS 之 I_D - V_G 曲線在 $V_G = 0$ V 時，成一個鏡像的相反，次臨界區域以及次臨界擺幅都沒有變差。更改 DC offset 的電壓的 I_D - V_G 曲線如圖 23 所示，圖中顯示我們可以精確的利用 DC offset 去控制 I_D - V_G 的位置，這個量測裝置會在下一章節的實驗中使用。



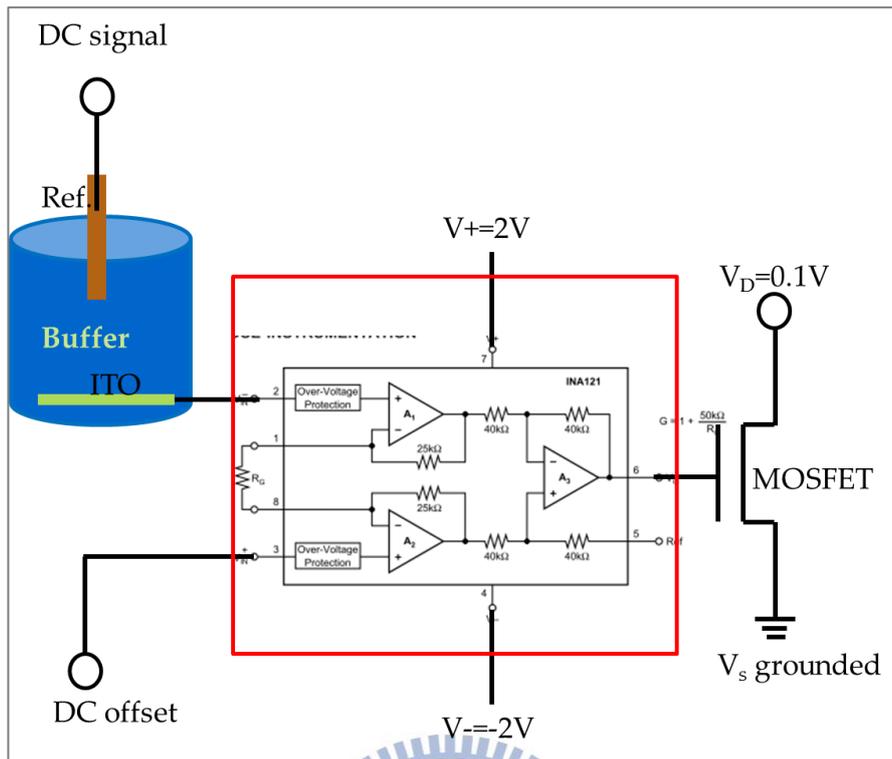


圖 21 增加反向器後的 EGFET 示意圖。

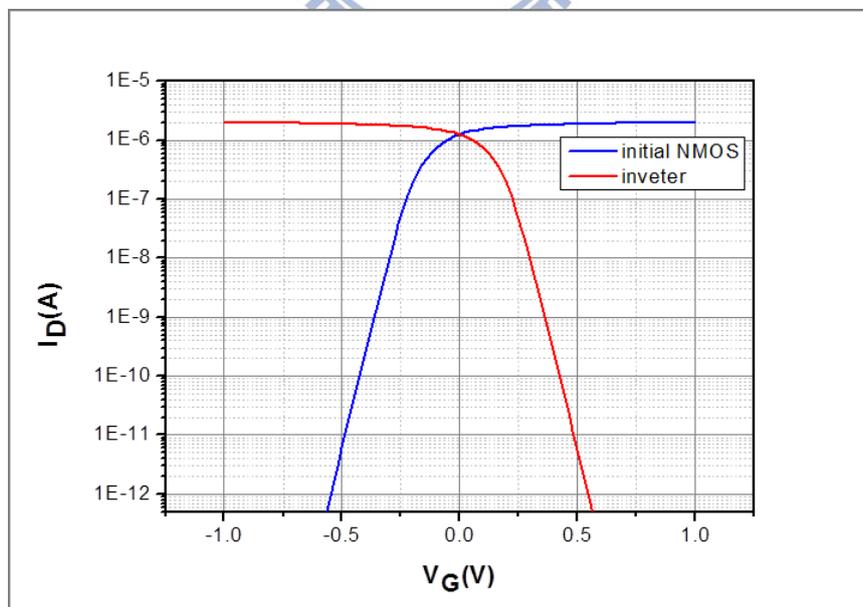


圖 22 掛載反向器後之 I_D - V_G 曲線。

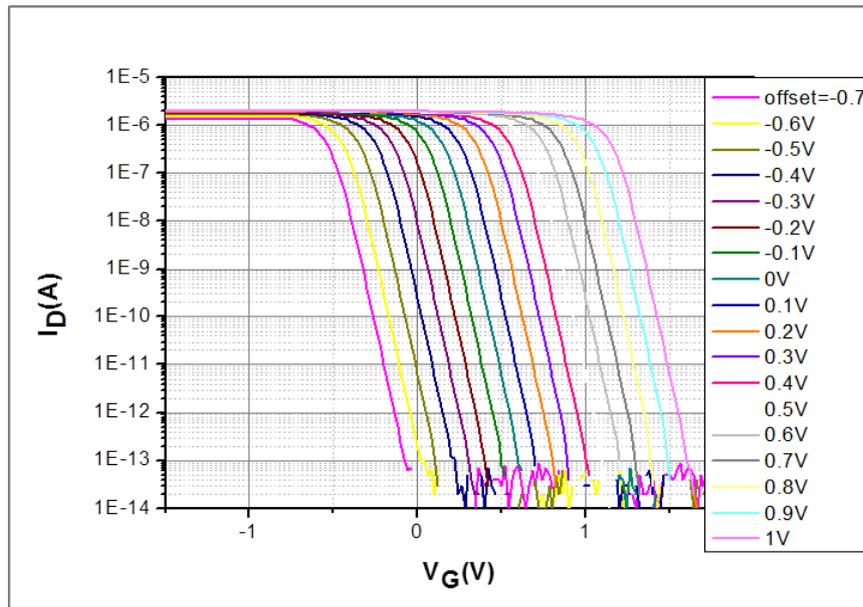


圖 23 改變 DC offset 之 I_D - V_G 圖。

2-4 溶液感測元件材料選擇

我們希望溶液感測元件在溶液的環境內感測溶液內待測物質濃度的改變，反應在感測電極的表面電位變化，並將表面電位的變化傳送到電性量測元件，也就是我們所製作出的金氧半場效電晶體(MOSFET)的閘極上，藉由電晶體上閘極電位變化改變電流的大小，我們再將之利用元件的次臨界擺幅(sub-threshold swing)換算表面電位的變化。

而在溶液感測元件的選擇必須是對於我們要檢測的目標能有對濃度變化有比例的趨勢，來做為一個適當的感測元件。在文獻上使用的電極表面有許多種材料，像是 Au、 SnO_2 、ITO(Indium Tin Oxide)以及各式的感測薄膜[15-17]。

對於氧化物材料已有許多文獻的研究，亦有以其當作感測電極的研究。表一為 SiO_2 、 SnO_2 、 αWO_3 以及 ITO 對在溶液中對 pH 值靈敏度(pH-Sensitivity)以及遲滯效應(Hysteresis)的比較[12]。

	SiO ₂	SnO ₂	a-WO ₃	ITO
pH-sensitivity(mV·pH ⁻¹)	25~35 ^a ; 37~48 ^b	55~58	50~58, pH<7 ^c	54~58
Hysteresis(mV)	unstable	2.5	12.5	9.8

^a在 pH 值>7 之溶液環境下量測；^b在 pH 值<7 之溶液環境下量測；^c只測量在 pH<7 之溶液環境，因 WO₃ 會溶解於鹼性環境下。

表一 SiO₂、SnO₂、a-WO₃ and ITO 在溶液中對 pH-sensitivity 以及 Hysteresis 的比較。[12]

於量測實驗中，我們希望尋找在無論酸鹼環境下都有穩定性質之材料，從表一可知：SiO₂ 於酸性和鹼性環境下對於 pH 值靈敏度不相同且遲滯效應亦不穩定；a-WO₃ 在鹼性溶液下會溶解。反之，SnO₂ 以及 ITO 都具有穩定的性質，遲滯效應也不明顯。其中 ITO 表面為氧化物性質，可用來進行後續 silane 的表面修飾；此外 ITO 具有導電的特性，可將感測到之電位傳至 FET，其電阻因厚度、成分而不同，大約在數十 Ω 至數千 Ω。

2-5 溶液感測電極面積決定

圖 24 是中原大學熊慎幹教授的團隊在 2001 年於 Material Chemistry Physics 發表的期刊中，ITO 接觸面積對 pH-sensitivity 作圖[12]。由圖中可得知 ITO 與溶液接觸面積越大，其對 pH 值的靈敏度越好。當溶液與 ITO 接觸面積達到 10 mm² 以上，ITO 電極之 pH-sensitivity 會維持在 55 mV/pH 左右。

