

國立交通大學

機械工程學系

碩士論文

不同共振模態頻寬之光子晶體於增強螢光之研究

**Study of fluorescence enhancement in photonic crystals with
different bandwidths of resonant modes**

研究生：吳諭安

指導教授：黃正昇 博士

徐瑞坤 博士

中華民國一百零三年九月

不同共振模態頻寬之光子晶體於增強螢光之研究

Study of fluorescence enhancement in photonic crystals with different bandwidths of resonant modes

研究生：吳諭安

Student : Wu, Yu-An

指導教授：黃正昇 博士
徐瑞坤 博士

Advisors : Dr. Huang, Chen-Shen
Dr. Hsu, Ray-Quen

國立交通大學
機械工程學系
碩士論文

A thesis
Submitted 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 2014
Hsinchu, Taiwan, Republic of China

中華民國一百零三年九月

不同共振模態頻寬之光子晶體於增強螢光之研究

學生：吳諭安

指導教授：黃正昇 博士
徐瑞坤 博士

國立交通大學機械工程學系（研究所）碩士班

摘 要

本論文發展光子晶體增強螢光基板使蛋白質微陣列晶片之偵測極限降低。目前由於要配合雷射激發光，許多增強螢光之光子晶體基板都使用窄頻共振模態之結構來達到較高的增強螢光。然而，建立寬頻共振模態結構的可能性是可以與寬頻光源匹配，如發光二極體，這可以做出更小型的螢光偵測系統。所以，本論文探討具有不同頻寬之共振模態的光子晶體基板，本論文的完成項目包含：1. 利用嚴格耦合波分析法來最佳化光子晶體的結構，2. 利用翻模技術與濺鍍製程製作大面積的光子晶體，3. 利用市售雷射螢光掃描機比較光子晶體增強螢光效益，4. 利用角度解析螢光系統比較不同頻寬共振模態之光子晶體增強螢光效益。

由雷射螢光掃描機量測結果可以得到光子晶體基板相對於普遍最常使用的玻璃基板可以有 33 倍的螢光增強；而由角度解析螢光系統量測結果，增強激發程度會與光子晶體之共振模態頻寬呈正相關，但這還需要更多實驗來驗證。

關鍵字：光子晶體、螢光增強

Study of fluorescence enhancement in photonic crystals with different bandwidths of resonant modes

Student : Wu, Yu-An

Advisors : Dr. Huang, Chen-Shen
Dr. Hsu, Ray-Quen

Department of mechanical engineering

National Chiao Tung University

Abstract

This thesis is attempted to develop a photonic crystal enhanced fluorescence(PCEF) platform to improve the detection limit for microarray applications. To date, many PCEF platforms use narrow band resonant mode structures to achieve higher enhancement because the laser is used as illumination source. However, the possibility of developing a broad-band resonant mode structures for broad-band light source illumination such as LED can be beneficial for compact fluorescence detection system. So, this thesis will discuss the PCEF with different bandwidths of the resonant mode. The works presented in this thesis includes: 1. Optimization the PC geometries based on Rigorous Coupled Wave Analysis(RCWA), 2. Fabrication of a large-area PC by replica molding and sputtering technique, 3. Evaluation of PCEF using commercial laser fluorescence scanner, 4. Comparison the PCEF with various bandwidths of resonance modes using angle resolved fluorescence set up.

The results from commercial laser scanner indicate that using PC slide can enhance the fluorescence by 33x compare to the most commonly used glass slides. From angle resolved fluorescence set up, we found the fluorescence enhancement is positive correlation to the bandwidth of the resonance mode, but needs more experiments to verify the result.

Key words: Photonic crystal, enhanced fluorescence

誌謝

碩士班兩年的生活結束了，這兩年是我求學生涯中學到最多的一段，卻也是最辛苦的一段，這兩年時間真的要感謝許多人的幫忙，如果沒有你們的幫助，我是不可能完成實驗與論文的。首先要謝謝黃正昇老師一路以來有耐心且循序漸進的指導，讓我可以從一開始完全不懂，到後來了解，並可以開始做實驗，雖然實驗過程中常常都不太順利，不過透過黃老師的指導，我最後終於可以有一些成果，並且寫完論文與通過口試，雖然我可能還有許多進步空間，但謝謝老師不只是關心我們的研究，也包括我們的生活，還有未來的發展，此外也感謝徐瑞坤老師與施閔雄老師，很樂意幫我口試與給予許多建議。再來要感謝我實驗的同伴柏聰同學，謝謝你在實驗上的許多幫忙，你總是可以補足我許多不足的地方，從你身上也學習到吃苦耐勞的精神，還有也感謝胤君同學，謝謝你教我們實驗室許多設備的操作，你也教了我們很多生物方面還有口試方面的東西。再來也要感謝在碩一時，幫我們訓練奈米中心機台的簡東甫、曲厚任、林柏融學長，還有吳沛修、胡文梁同學等，還有許多同學與學長是沒列出來的，謝謝你們的幫忙，讓我們可以順利考核過機台，並可以做實驗，也感謝奈米中心的黃國華先生、陳悅婷小姐，謝謝你們在製程上給我們許多的建議跟幫忙，也感謝實習工廠的莊晰欽先生，幫我們代工了許多東西，也感謝泰華科技的游智閔先生，總是很熱心地幫我尋找合適的光學元件。再來也要謝謝實驗室的學弟妹們，信安、智瑋、作群、逸凱、敬書，實驗室有你們的加入氣氛變得很歡樂，你們在我的實驗上也真的幫了很多。最後也要感謝一路支持我的家人和教會的弟兄姊妹以及我一路從大學到研究所的室友們，謝謝你們一直以來的支持跟關心。最後還是再次感謝幫助過我的各位，也希望透過各位幫忙所完成的這篇論文對實驗室學弟妹的研究可以有幫助。

目錄

中文摘要	I
英文摘要	II
誌謝	III
目錄	IV
圖目錄	V
表目錄	VII
第一章、前言	1
1.1 研究動機	1
1.2 文獻回顧	2
1.2.1 化學增強螢光	2
1.2.2 金屬增強螢光	4
1.2.3 波導增強螢光	6
1.3 研究目標	12
第二章、研究方法	14
2.1 實驗步驟	14
2.2 結構設計	15
2.3 光子晶體製造	17
2.4 光學特性量測	20
2.5 螢光增強實驗	21
第三章、模擬與實驗結果	24
3.1 光子晶體模擬	24
3.1.1 二氧化鈦厚度對共振波長位置之影響	25
3.1.2 二氧化矽厚度對共振波長位置之影響	26
3.1.3 Duty cycle 大小對共振波長位置之影響	27
3.1.4 窄頻共振模態結構模擬	28
3.1.5 寬頻共振模態結構模擬	30
3.2 翻模與濺鍍製作光子晶體	34
3.2.1 製程步驟與參數	34
3.2.2 結構形貌量測	36
3.3 市售雷射螢光掃描機螢光量測	38
3.3.1 光學特性量測	39
3.3.2 增強激發實驗	43
3.4 角度解析螢光量測	47
3.4.1 光學特性量測	48
3.4.2 增強激發實驗	51
3.4.3 增強萃取實驗	55
第四章、結論與未來工作	60
參考文獻	61
附錄	63

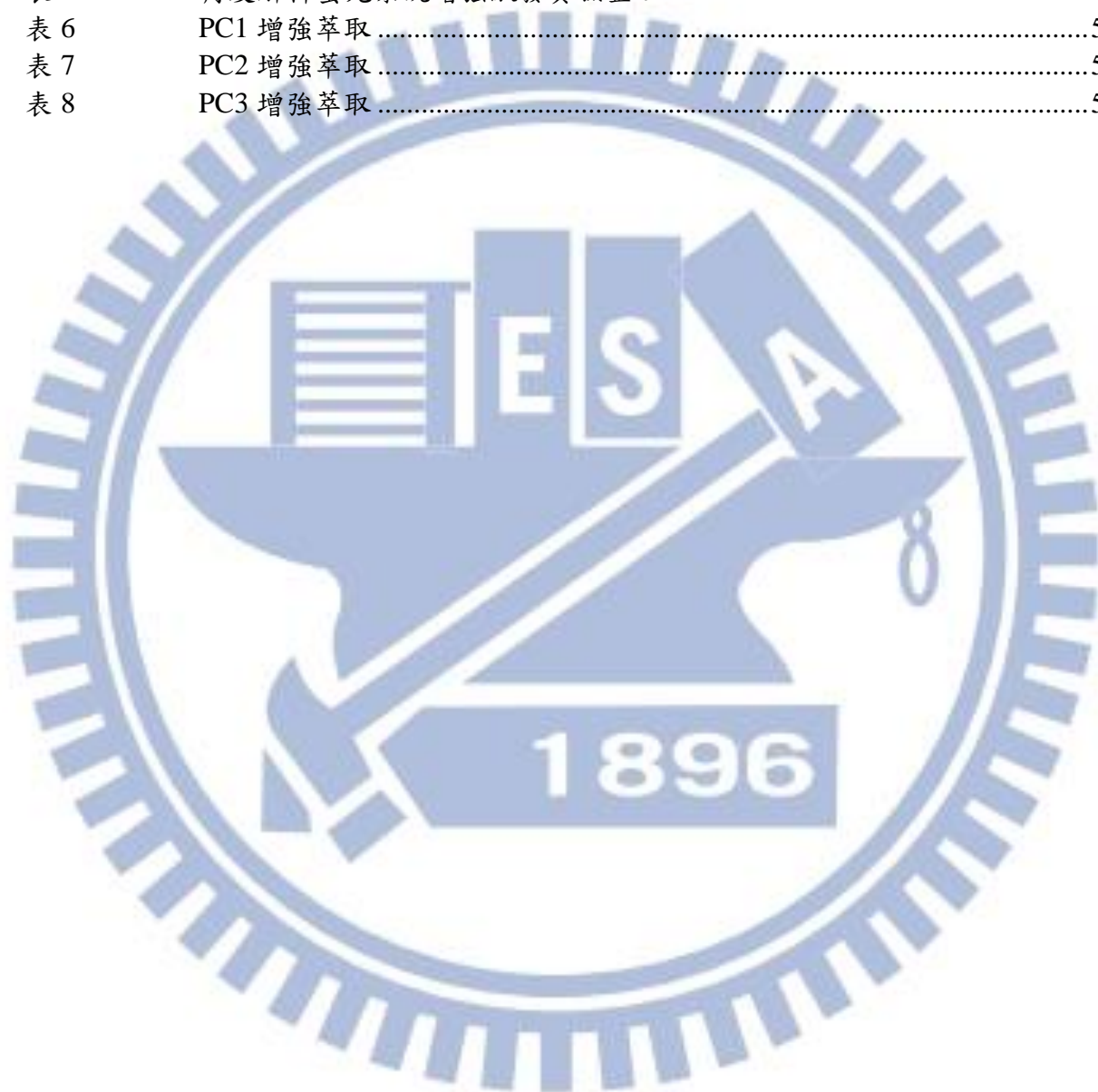
圖目錄

圖 1.1	滾環式擴增法	3
圖 1.2	TSA 訊號放大技術	3
圖 1.3	有金屬與無金屬時之光子模態密度	4
圖 1.4	螢光放射加入金屬後之影響	5
圖 1.5	平面光波導	6
圖 1.6	平面波導模態種類	7
圖 1.7	波導增強螢光元件	8
圖 1.8	導模共振	9
圖 1.9	波導光柵頻譜圖	9
圖 1.10	增強激發與增強萃取機制示意圖	11
圖 1.11	不同結構在各種入射角下之穿透率比較	12
圖 2.1	翻模技術製作之光子晶體結構	16
圖 2.2	電子束蒸鍍二氧化矽	19
圖 2.3	光學特性量測之之光學設置	20
圖 2.4	角度解析螢光量測系統	23
圖 2.5	酵素免疫分析三明治法	23
圖 3.1	橢圓儀量測	24
圖 3.2	母模之原子力顯微鏡量測	25
圖 3.3	二氧化鈦厚度對共振波長之影響模擬	26
圖 3.4	二氧化矽厚度對共振波長之影響模擬	27
圖 3.5	Duty cycle 大小對共振波長位置之影響模擬	28
圖 3.6	窄頻結構光子晶體 TM 偏振光零度入射時共振波長在 633 nm 模擬	29
圖 3.7	光源在不同入射角下照射窄頻結構之穿透率分布模擬	30
圖 3.8	寬頻結構光子晶體 TE 偏振光零度入射時共振波長在 633 nm 模擬	31
圖 3.9	光源在不同入射角下照射寬頻結構之穿透率分布模擬	32
圖 3.10	以 633 nm 光源零度入射之電場分布模擬	33
圖 3.11	翻模製作光子晶體流程圖	35
圖 3.12	二氧化矽濺鍍製程	35
圖 3.13	二氧化鈦濺鍍製程	36
圖 3.14	光子晶體外觀	37
圖 3.15	光子晶體結構形貌量測	37
圖 3.16	穿透量測光學設置	40
圖 3.17	光子晶體 TM 白光零度入射穿透率	41
圖 3.18	光子晶體以 633 nm 光源在-10 到 10 度入射之穿透率	42
圖 3.19	雷射螢光掃描機螢光量測	43
圖 3.20	PC1 與玻璃鍍二氧化鈦基板螢光強度分析	44
圖 3.21	角度解析螢光量測實驗設置	48
圖 3.22	光子晶體 TM 白光 633 nm 共振角入射穿透率	50
圖 3.23	光子晶體以 633 nm 光源在-10 到 10 度入射之穿透率	50
圖 3.24	增強激發實驗螢光光譜	52
圖 3.25	Cy5 螢光光譜與濾鏡波段	53

圖 3.26	增強激發實驗螢光強度分布	53
圖 3.27	無特定偏振寬頻光源以-14 到 14 度入射 PC2 之頻譜結構.....	56
圖 3.28	PC2 以零度激發並以-14 至 14 度偵測之螢光光譜分布	56
圖 3.29	PC2 共振模態與增強萃取實驗螢光光譜相對關係	58
附錄圖 1	相位光罩微影	64
附錄圖 2	相位光罩微影製作光子晶體流程	65
附錄圖 3	結構一寬頻 TE 波零度入射之穿透率	67
附錄圖 4	結構一之頻譜結構	67
附錄圖 5	結構一以 633 nm 波長光源照射在不同角度下之穿透率	67
附錄圖 6	結構一以 633 nm 波長激發共振時之電場分佈與載玻片比較	68
附錄圖 7	結構二寬頻 TM 波零度入射之穿透率	69
附錄圖 8	結構二之頻譜結構	69
附錄圖 9	結構二以 633 nm 波長光源照射在不同角度下之穿透率	69
附錄圖 10	結構二以 633 nm 波長激發共振時之電場分佈與載玻片比較	70
附錄圖 11	矽基板上之光柵結構	71
附錄圖 12	掃描式電子顯微鏡量測矽基板光柵結構	72
附錄圖 13	蝕刻後的矽基板形貌	72
附錄圖 14	玻璃上之光柵結構	73
附錄圖 15	原子力顯微鏡量測玻璃基板光柵結構	74

表目錄

表 1	市售雷射螢光掃描機螢光量測試片整理	39
表 2	增強激發螢光強度	45
表 3	光子晶體在零度與二十度激發之螢光強度除以其他基板	46
表 4	總增強	46
表 5	角度解析螢光系統增強激發實驗整理	54
表 6	PC1 增強萃取	58
表 7	PC2 增強萃取	59
表 8	PC3 增強萃取	59



第一章、前言

1.1 研究動機

螢光是在生物感測上用來標記生物分子的重要工具，由於其具有高靈敏度、優良的偵測極限，並且能很容易被整合到各種生物感測系統中之優點，讓它非常廣泛的被應用在生命科學相關研究上，如基因表現分析(Gene expression analysis)、蛋白質分子檢測(Molecular diagnostics)、細胞顯微技術(Cell microscopy)等。螢光偵測的作用機制是利用一激發雷射光去激發螢光分子，螢光分子會被激發至激發態，當其回到基態時會放出光子並產生螢光，並被螢光偵測器偵測到，由其螢光強度可以算出被標記的生物分子之濃度。在螢光的研究當中，由於有許多因素會限制螢光的偵測，包括螢光分子本身的量子產率(quantum yield)與光穩定性(Photostability)、樣本的自體螢光(Autofluorescence) [1]，與生物分子本身的濃度過低導致鍵結螢光分子太少導致不易偵測等，因此增強螢光在螢光相關之研究一直是個重要課題。

較為常見的增強螢光的方式大致分成三種類型，分別為化學增強螢光，金屬增強螢光，以及波導增強螢光，本文將使用波導增強螢光，在本章將說明其原因。在光子晶體增強螢光的研究中，目前可看到較多使用的是具有窄頻共振模態之光子晶體，由於寬頻模態品質因子較低，所以很少人使用寬頻模態之光子晶體來增強螢光，所以還並不是很確定其在增強螢光上是否可行，但就其共振模態之穿透率來說，利用寬頻光來激發之，應是可以符合達到激發共振之效果，此外，由於科技之進步，便宜的寬頻光源如發光二極體越來越多應用在生物感測，若其可以應用在螢光增強，並適當整合光源、試片與偵測設備的平台，將有許多可能性，例如可以縮小螢光增強偵測系統之體積與降低螢光偵測設備之成本。

1.2 文獻回顧

增強螢光的方式大致有三種類型，分別為化學增強螢光，金屬增強螢光 (Metal-enhanced fluorescence, MEF)及波導增強螢光。

1.2.1 化學增強螢光

本節將介紹兩種化學增強螢光的方式，分別為滾環式擴增法(Rolling circle DNA amplification, RCA)，與 TSA 訊號放大技術(Tyramide signal amplification, TSA)。

滾環式擴增法是 Paul Lizardi 於 1995 年所發明，此方法為一種訊號放大技術，可增加螢光偵測之靈敏度，如圖 1.1 所示。使用時須加入作為引子的 DNA(去氧核糖核酸，deoxyribonucleic)片段、環狀 DNA 模板、DNA 聚合酶(Polymerase)與核苷酸(nucleotides)，透過 DNA 引子與抗體連結，再與待測目標和環狀 DNA 連結，複製出一長條單股 DNA，最後再以許多與這條單股 DNA 互補的螢光標記物鍵結，產生訊號放大的效果[2]。

TSA 訊號放大技術是由美商公司 PerkinElmer 所發展的一項專利技術[3]，如圖 1.2 所示，使用時步驟是先將待測抗原固定基板上，之後加入一級抗體與待測抗原鍵結，再加入已連結 HRP 酵素(Horseradish peroxidase)的二級抗體，與一級抗體鍵結，最後加入已鍵結螢光染劑之 TSA 訊號放大試劑(Tyramide)，Tyramide 可以被 HRP 活化，而活化的 Tyramide 會變得極不穩定並迅速地與鄰近的 Tyrosine 產生共價鍵結，並產生以待測抗原至 HRP 的結構為中心之樹狀結構，達到訊號放大之效果。

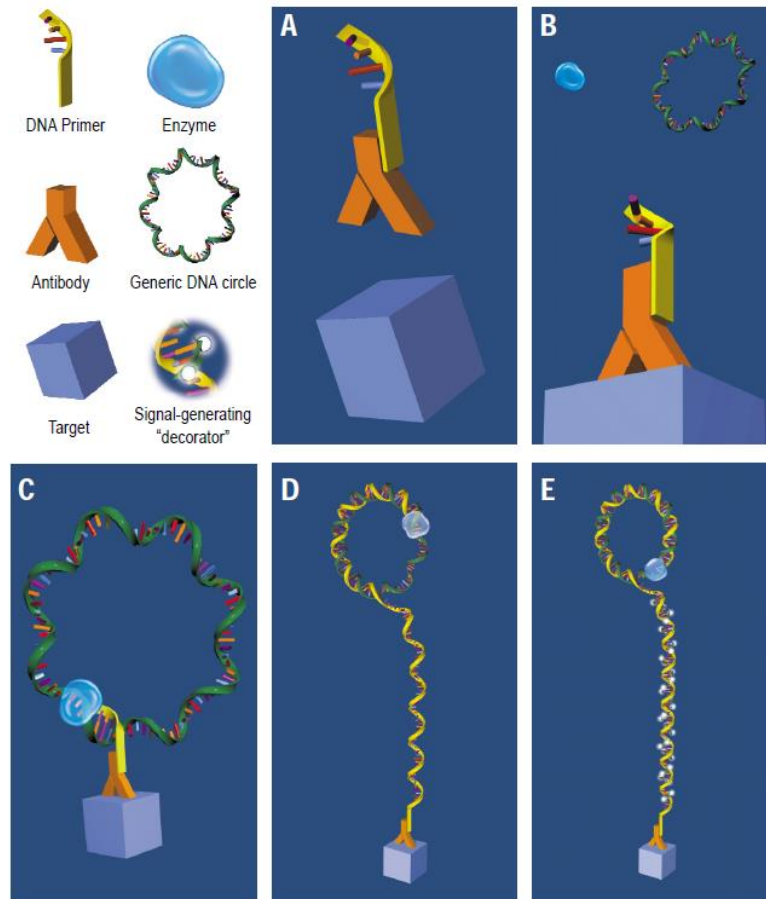


圖1.1 滾環式擴增法，(A)引子與抗體結合(B)抗體連結至目標物(C)引子與環狀 DNA 雜交(D)引子透過 DNA 聚合酶在環狀 DNA 上複製出一長條互補的單股 DNA(E)利用螢光標記物與長鍊單股 DNA 鍵結[4]。

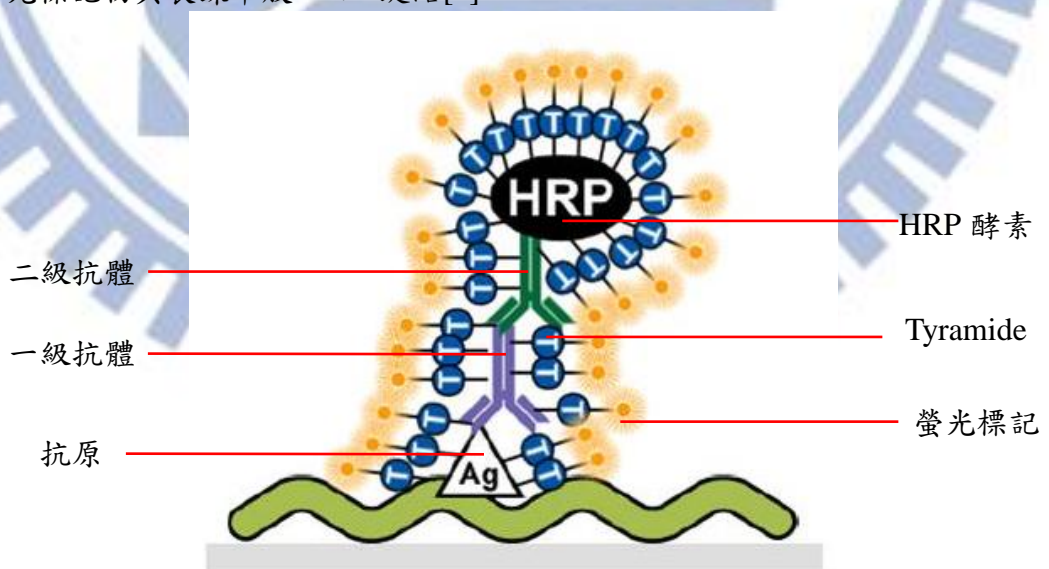


圖1.2 TSA 訊號放大技術[3]

1.2.2 金屬增強螢光

金屬增強螢光之研究大約從 1980 年代開始[5]，當金屬作為螢光系統之基材時，螢光分子會與金屬之表面電漿產生一些交互作用，進而增加激發電場與輻射衰減率 (Radiative decay rate, Γ)，輻射衰減率為螢光分子放射光子之速率，且其與光子模態密度 (Photonic mode density) 呈正相關，如圖 1.3，當螢光分子在有金屬的環境下被激發，輻射衰減率會增加並增強螢光，但其螢光存在時間 (Fluorescence lifetime, τ) 會降低。

螢光分子附近有無金屬時所產生之效應可以用捷布朗斯基圖 (Jablonski diagram) 來表示，如圖 1.4 所示，在無金屬時，螢光分子由基態 S_0 受到激發電場 (E) 激發到較高階的激發態 S_1 ，之後部分螢光分子以輻射衰減率放出光子，另一部分以非輻射衰減率 (Non-radiative decay rate, k_{nr}) 回到基態。而當螢光分子在鄰近金屬的表面或顆粒時，會產生三種不同的能量傳遞路徑，分別為金屬導致的增強電場 (E_m)、金屬導致的輻射衰減率增加 (Γ_m)，與金屬導致之抑制 (Quenching by the metal, k_m)，這些效應的總和將有可能增加或減少螢光的強度。

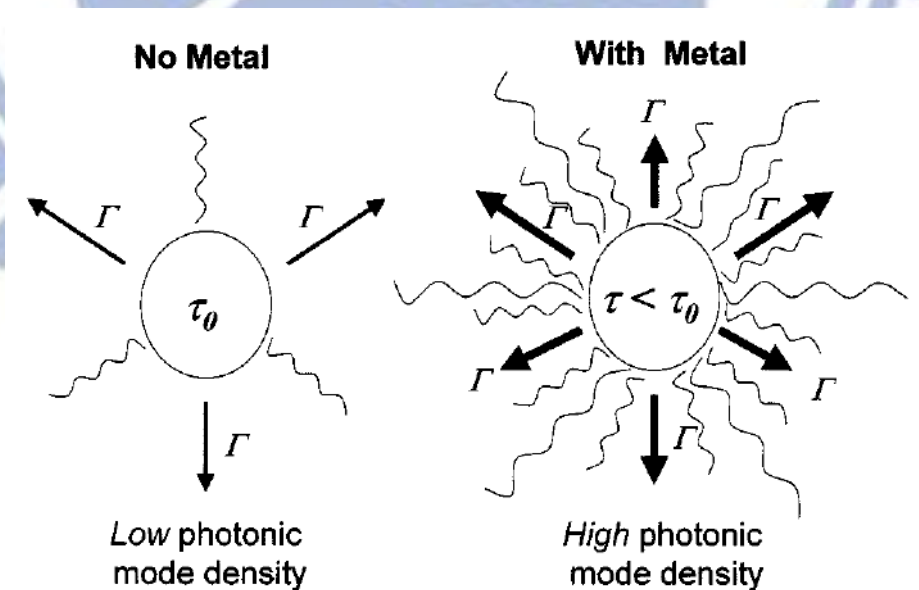


圖1.3 有金屬與無金屬時之光子模態密度[5]