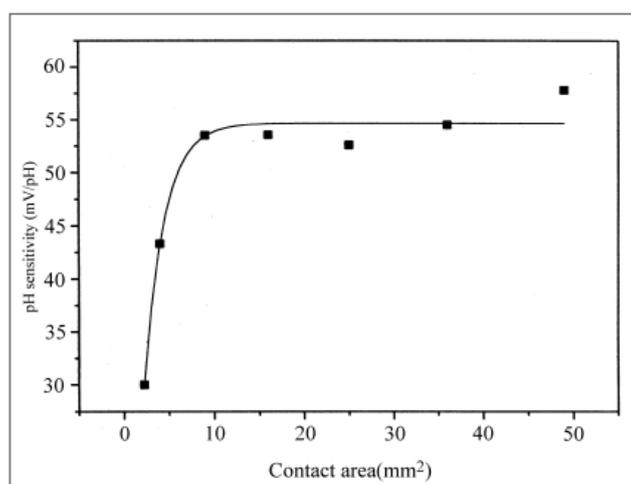


圖 24 ITO 接觸面積對 pH-sensitivity 作圖。[12]

我們實驗所使用的 ITO 不進行曝光微影及蝕刻，直接以 PDMS (Polydimethylsiloxane) 製作流道時同時定義液體和 ITO 電極接觸之面積大小。此方法除了可以減少每次曝光微影以及蝕刻時間不同造成的誤差，在以 PDMS 進行流道的製作時也因為不用進行對準 (align) 而較易進行。

流道是使用一塊高 1 mm，長寬各約 12 mm 的 PDMS(1)，中間使用細胞鑽孔器挖出直徑 8 mm 之孔洞作為微流道之空間。上方再蓋一層以約 5 mm、長寬各 12 mm 之 PDMS(2) 定義出整個流道，此圓形流道直徑 8 mm，高 1 mm，體積為 50 mm^3 ，流道底面積即為 ITO 電極之接觸面積，面積約為 50 mm^2 。參照圖 24 之趨勢，ITO 接觸面積已達到穩定的範圍。

此外我們在 PDMS(2) 上鑽兩個直徑 1.5 mm 之孔洞用於待測溶液的注入以及流出，另外鑽一個直徑 3 mm 的孔用於固定參考電極(reference electrode) 於流道中，如圖 25。

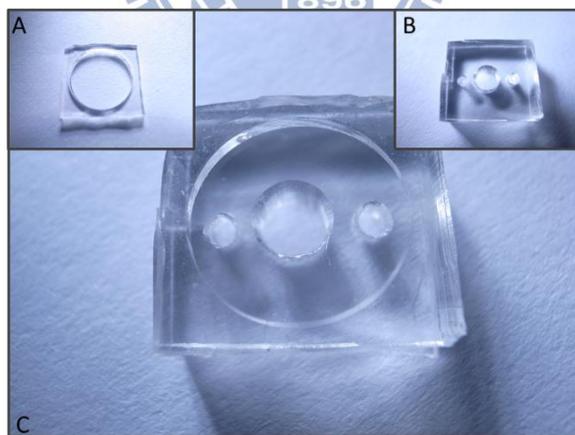
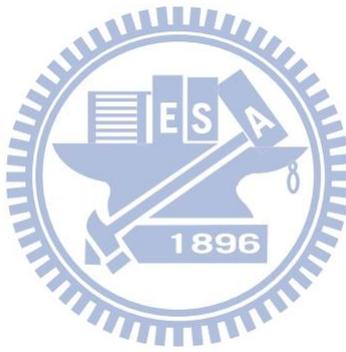


圖 25A：PDMS(1)，孔洞直徑 8 mm；B：PDMS(2)，兩個直徑 1.5 mm 孔洞，用於液體注入及導出，一個 3 mm 的孔洞用來固定參考電極；C：兩者結合之圖示。



2-6 德拜長度(λ_D)的計算以及選擇

溶液中所包含的分子(solution-base molecules)以及高分子(macromolecules)所帶的電荷，通常會被溶液所屏蔽(screening)。帶負電的分子例如 Streptavidin 以及 DNA，會因為靜電吸引力(electrostatic interaction)而被正電離子包圍，且因為靜電吸引力的特性，距離分子越遠，帶相反電荷的離子的數量會呈現指數關係減少(exponential decay)。在距離分子特定的距離外，分子外包覆的離子所帶電荷量會和分子本身所帶電荷量相同，在此距離來看，整個分子以及其包覆之離子之電荷總合為零，使整個粒子視為電中性。一般定義此距離為德拜距離(Debye length, λ_D)。德拜距離的長度與溶液離子種類以及其濃度有關，其公式如下[18]：

$$\lambda_D = \frac{1}{\sqrt{4\pi l_B \sum_i \rho_i z_i^2}} \quad (11)$$

公式(11)中， l_B 為 Bjerrum length，在室溫中為 0.7 nm， \sum_i 是溶液中所有離子的總合，而 ρ_i 為離子的濃度， z_i 是離子之帶電荷數。在我們的實驗中使用的是稀釋的 PBS(phosphate buffered saline)，以一倍 PBS(1X PBS)為例，含有 150 mM NaCl，3 mM KCl 以及 10 mM 之磷酸鹽(Na_2HPO_4 以及 NaH_2PO_4)，帶入公式所得出的德拜長度(λ_D)為 0.7 nm，表二是稀釋倍數之 PBS 所對應之德拜長度。

[PBS]	1X	10X	100X	1000X
$\lambda_D(\text{nm})$	0.7	2.3	7.3	23.2

表二 不同稀釋程度之 PBS 所對應之 Debye length。

在量測 Streptavidin 實驗中，要在試片上預先修飾 APTES 以及 Biotin。其中 APTES 垂直於 silicon wafer 表面時，其長度約為 0.8 nm[19]。Biotin 的長度則是 1.35 nm。在我們修飾完美的單層 APTES 以 Biotin 後，電極表面與溶液之間的距離約為 2.14 nm。在這樣

的距離我們必須選用大於 2.14 nm 之 Debye length 對應之離子濃度溶液才可能於電極表面上觀察 Streptavidin 所帶之電荷。因此我們選定以稀釋 100 倍 PBS (0.01X PBS) 做為我們的量測溶液。



2-7 表面電位變化之換算

即時量測(real-time measurement)時 ITO 量測到表面電位變化傳至 FET 轉換為汲極電流的變化，最後由 Agilent 4156c 量測到。但是我們在乎的是原始表面電位的變化，於是我們利用次臨界擺幅的公式(2)對 $\log I_D$ 積分，得到公式(12)：

$$SS \times \log I_{D,1} = V_{G,1} ; SS \times \log I_{D,2} = V_{G,2} \quad (12)$$

將公式(12)的兩式相減，即可得我們所要的電位變化，如公式(13)：

$$SS \times \log \left(\frac{I_{D,2}}{I_{D,1}} \right) = V_{G,2} - V_{G,1} = \Delta V_G \quad (13)$$

以後我們實驗後所得之表面電位變化量皆是由公式(13)算出。

3 Material and Experiment

3-1 實驗材料及設備

3-1-1 實驗材料及藥品

1. Phosphate buffer saline (PBS)

藥品用途：調配以及量測所用之緩衝溶液，實驗用時會將 PBS 溶液以 DI water 稀釋 100 倍。

溶液配置：137 mM NaCl、2.7 mM KCl、4.4 mM Na₂HPO₄、1.4 mM KH₂PO₄ 調配 pH 7.4 之緩衝溶液。

2. (3-Aminopropyl)triethoxysilane (APTES)

藥品用途：將 ITO 的表面官能基從 -OH group 改質為 -NH₂ group，以利接下去的表面修飾。

溶液配置：因 APTES 遇水會自我鍵結，因此使用的容器要加熱去除水氣，去除水氣後加入 10 mL 之 99% 酒精，之後加入 200 μL 之 APTES，利用超音波震盪 3 分鐘使之均勻分佈，即得 2% 之 APTES 溶液。

3. NHS-Biotin

藥品用途：將修飾 APTES 後的 ITO 晶片修飾上 Biotin，之後可以和 Streptavidin 進行鍵結。

溶液配置：將 1 mg 之 NHS-Biotin 溶入 1 mL 之 Dimethyl sulfoxide (DMSO)，使之均勻溶解，即得 1 mg/1mL 之 NHS-Biotin 溶液。

4. Alexa Flour 546 Streptavidin

藥品用途：帶有螢光的 Streptavidin 對 Biotin 有極強的 affinity 和 specific binding，

和修飾 Biotin 之 ITO 晶片反應之後，用來觀察螢光強度，也拿來當作 EGFET 之 real-time measurement 之待測物。

溶液配置：將 1 mg 的 Streptavidin 粉末溶於 1 mL 之稀釋 100 倍 PBS，可得 1 mg/mL 之 Streptavidin 溶液。實驗時會以稀釋 100 倍之 PBS 稀釋成不同濃度的 Streptavidin 溶液。

5. pH 4、pH7、pH10 buffer solution

藥品用途：用來調配其他 pH 值緩衝溶液，用來進行量測。

溶液配置：以比例配置其他 pH 值之溶液，利用酸鹼度計調配溶液正確的酸鹼值。

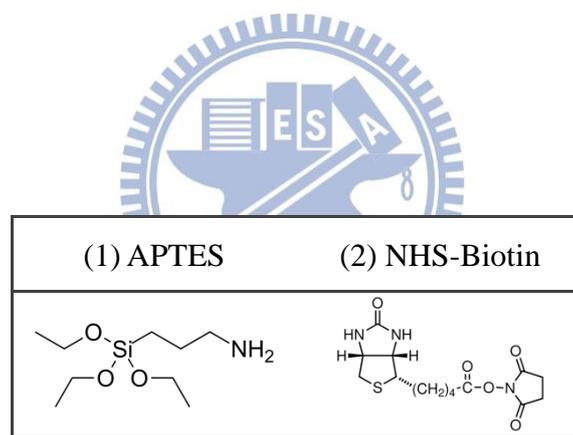


表 三 各種實驗藥品的結構式

3-1-2 實驗設備

1. 化學清洗抽風櫃

功能：清洗試片、調配溶液時使用。

2. 超音波震盪器

功能：將晶片表面雜質或油漬溶解或是輔助清洗以及藥品溶解。

3. 加熱烤板

功能：去除水氣、使 APTES 鍵結穩定。

4. 螢光顯微鏡

功能：利用激發光使修飾在晶片表面的螢光分子吸收並觀察其放射螢光。

5. 酸鹼度計

功能：指示溶液的酸鹼度。



6. 安捷倫 4156C

功能：可用來進行元件電性的量測以及 EGFET 的即時量測。

7. 注射幫浦

功能：用來以精確地流速注射緩衝液或是待測液體進入流道中

8. 打線機

功能：將銅線或是銀線將晶片與 PCB 板上，可聯繫至外部的量測機台或是與其他裝置做連結

3-2 修飾與實驗架設

3-2-1 於 ITO 電極上進行表面修飾

我們要探討的實驗其一是感測電極表面的修飾與否對穩定度的影響，以及我們調動次臨界電壓的方法是否能在生醫感測裝置中實驗並檢測之，因此我們選定 Biotin-Streptavidin 系統。Biotin-Streptavidin 示一個仿生物系統，並且鍵結能力及辨識能力優異。由於 Biotin 的官能基為-COOH，此官能基無法和 ITO 上的-OH 進行反應鍵結，因此我們利用 APTES 的 SAM 將 ITO 上的-OH group 表面改質為-NH₂ group。

(1) 預清洗試片(initial clean)

將 ITO 利用鑽石刀切割成長寬約 15 mm 之適當大小的試片後，泡入 99% 酒精中使用超音波震盪(ultrasonic cleaning)10 分鐘去除有機物。震盪完後用 DI water 沖洗 10 分鐘，將酒精沖洗乾淨，最後用氮氣槍吹乾，並放置於 120°C 加熱板放置 10 分鐘，確認水分完全去除後收納。

(2) 修飾(3-Aminopropyl)triethoxysilane (APTES)

由於 ITO 電極表面仍屬於 oxide group 之表面，因此可以在上面修飾 APTES。將試片浸入用酒精配置之 2% APTES 溶液，並以超音波震盪 1 分鐘後靜置 9 分鐘。之後用 99% 酒精換置其中溶液，並且使用超音波震盪 10 分鐘，其間每 3 分鐘重新換置酒精去除未鍵結之 APTES。完成後以氮氣槍吹乾試片，並放置於 100 °C hot plate 上 10 分鐘，使 APTES 在電極表面整齊地垂直排列，以能夠增加做後續修飾的-NH₂ 鍵結位置(binding site)。

(3) 修飾 Biotin

此時電極的表面已由-OH 基改質成為-NH₂ 基。NHS-biotin 的配方是由 1 mg 的 NHS-Biotin 粉末，加入 1000 μ l 之 dimethyl sulfoxide(DMSO)，其有機的特性有助於 NHS-Biotin 溶解，即可獲得 1 mg/ml 之 NHS-Biotin 溶液。將 NHS-Biotin 溶液滴在已修飾 APTES 之試片上，使之盡量全部覆蓋整個試片，以達修飾的效

果。將試片靜置 over night 等待反應。

(4) 試片清洗

將試片以 DI 水清洗乾淨並以氮氣槍吹乾，並放置通風乾燥處收納。

(5) 修飾 Streptavidin

取 10 μ L 濃度為 1 mg/mL 之 Streptavidin 有 546 nm 螢光 dye 之溶液，以稀釋 100 倍之 PBS 溶液將體積添加至 1 mL，如此我們可以得到濃度為 10^{-5} g/mL 或是 42 nM 之 Streptavidin 溶液，再將此溶液依 10 倍之比例(取 100 μ L，稀釋至 1 mL)稀釋成 10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} mg/mL 三管。將 Streptavidin 溶液分別滴至修飾好 Biotin 之 ITO 試片靜置 15 分鐘。最後以 DI water 將 Streptavidin 溶液沖洗乾淨，放置於 Zeiss 螢光顯微鏡下觀察其螢光現象如圖 26。

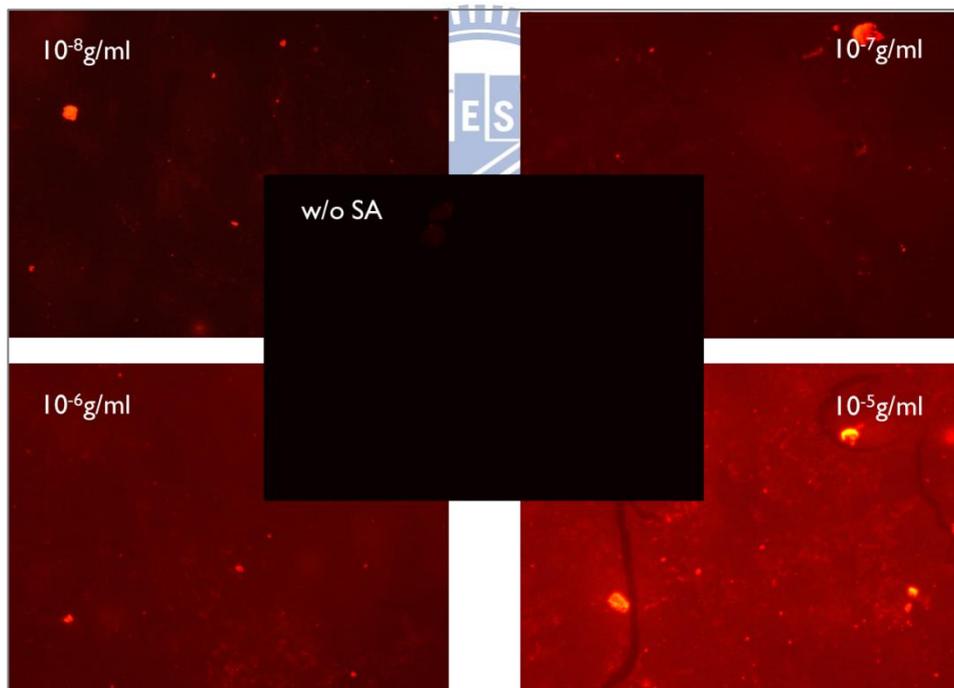


圖 26 不同濃度之 Streptavidin 在修飾 Biotin 之 ITO 晶片上 15 分鐘之螢光圖。

3-2-2 流道及量測裝置架設

我們將章節 2-4 所做出來的流道泡入 99% 之酒精中使用超音波震盪 10 分鐘，震盪完之後用 DI water 沖洗 10 分鐘，用氮氣槍吹乾，即完成清潔，可收納備用。

架設裝置時，我們先將欲用來量測的 ITO 電極利用銅膠黏著於 PCB(printed circuit board)板上，再使用打線機(wire bonder)，將 ITO 電極打線至金屬走線導出。接下來將 PDMS 流道蓋在 ITO 上方，利用透明壓克力板以及螺絲將 PDMS 流道以及 ITO 壓緊。最後將參考電極以及用來液體注入(liquid in)以及液體排出(liquid out)的兩個鐵氟龍管裝在 PDMS 上即完成了流道裝置的架設，如圖 27。

另一方面，將 FET 元件放入 probe station，利用下針的方式，將 FET 元件的閘極、汲極、源極與 Agilent 4156 連接，先以 ICS 程式量測 FET 元件的電性特性，包括 I_D-V_G 曲線、閘極漏電(gate leakage)、次臨界擺幅(SS)等，如圖 28 所示。

確定 FET 元件沒有損壞可用後，將 FET 閘極端改於與感測電極之 PCB 板連接；流道中的參考電極與 Agilent 4156c 連接，示意圖如圖 29 所示，Agilent 4156c 給參考電極、汲極、源極電位，ITO 電極經由溶液測量到的訊號再利用打線導出至 PCB 板上金屬走線，走線再經過電線傳至 FET 元件，最後利用 Agilent 4156c 量測汲極電流(I_D)的改變即可算出 ITO 表面電位的改變。