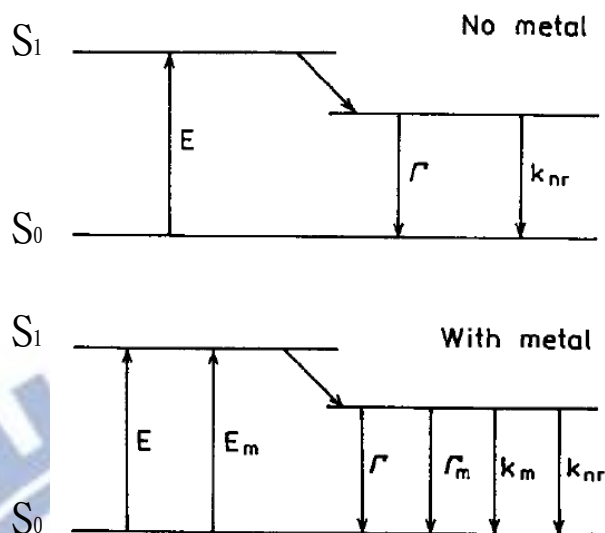


圖1.4 螢光放射加入金屬後之影響，不加金屬(上)與加金屬(下)，E：激發電場，當金屬與螢光分子距離在 5 nm 以上時， k_m 可以忽略[6]。

螢光分子與金屬間之距離對金屬增強螢光的結果有很大的影響，尤其當金屬與螢光分子非常靠近時，螢光強度會由於金屬導致之抑制(k_m)而快速降低[7]。量子產率 (Quantum yield, Q) 是由輻射衰減率(Γ)與非輻射衰減率(k_{nr})的比率決定[5]，不含金屬與含金屬時之量子產率(Q_0, Q_m)，即螢光強度，可分別表示如下(式 1, 2)[1]：

$$Q_0 = \frac{\Gamma}{\Gamma + k_{nr}} \quad (1)$$

$$Q_m = \frac{\Gamma + \Gamma_m}{\Gamma + \Gamma_m + k_{nr}} \quad (2)$$

而不含金屬與含金屬之螢光存在時間(τ_0, τ_m)可分別表示如下(式 3, 4)[1]：

$$\tau_0 = \frac{1}{\Gamma + k_{nr}} \quad (3)$$

$$\tau_m = \frac{1}{\Gamma + \Gamma_m + k_{nr}} \quad (4)$$

在式(2)與式(4)中，皆沒有考慮 k_m ，所以有 Γ_m 時，一定會使 Q 增強，且使 τ 減少，但若考慮 k_m 時，Q 將有可能增加或減少。

1.2.3 波導增強螢光

波導是一種光學元件，在此舉平面波導(Planar waveguide)為例來介紹波導之特性[8]，平面波導在分析上定義為無限延伸的三層不同折射率之結構，如圖 1.5 所示， $|x| < a$ 層稱為芯層(Core)， $|x| > a$ 的兩層分別為基層(Substrate)與包層(Clad)，芯層、基層與包層的折射率分別為 n_0 、 n_s 和 n_c ，且 $n_0 > n_s > n_c$ ，依其入射角 θ 的不同，可以分為三種模態，如圖 1.6 所示，由司乃耳定律(Snell's law)可知，當光在其中傳遞的入射角 $\theta > \sin^{-1} \frac{n_s}{n_0}$ 時，光可以在其中全反射傳遞，稱為導模態(Guided mode)，而當 $\sin^{-1} \frac{n_s}{n_0} > \theta > \sin^{-1} \frac{n_c}{n_0}$ 時，基層會有光洩漏出去，稱為基層輻射模態(Substrate radiation mode)，而當 $\theta < \sin^{-1} \frac{n_c}{n_0}$ 時，基層與包層皆會有光洩漏出去，稱為基層包層輻射模態(Substrate-clad radiation mode)，一般來說若作為波導都希望能量損耗最小，但具有洩漏模態(Leaky-mode)的波導其實可以有一些特殊的應用，如增強螢光。

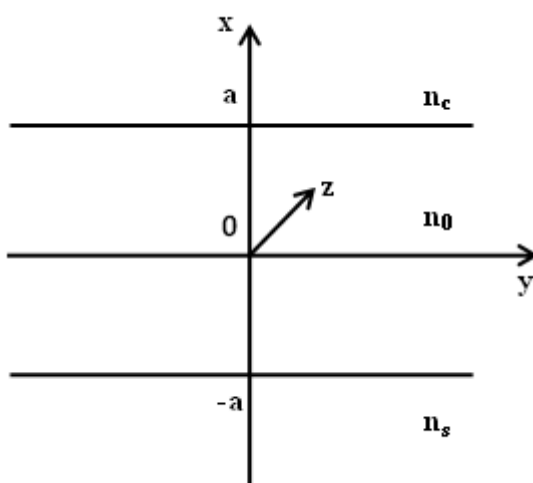
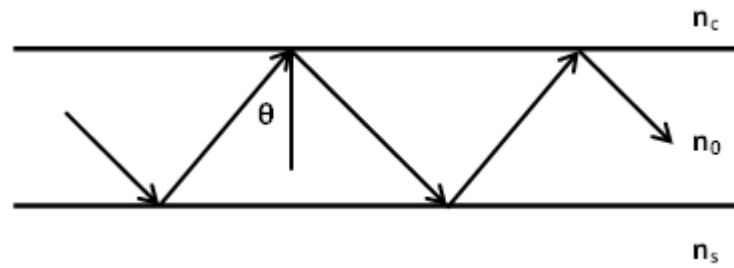
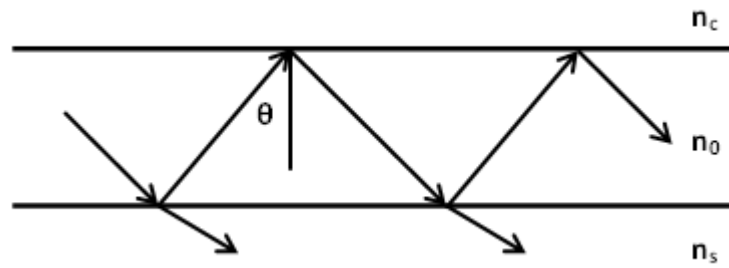


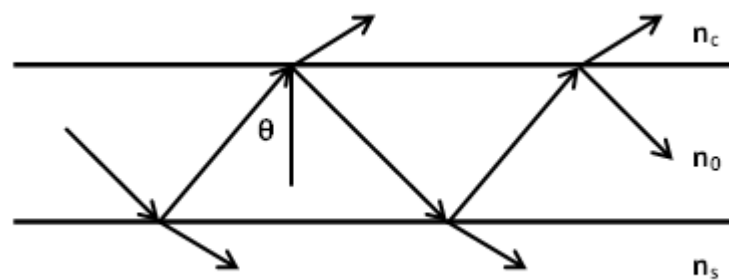
圖 1.5 平面光波導



(a)



(b)



(c)

圖1.6 平面波導模態種類，(a)導模態(b)基層輻射模態(c)基層包層輻射模態

波導增強螢光有別於透過金屬表面與激發光作用產生表面電漿，進而增強螢光分子鄰近電場來增強螢光激發的方式，而是透過使激發光耦合到波導結構中，進而增強螢光分子之鄰近電場[9]，如由 Holland 與 Hall 在 1985 年提出之 waveguide mode enhancement of molecular fluorescence[9]，其元件如圖 1.7，是由玻璃基板，銀與氟化鋰構成之三層結構，氟化鋰層折射率較銀與空氣高，可以視為蕊層，入射激發光會耦合到其中，並增強其螢光分子 Rhodamine B 之鄰近電場。

如同波導增強螢光，在波導上加上光柵結構，就是所謂的波導光柵(Waveguide grating)，這使激發光可以輕易的耦合到波導中，此方法又稱為光子晶體增強螢光

(Photonic crystal enhanced fluorescence, PCEF), 其以兩種機制來增強螢光[10], 分別為增強激發與增強萃取, 這兩個機制都是來自導模共振(Guide mode resonance, GMR)[11]的應用, 如圖 1.8 所示, 當入射光以適當角度與波長入射此結構時, 會耦合到此介電層的共振模態中, 在其中傳遞, 然後又很快地以特定角度輻射到外部, 此時背向輻射(D-)會與零階反射光(R)有建設性干涉, 而正向輻射(D+)會與零階穿透光(T)有破壞性干涉, 於是入射光產生零穿透, 所以其頻譜圖在特定波長會有高反射, 如圖 1.9 所示, 由於導模共振元件在特定波長與偏振時具有高反射的特性, 所以其實也被應用在作為濾波器、偏振片、垂直腔面雷射之反射鏡、生物感測器、環境與化學感測器等[12, 13]。

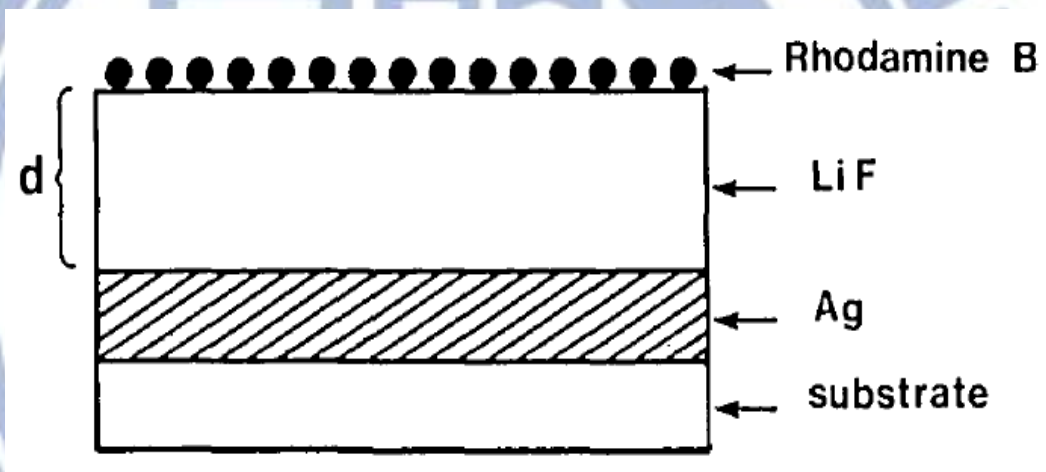


圖1.7 波導增強螢光元件[9]

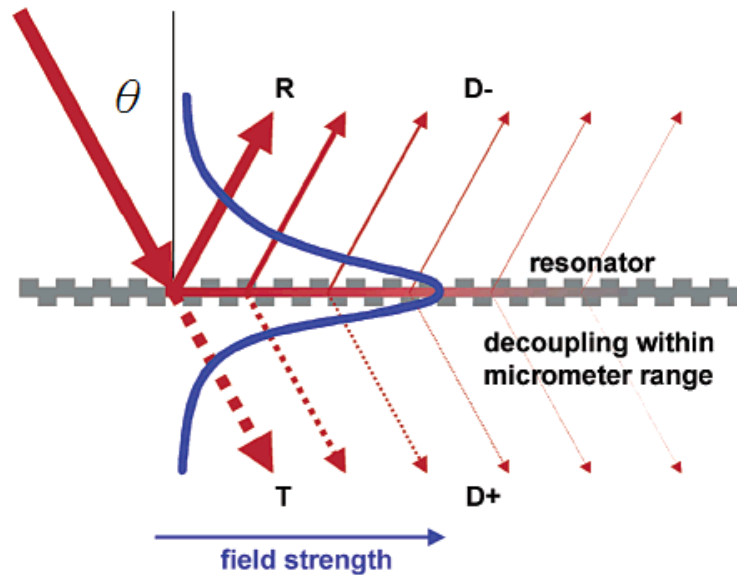


圖1.8 導模共振，入射光被耦合到光柵結構中，以漸逝波傳遞一段距離後被輻射至外部[14]

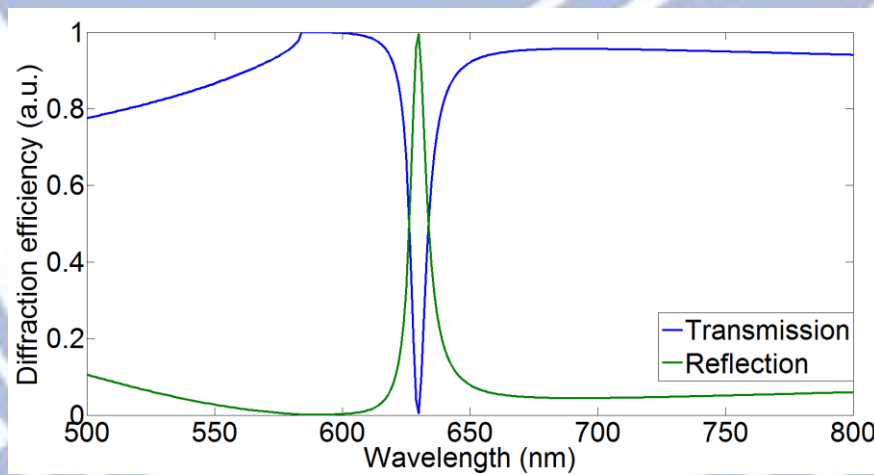


圖1.9 波導光柵頻譜圖，寬頻光源以零度入射一波導光柵之穿透與反射率分布

在光子晶體增強螢光的兩個機制中，第一個機制增強激發，如圖 1.10(a)所示，是指當雷射激發光可以耦合到結構的共振模態，由於其所帶的能量被集中且在介電層中傳遞，其漸逝域會延伸到結構表面，並使光子晶體表面的電場有明顯的增加[15, 16]，且增加螢光分子之吸收率[17]，螢光的放射強度與激發光之電場強度成正比，所以當光子晶體周圍電場增強就可以增強螢光的放射。此時之入射波長與入射角分別定義為共振波長與共振角[11, 12]，其共振波長可以在計算出結構之等效波導折射率(Effective guide index, n_{eff})後，利用導模共振之發生條件(式 5)來求得[18]：

$$n_c \sin \theta = \frac{\lambda}{\Lambda} - n_{eff} \quad (5)$$

其中 n_c 為空氣之折射率， λ 為入射光波長(共振波長)， Λ 為結構之週期， θ 為入射角(共振角)， n_{eff} 為耦合模態的等效折射率，是入射光之波長與偏振的函數，還有波導層厚度與折射率的函數。

第二個機制增強萃取，如圖 1.10(b)所示，是指螢光在放射時，可以耦合到光子晶體之共振模態，且其特定波段的螢光會有特定的放射方向，如此可以使螢光更有效的被導向螢光偵測儀器[19]，而在一般玻璃基板上做螢光偵測，如圖 1.10(c)，由於雷射光與螢光與玻璃皆不會產生導模共振效果，所以不會有螢光增強。利用增強激發與萃取這兩種增強螢光的機制，將可以降低偵測極限，增加訊噪比，且相較於一般玻璃基板其螢光訊號可以增加至百倍以上[20]。

漸逝共振晶片(Evanescent resonator chip, ER chip)是光子晶體增強螢光的一個例子，其具有寬頻的共振模態，通常窄頻共振模態光子晶體的共振角度範圍都很小，需要讓激發光精準的與元件對準才能增強螢光，且可能造成增強螢光不均勻，而利用 ER chip 可以克服此一限制。透過適當設計結構，增加其光柵深度或降低波導層厚度，可以使能夠產生共振之角度的範圍變大，且設計成零度即可以激發共振，如圖 1.11 所示，在其光柵

深度為 70 nm 時，其穿透率頻譜圖之半高寬(Full width half maximum , FWHM)最寬，使得雷射激發螢光的入射角之容許激發角度範圍較廣，對於大面積的微陣列可以有均勻的螢光激發[18]。

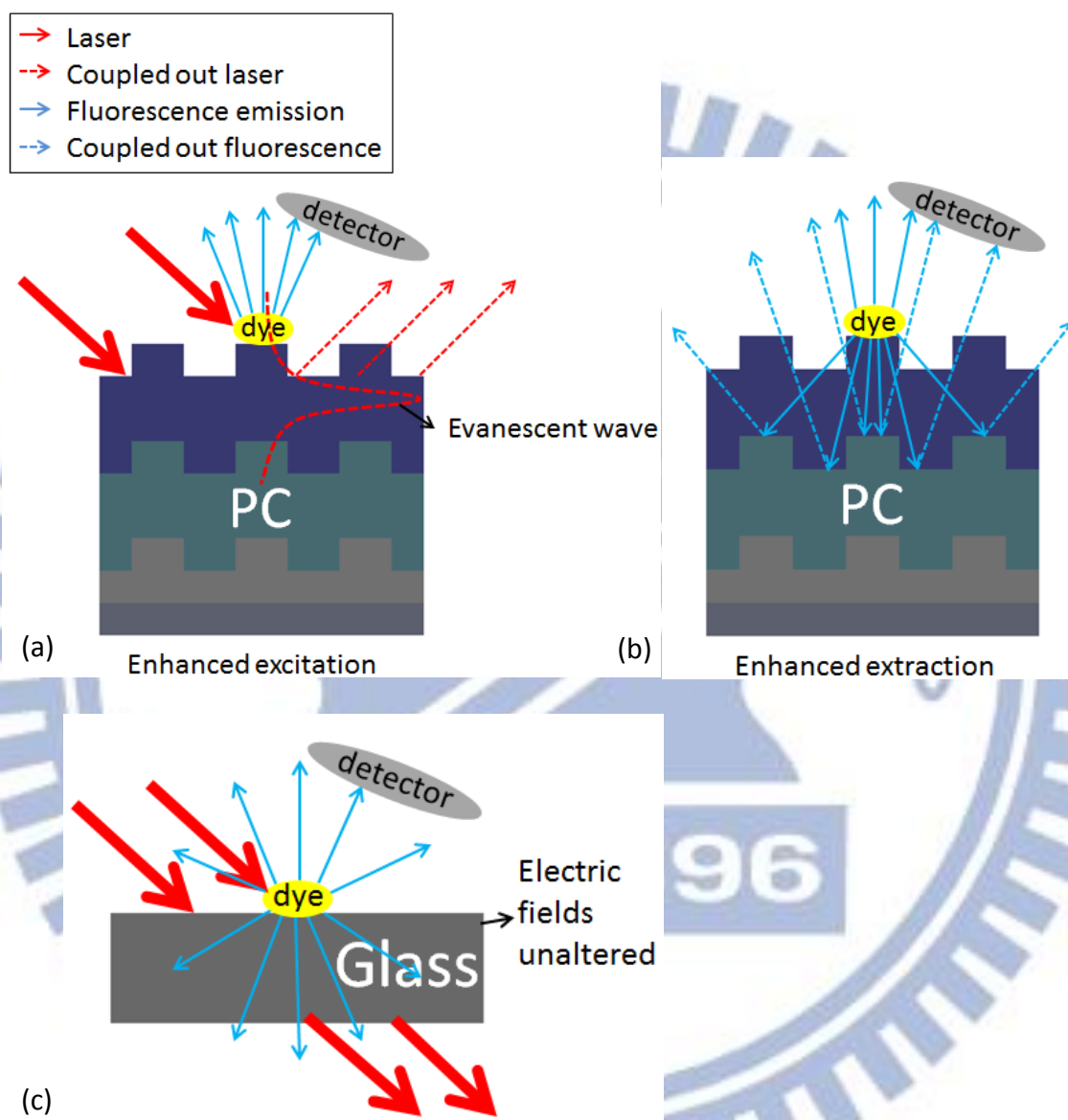


圖1.10 增強激發與增強萃取機制示意圖，(a)增強激發示意圖，激發雷射耦合到光子晶體之共振模態中並增強表面電場進而增強螢光之激發，(b)增強萃取示意圖，朝光子晶體放射的部分螢光被耦合到光子晶體之共振模態中，之後再被耦合出來並導向偵測器，(c)玻璃基板，由於雷射激發光與螢光不會與玻璃基板產生共振，所以沒有增強螢光效果

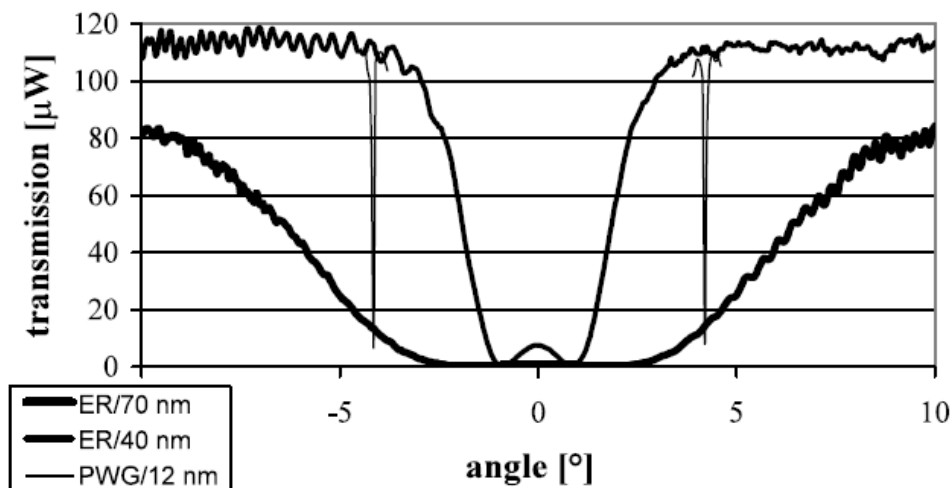


圖1.11 不同結構在各種入射角下之穿透率比較，兩個不同光柵深度的漸逝共振晶片，分別為 70 nm 與 40 nm，與一個光柵深度 12 nm 之平面波導晶片在不同激發光入射角下之穿透率分布，可看出漸逝共振晶片頻譜結構的半高寬會比較寬[18]

1.3 研究目標

綜合以上的文獻，螢光增強有分化學與物理方式，化學方式有酪胺放大跟滾環式擴增法，這兩種方法都能有效增強螢光，但缺點是需要大量化學試劑與繁雜的步驟。而物理性方法通常是使用特殊基板取代一般的載玻片，基板可以分為兩種，金屬與波導基板，金屬基板是利用表面電漿，大幅提高螢光的激發與使螢光有方向性的放射，但缺點是當螢光分子太靠近金屬層時，會有金屬的抑制，導致螢光反而減弱；本論文是採用波導增強螢光中的光子晶體來增強螢光，其是利用波導光柵結構，使入射光耦合到其表面介電層並在其中共振，利用其漸逝域來增強表面電場，並螢光的激發，其優點是單一結構即可以與多種波長匹配且低損耗[21]、不會抑制螢光分子[22]，與可以提供較高之品質因子(Quality factor, Q)，使其激發電場更強[23]。另外，現在在即時偵測與重點照護檢驗(Point-of-care Testing, POCT)觀念的帶動下，螢光偵測也朝著系統微小化發展，而利用有機發光二極體(Organic light emitting diode)取代傳統雷射激發螢光，將可以使螢光偵測系統微小化，已經有研究設計出一個有機發光二極體可以激發連結抗體之螢光分子，並

有和一般螢光系統相同的靈敏度與專一性[24]。所以，本論文的目標是希望能分別製作出可與激發光波長匹配之具有寬頻與窄頻共振模態的光子晶體，來增強螢光之激發，並利用兩種不同的螢光偵測系統來偵測螢光，分別為微陣列掃描機，與自組的螢光偵測系統，其以氬氙雷射為光源並以光譜儀偵測螢光之強度，本論文將針對這兩個結構分別在增強激發時增強螢光的程度，以及能夠有增強激發效果的激發角度範圍做探討，驗證寬頻結構之可行性。



第二章、研究方法

2.1 實驗步驟

本論文之研究步驟主要包含四點：1. 結構設計，使用 RCWA 法最佳化光子晶體之結構，找出合適的光子晶體結構參數，以使激發光源與螢光波長匹配。2. 光子晶體製造，本實驗室在光子晶體製造的階段，曾用過兩種方式，分別為相位光罩微影技術，以及翻模技術，前者是使用相位光罩微影技術在二氧化矽基板上定義出光柵圖案，並用後續蝕刻與鍍膜製程製作出光子晶體元件，而後者是以 PET(聚對苯二甲酸乙二酯，Polyethylene-terephthalate)作為基板，並利用翻模技術做出光柵結構，再利用鍍膜製程鍍膜製作出光子晶體元件。3. 光學特性量測，量測光子晶體之光學特性，利用寬頻光測試光子晶體元件之穿透率，找出元件在激發光分別為橫向電波(Transverse electric wave, TE wave)與橫向磁波(Transverse magnetic wave, TM wave)時的共振波長，並量測其在不同入射角下的穿透率與建立其頻譜結構。4. 螢光增強量測，首先利用微陣列掃描機分別量測寬頻與窄頻光子晶體在共振與非共振時螢光的強度，與其可以有增強激發的激發角度範圍，並與不同之微陣列基板上之螢光強度比較，之後使用角度解析螢光系統，同樣比較兩種光子晶體結構其在共振與非共振時螢光的強度，與其可以有增強激發的激發角度範圍，並再與微陣列掃描機所得結果作比對。

2.2 結構設計

依據製造技術的不同，與製程上的限制，光子晶體的結構也會有所不同，但大原則是需要有一層高折射率層作為波導層，並覆蓋在一層低折射率層上，本論文主要會用到之高折射率材料為二氧化鈦，其生物相容性、物理與化學的穩定性使其有廣泛的應用[25]，二氧化鈦在 633 nm 波長下折射率約為 2.49，常被用來作為光學薄膜之高折射率層的材料[26]，另外在此會用到的低折射率材料為二氧化矽，在 633 nm 波長下其折射率約為 1.46，也是經常被用來作為光學薄膜之低折射率層的材料[26]。

本論文中，利用翻模技術製作之元件結構如圖 2.1，其利用二氧化鈦作為波導層，而二氧化矽層除了作為低折射率層外，也是用來增加二氧化鈦與 Norland 68(Norland products)和 PET 間的距離，Norland 68 是一種翻模專用的光學黏膠，因為這些聚合物材質在被紫外光或甚至可見光激發時都會產生自體螢光[27, 28]，使螢光偵測之背景螢光變強，並降低螢光偵測之訊噪比，所以當待測物濃度很低，導致鍵結螢光很少，且螢光很弱時，就有可能會被背景螢光覆蓋掉，此外因為我們所使用之 Norland 68 的折射率為 1.556，較二氧化矽層的折射率 1.46 還要高，使得激發光可能會在 Norland 68 層產生共振，影響共振模態的穿透光譜結構，所以二氧化矽層需要有一定的厚度來增加二氧化鈦與 Norland 68 的距離，降低 Norland 68 層對二氧化鈦層之影響。

本論文是利用套裝軟體(Rsoft , Diffraction mode)來模擬此元件之特性，這套軟體是利用 RCWA 來找出光子晶體之共振波長，RCWA 是用來分析光柵之繞射特性的一種方法，可以預測結構之穿透、反射，與電場分布[29]。模擬的目的是預測光子晶體之共振波長的位置，及了解結構在改變參數時穿透率的變化，以利後續實驗能做出具有 633 nm 之共振波長的元件，這些參數包含二氧化矽層厚度、二氧化鈦層厚度、光柵週期、光柵深度、duty cycle 等，本論文將分別模擬具有寬頻與窄頻共振模態之光子晶體元件，與

使其共振波長在 633 nm 之結構參數，在 3.1 節將詳細說明模擬的結果。

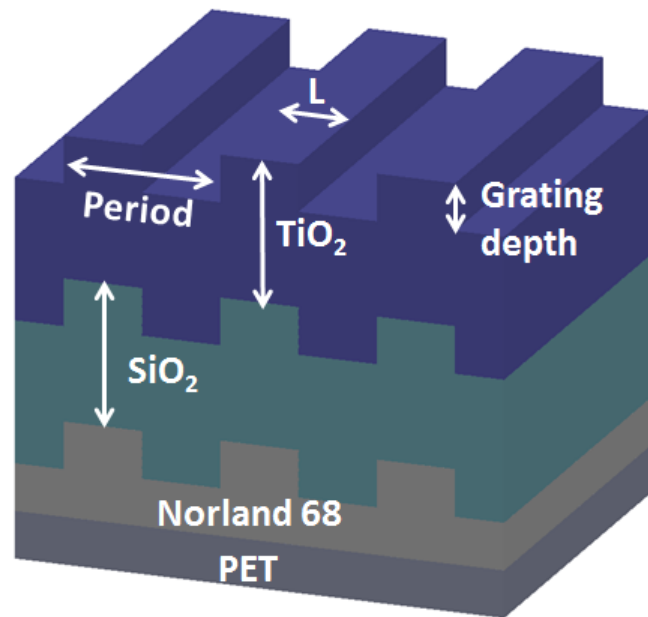


圖2.1 翻模技術製作之光子晶體結構，L/週期：duty cycle

2.3 光子晶體製造

製作具有次微米之光柵結構的光子晶體有許多方法，不外乎先定義好基板的結構，接著將需要的材料沉積到基板上，以下將介紹與比較五種不同的定義圖形之微製造技術，與三種鍍膜技術：1. 電子束微影(Electron beam lithography)，是利用電子束在光阻上直接刻劃出想要的圖形，再進行蝕刻製程並去光阻，這可相當精準地做出想要的圖形，但相當耗時且昂貴，只會在需要少量樣本時使用[30]。2. 深紫外線微影(Deep ultraviolet lithography)[31]或極端紫外光微影(Extreme ultraviolet lithography)[32]，是利用較短波長的光源來曝光，可以使定義圖形的解析度分別降至 200 nm 與 50 nm，但這兩項技術的曝光機台也是相當昂貴，在業界或尖端研究機構才比較有可能使用到。3. 奈米壓印微影(Nanoimprint lithography, NIL)，是有別於利用曝光來改變光阻化學性質的技術，而是利用模具擠壓光阻並改變光阻之結構，再利用活性離子蝕刻將圖形轉移到基板上，這項技術可以定義出 10 nm 以下的圖形，並可以進行大量製造[33]，但其缺點是許多步驟都需要精準地控制。4. 相位光罩微影(Phase mask lithography, PML)，是利用干涉的方式在光阻上定義圖形，其光罩和一般光罩不同，上面會有週期性的光柵結構，使曝光光源產生繞射，並互相干涉，呈現強弱強弱的分布，使光阻接收到的能量不同，以此來定義週期性的圖形，相較於其他製造技術，PML 在製作光柵結構之光子晶體時具有低價格與生產快速之優點[34]，只需要一道曝光的步驟即可做出次微米線寬之光柵結構，本論文一開始即是使用此法來製作光子晶體，但由於顯影時一直無法解決光阻殘餘的問題，無法進行後續蝕刻，所以最後採取翻模來製作光子晶體，相位光罩微影的詳細製作流程請參考附錄一。5. 翻模(Replica molding)，是利用 Norland 塗佈在所要複製的模板上，再覆蓋上基板，並利用紫外光使其固化，最後再連同基板與 Norland 一同移除即完成[35]，相較於前面所提到之奈米壓印微影，其優點是不需要進行蝕刻，且具有可以大量製作、

便宜與製作容易的特性，所以本論文選擇此方法。

在定義好基板的結構之後，以本論文用翻模製作的結構來說，需要再鍍上一層二氧化矽與一層二氧化鈦，可能的方式有三種：1. 電子束蒸鍍(Electron beam evaporation)，這是一種物理氣相沉積(Physical vapor deposition, PVD)的鍍膜技術，利用高能電子束撞擊靶材，使靶材顆粒蒸發並附著到試片上，本實驗室使用電子束蒸鍍系統沉積二氧化矽時，發現其鍍率相當不穩定，當然鍍完結果試片表面非常粗糙，如圖 2.2 所示，此外，在蒸鍍的過程中，腔體溫度逐漸升高，也使塑膠試片有變質的顧慮，但是蒸鍍二氧化鈦其實有相當多研究指出可以做出連續型均勻分布且高品質的二氧化鈦薄膜，但是也需要加上高溫退火處理[36]。2. 直流濺鍍(DC Sputtering)，這也是物理氣相沉積的一種，是在靶材上加負電壓，並在腔體中通氬氣，使其撞擊靶材，使待鍍材料表面之原子脫離，並沉積到試片上，但由於待鍍原子被撞擊出的方向不固定，導致其階梯覆蓋率不佳，本實驗室使用這項技術時，也發現有這種情形，但其鍍出來的薄膜厚度與折射率都相當穩定。3. 原子層沉積(Atomic layer deposition, ALD)，利用原子層沉積技術沉積二氧化鈦已有相當多的研究，在不同製程溫度下鍍出來的二氧化鈦薄膜，由於結晶性的不同，會有不同的折射率[37]，有別於前面兩種物理氣相沉積的鍍膜技術，其鍍膜的過程是不連續的，是一次循環只有一層原子的堆疊，其原理是利用前驅物質(Precursor)與待鍍基材表面形成化學鍵結，然後再通入另一種前驅物質，與之鍵結並形成一層薄膜，每次通入前驅物質後皆會利用氬氣將多餘的前驅物質去除，這項技術的最大特點為階梯覆蓋性良好，可以在高深寬比的結構上均勻的鍍上薄膜，但缺點是在於鍍率緩慢，不適用於大量且厚膜的沉積。以上三種方法，本實驗室已嘗試使用過電子束蒸鍍和直流濺鍍，來製作二氧化矽和二氧化鈦薄膜，在電子束蒸鍍的部分，如前所述，本實驗室過去在使用這項技術時，鍍出來的薄膜都較為粗糙，此外，其電子束在對準靶材時是需要人工操作，且

要同時監控鍍率，隨時調整電壓，只要電子束位置有移動鍍率可能就會改變，所以暫時不繼續採用。另外在直流濺鍍的部分，其濺鍍過程只需監控真空值與鍍率，這通常都很穩定，且鍍出來的膜也較為均勻，折射率也正常，較大的問題是階梯覆蓋率不是很好。本論文還未使用過原子層沉積來鍍膜，其應該可以改善階梯覆蓋的問題，但由於本論文的光子晶體在結構之設計上，其薄膜厚度動輒 100~200 nm，用原子層沉積，恐怕相當耗時，但未來若設計具有較薄之膜厚的結構，就可以嘗試這項技術來沉積。

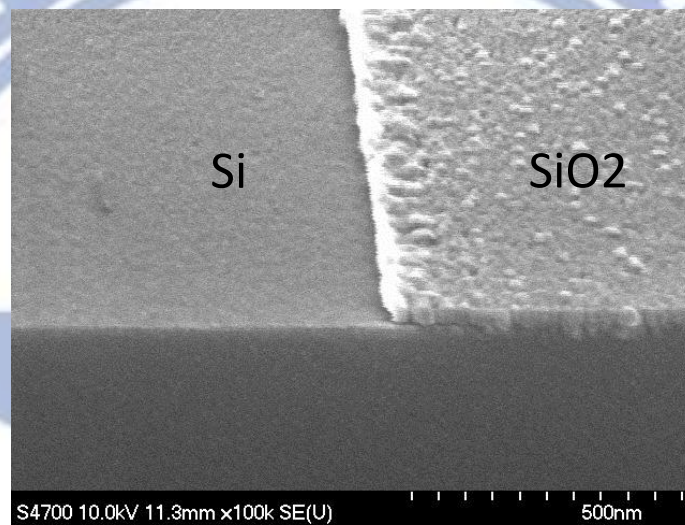


圖2.2 電子束蒸鍍二氧化矽

2.4 光學特性量測

當製作完成光子晶體，並確認其結構接近所模擬的結構後，即進行光子晶體之光學特性量測，確認其共振波長是否可以達到 633 nm，若無法達到，則需要再重新模擬其結構，並透過此次的二氧化鈦厚度與共振波長位置去預測可以達到共振波長在 633 nm 的結構參數，其光學設置如圖 2.3 所示，其由左而右依序為：1. 寬頻光源，使用寬頻白光 (Broadband white light, Ocean optics) 以光纖連接準直器 (collimator) 作為光源照射光子晶體。2. 偏振片，利用線性偏振片 (Polarizer, Newport, 10LP-VIS-B) 調整光源為 TE 或 TM 偏振，其角度是相差 90 度。3. 光子晶體，將光子晶體貼在載玻片上，並利用鋁製載台固定載玻片，使用支撐桿連接載台，固定在旋轉台上，以量測光子晶體在改變入射光角度時之穿透率。4. 光譜儀，利用準直器接收穿透光，並以光纖連結到光譜儀 (Spectrometer, Ocean optics) 量測其穿透光譜。5. 電腦，連接光譜儀以分析穿透光譜，並作資料存取。

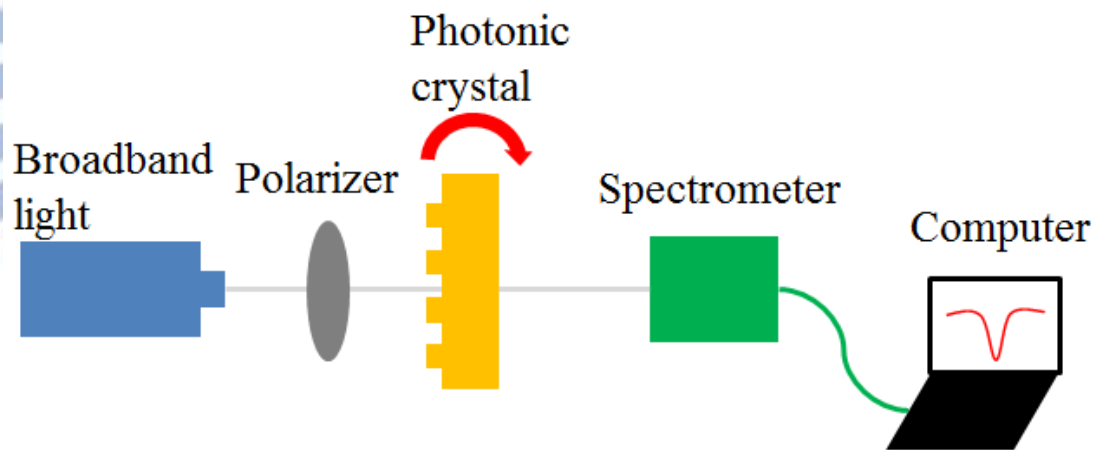


圖2.3 光學特性量測之之光學設置

2.5 螢光增強實驗

透過光學特性量測，確定元件之共振波長與建立其頻譜結構後，可以開始螢光增強的量測。首先需要將元件作表面處理，讓元件表面具有很強之疏水性，如此螢光染劑(streptavidin-cyanine 5, SA-Cy5)點上去之後才不容易散開，本論文是使用全氟辛基三氯矽烷(1H,1H,2H,2H-Perfluorooctyltrichlorosilane, Alfa Aesar)作表面處理，其方式為將試片與約 0.25 毫升裝在玻璃瓶的全氟辛基三氯矽烷一起放入真空乾燥箱中，抽真空約三分鐘，並放置三十分鐘，使其揮發並附著在試片表面，之後將試片依序泡入甲苯(Toluene, ECHO)、甲醇(Methanol, AENCORE)與去離子水(DI water)，並各以超音波震盪器振兩分鐘，以去除試片上沒有鍵結好的矽烷，由於表面處理後，矽烷會增加試片表面之折射率，使共振波長變長，所以清洗後可以使其改變的幅度縮小。做完表面處理後，必須再次量測其共振波長，以確認其是否可以達到 633 nm，確認完畢後即可以將螢光點至試片上，本論文是 利用壓電式非接觸噴墨點樣機(Gesim, nano-plotter 2.1)來點螢光，一片試片總共會點九個點，每個點為一滴(1 droplet)，約 1 nanoliter，其點陣至光子晶體上後螢光點直徑約為 150 μm ，點完螢光染劑後，需先將試片放入潮濕盒，在暗處培養(incubate)三十分鐘，之後再放到乾燥盒乾燥三十分鐘，確認螢光染劑都乾了之後，要將試片表面非專一性鍵結的螢光分子去除，以確保量測結果的準確度，其步驟依序為：1. 將試片泡入具有 1%casein(酪蛋白)的 PBS(Phosphate buffered saline)溶液 blocking 一小時。2. 泡入 PBST 溶液三分鐘兩次，PBST 是 PBS 與 Tween 20 以體積比 2000:1 混合而成的溶液，而 PBS 是一種緩衝液，生物相容性很好，本論文也用其來稀釋螢光染劑的濃度，而 tween 20 是一種非離子表面活性劑，在此主要用其來去除非專一性鍵結的分子。3. 泡入去離子水三分鐘，最後將試片取出並吹乾，之後就可以開始進行螢光量測。本論文是利用螢光掃描機(Tecan, LS reloaded)掃描螢光，並分別量測窄頻與寬頻結構在激發共振與非共振情

況下，螢光的強度，此外也比較在共振與非共振情況下，光子晶體與其他不同微陣列基板，如載玻片上螢光的強度。此外，由於螢光掃描機在光路設計上之限制，只有在零度時，螢光的增強激發才會比較明顯，所以本論文也建立了一套螢光量測系統，其設置如圖 2.4 所示，此設置稱為角度解析螢光量測系統(Angle resolved fluorescence set up)[17]，以波長為 633 nm 之氬氖雷射作為光源激發螢光，以二分之一波片(1/2 Wave plate, Newport, 10RP52-1)調整其 TE 與 TM 偏振，以光譜儀量測螢光，並利用濾鏡(692 nm band pass filter, 40 nm bandpass, Edmund, 67038)過濾掉穿透過試片的激發光，其可以做增強激發與增強萃取的實驗，增強激發是改變其激發光入射角度 θ 與固定螢光偵測角度 φ 量測螢光光譜的變化；而增強萃取是改變其螢光偵測角度 φ 與固定激發光入射角度 θ 量測螢光光譜的變化，此實驗設置在試片之準備上稍有不同，其螢光染劑是直接利用移液器(pipette)吸大約幾個微升滴在光子晶體上，因為若螢光染劑太少，光譜儀會很難偵測到微弱的螢光訊號。

未來若這項螢光增強方式成熟，即可以用來偵測生物分子，利用三明治酵素免疫分析法(ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay)，來檢測生物分子，如圖 2.5 所示，首先將光子晶體基材清洗乾淨，並依序加入捕獲抗體(capture antibody)、待測抗原(antigen)、標記抗體(detection antibody)與螢光染劑(streptavidin-cyanine 5, SA-Cy5)，將生物分子固定到晶片表面，之後再進行螢光偵測之實驗。

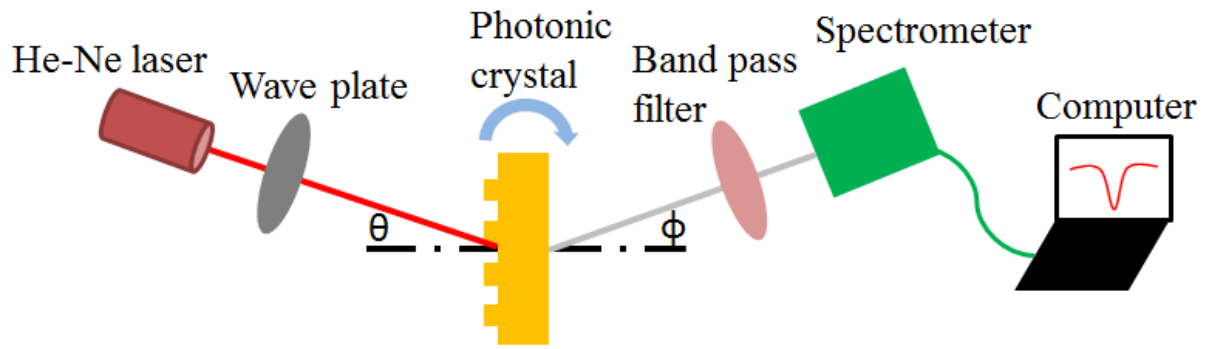


圖2.4 角度解析螢光量測系統



圖2.5 酵素免疫分析三明治法

第三章、模擬與實驗結果

3.1 光子晶體模擬

如前所述，本論文最後是使用翻模來製作光子晶體，所以本節主要會說明利用翻模製作之光子晶體的結構模擬，而相位光罩製作光子晶體之模擬請參考附錄二。利用翻模製作之光子晶體結構請參考圖 2.1，其為四層結構，由基板往上依序為 PET、Norland 68、二氧化矽、二氧化鈦，二氧化矽與二氧化鈦的折射率依橢圓偏振儀實際量測結果，如圖 3.1(a)(b)所示，所以在此將二氧化矽折射率設為 1.46，二氧化鈦折射率設為 2.22，此外 Norland 68 折射率則依 dispersion equation 將其設為 1.556[38]，PET 折射率設為 1.6357[39]。翻模用之母模利用原子力顯微鏡量測結果如圖 3.2，周期約 406 nm，光柵深度約 140 nm，duty cycle 約 0.42，在模擬時，本論文將週期設為 400 nm，光柵深度設為 140 nm，而 duty cycle 由於會隨著鍍膜而改變，所以並不是固定的，所以其主要可以改變的參數有二氧化鈦厚度、二氧化矽厚度與 duty cycle，以下將分別模擬改動這些參數對共振波長位置之影響，並針對窄頻共振結構與寬頻共振結構做模擬。

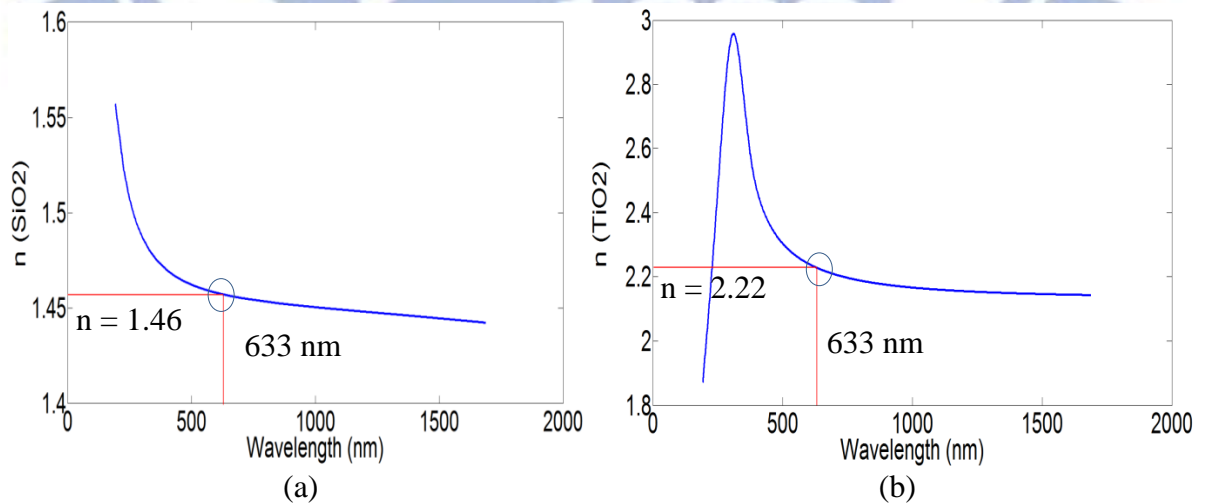


圖3.1 橢圓儀量測，(a)二氧化矽，(b)二氧化鈦

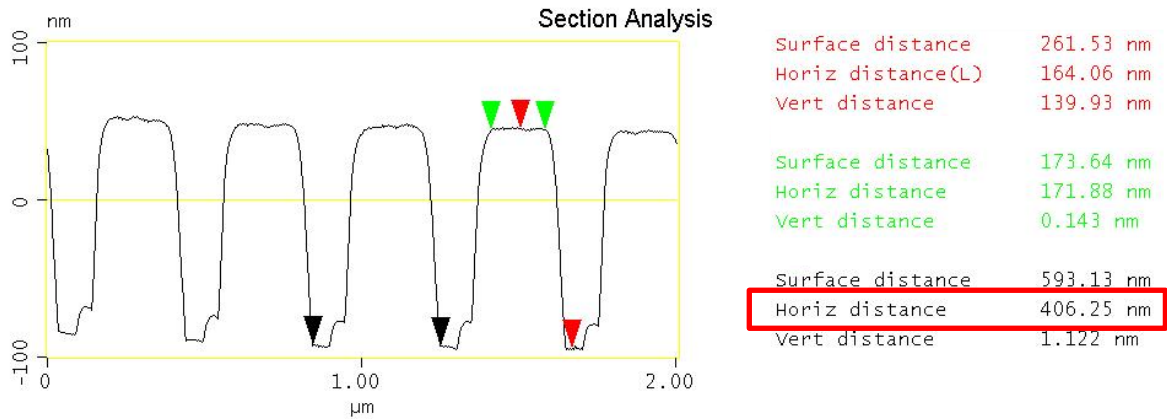


圖3.2 母模之原子力顯微鏡量測，周期約 406 nm

3.1.1 二氧化鈦厚度對共振波長位置之影響

在二氧化鈦厚度對共振波長位置之影響的模擬，在此將二氧化矽之厚度固定為 200 nm，duty cycle 固定為 0.8，並改變二氧化鈦之厚度，由 100 nm 至 200 nm，每隔 1 nm 計算一次穿透率，其穿透率分布如圖 3.3(a)所示，由此可以看出二氧化鈦越厚，其共振波長會越長，此現象亦可以由式 5 看出，當二氧化鈦越厚，其 n_{eff} 會越高，所以共振波長也越長，此外當二氧化鈦厚度小於約 130 nm，其共振模態就會幾乎消失，如圖 3.3(b)所示，其穿透率皆大於 50%，幾乎沒有導模共振的效果，而在圖 3.3(a)中可以發現有許多地方會有波浪狀的圖形，如圖 3.3(c)所示，此現象主要是因為 Norland 68 與 PET 的折射率都高於二氧化矽，所以激發光在 Norland 68 與 PET 層產生共振所導致。

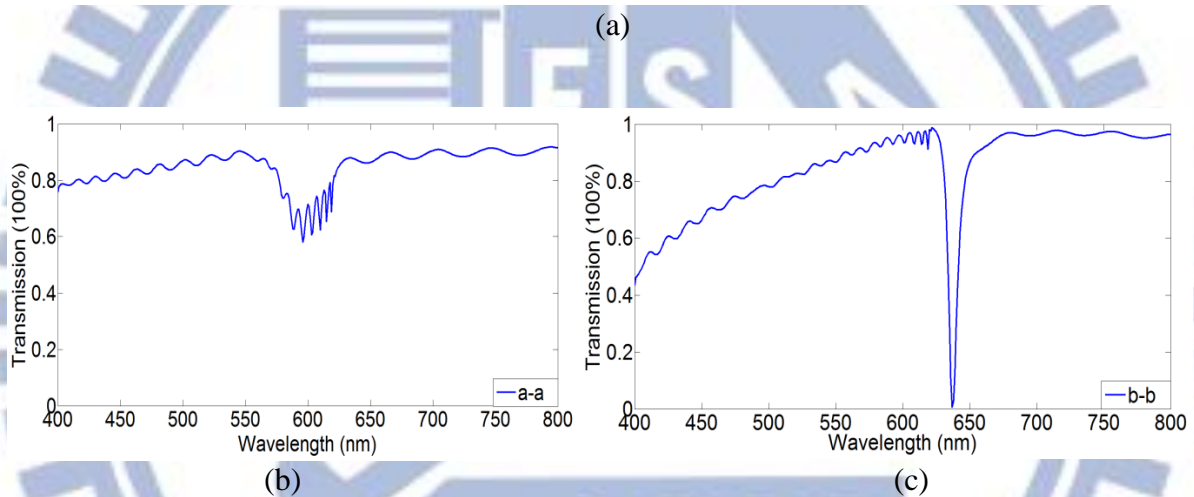
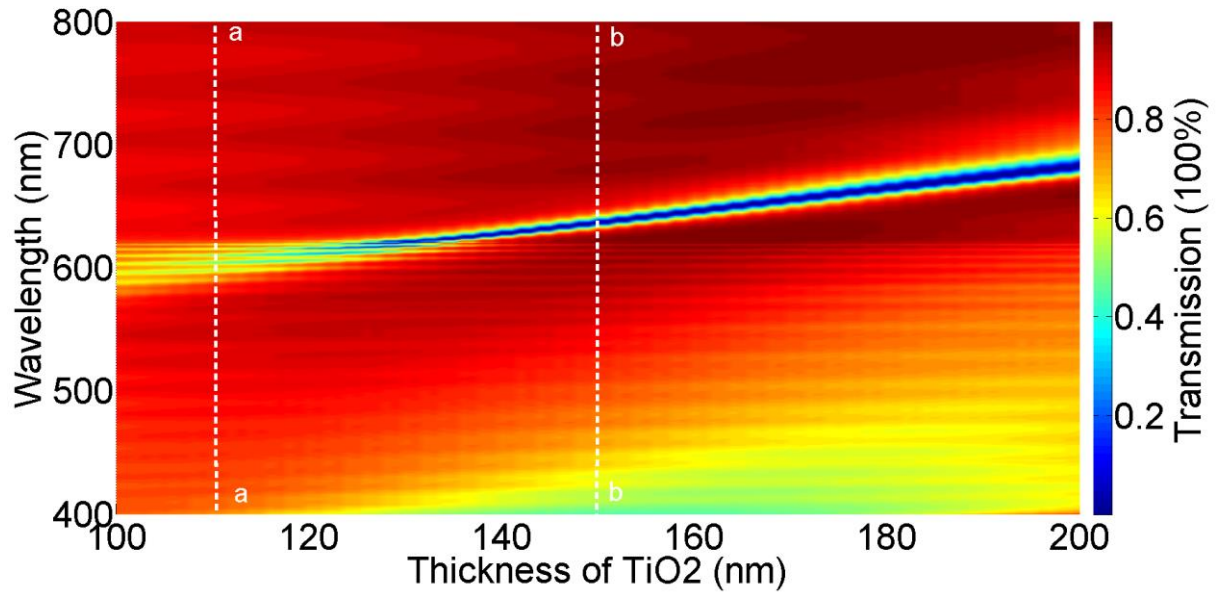


圖3.3 二氧化鈦厚度對共振波長之影響模擬，(a)不同二氧化鈦厚度下的穿透率分布，(b)a-a剖面穿透率分布，(c)b-b剖面穿透率分布

3.1.2 二氧化矽厚度對共振波長位置之影響

在二氧化矽厚度對共振波長位置之影響的模擬，在此將二氧化鈦之厚度固定為 140 nm，duty cycle 固定為 0.8，並改變二氧化矽之厚度，由 100 nm 至 300 nm，每隔 2 nm 計算一次穿透率，其穿透率分布如圖 3.4 所示，其從 100 nm 至 300 nm 共振波長會減少 6 nm，而由 125 nm 至 175 nm 是減少 2 nm，約為全部的 0.33%，而由 200 nm 至 250 nm 是減少 1 nm，約為全部的 0.16%，所以整體來看可以知道當二氧化矽越厚，共振波長會越短，但共振波長降低的幅度會漸漸變少，而其共振波長隨二氧化矽厚度增加而降低是