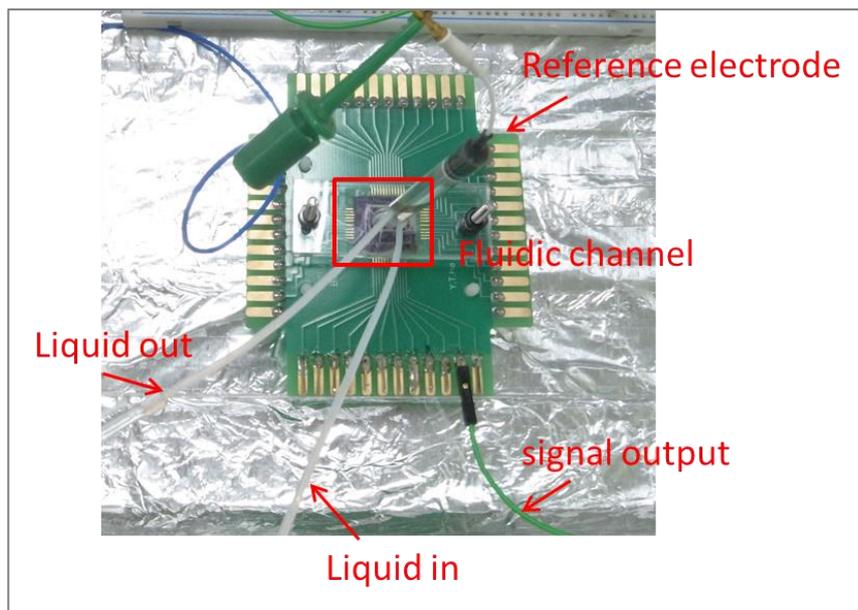


圖 27 流道的架設圖。



圖 28 ICS 量測圖。

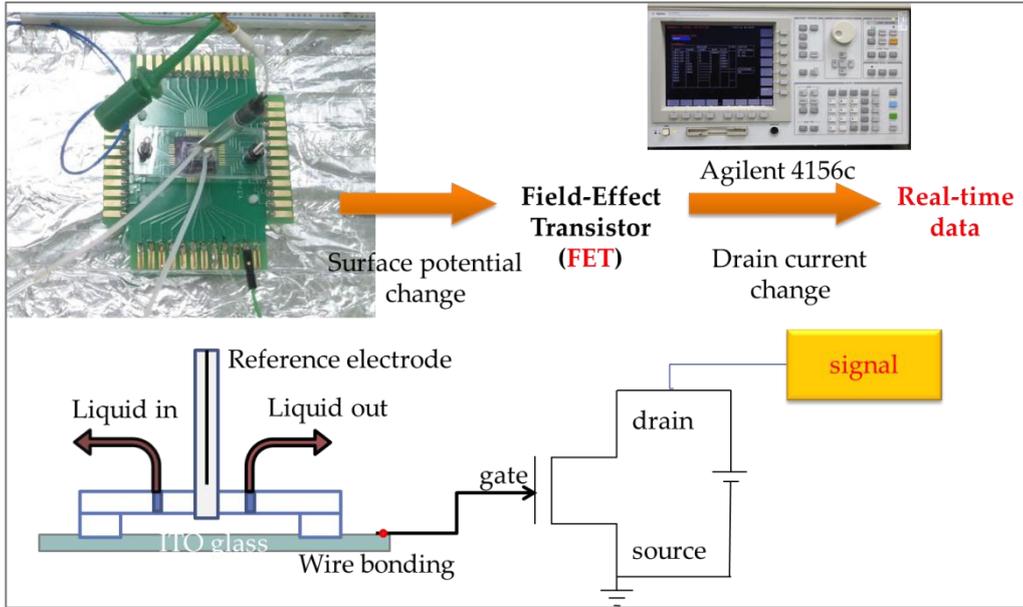
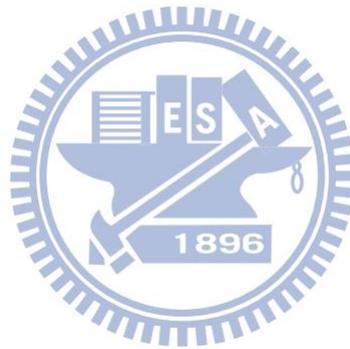


圖 29 裝置示意圖。



3-3 即時量測流程

3-3-1 pH 緩衝溶液即時量測(pH buffer solution real-time measurement)

本實驗分為四組對照組做為比較，分別為：1. Bare ITO + 參考電極不接地；2. Bare ITO + 參考電極接地(V_{DS} control method)；3. APTES modified ITO + 參考電極不接地；4. APTES modified ITO + 參考電極接地(V_{DS} control method)。最後我們將 EG-FET 裝置加入 inverter，也就是使用反向器控制法，進行 5. Bare ITO + 參考電極接地(inverter control method)以及 6. APTES modified ITO + 參考電極接地(inverter control method)。

1. Bare ITO + 參考電極不接地：

(1) Bare ITO 為不進行表面修飾之 ITO，我們以 Bare ITO 做為感測電極，以銅膠黏至 PCB 板上後以章節 3-2-2 之方式進行流道架設以及 EGFET 量測系統設定。

(2) 通入 pH 7 之緩衝溶液，流速為 $50 \mu\text{L}/\text{min}$ ，待其穩定開始進行工作點的調整，利用參考電極調整電流至工作點(我們設定為 1 nA)，之後開始量測。

(3) pH 緩衝液體的通入順序為 $\text{pH } 7 \rightarrow 6.5 \rightarrow 6 \rightarrow 6.5 \rightarrow 7 \rightarrow 7.5 \rightarrow 8 \rightarrow 7.5 \rightarrow 7$ ，重複一次，共兩個週期。

每組溶液都是流速 $50 \mu\text{L}/\text{min}$ ，注入時間為 $5 \text{ min}/\text{buffer}$ 。

(4) 使用 LabView 程式控制 Agilent 4156c 記錄汲極電流(I_D)，換算成表面電位的變化。

2. Bare ITO + 參考電極接地(V_{DS} control method)：

與 1. 實驗步驟大致相同，只有在調整工作點的時候，讓參考電極維持接地，使用 V_{DS} control method 微調 I_D - V_G 曲線至 1 nA 。

3. APTES modified ITO + 參考電極不接地：

與 1.實驗步驟大致相同，只有將 bare ITO 換置為修飾好 APTES 之感測晶片。

4. APTES modified ITO + 參考電極接地(V_{DS} control method)：

與 1.實驗步驟大致相同，只有將 bare ITO 換置為修飾好 APTES 之感測晶片，並且讓參考電極維持接地，使用 V_{DS} control method 微調 I_D - V_G 曲線至 1 nA。

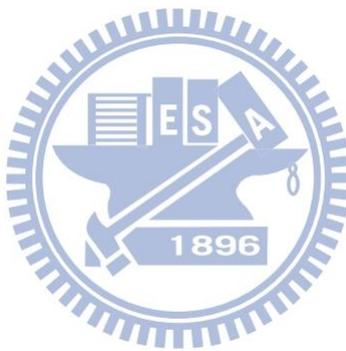
5. Bare ITO + 參考電極接地(inverter control method)：

與 1.實驗步驟大致相同，只有在調整工作點的時候，讓參考電極維持接地，使用 inverter control method 微調 I_D - V_G 曲線至 1 nA。

6. APTES modified ITO + 參考電極接地(inverter control method)：

與 1.實驗步驟大致相同，只有將 bare ITO 換置為修飾好 APTES 之感測晶片，並且讓參考電極維持接地，使用 inverter control method 微調 I_D - V_G 曲線至 1 nA。

量測完後將 I_D -time 圖繪出，並計算表面電位之變化。討論並比較時漂效應(drift effect)以及遲滯效應(hysteresis effect)之影響。



3-3-2 Streptavidin 即時量測(Streptavidin real-time measurement)

本實驗分為一組實驗組和一組對照組：1.控制組：以不經修飾的 ITO 做為感測電極，利用掛載反向器的 EGFET 進行不同濃度 Streptavidin 的即時量測。2.實驗組：以修飾了 APTES 和 Biotin 之 ITO 做為感測電極，利用掛載反向器(inverter)的 EGFET 進行不同濃度 Streptavidin (SA)的即時量測。

實驗順序為：通入稀釋 100 倍之 PBS(0.01X PBS)建立 baseline，此時利用 inverter 之 DC offset 將工作點(setpoint)調整至 1 nA → 42 pM (10^{-8} g/mL) SA → 0.01X PBS → 420 pM (10^{-7} g/mL) SA → 0.01X PBS → 4.2 nM (10^{-6} g/mL) SA → 0.01X PBS → 42 nM (10^{-5} g/mL) SA → 0.01X PBS。

每組溶液都是流速 50 μ L/min，注入時間為 10 min/buffer。

紀錄並觀察 I_D 之改變情形，並且計算表面電位之變化。比較兩組實驗之結果並對照其螢光強度。



4 Results and Conclusion

4-1 實驗結果與討論

4-1-1 pH 緩衝溶液即時量測結果

pH 緩衝溶液即時量測實驗共有四組，我們先將沒有修飾的兩組放在一起比較，觀察 V_{DS} control method 的效果，如圖 30。實驗結果顯示，使用 V_{DS} control method 的結果進行兩個循環的 pH 緩衝溶液實驗表面電位的變化為 -12.15 mV，小於參考電極不接地的 -20.34 mV，可以看出使用 V_{DS} control method 是對於溶液較穩定的，時漂效應(drift effect)的程度也較小。