因為其基層折射率變小，也就是其二氧化矽層因為變厚使 Norland 層對波導層的影響變小，而 n_{eff} 的範圍是介於二氧化鈦與基層的折射率間，所以當基層折射率變小， n_{eff} 就有可能變小，使共振波長變短，此外隨著二氧化矽增加使 Norland 層對波導層的影響越來越小，其共振波長下降的幅度也越來越少。

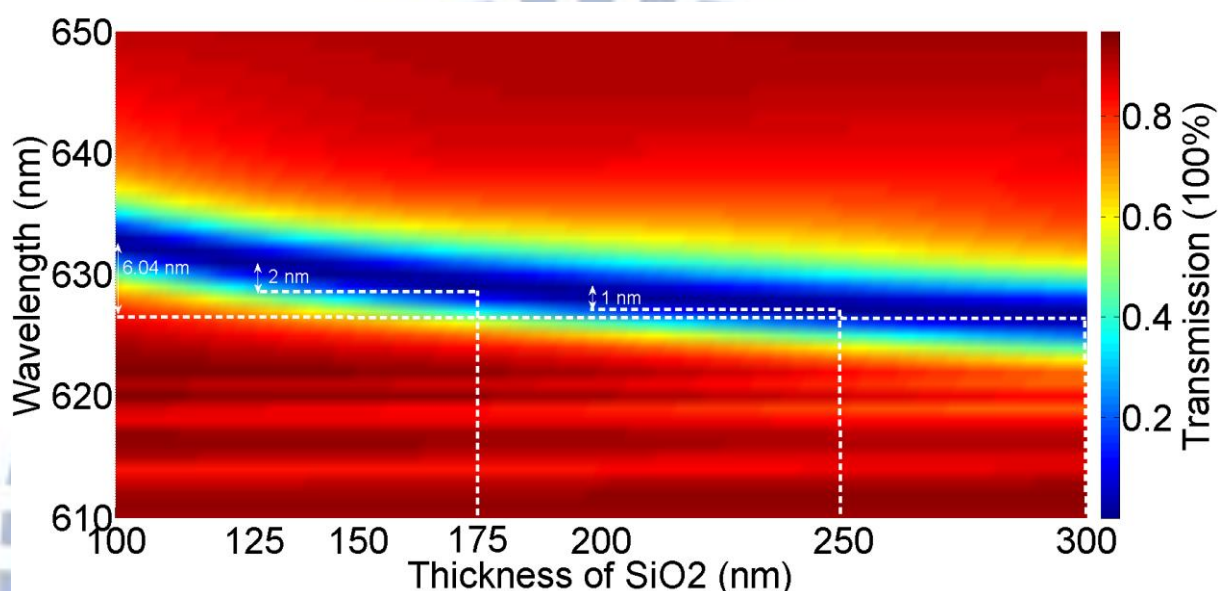


圖3.4 二氧化矽厚度對共振波長之影響模擬

3.1.3 Duty cycle 大小對共振波長位置之影響

在 duty cycle 大小對共振波長位置之影響的模擬，在此將二氧化鈦之厚度固定為 140 nm，二氧化矽之厚度固定為 200 nm，並改變 duty cycle 之大小，使其由 0.5 增加至 0.95，每隔 0.005 計算一次穿透率，其穿透率分布如圖 3.5 所示，可以看出其共振波長隨 duty cycle 增加，會先降再升，而其共振模態之頻寬則是會越來越窄，但在實驗中，可以發現 duty cycle 大部分都大於 0.8，所以可以只看後半段，當 duty cycle 越大，共振波長會越長。

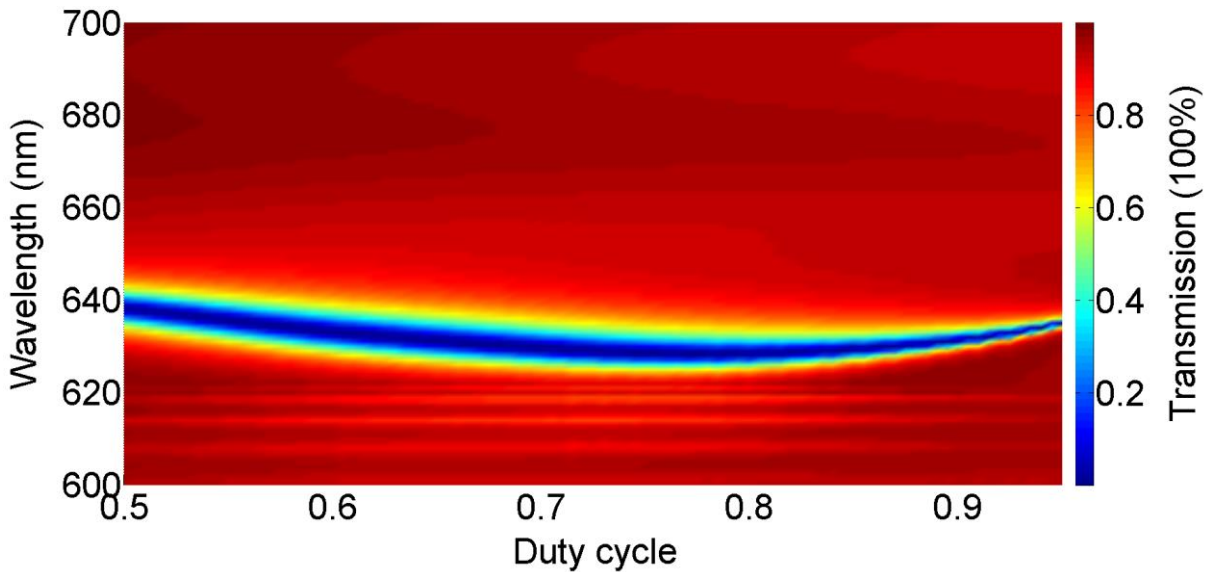


圖3.5 Duty cycle 大小對共振波長位置之影響模擬

3.1.4 窄頻共振模態結構模擬

在窄頻結構之模擬，目的是模擬出利用 TM 偏振之寬頻光源在零度入射時，其共振波長在 633 nm 之結構，使其能夠與激發光產生共振並增強螢光，並藉由預測的結果去製作光子晶體，由 3.1.1 至 3.1.3 所得到之規律性，可知當二氧化鈦越厚其共振波長越長，而二氧化矽越厚共振波長越短，而 duty cycle 越大共振波長越長，由此可以很容易模擬出窄頻結構之結構參數，如圖 3.6 所示，當二氧化鈦厚度設為 145 nm，二氧化矽厚度設為 150 nm，duty cycle 設為 0.8，利用 TM 偏振寬頻光在零度入射時之共振波長在 633 nm，而利用 TE 偏振光在零度入射時之共振波長在 681 nm，此外，由其頻譜結構，如圖 3.7(a) 所示，可知當入射光之入射角度改變時，其共振波長會隨之改變，且為連續性的變化，藉此特性可知當其在零度入射時共振波長若不在 633 nm，亦可藉由轉動激發光入射角，使其共振波長移動至 633 nm，並與結構產生共振，但最好還是設計在零度入射，因為在轉角度時，其共振波長處之穿透率會變高，使共振的效率降低，由圖 3.7(a) 即可以看出當角度轉到 5 度以上時，其穿透率明顯變高。此外，由頻譜結構可知其可以達到共振的

範圍，在本論文中其定義為以 633 nm 光源在不同角度照射結構時其共振範圍的半高寬，如圖 3.7(b)所示，其半高寬約為 1.6 度。

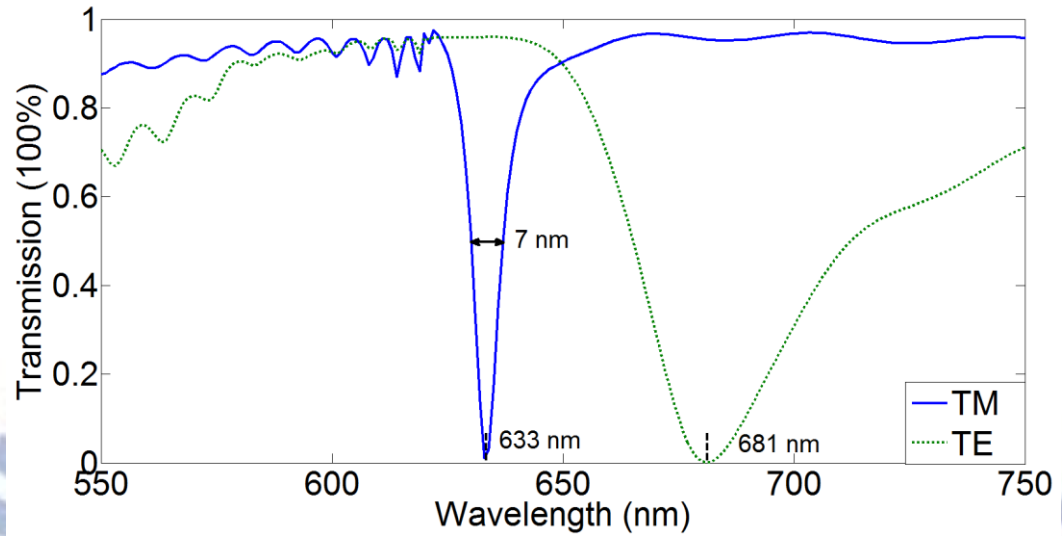
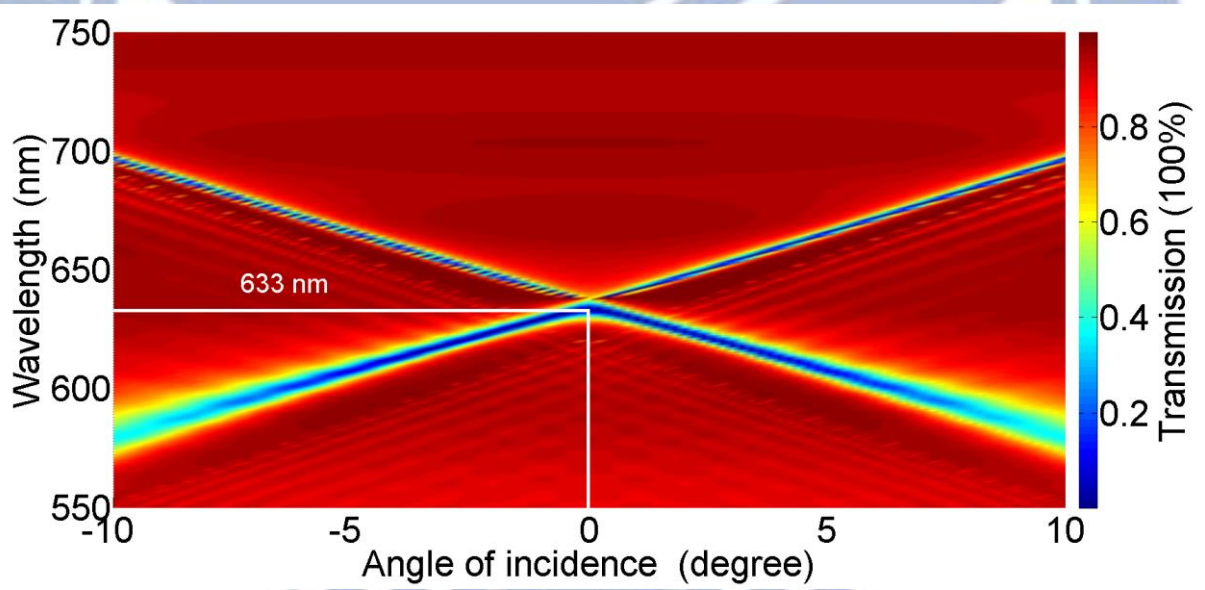
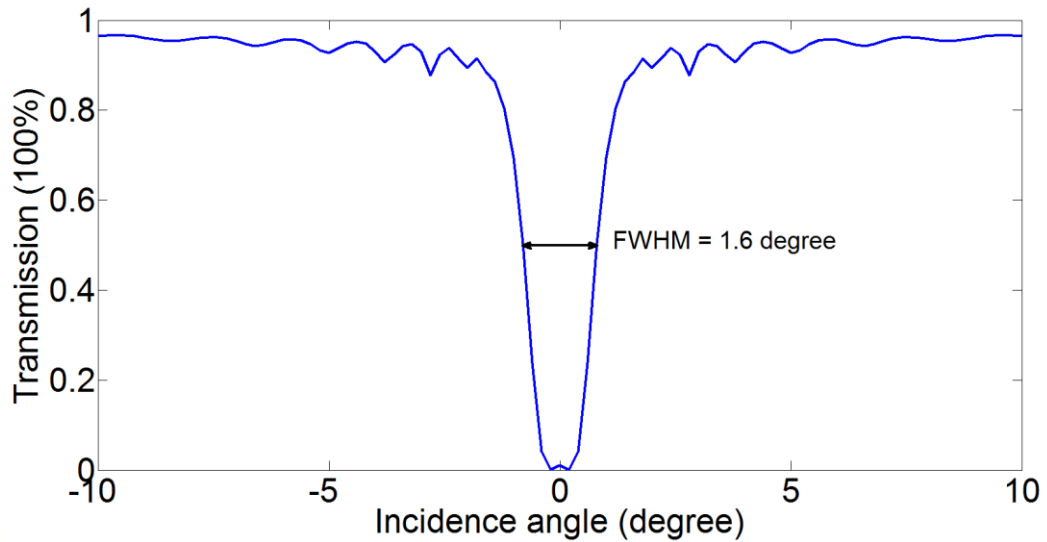


圖3.6 窄頻結構光子晶體 TM 偏振光零度入射時共振波長在 633 nm 模擬



(a)



(b)

圖3.7 光源在不同入射角下照射窄頻結構之穿透率分布模擬，(a)TM 寬頻入射光由負十度至十度入射之穿透率分布，(b)633 nm 波長之光源在不同入射角下之穿透率

然而，若元件在零度入射時共振波長在 633 nm，試片在表面處理與點螢光並清洗後，其表面折射率會變高使共振波長變長，並超過 633 nm，而經實驗後，其前後大約會移動 3~7 nm，所以在此估約 5 nm，所以本論文希望製作出光子晶體在零度入射時共振波長在 628 nm 之結構，在表面處理與點螢光並清洗後，其共振波長可以在 633 nm，經模擬後，其二氧化鈦厚度為 138 nm。

3.1.5 寬頻共振模態結構模擬

在寬頻結構之模擬，目的是模擬出 TE 偏振之寬頻光源在零度入射時，與窄頻結構一樣，共振波長在 633 nm 之結構，並觀察其與一般玻璃之表面電場差異，當二氧化鈦厚度設為 92 nm，二氧化矽厚度設為 300 nm，duty cycle 設為 0.8，其在零度入射時之共振波長在 633 nm，如圖 3.8 所示，而其頻譜結構如圖 3.9(a)所示，633 nm 光源在不同入射角下之穿透率如圖 3.9(b)所示，其半高寬有約 10 度，可以達到激發共振的角度範圍較窄頻結構大。

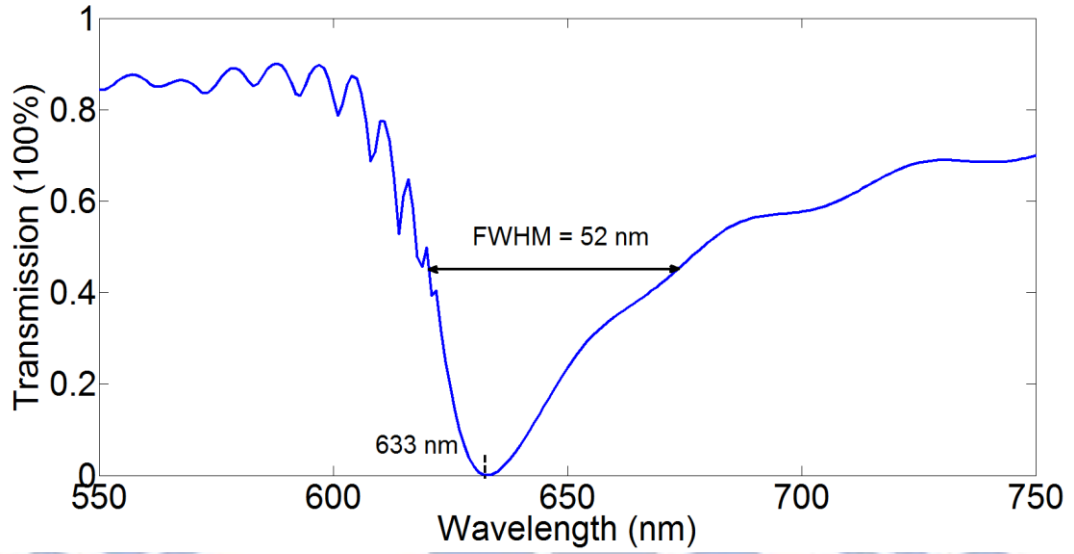
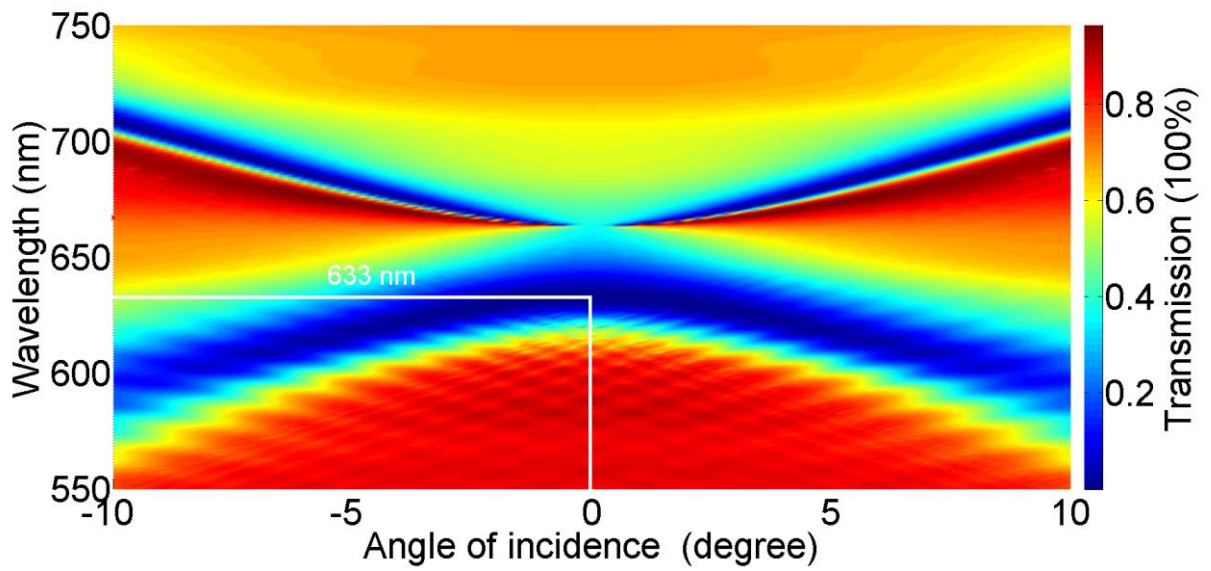
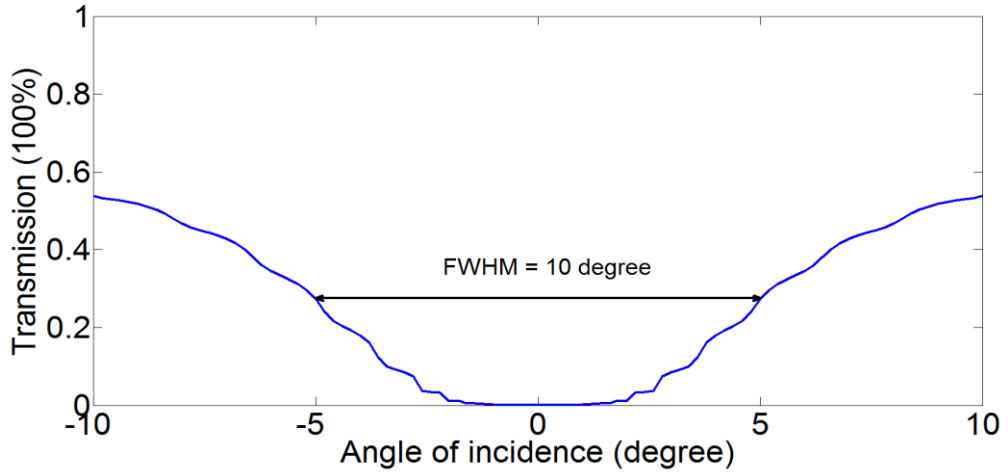


圖3.8 寬頻結構光子晶體 TE 偏振光零度入射時共振波長在 633 nm 模擬



(a)



(b)

圖3.9 光源在不同入射角下照射寬頻結構之穿透率分布模擬，(a)寬頻入射光由負十度至十度入射之穿透率分布，(b)633 nm 波長之光源在不同入射角下之穿透率

此外，與窄頻結構一樣，真正實驗時須做出零度入射時共振波長約在 628 nm 之元件，使其在表面處理與點螢光後，激發光零度入射共振波長剛好在 633 nm，所以經模擬後，零度入射時共振波長在 628 nm 之二氧化鈦厚度為 87 nm。

在模擬的最後，要確認所模擬出的結構是否可以有增強激發的效果，如圖 3.10，分別模擬窄頻共振模態光子晶體、寬頻共振模態光子晶體、玻璃與玻璃加上二氧化鈦四種基板在 633 nm 的激發光以共振角入射其表面的電場分布來做比較，結果可以看到窄頻與寬頻共振模態之光子晶體電場相對於玻璃與玻璃鍍二氧化鈦基板還高，所以可以確認他們都具有增強激發效果，且窄頻的結構增強激發會優於寬頻，此外玻璃鍍二氧化鈦基板之表面電場並沒有比玻璃基板強。

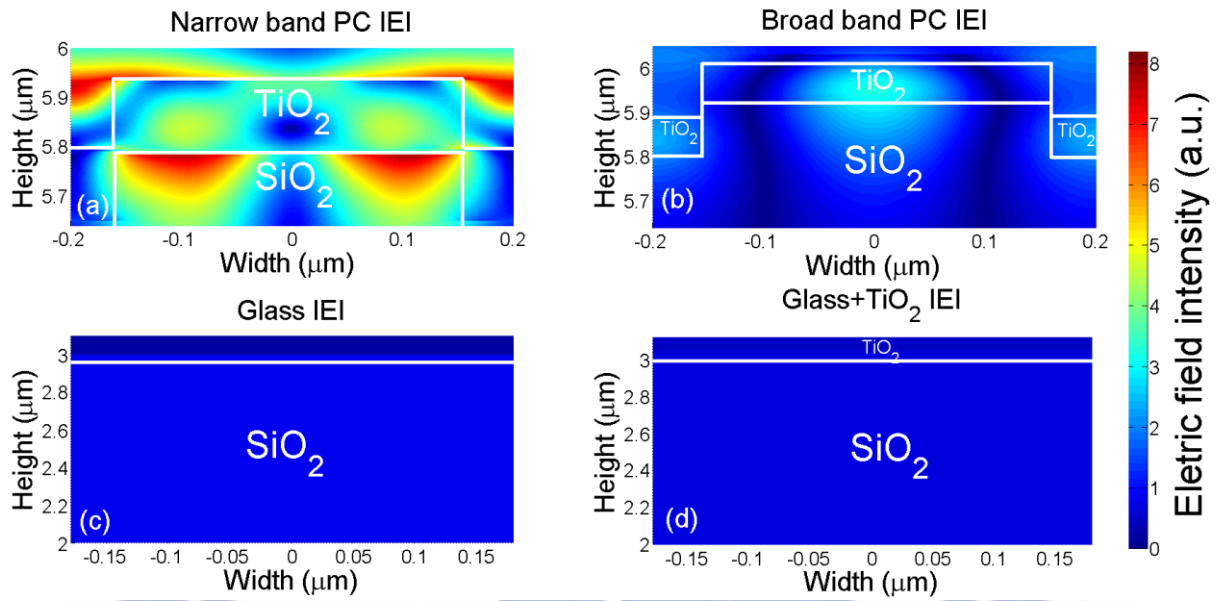


圖3.10 以 633 nm 光源零度入射之電場分布模擬，(a)窄頻共振模態光子晶體，(b)寬頻共振模態光子晶體，(c)玻璃基板，(d)玻璃鍍二氧化鈦基板

3.2 翻模與濺鍍製作光子晶體

3.2.1 製程步驟與參數

由 2.3 節所得結論，本論文是使用翻模與濺鍍製程來製作光子晶體，流程示意圖如圖 3.11 所示，且在翻模之前，需先將母模表面處理，避免 Norland 68 在固化時黏在母模上，其方法為先將母模浸泡在 Repel-Silane(GE Helthcare , PlusOne Repel-silane ES)兩分鐘，之後依序浸泡甲苯與甲醇各兩分鐘，最後沖去離子水兩分鐘後倒掉並重複三次沖去離子水的動作，之後就可以進行翻模，翻模共有五個步驟：1. 將 Norland 68 滴在母模上，此母模周期約 400 nm，光柵深度約 140 nm。2. 先將 PET 壓在 Norland 68 與母模上，並使 Norland 68 均勻擴散開，避免氣泡與空隙產生，再壓一片透明玻璃在 PET 上方，使 PET 與 Norland 68 和母模密合，最後送入紫外線固化系統中(4.2 Lamp Hsg , Xenon)，讓 Norland 68 照射紫外線並固化，本論文所使用之紫外光源為每次 120mJ/cm²，經過測試，要讓 Norland 68 完全固化的話需要照射 60 次，每十次要間格 25 秒，避免過熱，照射完後，將試片取出，並先確認是否完全固化，若沒有則需要再繼續固化，否則貿然將 PET 撕下會導致 Norland 68 殘留在母模上。3. 確認固化完畢後，將 PET 連同 Norland 68 一起從母模上分開，即完成翻模。4. 使用真空濺鍍，以矽為靶材，並以通氧的方式在翻完模之基板上沉積一層二氧化矽，本論文所使用之濺鍍系統型號為 Ion tech Microvac 450CB，其製程參數如圖 3.12(a)所示，二氧化矽厚度-時間分布圖如圖 3.12(b)所示，二氧化矽鍍率約為 10.657 Å/min。5. 使用真空濺鍍，以二氧化鈦為靶材，再沉積一層二氧化鈦，其製程參數如圖 3.13(a)所示，二氧化鈦厚度-時間分布圖如圖 3.13(b)所示，二氧化鈦鍍率約為 5.325 Å/min，進行二氧化鈦的濺鍍製程時，必須注意升降功率時要很緩慢，因為提高功率代表氬離子撞擊靶材力道越大，並使靶材溫度升高，若突然提高功率，靶材就可能由於熱漲冷縮的關係而裂開，反之降低功率時也一樣，也建議將功率調低。

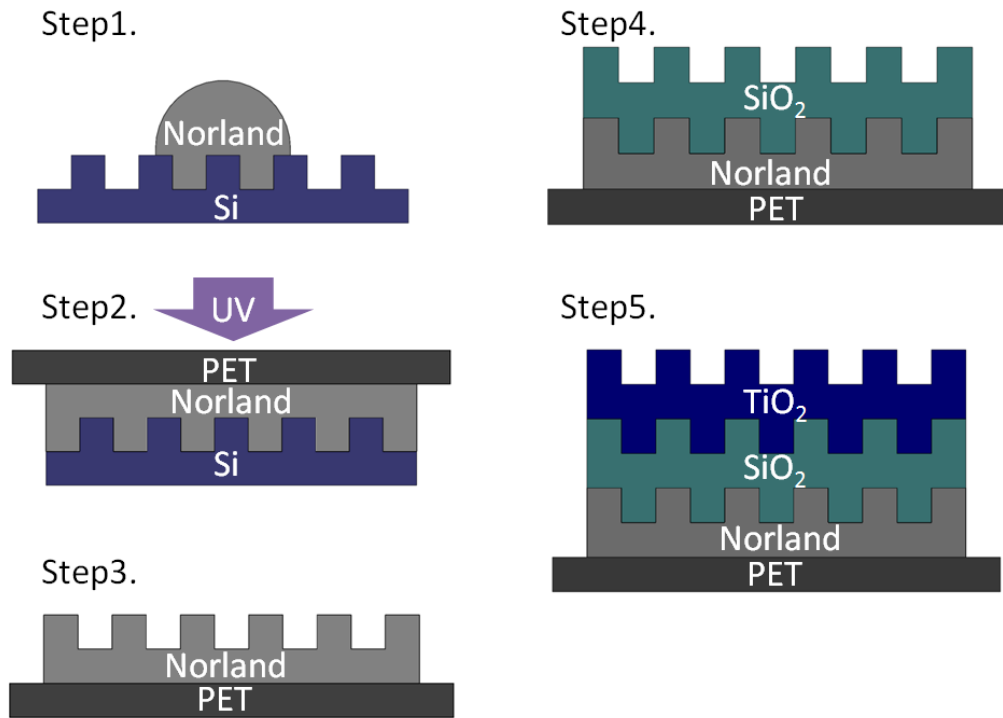
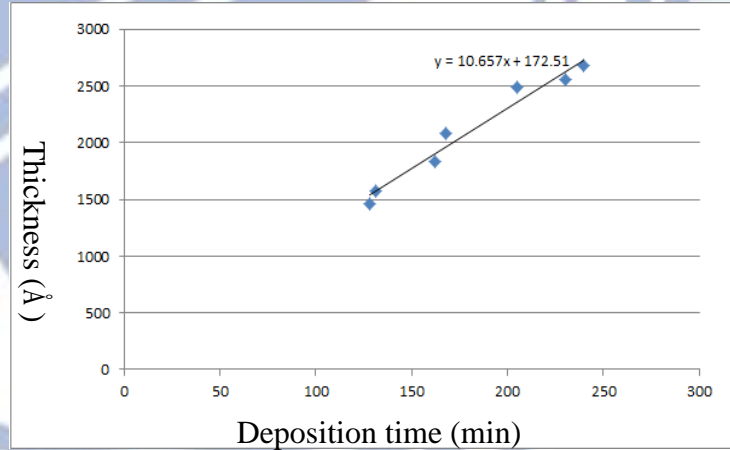


圖3.11 翻模製作光子晶體流程圖

Material density	2.32
Acoustic impedance	12.39
Tooling factor	53.3
Ar	24 sccm
O ₂	12 sccm
Power	50 W
Pre sputter power	20 W

(a)

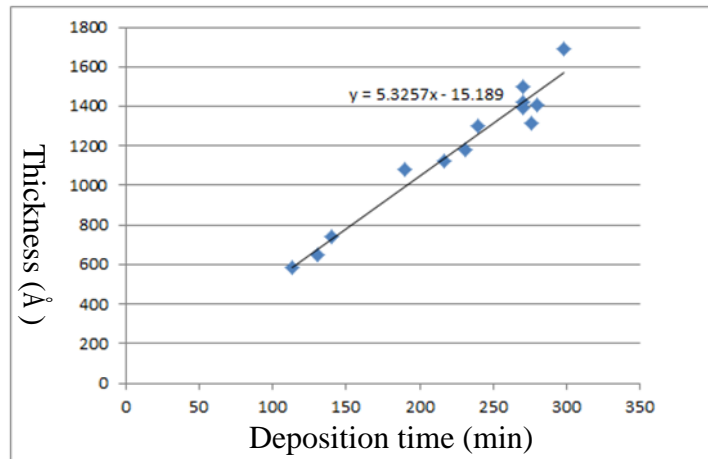


(b)

圖3.12 二氧化矽濺鍍製程，(a)製程參數，(b)厚度-時間分布圖

Material density	4.26
Acoustic impedance	22.07
Tooling factor	53.3
Ar	24 sccm
O ₂	9.6 sccm
Power	190 W
Pre sputter power	20 W

(a)



(b)

圖3.13 二氧化鈦濺鍍製程，(a)製程參數，(b) 厚度-時間分布圖

3.2.2 結構形貌量測

在鍍完二氧化矽與二氧化鈦後，光子晶體基板之外觀如圖 3.14(a)(b)所示，由 PET 作為基板所製作之光子晶體是可撓的，如圖 3.14(b)，以掃描式電子顯微鏡(Scanning electron microscope, SEM)量測光子晶體之上視圖如圖 3.15(a)所示，而其剖面圖如圖 3.15(b)所示，由其形貌可以發現階梯覆蓋率不是很好，這是由於鍍膜時被濺擊出的原子方向不一，所以其在基板上每一點的沉積速率不同，在光柵頂部位置沉積速率會比側壁與光柵根部來的高，使得其沉積不均勻，並形成孔洞。此現象也使得當二氧化矽越厚，結構之 duty cycle 就越大，並影響共振波長的位置，所以這也是在結構設計時須考慮的。此外，在圖 3.15(b)中所看到的二氧化矽與二氧化鈦厚度並非實際值，因為其照射角度並非垂直於剖面，離子束與剖面間夾角約 38 度，所以量得之厚度會比實際值還小，所以在模擬與鍍完膜後的膜厚量測時，本論文都是以表面輪廓儀量的值為準。

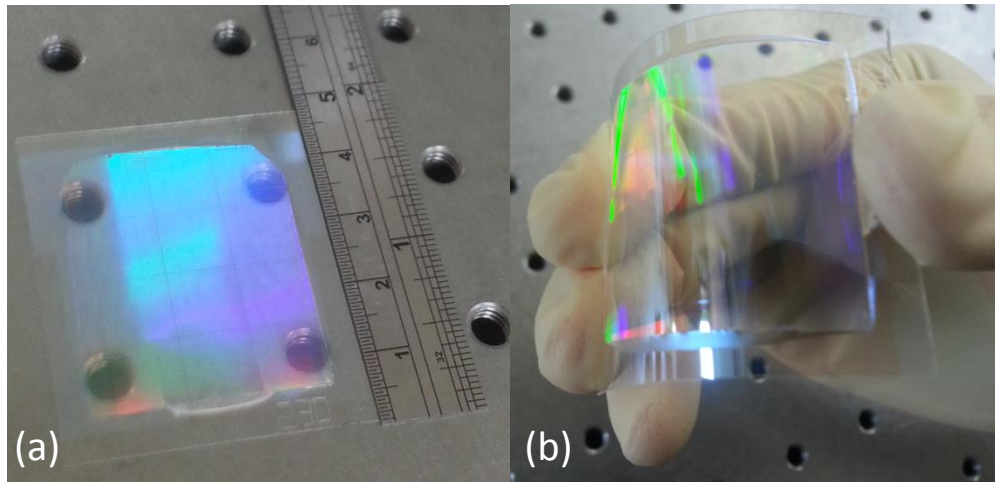


圖3.14 光子晶體外觀，(a)大面積，(b)可撓特性

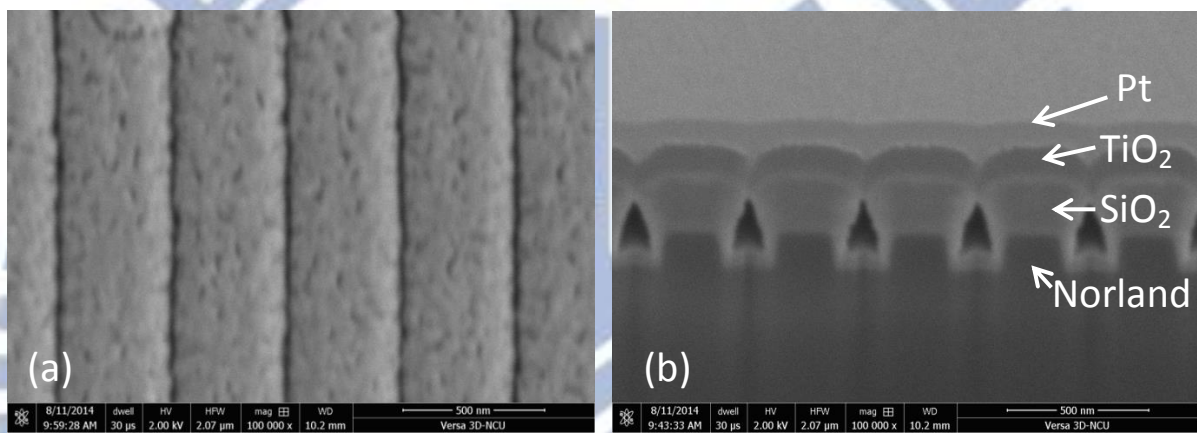


圖3.15 光子晶體結構形貌量測，(a)上視圖，(b)剖面圖

3.3 市售雷射螢光掃描機螢光量測

本論文中所使用之雷射螢光掃描機為中研院分子生物研究所基因體核心實驗室 (Microarray Core Facility Institute of Molecular Biology, Academia Sinica) 所有，將使用此機台來比較三片具有不同半高寬之共振模態的光子晶體基板，在固定螢光偵測角度下，量測激發雷射光分別以零度與二十度入射之螢光的強度，換句話說也就是要量測其在共振與非共振時，增強激發的程度，來了解其共振模態的結構對於螢光增強的影響，此外，也將比較光子晶體與另外四種不同基板在零度激發與二十度激發時，螢光的強度，這四種基板即使用全氟辛基三氯矽烷(1H,1H,2H,2H-Perfluorooctyltrichlorosilane)表面處理的玻璃、玻璃鍍二氧化鈦、PET 鍍二氧化鈦，與使用(3-氨基丙基)二甲基乙氧基矽烷((3-aminopropyl)dimethylethoxysilane, Gelest)做表面處理的玻璃試片，玻璃有使用不同的表面處理是由於前者使用在玻璃表面時，螢光的鍵結較差，導致螢光會非常微弱，為方便說明，本論文將前者命名為 Glass1，後者命名為 Glass2，而本節所使用的三片光子晶體，其結構參數皆以表面輪廓儀所量得之數據為準，其二氧化鈦厚度皆為 150 nm，而二氧化矽厚度分別為 146 nm、183 nm，與 255 nm，在本論文中將它們依序命名為 PC1、PC2、PC3，本章所使用之試片與其所對應之名稱與表面處理方式整理如表 1。

表1 市售雷射螢光掃描機螢光量測試片整理

Sample	Substrate	Coating	Thickness of SiO ₂ (nm)	Thickness of TiO ₂ (nm)	Surface treatment
PC1	Grating	SiO ₂ ,TiO ₂	146	150	*
PC2	Grating	SiO ₂ ,TiO ₂	183	150	*
PC3	Grating	SiO ₂ ,TiO ₂	255	150	*
Glass1	Glass	-	-	-	*
Glass+TiO ₂	Glass	TiO ₂	-	-	*
PET+TiO ₂	PET	TiO ₂	-	-	*
Glass2	Glass	-	-	-	#

* surface treatment with 1H,1H,2H,2H-Perfluorooctyltrichlorosilane

surface treatment with (3-aminopropyl) dimethylethoxysilane

3.3.1 光學特性量測

本論文中之光學特性量測的實際實驗設置如圖 3.16 所示，主要就是要量測光子晶體的穿透率，找出其共振波長的位置。PC1、PC2 與 PC3 在表面處理前、表面處理後，與點完螢光並清洗後在寬頻光零度入射時之穿透光譜依序如圖 3.17(a)(b)(c)所示，可以發現它們在表面處理前至點螢光並清洗移除未鍵結之螢光染劑後，零度入射之共振波長會位移約 2~3 nm，而二氧化矽越厚的試片，其共振模態頻寬會越窄，由圖 3.17 得到之結果就和模擬的一致，但共振波長就沒有規律的趨勢，由 3.1.2 節所模擬的結果，可知當二氧化矽越厚，共振波長就越短，但由於二氧化矽越厚 duty cycle 也越大，由 3.1.3 節模擬的結果，可知當 duty cycle 大於 0.8 時，duty cycle 越大，共振波長越長，所以當二氧化矽厚度增加時，其共振波長變長或變短都有可能，如圖 3.17(c)二氧化矽厚度 255 nm 試片，其共振波長就比二氧化矽較薄的兩片試片還長。

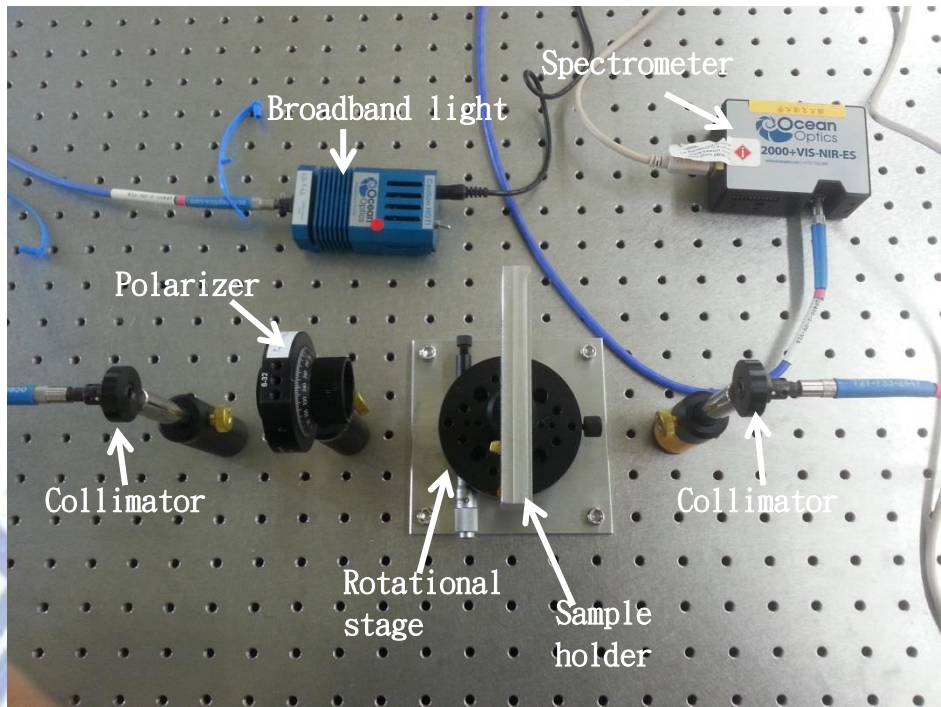
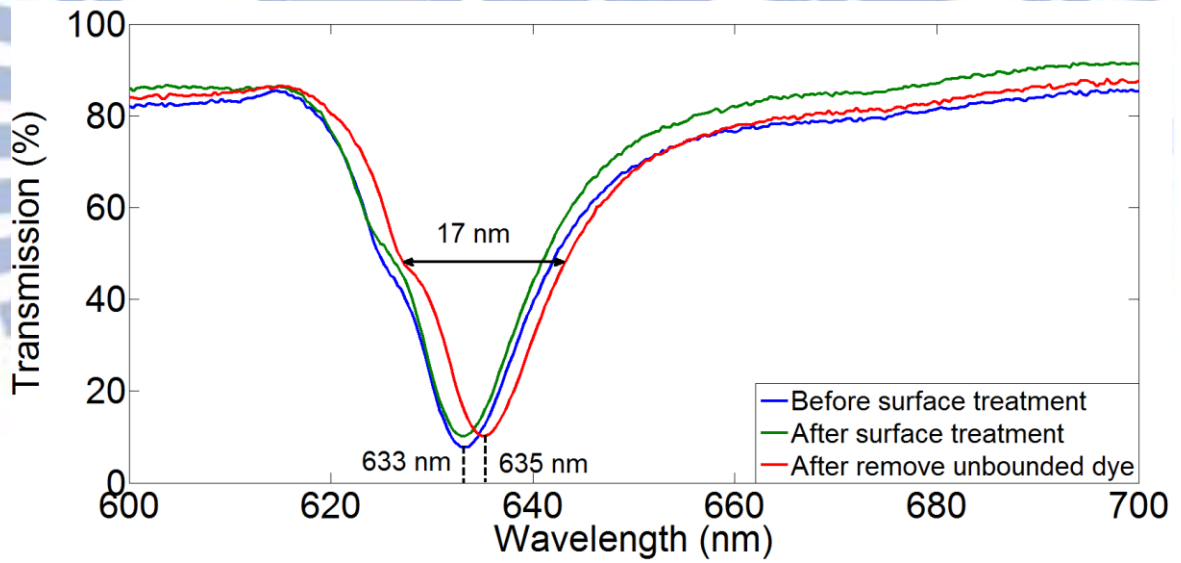
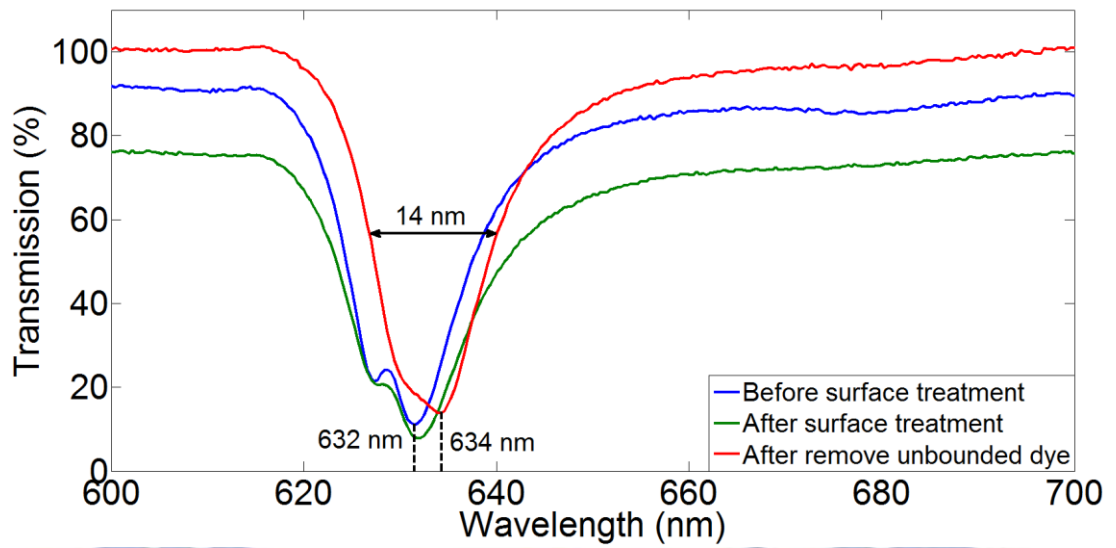


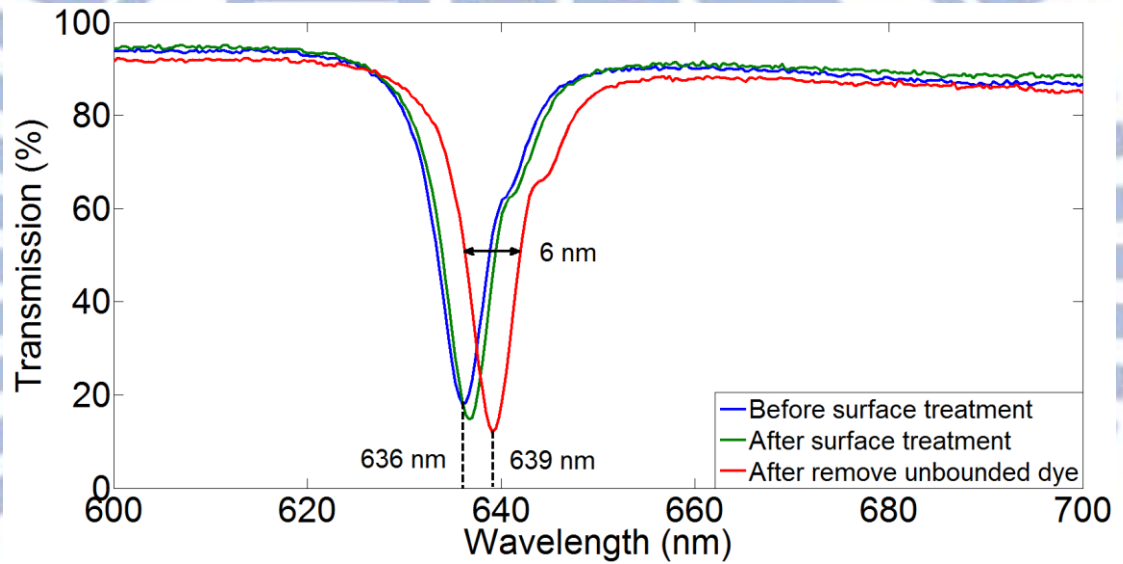
圖3.16 穿透量測光學設置



(a)



(b)



(c)

圖3.17 光子晶體 TM 白光零度入射穿透率，(a)PC1，(b)PC2，(c)PC3

為要了解這三片光子晶體可以達到共振的範圍，如 3.1.4 節所說，在本論文中其定義為以 633 nm 光源在不同角度照射結構時其共振範圍的半高寬，其量測方式為利用 TM 寬頻光源量測其在不同角度下入射之穿透，如同建立頻譜結構時做的量測，取出其中 633 nm 波段在-10 到 10 度入射的穿透率即可以繪出，如圖 3.18(a)(b)(c)所示。

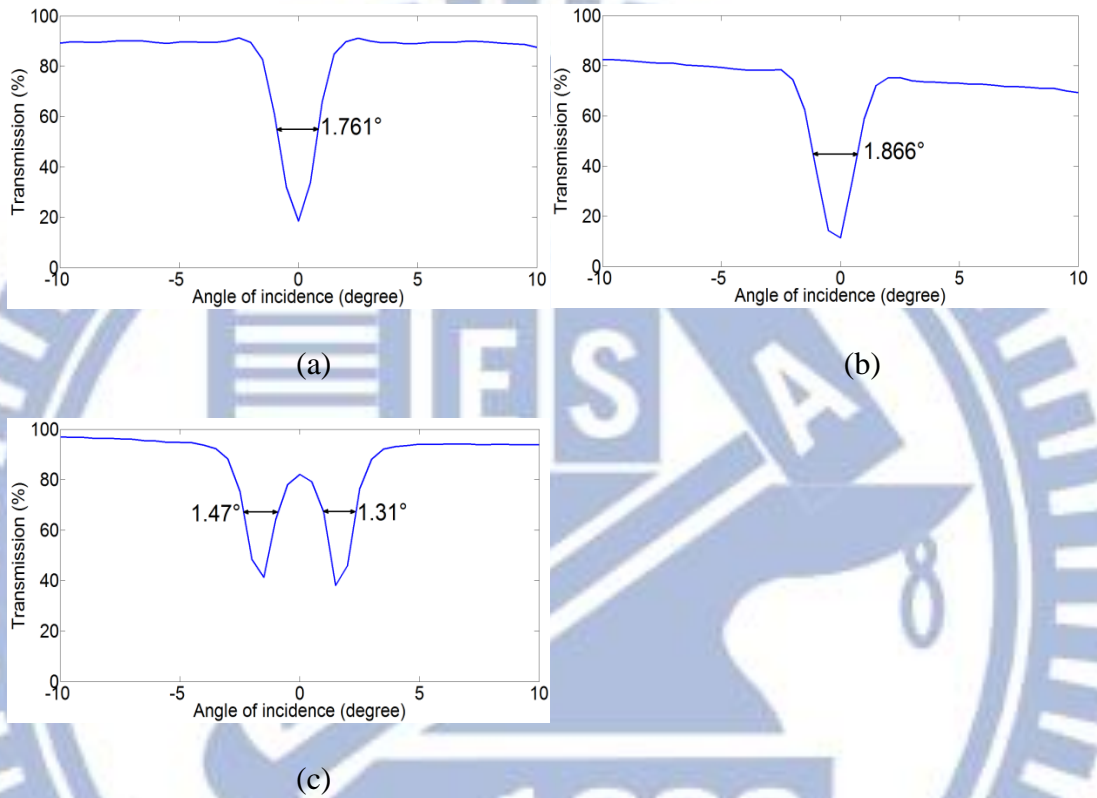


圖3.18 光子晶體以 633 nm 光源在-10 到 10 度入射之穿透率，(a)PC1，(b)PC2，(c)PC3

3.3.2 增強激發實驗

如前所述，在此會使用總共七種不同試片做螢光增強的量測，其在量測螢光前的表面處理與點螢光詳細步驟如 2.5 節所述，當完成這些步驟即可以將試片放入雷射螢光掃描機做量測，在此都將共振角設為零度，這是由於其雷射激發光源是以聚焦的方式來激發螢光，所以若在光學特性量測時，試片的共振角只有一兩度，那其實在此就可以直接使用零度來做為共振角，二氧化矽 255 nm 的試片，其量測後共振角約為兩度，可以使共振波長在 633 nm，不過使用雷射螢光掃描機時就將其共振角設為零度，而量測時確實螢光在零度時會比兩度強，此外非共振角皆設為二十度，而 PC1 與玻璃鍍二氧化鈦利用雷射螢光掃描機以零度與二十度激發螢光的掃描結果如圖 3.19(a)(b)(c)(d)所示，利用 image J 分析它們第一列螢光點的螢光強度之截面如圖 3.20 所示，可以看到 PC1 在共振與非共振時螢光強度皆高於玻璃鍍二氧化鈦。