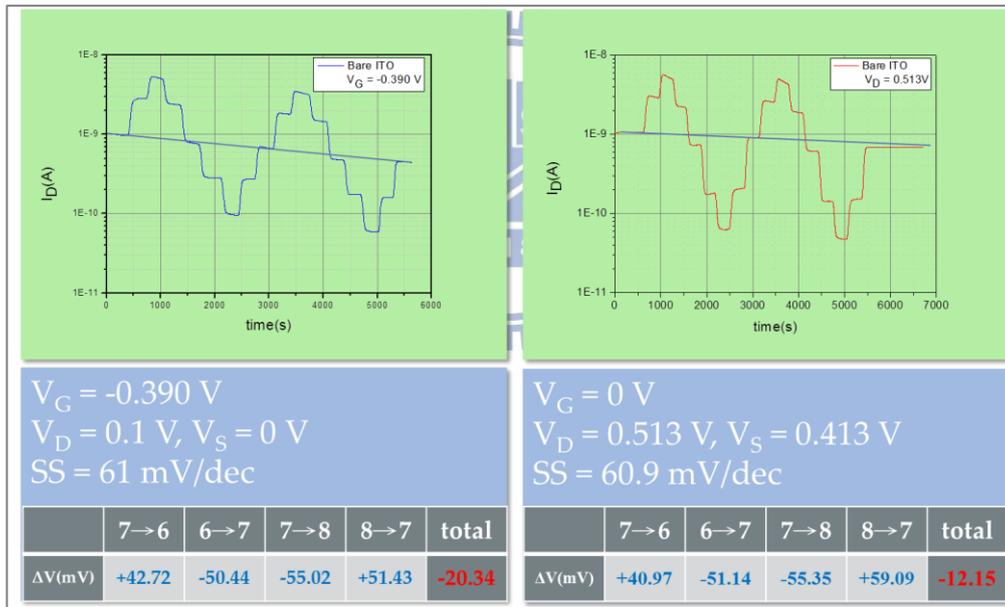


圖 30 左圖為 bare ITO 在 V_G 不接地時的 pH 緩衝溶液即時量測實驗；右圖為 bare ITO 在 V_G 接地，使用 V_{DS} control method 之 pH 緩衝溶液即時量測實驗

圖 31 是 bare ITO 的兩組實驗結果換算成表面電位的圖。並計算出回歸直線，由公式看來，斜率代表增加或減少一個 pH 值會增加的表面電位，兩個實驗計算出的數值分別為

-54.759 及 -55.049 mV，符合表一中 ITO 的 pH sensitivity。

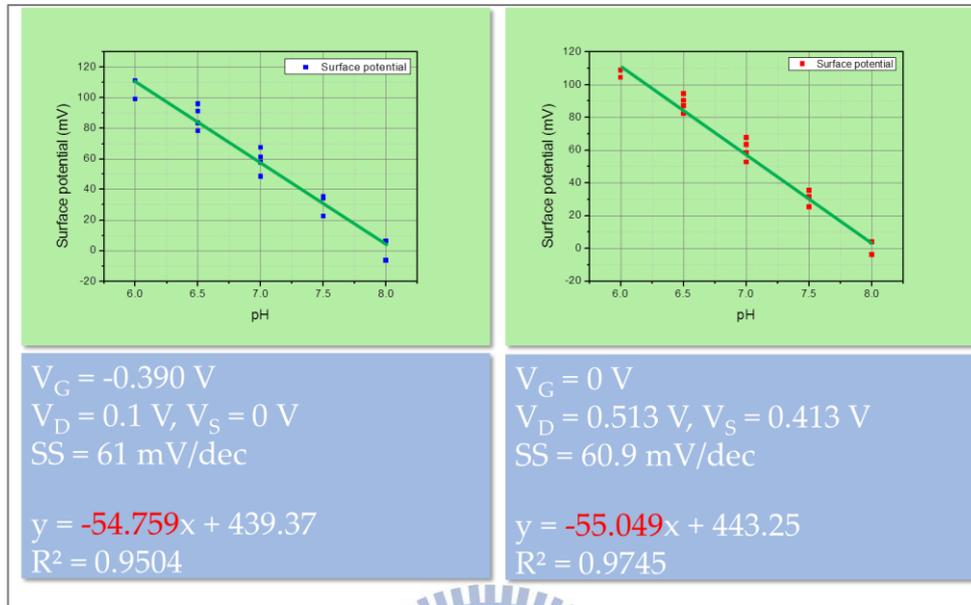


圖 31 利用圖 30 計算出 bare ITO 之表面電位變化以及其回歸直線。



圖 32 是由圖 31 的表面電位和其回歸直線計算出各點的表面電位殘餘值，方法是將各點的 pH 值帶入回歸直線公式，得到回歸直線之表面電位，再和實際量測到之表面電位相減。由此圖可以觀察實驗是否有時漂效應(drift effect)以及遲滯效應(hysteresis)。在左圖，參考電極不接地造成的時漂效應(drift effect)較嚴重，反之右圖可以使用 V_{DS} control method 時漂的程度較不明顯。

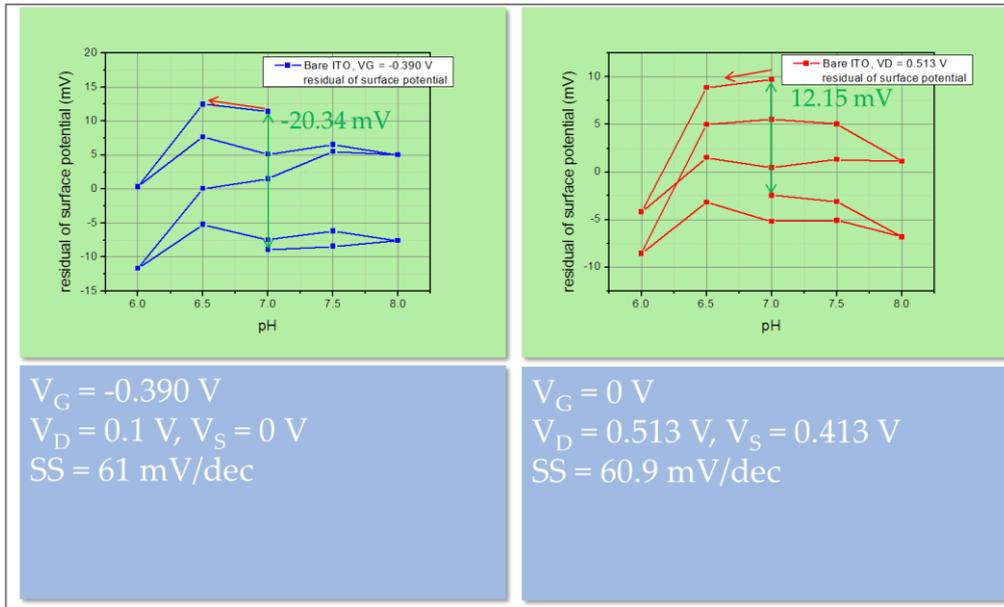


圖 32 由圖 31 計算出 bare ITO 的表面電位殘餘值。

有修飾 APTES 的兩組的實驗圖如圖 33 所示，左圖為 APTES modified ITO 在 V_G 不接地時的 pH 緩衝溶液即時量測實驗；右圖為 APTES modified ITO 在 V_G 接地，使用 V_{DS} control method 之 pH 緩衝溶液即時量測實驗。最後計算出來 V_G 不接地時的表面電位變化量-14.25 mV，在 V_G 接地，使用 V_{DS} control method 之變化量為-10.33 mV。

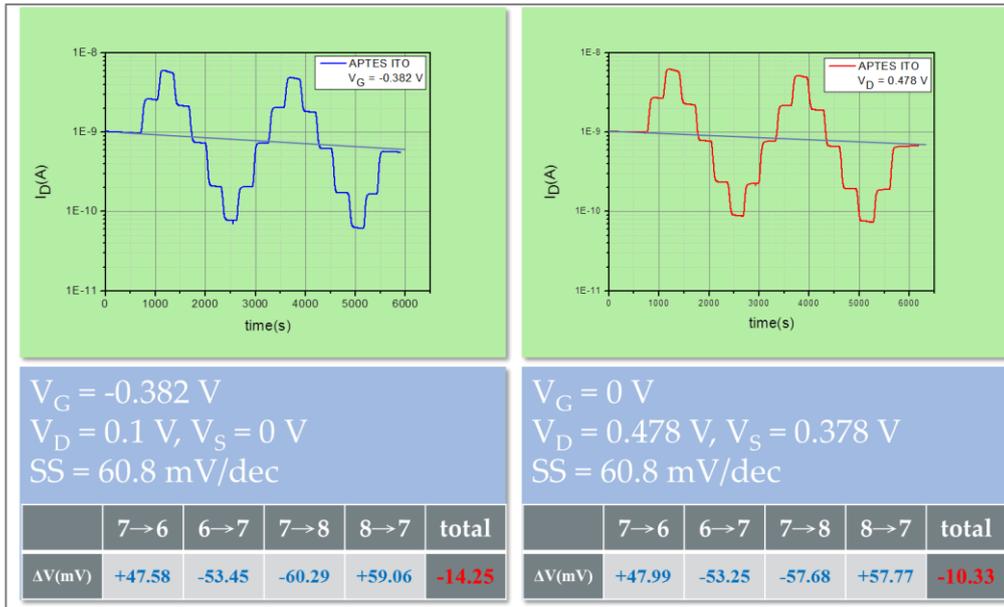


圖 33 左圖為 APTES modified ITO 在 V_G 不接地時的 pH 緩衝溶液即時量測實驗；右圖為 APTES modified ITO 在 V_G 接地，使用 V_{DS} control method 之 pH 緩衝溶液即時量測實驗。



同樣的，將圖 33 計算表面電位和其回歸直線計算出各點的表面電位值如圖 34。

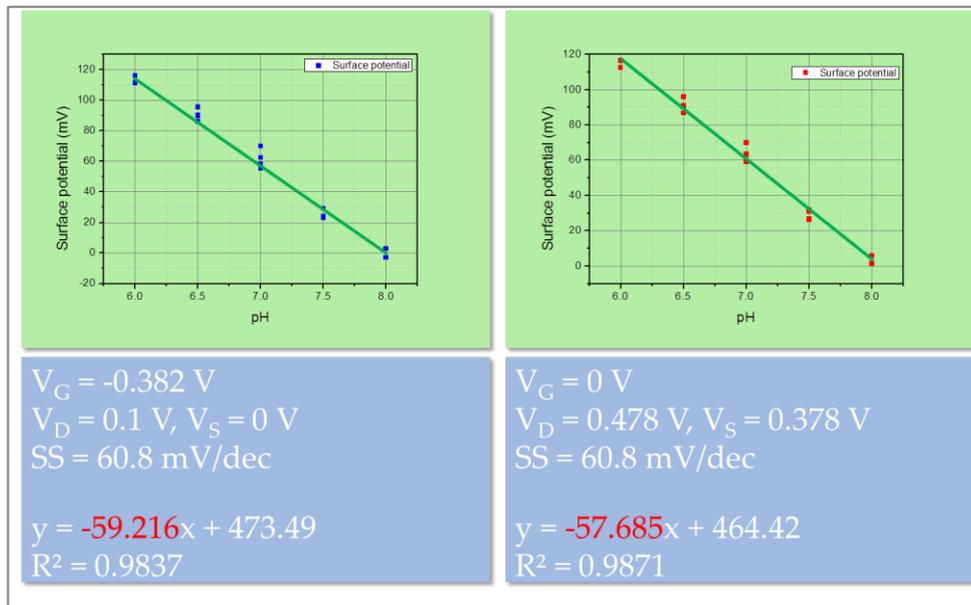


圖 34 利用圖 33 計算出 APTES modified ITO 之表面電位變化以及其回歸直線。

從圖 34 計算 APTES modified ITO 在各 pH 下的表面電位殘餘值如圖 35。由圖可發現仍然是使用 V_{DS} control method 所量測到的結果較佳。

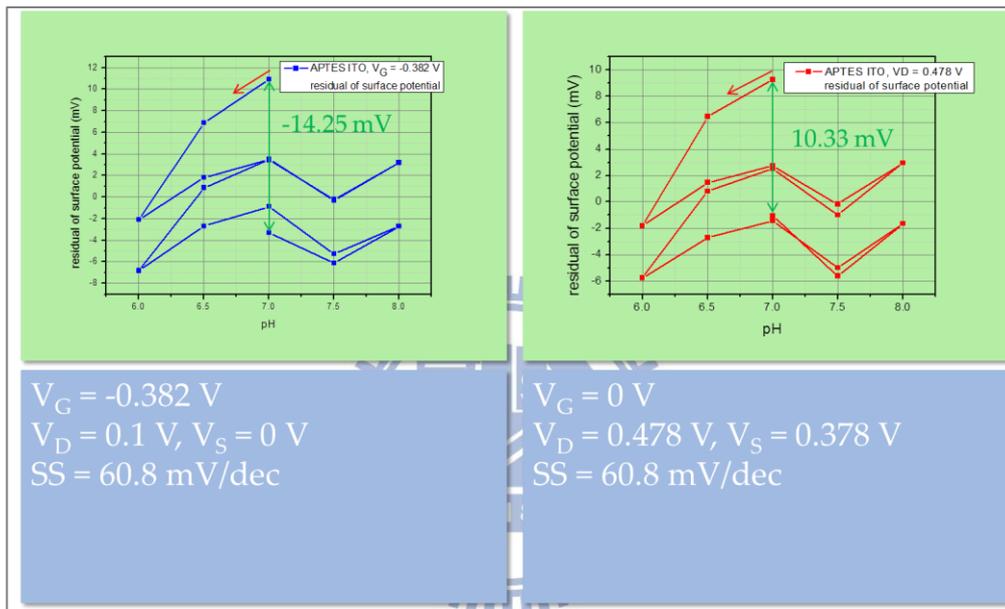


圖 35 由圖 34 計算出 APTES modified ITO 的表面電位殘餘值。

使用反向器控制法(inverter control method)下以 Bare ITO 以及 APTES modified ITO 進行 pH 緩衝溶液即時量測實驗的結果如圖 36。圖中可以得知，未經修飾的 ITO 在經過兩次 pH 緩衝溶液的循環後，其表面電位的漂移量為 25.65 mV；修飾完 APTES 後的 ITO 在進行同樣量測，其變化量為 8.726 mV。

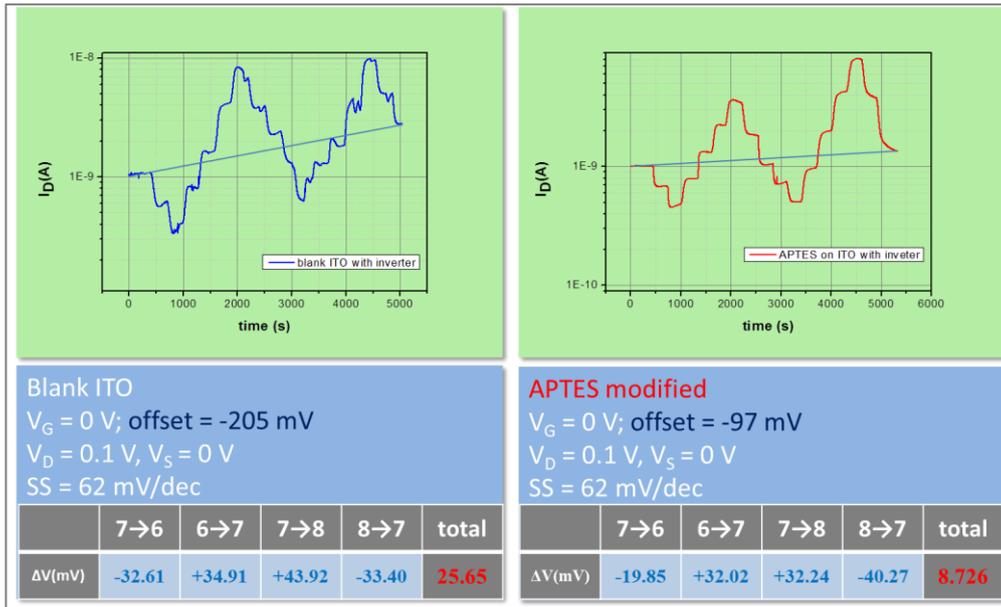
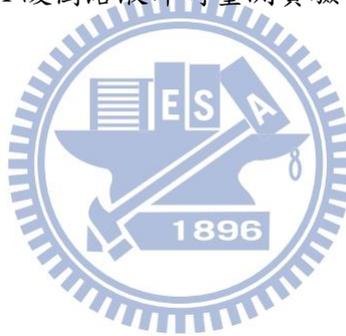


圖 36 使用反向器控制法(inverter control method)下以 Bare ITO 以及 APTES modified ITO

進行 pH 緩衝溶液即時量測實驗的結果。



4-1-2 pH 緩衝溶液即時量測結果討論

將六組實驗之表面電位變化整理如表三所示。

由於經過兩次循環的 pH 緩衝溶液置換，理論上 ITO 的表面電位應該不會改變，但是實際上仍舊會受到時漂效應(drift effect)以及遲滯效應(hysteresis effect)的影響而造成偏移。

使用 V_{DS} control method 的實驗結果顯示，不論 ITO 是否進行表面修飾，經過兩次 pH 緩衝溶液的循環後，表面電位的變化量都是較少的，證明量測時參考電極接地會較不接地的情形穩定。