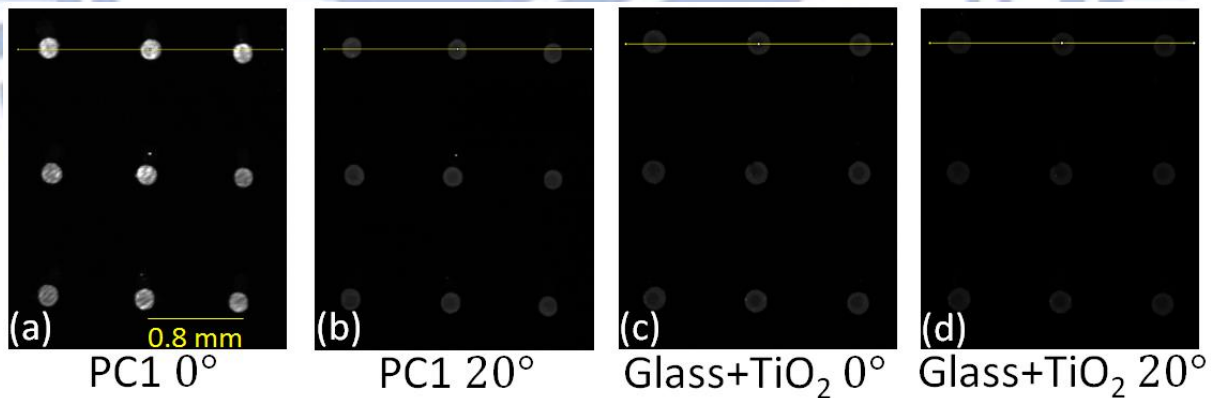


圖3.19 雷射螢光掃描機螢光量測，(a)PC1 零度，(b)PC1 二十度，(c)Glass+TiO₂ 零度，(d)Glass+TiO₂ 二十度

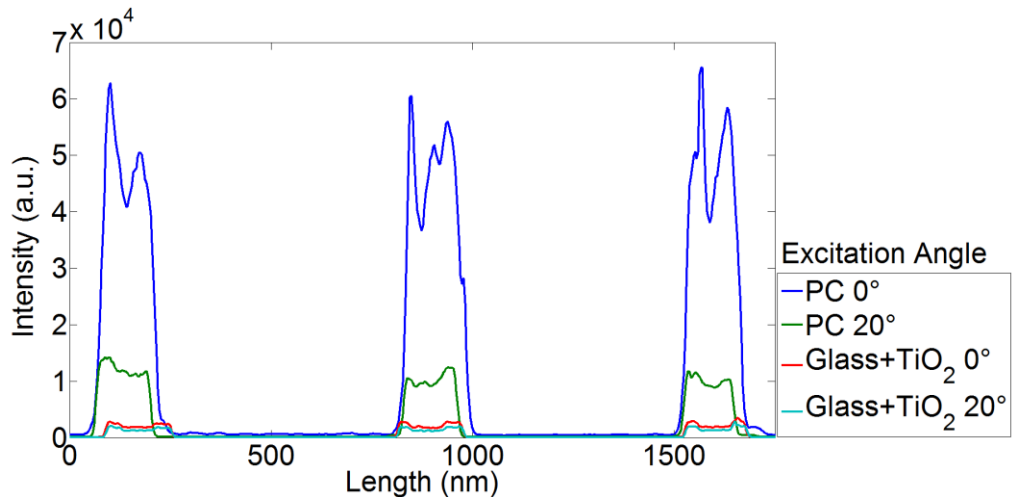


圖3.20 PC1 與玻璃鍍二氧化鈦基板螢光強度分析

由螢光掃描結果，可以利用 image J 軟體計算每個試片在零度與二十度激發時，每個螢光點的平均強度，在此是取九個點的平均強度，再做平均，而增強激發的計算方法是光子晶體在零度激發時的強度除以二十度激發時的強度，其結果整理如表 2，三片光子晶體之增強激發依序為 3.91、3.27 與 2.029，以此結果來看，PC1 與 PC3 相差了約 2 倍，原因是 PC3 在零度激發時，共振波長在 639 nm，而 PC1 與 PC2 是分別在 635 與 634 nm，且由於頻寬也較寬，所以也有涵蓋到 633 nm 波段，雖雷射螢光掃描機是以聚焦方式來激發，但 PC3 增強激發效果仍比 PC1 與 PC2 差。而 PC1 與 PC2 之間由其穿透頻譜來看，如圖 3.17(a)(b)，PC1 在零度 633 nm 之穿透率為 17.93%，PC2 在零度 633 nm 之穿透率為 15.8%，且 PC1 在清洗後之最大與最小穿透率相差 75.95%，而 PC2 為 96.94%，此外，由圖 3.18(a)(b)，PC1 的半高寬為 1.761 度，而 PC2 為 1.866 度，所以 PC2 在 633 nm 光源激發時可以達到激發共振角度比 PC1 稍微寬一點，單由穿透效率來看，應該是 PC2 的增強激發會比較高，但由圖 3.17 可以看到 PC1 在表面處理前至清洗後的穿透效率都差不多，但 PC2 的起伏就很顯著，由於量測穿透時不一定每次位置都相同，所以代表 PC2 可能結構較為不均勻，導致每一個位置穿透率不同，並影響增強激發的效果。

光子晶體基板與其他基板上螢光的強度是判斷光子晶體增強螢光程度的重要指標，

而由表 2 可以計算得到每片光子晶體在零度與二十度激發時的強度除以另外四片基板的螢光強度結果，其整理如表 3，由於使用全氟辛基三氯矽烷表面處理的玻璃(Glass1)其鍵結效果較差，所以其相對於光子晶體或其他基板的強度都弱很多，所以先不討論之，先看零度激發時，光子晶體基板比玻璃鍍二氧化鈦與 PET 鍍二氧化鈦試片皆高出了 10 至 15 倍左右，由此可以看出即使螢光皆點在二氧化鈦上，具有光柵結構的基板增強激發的效果會較好，而光子晶體基板也比以(3-氨基丙基)二甲基乙氧基矽烷表面處理的玻璃(Glass2)強度高出 30 倍，而沒有鍍二氧化鈦之玻璃螢光強度較有鍍二氧化鈦的弱，由圖 3.10 之電場強度模擬，可知不是表面電場強度所影響，所以較有可能原因為有鍍二氧化鈦之基板螢光鍵結較好。此外，在二十度激發時，由表 3 可看出光子晶體的螢光強度仍比其他三種基板還高，這是由於增強萃取的效果，使特定波段之螢光更有效率地被偵測到，此現象在 3.4 節將更詳細的說明。

表2 不同基板在零度與二十度激發時之螢光強度

	Mean intensity of 0° excitation (a.u.)	Mean intensity of 20° excitation (a.u.)	Enhanced excitation
PC1	38721.83	9895.37	3.91
PC2	42891.26	13050.60	3.27
PC3	39605.66	19513.35	2.029
Glass1	213.92	156.09	
Glass+TiO ₂	2482.11	1630.85	
PET+TiO ₂	3623.39	2812.11	
Glass2	1214.72	903.58	

表3 光子晶體在零度與二十度激發之螢光強度除以其它基板

		Spot intensity on PC divided by other slides				
0° excitation		Glass1	Glass+TiO ₂	PET+TiO ₂	Glass2	
PC1		181.01	15.60	10.69	31.88	
PC2		200.50	17.28	11.84	35.31	
PC3		185.14	15.95	10.93	32.60	
20° excitation		Glass1	Glass+TiO ₂	PET+TiO ₂	Glass2	
PC1		63.39	6.07	3.51	10.95	Enhanced extraction
PC2		83.61	8.00	4.64	14.44	
PC3		125.01	11.96	6.94	21.59	

由表2與表3可以計算得光子晶體相對於其他四種基板之增強激發與增強萃取的總和，即為增強激發與增強萃取相乘，其結果如表4，排除 Glass1，光子晶體相較於玻璃鍍二氧化鈦、PET 鍍二氧化鈦與玻璃依序平均可以有 24、14、44 的總增強。

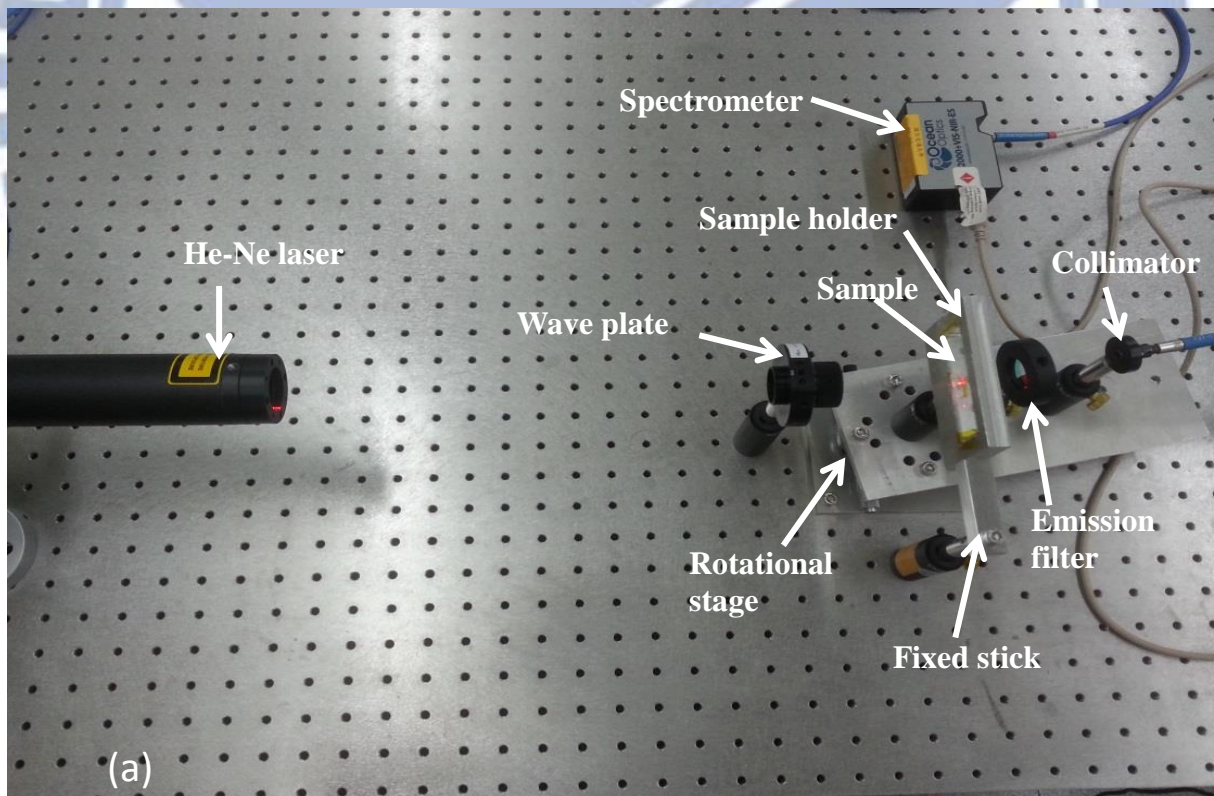
表4 總增強

		Total enhancement			
		Glass1	Glass+TiO ₂	PET+TiO ₂	Glass2
PC1		247.85	23.73	13.72	42.81
PC2		273.40	26.16	15.17	47.21
PC3		253.65	24.27	14.08	43.81

*Total enhancement
 =(enhanced excitation)×(enhanced extraction)

3.4 角度解析螢光量測

本節將使用角度解析螢光量測系統來量測三片具有不同半高寬之共振模態的光子晶體，探討其在增強激發與增強萃取時的特性，並與雷射螢光掃描機量測的結果作比較，而本節並無量測其它基板，是由於此實驗設置無法偵測到非光子晶體基板上之螢光，其實際的實驗設置如圖 3.21 所示，本實驗設置可以量測光子晶體的增強激發與增強萃取，如 2.5 節所描述，增強激發是量測光子晶體在不同螢光激發角度與固定螢光偵測角度時的螢光光譜，其實驗設置在零度與十度激發螢光分別如圖 3.21(b)、(c)所示；而增強萃取是量測固定螢光激發角度與改變螢光偵測角度時的螢光光譜，其實驗設置在零度與十度偵測螢光分別如圖 3.21(d)、(e)所示，量增強萃取時需先鬆開試片載台之支撐桿的螺絲，並額外加上固定棒來固定試片載台，使其不會隨著旋轉台轉動。



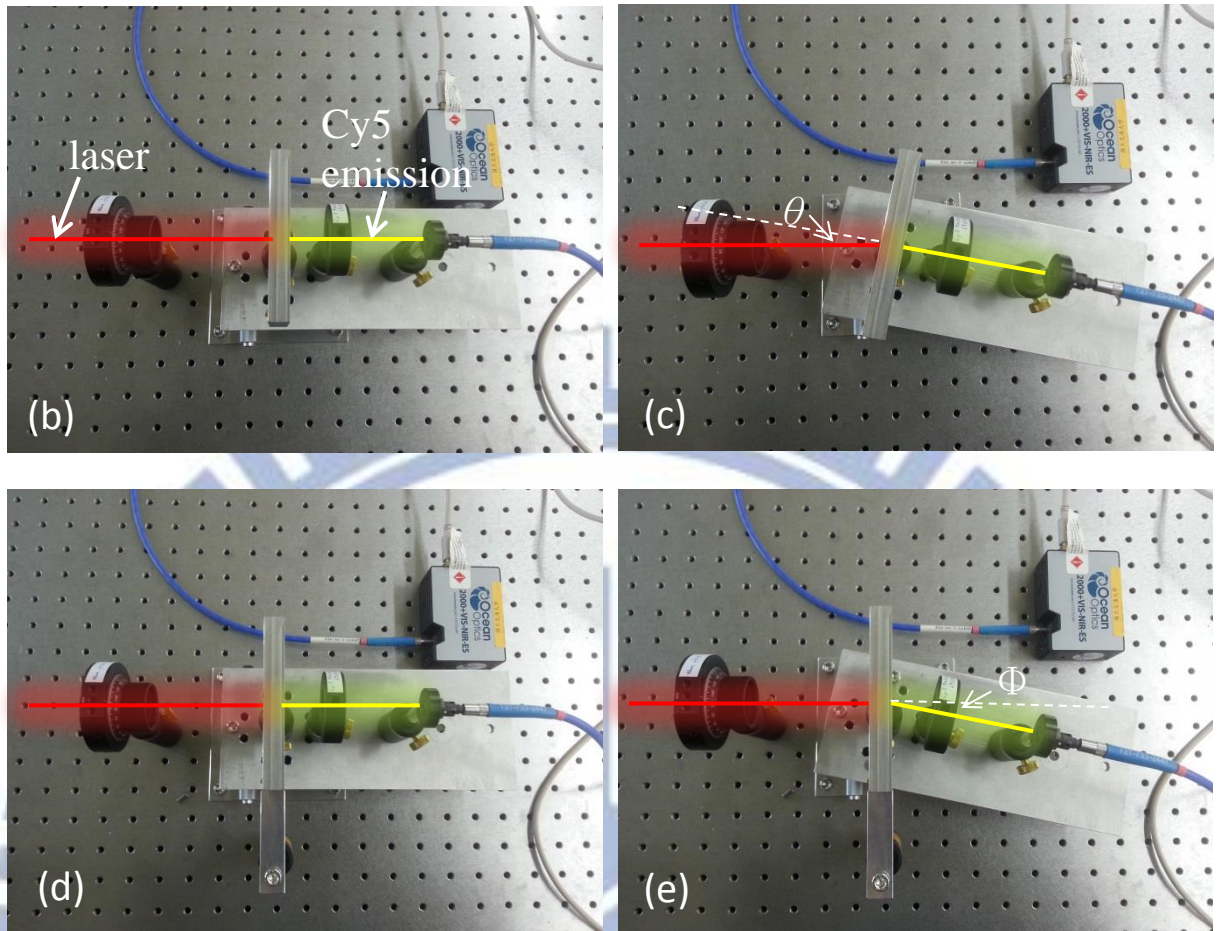
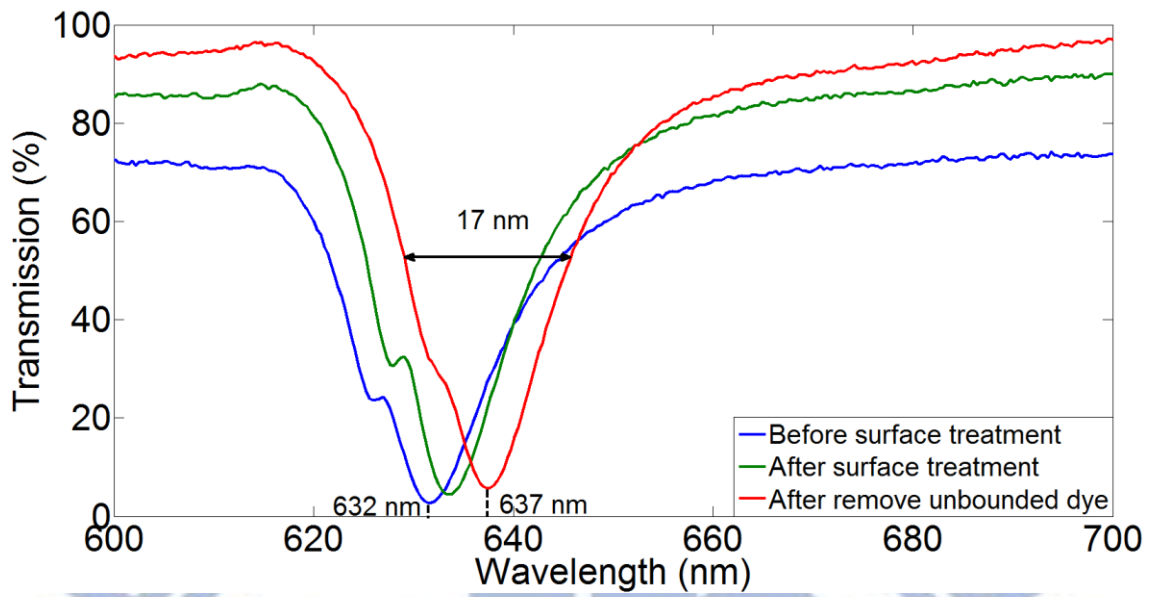


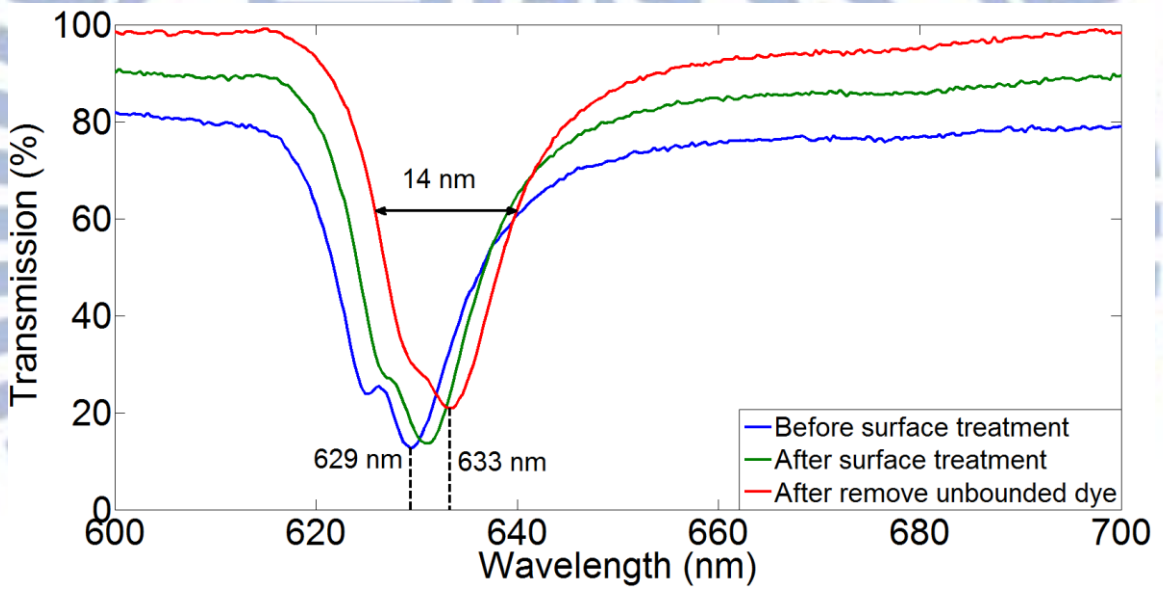
圖3.21 角度解析螢光量測實驗設置，(a)實驗器材說明，(b)增強激發零度，(c)增強激發十度，(d)增強萃取零度，(e)增強萃取十度， θ 為激發角度， Φ 為萃取角度

3.4.1 光學特性量測

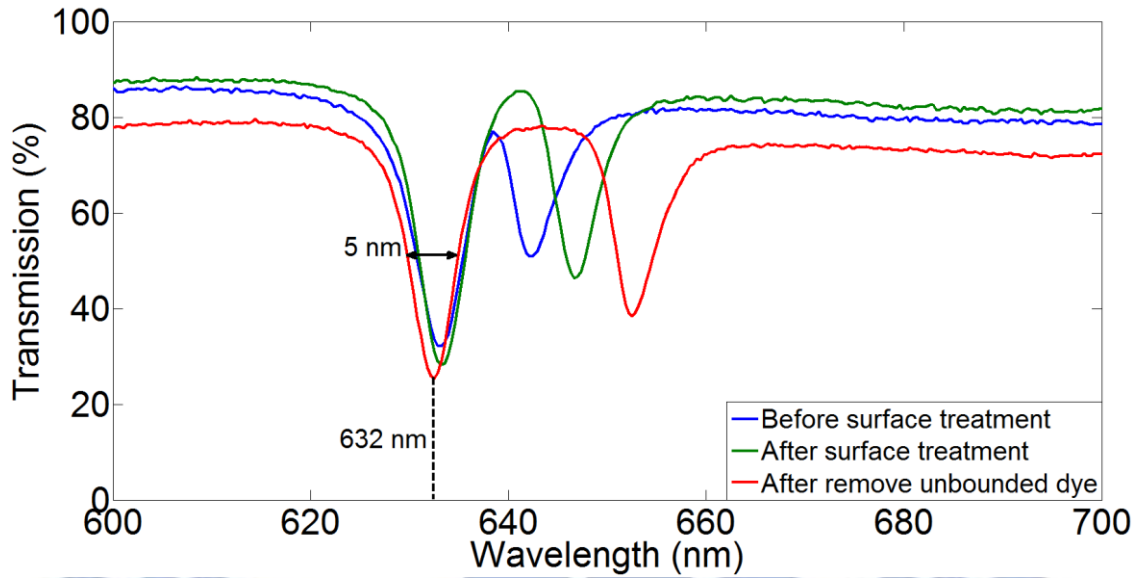
本節所使用之光子晶體和 3.3 節相同，為同一批製程所製作，其二氧化鈦厚度皆 150 nm，而二氧化矽厚度分別為 146 nm、183 nm，與 255 nm，在此亦將它們命名為 PC1、PC2 與 PC3，它們在表面處理前、表面處理後，與點完螢光並清洗去除沒有鍵結之螢光染劑後，在寬頻光以共振角入射時之穿透光譜依序如圖 3.22(a)(b)(c)所示，PC1 與 PC2 之共振波長同樣是在零度時最接近 633 nm，而 PC3 是在 2 度入射時最接近。而這三片光子晶體利用 TM 寬頻光源量測在 633 nm 波段以 -10 到 10 度入射的穿透率，如圖 3.23(a)(b)(c)所示。



(a)

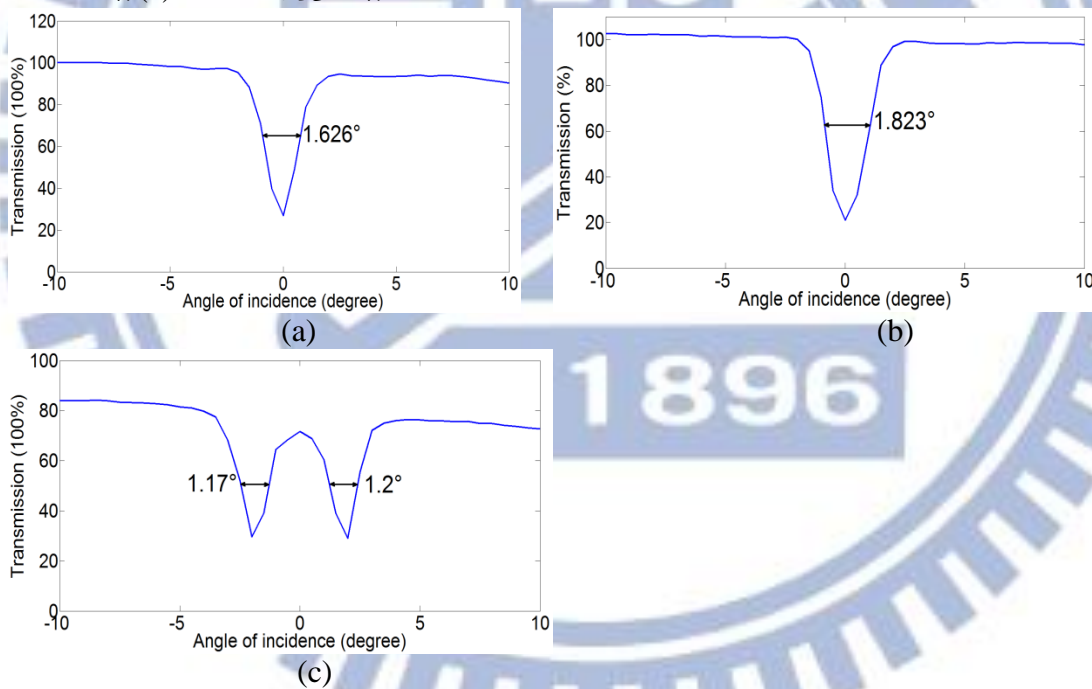


(b)



(c)

圖3.22 光子晶體 TM 白光 633 nm 共振角入射穿透率，(a)PC1，零度入射(b)PC2，零度入射(c)PC3，兩度入射



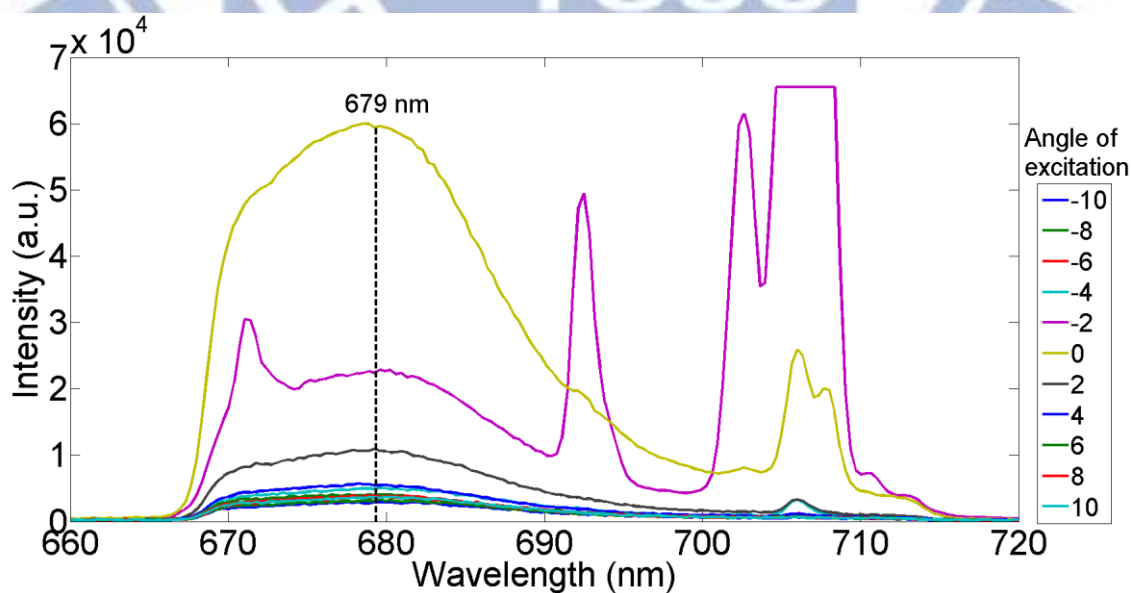
(c)