另一方面，修飾過 APTES 的 ITO 試片，由於 ITO 試片本身有較多的 defect，會造成較嚴重的時漂效應，APTES 的單分子膜會填補 defect 以較快速獲得電雙層的平衡，而且修飾 APTES 後，ITO 試片的表面會從只有 -OH group 變為 -OH group 和 -NH₂ group 的競爭，兩者不同的 pKa 將會平衡氫離子和氫氧根離子的遲滯效應。

最後，我們使用 inverter control method 的實驗中，修飾後的試片對於量測的穩定性亦有改善的影響，並且修飾後進行兩次 pH 緩衝溶液的循環後，造成的表面電位變化的改變也是最少的，表格顯示如表四。

Residual of surface potential(mV)	$V_G \neq 0 V$	$V_G = 0 V$ (V_{DS} control)	$V_G = 0 V$ (inverter control)
Bare ITO	-22.62	-12.15	25.65
APTES modified ITO	-14.25	-10.33	8.726

表 四 三種量測方式對於 ITO 電極修飾與否在 pH 緩衝溶液下的表面電位之改變比較。

4-1-3 Streptavidin 即時量測結果

在這個實驗中我們在 EGFET 裝置中掛載了一個反向器(inverter)，如章節 2-3 所提。所有的訊號會因反向器而相反。Streptavidin 之 pI 點為 5，在 pH 7.4 的溶液下為帶負電的結構，當和修飾 Biotin 之 ITO 鍵結時，會使 ITO 表面帶負電，經過反向器之後又變為帶正電，正電會在 NMOSFET 元件的通道感應負電，因此我們看到的電流值會變大。實驗的結果如圖 37。圖中顯示有修飾 Biotin 之 ITO 電極對於流入不同濃度的 Streptavidin 有成正比的電流(I_D)變化；沒有修飾的 bare ITO 對於 Streptavidin 就沒有電流變化，流入 buffer 後被沖洗回原準位，對於 Streptavidin 濃度變化沒有相依性。

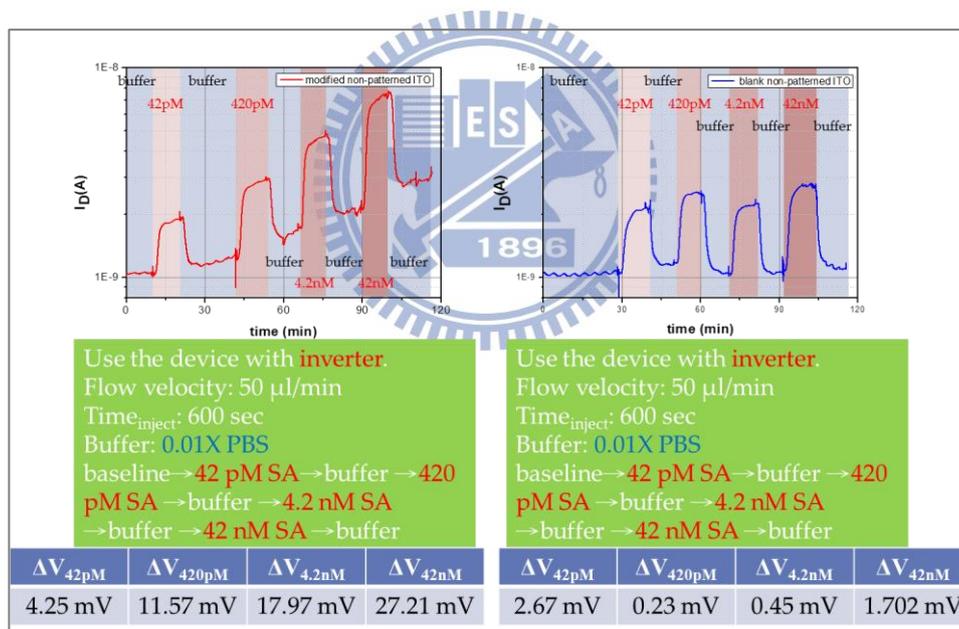


圖 37 bare ITO 以及 Biotin modified ITO 之 SA real-time measurement。

圖 38 是將圖 37 的電流變化計算成 ITO 電極之表面電位變化。圖中顯示經過 Biotin 修飾之後的 ITO 表面電位的變化與 Streptavidin 濃度變化呈現正比關係，最大濃度的電位變化為 27.21 mV；而 bare ITO 的表面電位幾乎沒有變化，接近原始的準位。

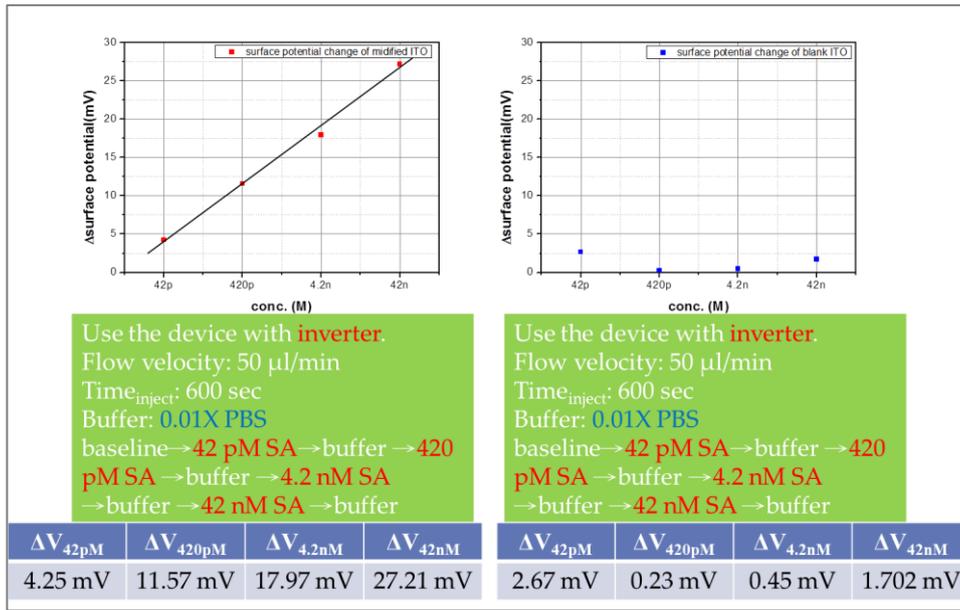


圖 38 將圖 37 的電流變化計算成 ITO 電極之表面電位變化。



圖 39 將量測完 Streptavidin 的 ITO 量測螢光強度。有修飾 Biotin 之 ITO 螢光強度明顯強於 bare ITO，證明我們的修飾是沒有問題的。

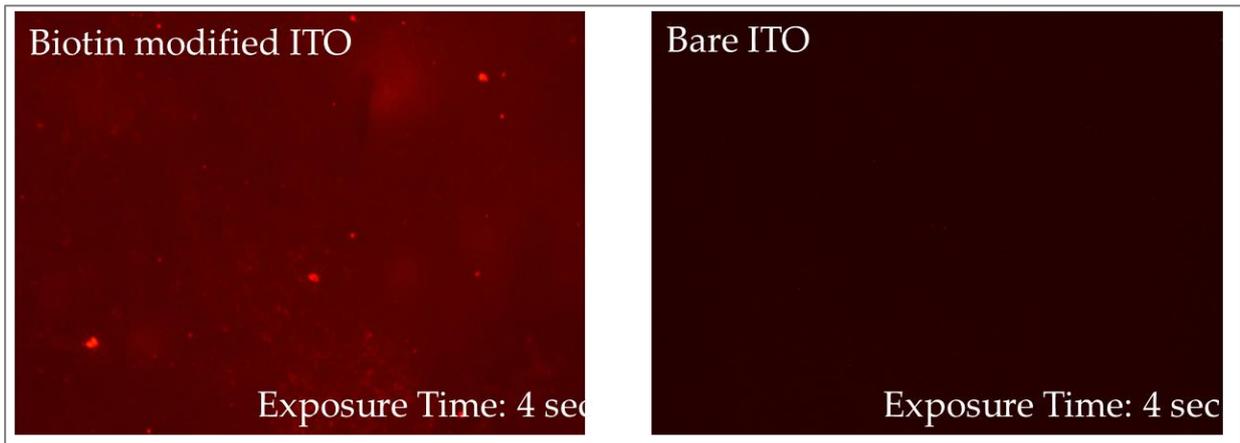


圖 39 流道中流入不同濃度 SA 之螢光強度。

做了三次重複的實驗之後，將三次實驗的結果作濃度對訊號的檢量線以及 error bar，圖 40 所示，實驗的 SA 濃度和表面電位的變化如表四所示。

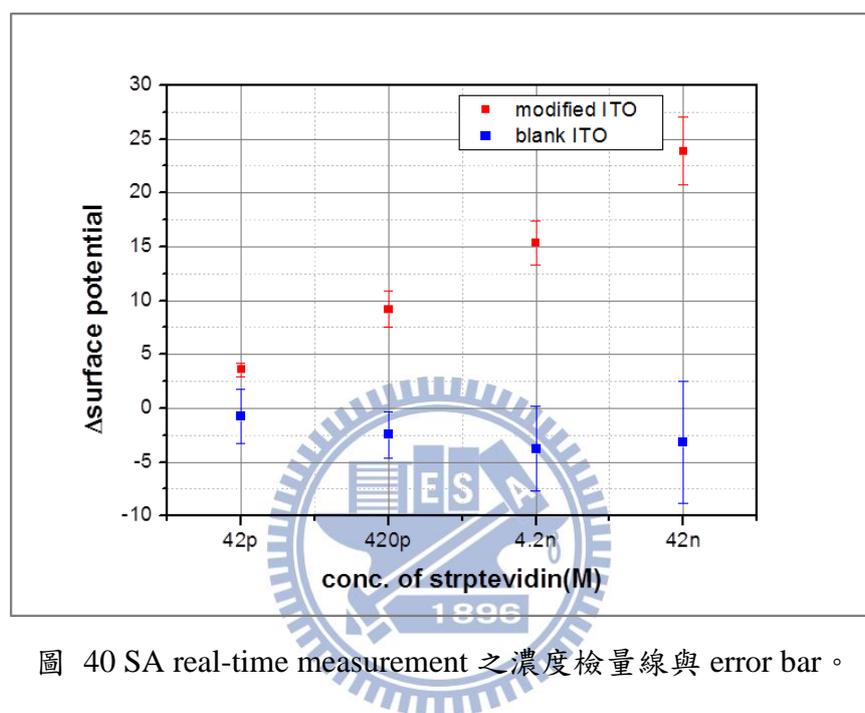


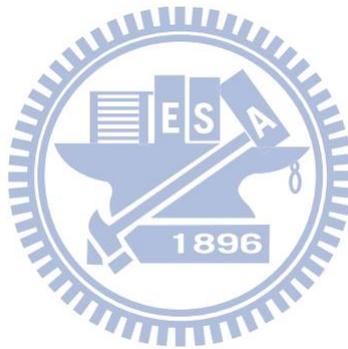
圖 40 SA real-time measurement 之濃度檢量線與 error bar。

ΔV (mV)	42 pM	420 pM	4.2 nM	42 nM
blank	-0.74 ± 2.5	-2.43 ± 2.17	-3.72 ± 3.98	-3.18 ± 5.57
Biotin modified	3.59 ± 0.6	9.20 ± 1.69	15.37 ± 2.05	23.86 ± 3.15

表 五 SA 濃度與表面電位的變化。

4-1-4 Streptavidin 即時量測結果討論

通過反向器控制(inverter control method)，我們同樣可以精準且簡單的控制 FET 元件的臨界電壓的位置，並且應用於 Streptavidin 及時量測實驗。通過 APTES 以及 Biotin 的修飾，對於不同濃度的 Streptavidin，ITO 所產生的表面電位變化有正向的關係。相反的，未修飾的 bare ITO 就無相依性質。



5 Summary and Future work

5-1 結論

本實驗研究如何調動 FET 元件的臨界電壓(threshold voltage)，提出了兩種方法：汲極源極控制法(V_{DS} control method)、反向器控制法(inverter control method)。兩種方法都可以簡單且精準地調動臨界電壓到達我們想要的位置，並且能夠不傷害元件的特性。

在 pH 緩衝溶液即時量測實驗中，使用了 V_{DS} control method 後，電流訊號的穩定度優於在溶液中施加一個不為零的參考電極電壓(V_{ref})，此外表面修飾也對於溶液對元件表面的穩定度有幫助。

在 Streptavidin 即時量測實驗中，可以藉由汲極電流的改變換算回表面電位的變化，分辨不同濃度的 Streptavidin，並且偵測極限(LOD)為 42 pM。

根據這些實驗的結果，相信這個技術可以應用到未來的生醫感測裝置上。

5-2 未來展望

目前本實驗能夠做到以市售 FET 電晶體完成延伸式閘極場效電晶體，並且以 V_{DS} control method 進行 pH 緩衝溶液即時量測實驗改善時漂效應以及遲滯效應並且擁有良好的靈敏度，以及 Streptavidin 感測實驗亦能對濃度有辨別效果。希望對於電極大小以及流道大小作量測效果的比較，並做出最佳化。希望能降低流道的大小，以達到微小化以及提高反應的效率。另外，最後未來希望能夠利用表面修飾，對不同的目標分析物有選擇性的感測，增加 EGFET 感測器的專一性。



參考文獻

- [1] P. BERGVELD, “Development of an Ion-Sensitive Solid-State Device for Neurophysiological Measurements”, *IEEE TRANSACTIONS ON BIO-MEDICAL ENGINEERING*, vol. 1, pp. 70-71, 1970
- [2] B. D. Liu, Y. K. Su and S. C. Chen, “Ion-sensitive Field-Effect Transistor with Silicon Nitride Gate for pH Sensor”, *INT. J. ELECTRONICS*, VOL. 67, pp. 59-63, 1989
- [3] Tadayuki Matsuo and Masayoshi Esashi, “Method of ISFET fabrication”, *Sensors and Actuators*, vol. 1, pp. 77-96, 1981
- [4] J. C. Chou and C. Y. Weng, “Sensitivity and hysteresis effect in Al₂O₃ gate pH-ISFET”, *Materials Chemistry and Physics*, vol. 71, pp. 120-124, 2001
- [5] H. K. Liao, J. C. Chou, W. Y. Chung, T. P. Sun and S. K. Hsiung, “Study of Amorphous Tin Oxide Thin Films for ISFET”, *Sensors and Actuators B*, vol. 50, pp. 104-109, 1998
- [6] Y. Cui, Qingqiao Wei, Honngkun Park, Charles M. Lieber, “Nanowire Nanosensors for Highly Sensitive and Selective Detection of Biological and Chemical Species”, *Science*, vol. 293
- [7] J. Van Der Spiegel, I. Lauks, P. Chan and D. Babic, “the Extended Gate Chemically Sensitive Field Effect Transistor as Multi-species Microprobe”, *Sensors and Actuators*, vol.4, pp. 291-298, 1983
- [8] Masao Kamahori, Yu Ishige and Maki Shimoda, “A novel enzyme immunoassay based on potentiometric measurement of molecular adsorption events by an extended-gate field-effect transistor sensor”, *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 22, pp.3080-3085, 2007
- [9] Masao Kamahori, Yu Ishige, Maki Shimoda, “Detection of DNA hybridization and extension reactions by an extended-gate field-effect transistor: Characterizations of immobilized DNA-probes and role of applying a superimposed high-frequency voltage

- onto a reference electrode”, *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 23, pp. 1046-1054, 2008
- [10] Masao Kamahori, Yu Ishige, Maki Shimoda, “DNA Detection by an Extended-Gate FET Sensor with a High-Frequency Voltage Superimposed onto a Reference Electrode”, *Analytical Science*, vol. 23, pp. 75-79, 2007
- [11] J. L. Chiang, S. S. Jan, J. C. Chou and Y. C. Chen, “Study on the temperature effect, hysteresis and drift of pH-ISFET devices bases on amorphous tungsten oxide”, *Sensors and Actuators B*, vol.76, pp. 624-628, 2001
- [12] L. T. Yin, J. C. Chou, W. Y. Chung, T. P. Sun, S. K. Hsiung, “Study of indium tin oxide thin film for separative extended gate ISFET”, *Materials Chemistry and Physics*, vol. 70, pp. 12-16, 2001
- [13] J. C. Chou and Y. F. Wang, “Preparation and study on the drift and hysteresis properties of the tin oxide gate ISFET by the sol-gel method”, *Sensors and Actuators B*, vol. 86, pp. 58-62, 2002
- [14] J. L. Chiang, J. C. Chou, Y. C. Chen, “Study of the pH-ISFET and EnFET for Biosensor Applications”, *Journal of Medical and Biological Engineering*, vol. 21, pp. 135-146, 2001
- [15] L. L. Chi, J. C. Chou, W. Y. Chung, T. P. Sun, S. K. Hsiung, “Study on extended gate field effect transistor with tin oxide sensing membrane”, *Materials Chemistry and Physics*, vol. 63, pp. 19-23, 2000
- [16] J. N. Zemel, “Microfabricated nonoptical chemical sensors”, *Rev. Sci. Instrum.*, vol. 61, pp. 1579-1606, 1990
- [17] C. Y. Chen, H. L. Hsieh, C. H. Lin, S. K. Liao, T. P. Sun, C. Tak-Shing Ching and P. L. Liu, “Extended Gate H⁺-Ion Sensitive Field Effect Transistor with Signal Interface”, *The 2nd International Conference on BioMedical Engineering and Informatics*, Tianjin, China, 4 pages(disk), October 17-19, 2009.
- [18] D. S. Kim, J. E. Park, J. K. Shin, P. K. Kim, G. Lim, S. Shoji, “An extended gate

FET-based biosensor integrated with a Si microfluidic channel for detection of protein complexes”, *Sensors and Actuators B*, vol. 117, pp. 488-494, 2006

[19] Guoguang Rong and Sharon M. Weiss, “Influence of Biomolecule Size on Performance of Nanostructured Sensing Devices”, *Proc. of SPIE*, vol. 6769, pp. 676909-1-10