圖3.23 光子晶體以 633 nm 光源在-10 到 10 度入射之穿透率，(a)PC1，(b)PC2，(c)PC3

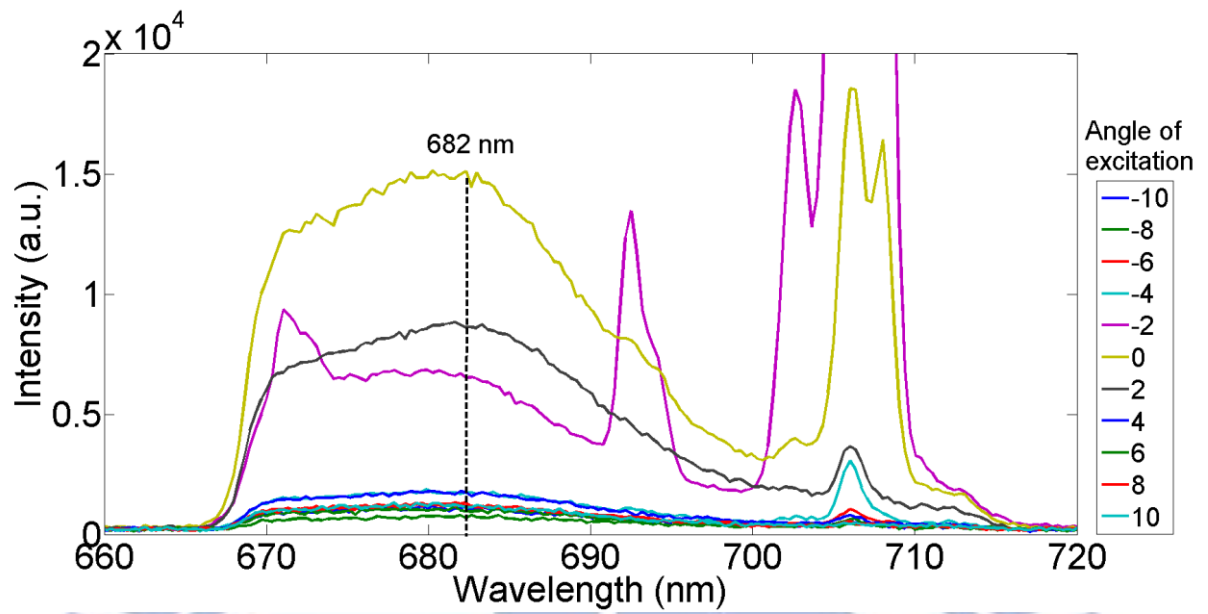
3.4.2 增強激發實驗

增強激發之實驗設置可以參考圖 3.21(b)(c)，其由-10 至 10 度每隔兩度激發螢光所得之螢光光譜分布如圖 3.24(a)(b)(c)所示，在接近零度入射時，671 nm、692 nm、706 nm 處會有雷射光所造成之雜訊，目前本實驗架構還無法完全將其消除，而這三片光子晶體在只改變激發角度時螢光最強波段依序是 679 nm、682 nm 與 694 nm，它們之所以波段不同是因為螢光光譜有涵蓋到光子晶體在 TE 零度的共振模態，此現象在 3.4.2 節增強萃取實驗會說明，此外由於有使用濾鏡，如圖 3.25 所示，所以偵測到之螢光光譜範圍只有在約 669 nm 至 714 nm 之間。

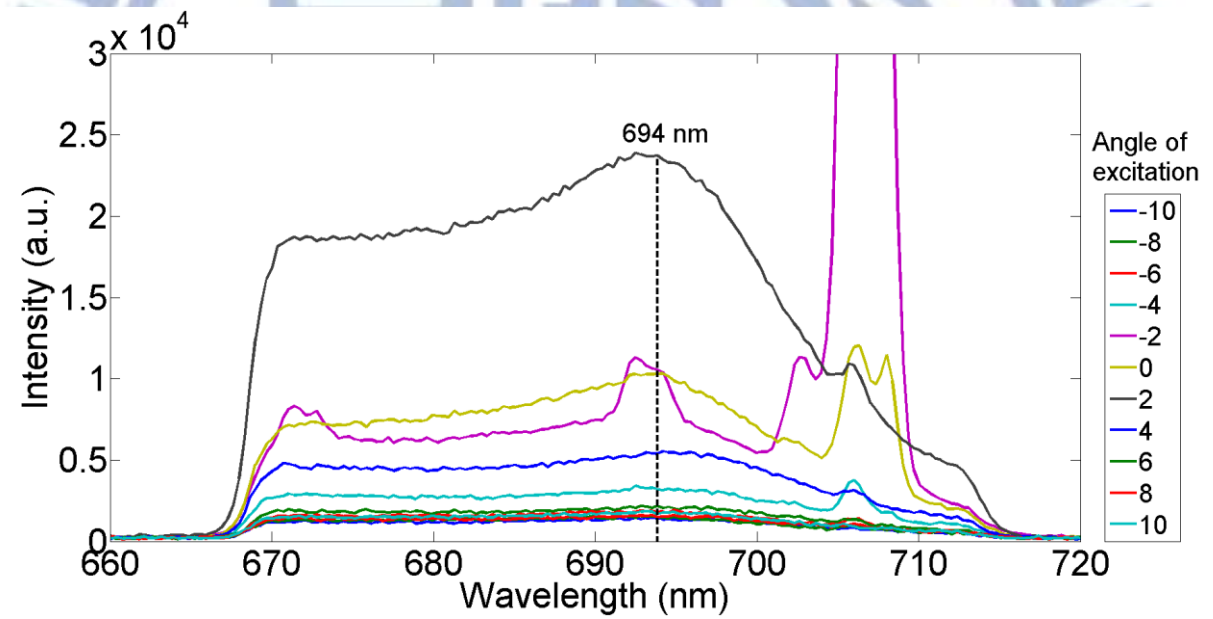
由圖 3.24 所得之螢光光譜，取出其每個角度下螢光最強處之波長的螢光強度可以繪製如圖 3.26(a)(b)(c)所示，若與圖 3.23 比對，可以發現在可以使光子晶體之共振波長在 633 nm 的角度時激發螢光，其螢光會是最強的，這就是增強激發的效應，此外由於本實驗量測時是先由 0 度量到 10 度，再由-2 度量到-10 度，且螢光強度減弱得很快，所以用圖 3.26(c)來說，其在正負二度雖皆為共振角，但負二度較晚量，所以其強度會較正二度弱。



(a)



(b)



(c)

圖3.24 增強激發實驗螢光光譜，(a)PC1，(b)PC2，(c)PC3

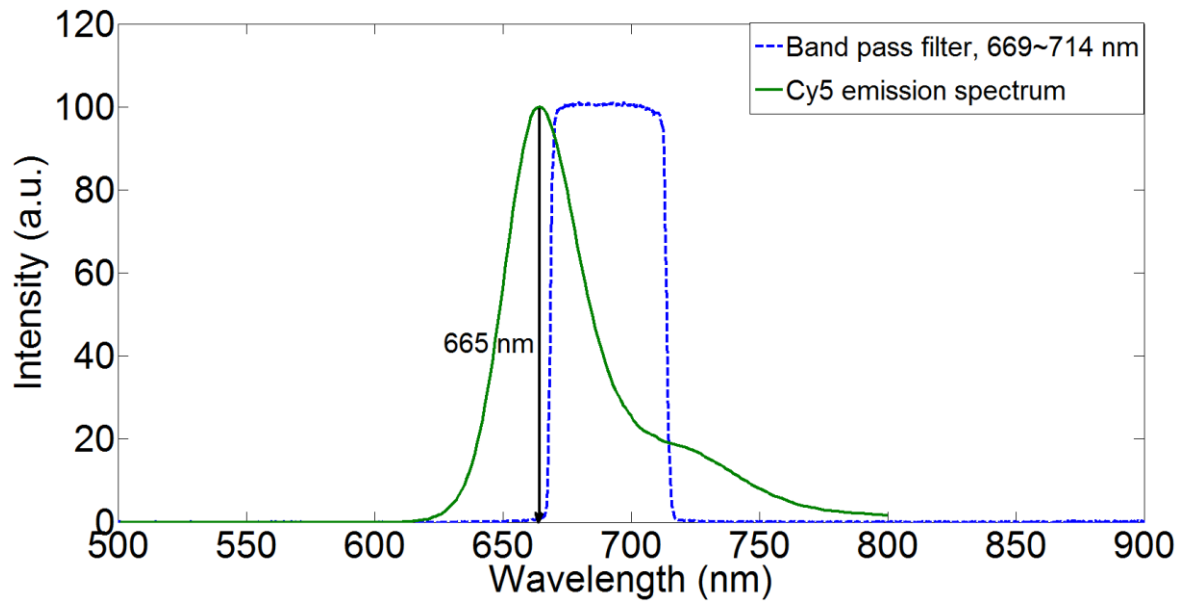


圖3.25 Cy5 螢光光譜與濾鏡波段

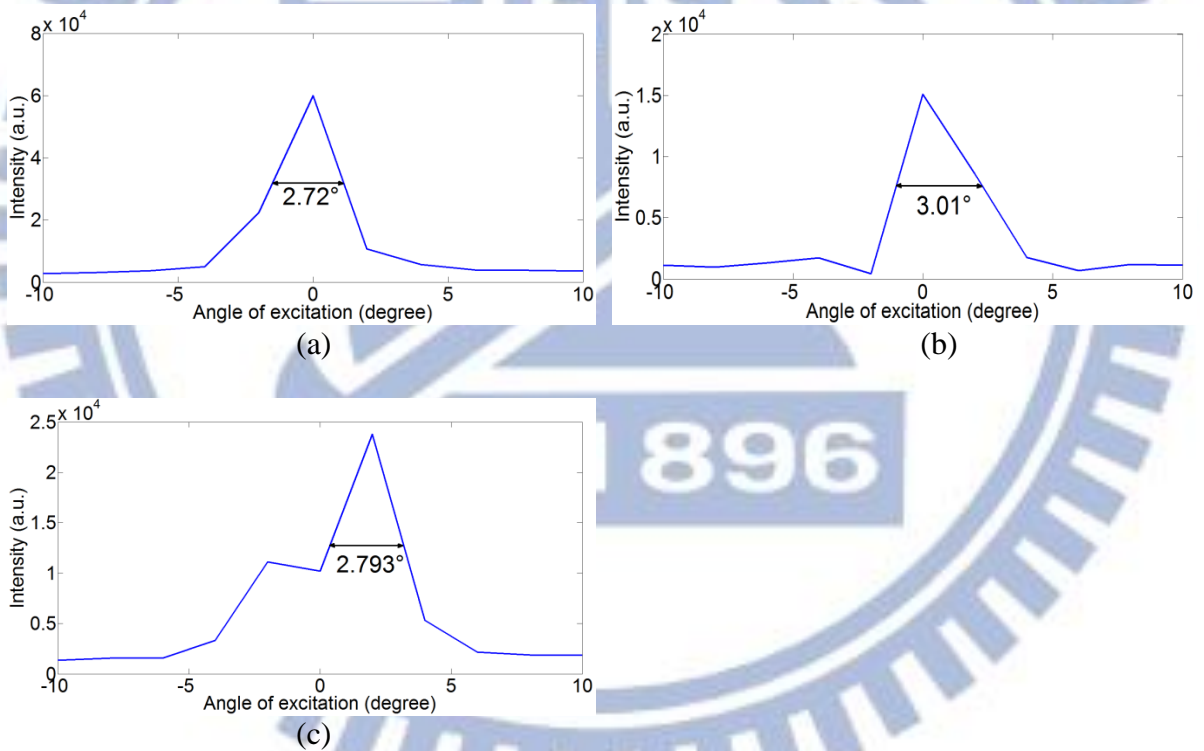


圖3.26 增強激發實驗螢光強度分布，(a)PC1 在 679 nm，(b)PC2 在 682 nm，(c)PC3 在 694 nm

由圖 3.22、圖 3.23、圖 3.26 所得之結果可以整理如表 5，在表 5 中增強激發是共振時之螢光強度除以在 10 度激發時之螢光強度，由表 5 可以看出 PC1 與 PC2 在共振角入射時穿透分布之半高寬(第一列)和以 633 nm 波長之光源在不同角度下入射光子晶體穿透分布的半高寬(第二列)大小順序不一致，這是由於 PC1 在共振角入射之共振波長位置離 633 nm 較遠，使得其可以激發範圍較小；此外 PC1 與 PC3 在不同角度激發螢光時螢光強度之半高寬(第三列)也和以 633 nm 波長之光源在不同角度下入射光子晶體穿透分布的半高寬(第二列)大小順序不一致，這部份由於在不同角度激發時，取的角度太少，所以參考的價值並不高；而在表 5 中增強激發的部分(第四列)PC1 與 PC2 較 PC3 高，較有可能的原因為二氧化矽厚度影響螢光偵測，因為本實驗架構是由光子晶體的正面去激發螢光，並從背面接收與偵測螢光，所以螢光必須穿透過二氧化鈦、二氧化矽、norland 與 PET，而其中唯一不同的只有二氧化矽的厚度，且這層膜也沒有非常均勻，使得二氧化矽越厚螢光越弱。此外利用角度解析螢光系統所得之增強激發平均有 14.75 倍，而利用雷射螢光掃描機所得之增強激發平均為 3.07 倍，兩者之所以差很多主要因素是雷射螢光掃描機之光源是聚焦雷射，即使設定某一角度激發，其激發角度仍是很寬的，所以在非共振角會有增強激發的效果，使其共振與非共振時之螢光強度不會差太多。

表5 角度解析螢光系統增強激發實驗整理

	PC1	PC2	PC3
FWHM1	17	14	5
FWHM2	1.626	1.823	1.185
FWHM3	2.72	3.01	2.793
Enhanced excitation (on/off resonance)	17.30	13.85	13.09

*FWHM1:FWHM of transmission by TM broad band light source incident in resonant angle (nm)

*FWHM2:Average FWHM of transmission by TM 633 nm light source incident in different angles (degree)

*FWHM3:FWHM of the enhance excitation distribution (degree)

3.4.3 增強萃取實驗

增強萃取的機制是由於螢光放射時，是朝四面八放射且無特定偏振，其中必定有某些螢光是朝向光子晶體放射，且這些光以不同的角度入射光子晶體，而在不同角度下，會有特定波段的螢光被耦合到光子晶體的共振模態中，之後再以和入射角相同之角度輻射出去，所以可以預期在不同角度下偵測螢光時，其螢光光譜將會和光源在不同角度下入射光子晶體的共振模態有密切關係，此外，由於螢光在耦合到光子晶體中時，並沒有通過任何偏振片，所以量測增強萃取對應之共振模態時就不須加偏振片，如圖 3.27 所示，為無特定偏振之寬頻光源以-14 至 14 度入射 PC2 的頻譜結構，此處就不列出 PC1 與 PC3，圖中包含 TE 與 TM 偏振產生的共振模態，上方的為 TE 模態，而下方是 TM 模態，而在 TE 與 TM 交叉處，約正負 6.2 度時會有最小穿透。

增強萃取之實驗設置可以參考圖 3.21(d)(e)，PC2 以-14 至 14 度偵測所得之螢光強度可以整理並繪製如圖 3.28 所示，可以看出由於增強萃取的效應，使得螢光的強度與波長會隨著偵測角度而改變，與圖 3.27 比對，只看濾鏡波段範圍內的部分，其整體的趨勢是一致的，也就是說螢光在不同角度下打向光子晶體時，會有特定波段的螢光被耦合到光子晶體的共振模態中，之後再以和入射角相同之角度輻射出去，而 3.4.2 節中增強激發實驗的三片光子晶體其螢光最強波段不同就是由於它們在零度時增強萃取的波段不同所導致。

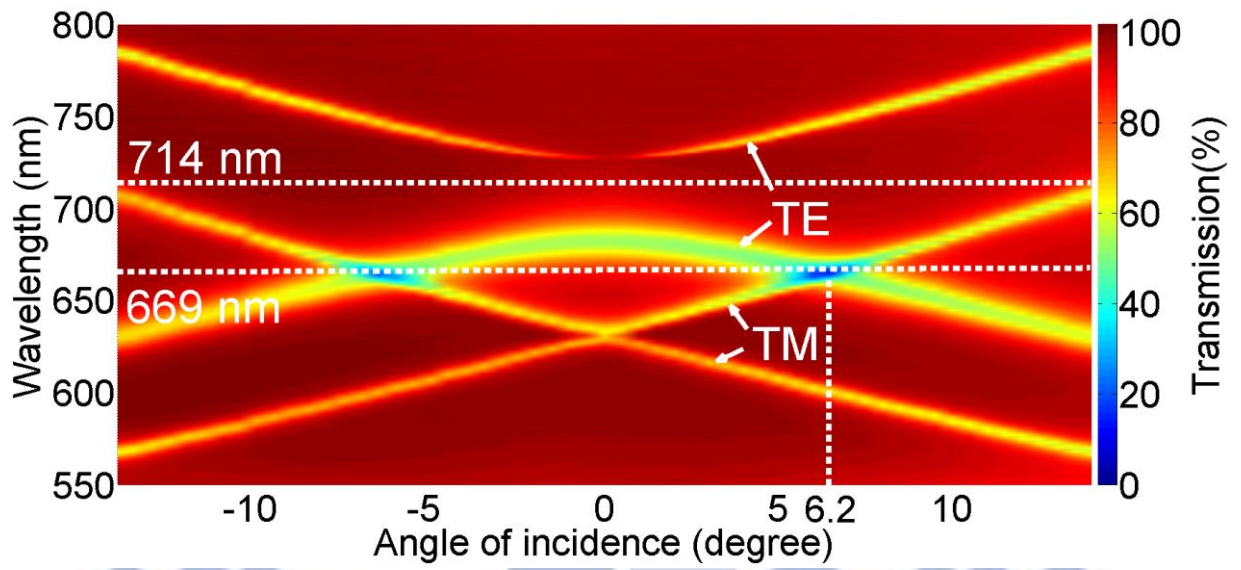


圖3.27 無特定偏振寬頻光源以-14到14度入射PC2之頻譜結構

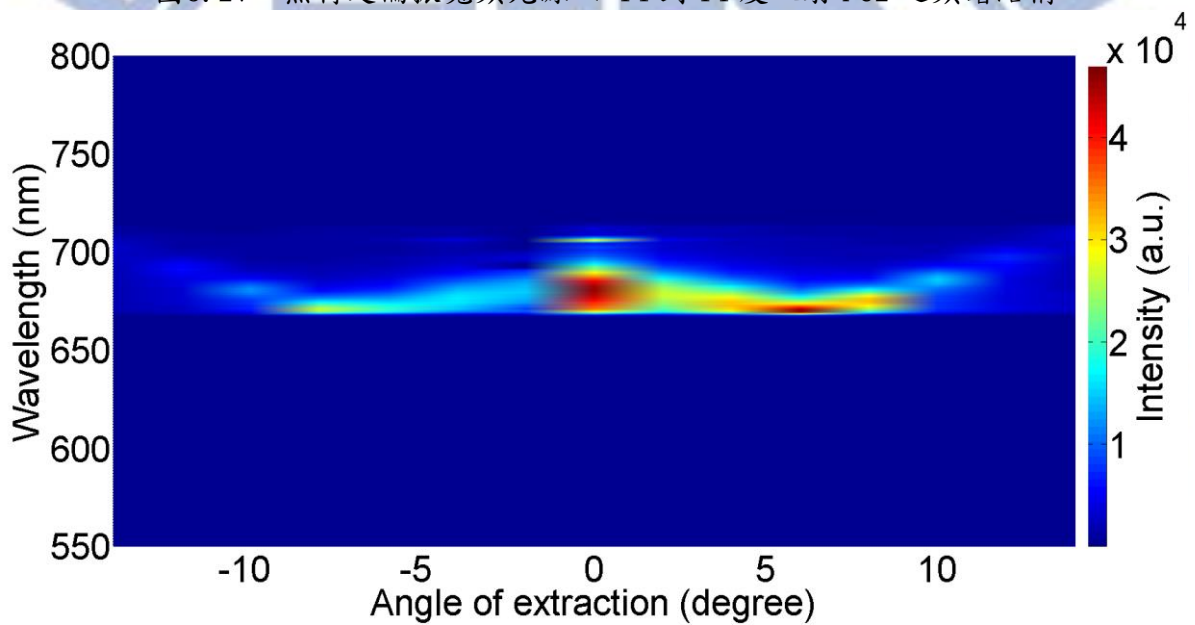


圖3.28 PC2以零度激發並以-14至14度偵測之螢光光譜分布

更進一步去看圖 3.27 與圖 3.28 的相對位置，如圖 3.29 所示，在此只取 0、4、8、12 度的位置做比較，由此可以看出 PC2 其螢光光譜最強波段和共振模態波長是相當接近的。而 PC1、PC2 與 PC3 之寬頻光量測穿透之最小穿透波段與增強萃取實驗之螢光最強波段位置可以整理如表 6、表 7 與表 8 所示，其第四欄處為增強萃取實驗之螢光光譜取在共振波長位置的螢光強度，由表 6、表 7 與表 8 可以看到其實三片光子晶體在相同角度時，其以寬頻光量測穿透之最小穿透波段與增強萃取實驗之螢光最強波段位置會差一點點，這是由於原本螢光光譜本身最強波段在 665 nm，如圖 3.25，原本的螢光光譜會與增強萃取效應交互作用，所以增強萃取時螢光最強處就有可能落在共振波長與 665 nm 之間。另外由圖 3.27 可以看到在約六度時，PC2 之 TE 與 TM 共振模態會重疊，使得在此處會有最小穿透，代表以六度入射光子晶體的螢光耦合效率會最好，使其被耦合出來時螢光會最強，而表 6、表 7 與表 8 可以發現其符合此趨勢，即偵測角度轉到六度時，其在共振波長處的螢光強度會變強。

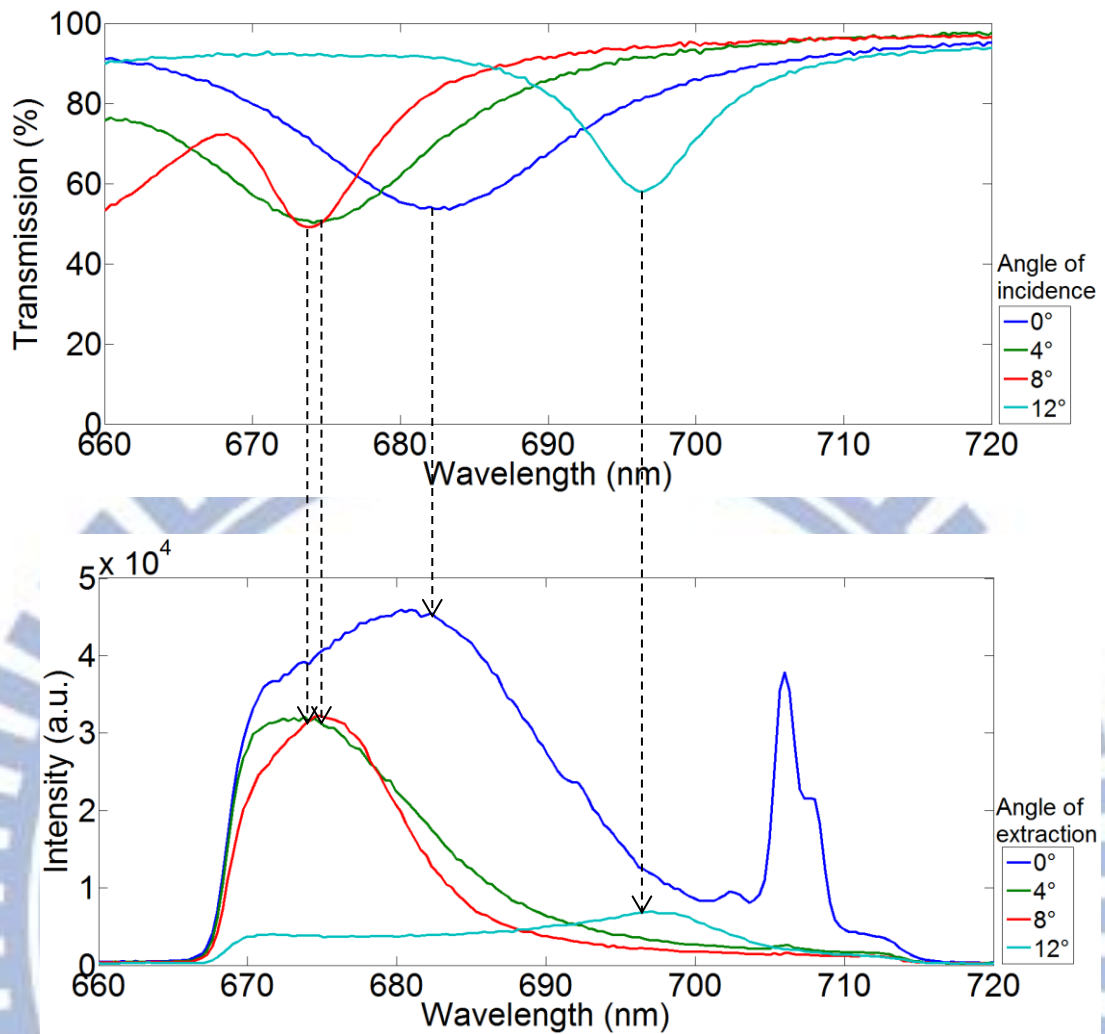


圖3.29 PC2 共振模態與增強萃取實驗螢光光譜相對關係，PC2 寬頻光穿透量測(上)，PC2 增強萃取量測(下)

表6 PC1 增強萃取

Angle of incidence/extraction	λ at min transmission without polarizer (nm)	λ at max intensity of extraction (nm)	Extraction intensity at min transmission without polarizer (a.u.)
0°	683	677	42300
2°	681	673	34700
4°	675	671	36400
6°	666	670	58300
8°	676	680	25600
10°	687	691	10800
12°	698	703	4350
14°	709	705	2410

表7 PC2 增強萃取

Angle of incidence/extraction	λ at min transmission without polarizer (nm)	λ at max intensity of extraction (nm)	Extraction intensity at min transmission without polarizer (a.u.)
0°	683	681	44400
2°	680	680	26100
4°	674	674	31900
6°	664	670	46900
8°	674	675	31600
10°	685	686	14600
12°	696	698	6710
14°	708	710	3090

表8 PC3 增強萃取

Angle of incidence/extraction	λ at min transmission without polarizer (nm)	λ at max intensity of extraction (nm)	Extraction intensity at min transmission without polarizer (a.u.)
0°	697	693	10200
2°	693	687	4290
4°	697	671	5060
6°	673	679	8630
8°	683	690	2290
10°	693	700	1210
12°	704	710	790
14°	715	712	474

第四章、結論與未來工作

本論文中利用翻模與濺鍍製程製作不同頻寬共振模態之光子晶體增強螢光基板，其使用雷射螢光掃描機與角度解析螢光系統量測螢光後，可確認皆具有增強激發與增強萃取的效果，由市售的雷射螢光掃描機量測得之增強激發平均有 3.07 倍，在二十度時增強萃取相對於玻璃基板平均有 15.66 倍，這兩項機制使得本研究所使用的光子晶體相較於常用的玻璃基板可以有效的增強螢光約 33 倍；而角度解析螢光系統量測得之增強激發平均有 14.75 倍，而其增強萃取最明顯的偵測角度為六度，妥善利用這兩種機制，將可以有效降低螢光之偵測極限。而光子晶體共振模態之頻寬對於螢光增強偵測效益之影響的探討，在雷射螢光掃描機的部分，可以發現當其共振模態頻寬差異不大時，主要影響增強激發的因素是其基板之薄膜的品質，與在零度激發時共振波長的位置，若要探討單純共振模態頻寬與增強激發的關係，則需要製作出零度入射共振波長位置都在 633 nm 的元件；在角度解析螢光系統的部分，在不同角度激發之螢光強度符合以 633 nm 光源在不同角度入射穿透分布之趨勢，也就是在共振角時螢光會最強，但由於增強激發所取的角度不多，所以三片光子晶體在增強激發量測與穿透量測的角度分布之半高寬並沒有很明顯的趨勢，但總結來看，本論文中頻寬較寬之光子晶體之增強激發效果都優於頻寬較窄之光子晶體，此外，若考慮到其製程的難度，頻寬較寬之光子晶體要做到零度入射時共振波長在 633 nm 會比頻寬較窄的要容易許多，但是本論文中還沒有製作出 TE 寬頻的光子晶體，是由於此結構需要較厚的二氧化矽，但當二氧化矽越厚時 duty cycle 也越大，導致其頻寬變小，但若階梯覆蓋率很好的情況下就沒有此問題，所以未來研究方向可以朝向改善製程與製作出 TE 寬頻之光子晶體，並使用寬頻光源來激發。

參考文獻

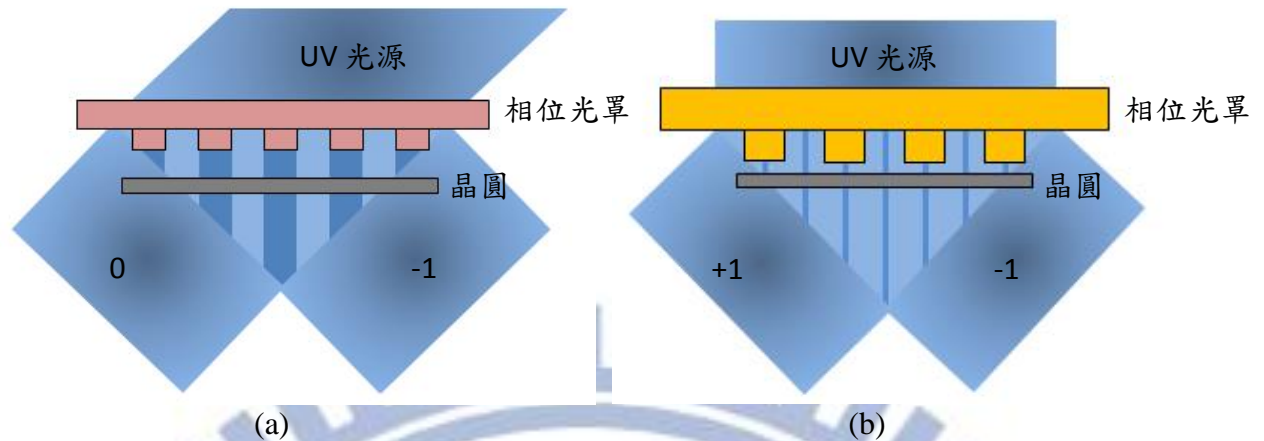
1. Aslan, K., et al., *Metal-enhanced fluorescence: an emerging tool in biotechnology*. Current Opinion in Biotechnology, 2005. 16(1): p. 55-62.
2. Lizardi, P.M., et al., *Mutation detection and single-molecule counting using isothermal rolling-circle amplification*. Nature genetics, 1998. 19(3): p. 225-232.
3. PerkinElmer, <http://www.perkinelmer.com/default.xhtml>.
4. Schweitzer, B., et al., *Multiplexed protein profiling on microarrays by rolling-circle amplification*. Nature biotechnology, 2002. 20(4): p. 359-365.
5. Geddes, C.D. and J.R. Lakowicz, *Editorial: Metal-enhanced fluorescence*. Journal of Fluorescence, 2002. 12(2): p. 121-129.
6. Lakowicz, J.R., *Radiative decay engineering: biophysical and biomedical applications*. Analytical biochemistry, 2001. 298(1): p. 1-24.
7. Campion, A., et al., *Electronic energy transfer to metal surfaces: a test of classical image dipole theory at short distances*. Chemical Physics Letters, 1980. 73(3): p. 447-450.
8. 湯富福, *Y-型光功率分配器之設計與模擬*. 2004.
9. Holland, W. and D.G. Hall, *Waveguide mode enhancement of molecular fluorescence*. Optics letters, 1985. 10(8): p. 414-416.
10. Mathias, P.C., H.-Y. Wu, and B.T. Cunningham, *Employing two distinct photonic crystal resonances to improve fluorescence enhancement*. Applied physics letters, 2009. 95(2): p. 021111-021111-3.
11. Wang, S., et al., *Guided-mode resonances in planar dielectric-layer diffraction gratings*. JOSA A, 1990. 7(8): p. 1470-1474.
12. Magnusson, R. and S. Wang, *New principle for optical filters*. Applied physics letters, 1992. 61(9): p. 1022-1024.
13. Magnusson, R., et al. *Leaky-mode resonance photonics: an applications platform*. in *SPIE NanoScience+ Engineering*. 2011. International Society for Optics and Photonics.
14. Budach, W., et al., *Generation of transducers for fluorescence-based microarrays with enhanced sensitivity and their application for gene expression profiling*. Analytical chemistry, 2003. 75(11): p. 2571-2577.
15. Ding, Y. and R. Magnusson, *Resonant leaky-mode spectral-band engineering and device applications*. Optics express, 2004. 12(23): p. 5661-5674.
16. Wei, C., et al., *Electric field enhancement in guided-mode resonance filters*. Optics letters, 2006. 31(9): p. 1223-1225.
17. Yang, F. and B.T. Cunningham, *Enhanced quantum dot optical down-conversion using asymmetric 2D photonic crystals*. Optics Express, 2011. 19(5): p. 3908-3918.
18. Neuschäfer, D., et al., *Evanescent resonator chips: a universal platform with superior sensitivity for fluorescence-based microarrays*. Biosensors and Bioelectronics, 2003. 18(4): p. 489-497.
19. Ganesh, N., et al., *Leaky-mode assisted fluorescence extraction: application to fluorescence enhancement biosensors*. Opt. Express, 2008. 16(26): p. 21626-21640.
20. Pokhriyal, A., et al. *Photonic crystal enhanced fluorescence using a quartz substrate to reduce limits of detection*. in *CLEO: Science and Innovations*. 2011. Optical Society of America.
21. Dobbs, D.W., I. Gershkovich, and B.T. Cunningham, *Fabrication of a graded-wavelength guided-mode resonance filter photonic crystal*. Applied physics letters, 2006. 89(12): p. 123113-123113-3.
22. Ganesh, N., et al., *Distance dependence of fluorescence enhancement from photonic*

- crystal surfaces*. Journal of Applied Physics, 2008. 103(8): p. 083104.
23. Wu, H.-Y., et al., *Magnification of photonic crystal fluorescence enhancement via TM resonance excitation and TE resonance extraction on a dielectric nanorod surface*. Nanotechnology, 2010. 21(12): p. 125203.
 24. Marcello, A., et al., *A deep-blue OLED-based biochip for protein microarray fluorescence detection*. Biosensors and Bioelectronics, 2013.
 25. Heinrichs, J., et al., *Physical vapour deposition and bioactivity of crystalline titanium dioxide thin films*. Trends in Biomaterials and Artificial Organs, 2008. 22(2): p. 100-106.
 26. Klemberg-Sapieha, J.E., et al., *Mechanical characteristics of optical coatings prepared by various techniques: a comparative study*. Applied optics, 2004. 43(13): p. 2670-2679.
 27. Hawkins, K.R. and P. Yager, *Nonlinear decrease of background fluorescence in polymer thin-films—a survey of materials and how they can complicate fluorescence detection in μ TAS*. Lab on a Chip, 2003. 3(4): p. 248-252.
 28. Pokhriyal, A., et al., *Multicolor fluorescence enhancement from a photonics crystal surface*. Applied physics letters, 2010. 97(12): p. 121108.
 29. Moharam, M. and T. Gaylord, *Rigorous coupled-wave analysis of planar-grating diffraction*. JOSA, 1981. 71(7): p. 811-818.
 30. Vieu, C., et al., *Electron beam lithography: resolution limits and applications*. Applied Surface Science, 2000. 164(1): p. 111-117.
 31. Van Den Boogaart, M., et al., *Deep-ultraviolet–microelectromechanical systems stencils for high-throughput resistless patterning of mesoscopic structures*. Journal of Vacuum Science & Technology B, 2004. 22(6): p. 3174-3177.
 32. Gwyn, C., et al., *Extreme ultraviolet lithography*. Journal of Vacuum Science & Technology B, 1998. 16(6): p. 3142-3149.
 33. Chou, S.Y., et al., *Sub-10 nm imprint lithography and applications*. Journal of Vacuum Science & Technology B, 1997. 15(6): p. 2897-2904.
 34. Oh, M.-C., et al., *Polymeric wavelength filters with polymer gratings*. Applied physics letters, 1998. 72(13): p. 1559-1561.
 35. Xia, Y., et al., *Complex optical surfaces formed by replica molding against elastomeric masters*. Science, 1996. 273(5273): p. 347-349.
 36. Abdulraheem, Y.M., et al., *The Effect of Annealing on the Structural and Optical Properties of Titanium Dioxide Films Deposited by Electron Beam Assisted PVD*. Advances in Materials Science and Engineering, 2013. 2013.
 37. Aarik, J., et al., *Effect of crystal structure on optical properties of TiO_2 films grown by atomic layer deposition*. Thin Solid Films, 1997. 305(1): p. 270-273.
 38. <https://www.norlandprod.com/adhesives/noa61pg2.html>.
 39. <http://www.filmetrics.com/>.
 40. Tennant, D., et al., *Multiwavelength distributed Bragg reflector laser array fabricated using near field holographic printing with an electron-beam generated phase grating mask*. Journal of Vacuum Science & Technology B: Microelectronics and Nanometer Structures, 1993. 11(6): p. 2509-2513.

附錄

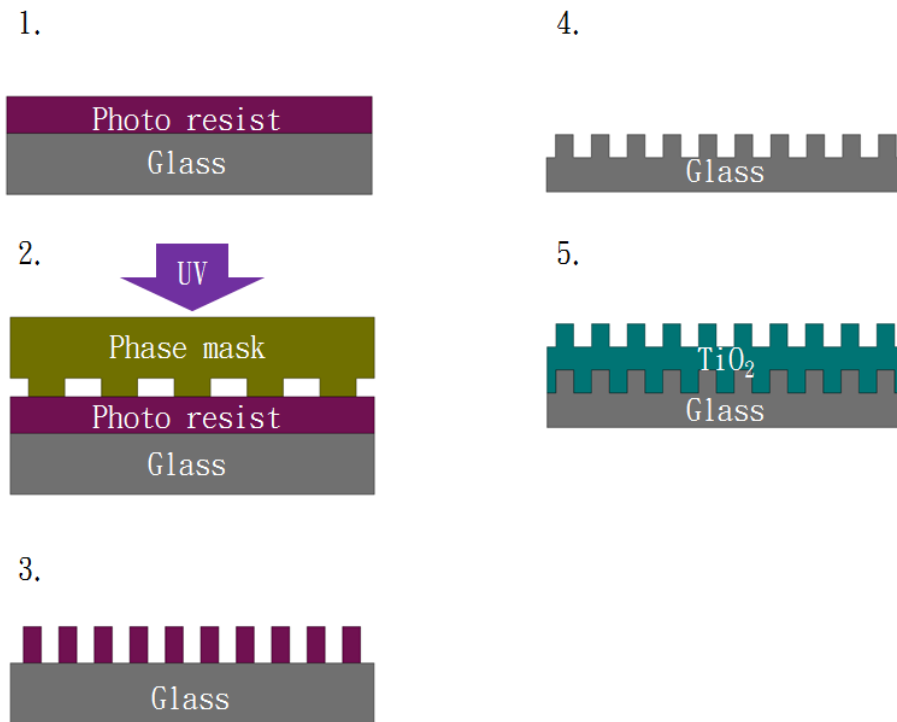
附錄一 相位光罩微影製作光子晶體

相位光罩是利用干涉的方式在光阻上定義出圖形，其曝光架構有兩種，第一種是用零階繞射(Zero-order diffraction)與一階繞射(First-order diffraction)去做干涉，光罩週期會與干涉圖形週期相同，優點是干涉強度較強，但實驗架構較困難，需要有斜向入射之曝光光源，如附錄圖 1(a)，曝光光源需以特定入射角照射相位光罩，並會產生零階與一階繞射，這兩個繞射的光將會產生干涉，其相同相位處將產生建設性干涉，相反相位處產生破壞性干涉，因此在靠近相位光罩下入射光強度將有週期性結構之強弱分布，因此光阻上各位置所曝到之光能量也同為強弱分布，最後使光阻被定義出光柵週期結構之圖形；而第二種是利用正一與負一階繞射去做干涉，如附錄圖 1(b)，其光罩週期為干涉圖形週期的兩倍，優點是可以垂直入射，實驗架構較簡單，但會有零階繞射來影響干涉圖形。早期相位光罩微影技術通常使用相干性(Coherence)的雷射光源來曝光，避免空間相干性(Spatial coherence)與時間相干性(Temporal coherence)不好而影響干涉結果，但後來研究顯示利用不相干性(Incoherence)的光源如紫外光亦可以做出光柵結構[40]，因為在相當靠近相位光罩時，由於光罩有類似狹縫之作用，所以繞射出來的光會有一定的空間相干性，而時間相干性則可以用濾鏡將光源之頻寬變窄來改善。所以本論文是使用一般汞燈之光罩對準曝光機來製作光子晶體，並使用真空接觸模式(Vacuum contact mode)來曝光。



附錄圖 1 相位光罩微影，(a)0/-1 階相位光罩，(b)+1/-1 階相位光罩

本論文利用相位光罩在光阻上定義圖形與後續製作流程示意圖如附錄圖 2，其詳細流程如下：1. 將玻璃送入烤箱上六甲基二矽氮烷(Hexamethyldisilazane, HMDS)，烤乾晶片並增加光阻塗佈時在晶片上之附着力。2. 使用光阻 EPI623(永光化學)，以光阻塗佈機第一階段 600 rpm 塗佈 10 秒，第二階段 600 rpm 塗佈 25 秒，塗佈在玻璃或矽基板上約 300 nm。3. 以 90 度軟烤 60 秒，烤乾光阻上之溶劑。4. 使用雙面對準曝光機(Double side mask aligner, AG1000-4D-D-S-M-V)加濾鏡(i-line)並以真空接觸模式去曝光，總曝光能量約 $250\text{mJ}/\text{cm}^2$ 。5. 以 110 度曝後烤 60 秒，並冷卻 120 秒。6. 以顯影液 EDP1000(永光化學)顯影數秒。7. 用去離子水定影數秒。8. 硬烤 180 秒。當顯影與定影完，可以直接用肉眼檢視圖形的好壞，如果有非常明顯的彩色反光，表示光阻上面確定有光柵結構，因為光柵會使照射到其上的光源產生色散，所以不同角度下觀察會看到不同顏色的反光，而其週期與表面形貌要用掃描式電子顯微鏡或原子力顯微鏡來量測，之後利用蝕刻製程蝕刻，去光阻，並在其上鍍一層二氧化鈦即完成光子晶體之製作。



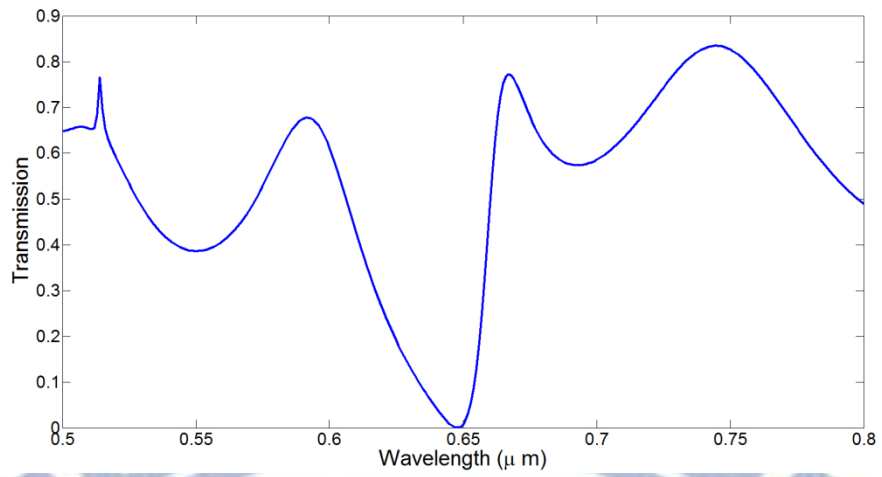
附錄圖 2 相位光罩微影製作光子晶體流程，依序如下：1.光阻塗佈，將光阻旋佈至玻璃基板上 2.曝光，用相位光罩覆蓋在上片上並以波長 365 nm 之光源曝光 3.顯影，將試片泡入顯影液去除不需要之光阻 4.蝕刻並去光阻，利用蝕刻製程在玻璃上蝕刻結構，之後去除所有光阻 5.鍍膜，在玻璃基板上鍍二氧化鈦

附錄二 相位光罩微影製作光子晶體結構模擬

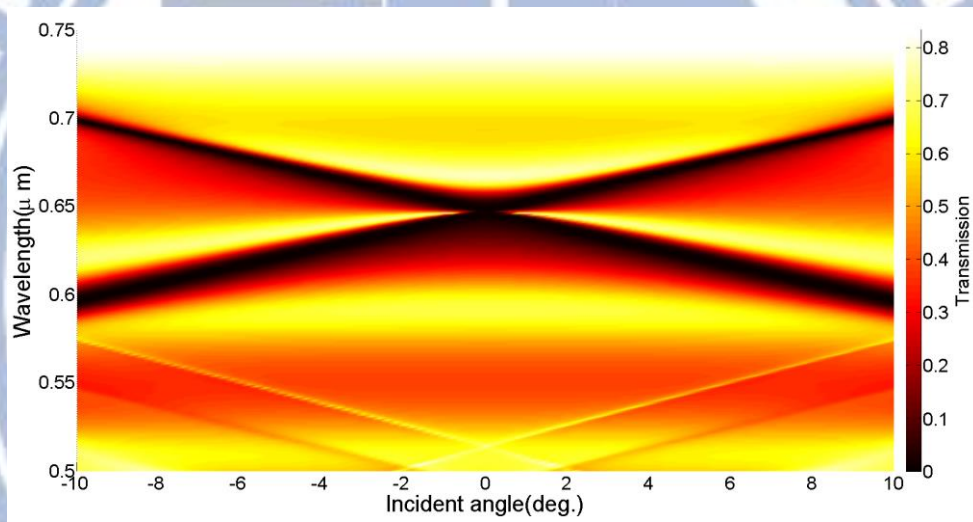
在結構模擬的部分依過去文獻將光子晶體之週期定為 360 nm[10, 18]，並以週期為 720 nm 之正負一階相位光罩來製作。本節將模擬兩個週期相同但結構不同的光子晶體，且為使其能方便應用到螢光偵測設備，將模擬使其以 633 nm 波長的激發光在零度入射時就可以激發共振，這兩個結構分別為利用 TE 波激發之具有寬頻共振模態之光子晶體，與利用 TM 波激發之具有窄頻共振模態之光子晶體。模擬後，可以發現這兩結構在 633 nm 波長之激發光以零度入射時，電場皆大於一般載玻片之電場，與預期這兩結構都可以增強螢光之激發。

寬頻共振模態模擬

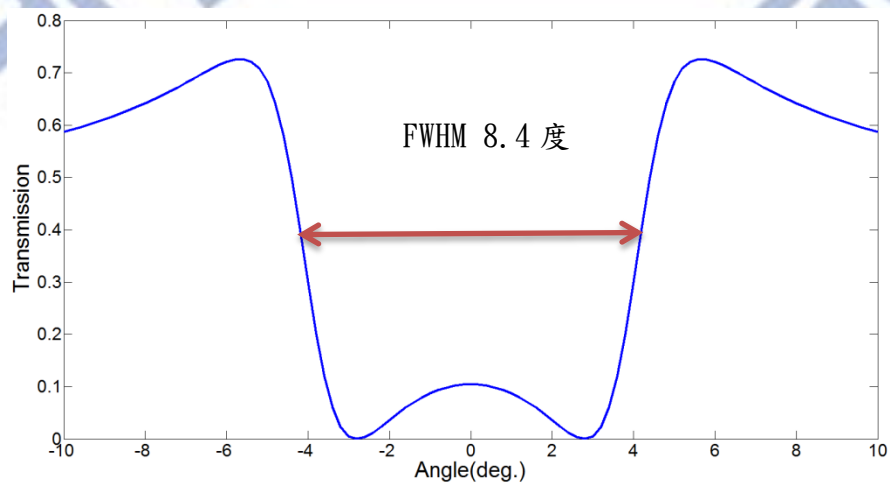
參考漸逝共振晶片之結論，利用共振模態頻寬較寬的 TE 波做激發，模擬具有兩層結構的光子晶體，為一層二氧化鈦覆蓋在二氧化矽上的波狀結構。模擬後可知穿透光譜的特性主要可以由光柵深度與二氧化鈦層厚度來調整，當光柵深度越深，其穿透光譜的頻寬將越寬，但太寬會使其效率下降，減少增強電場程度；而二氧化鈦越厚，共振波長越長。最後利用 633 nm 波長之激發光在零度入射可產生共振模態之結構週期為 360 nm、光柵深度 40 nm、二氧化鈦厚度 100 nm，二氧化矽與二氧化鈦折射率分別為 1.45 與 2.35，以下稱此結構為結構一。其利用寬頻光源在零度入射時之穿透率如附錄圖 3 所示，其共振波長位置在接近 633 nm 處。利用寬頻光在正負 10 度範圍照射結構之穿透率如附錄圖 4 所示，而 633 nm 波長在不同角度下之穿透率如附錄圖 5，其半高寬約 8.4 度。激發共振時之電場分布與載玻片之電場分布的比較如附錄圖 6，可看出電場有明顯增加。



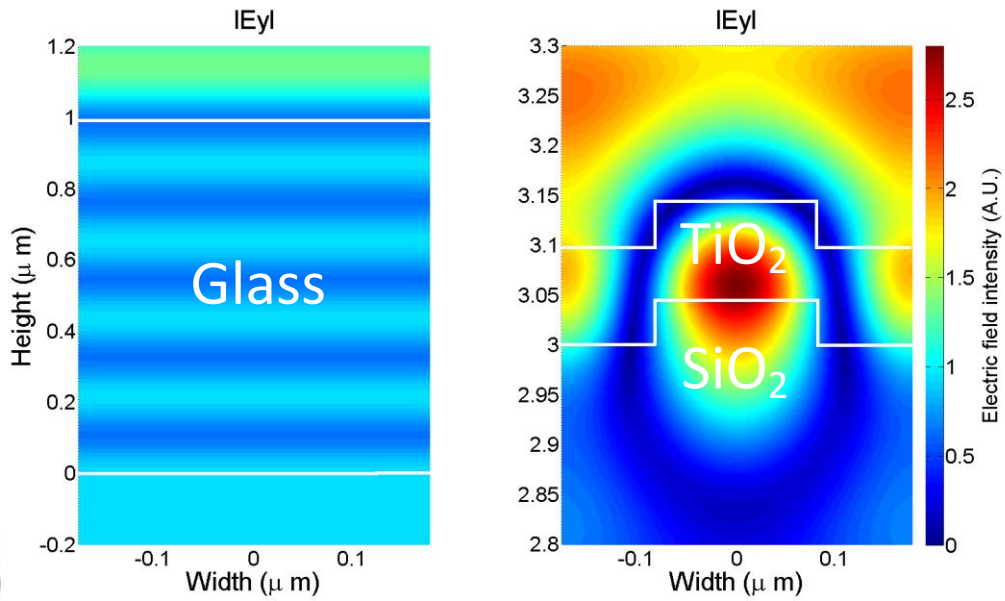
附錄圖 3 結構一寬頻 TE 波零度入射之穿透率



附錄圖 4 結構一之頻譜結構



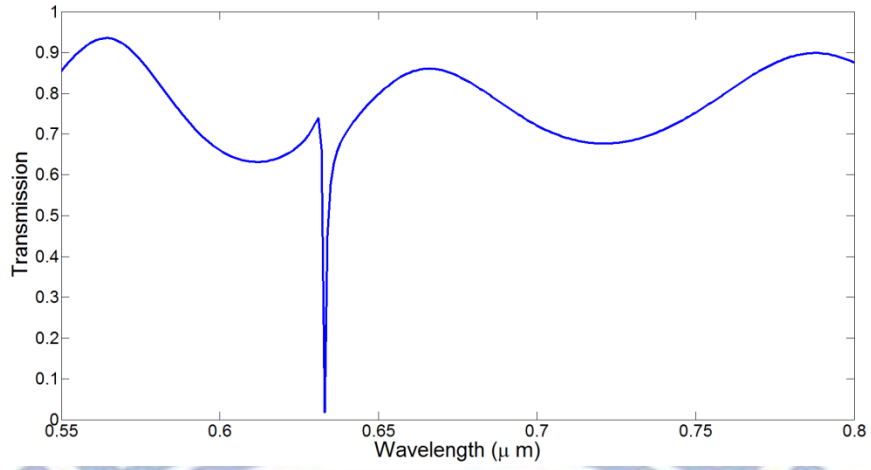
附錄圖 5 結構一以 633 nm 波長光源照射在不同角度下之穿透率



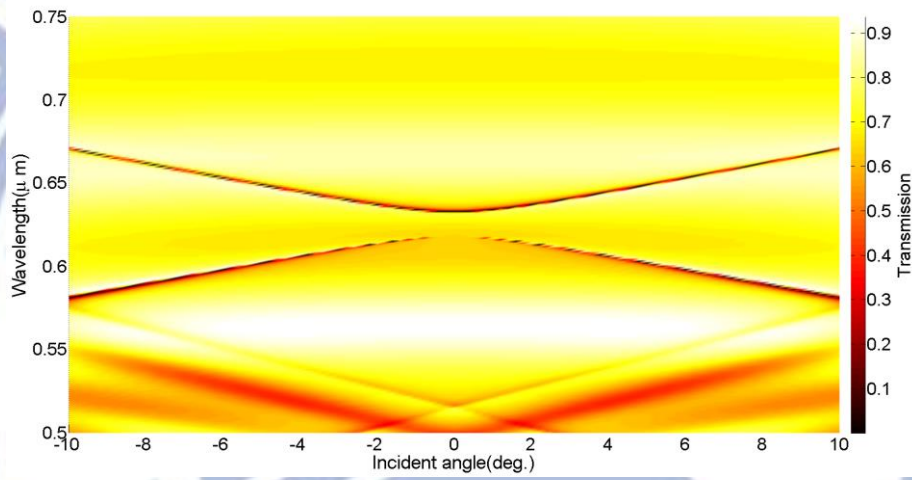
附錄圖 6 結構一以 633 nm 波長激發共振時之電場分佈與載玻片比較

窄頻共振模態模擬

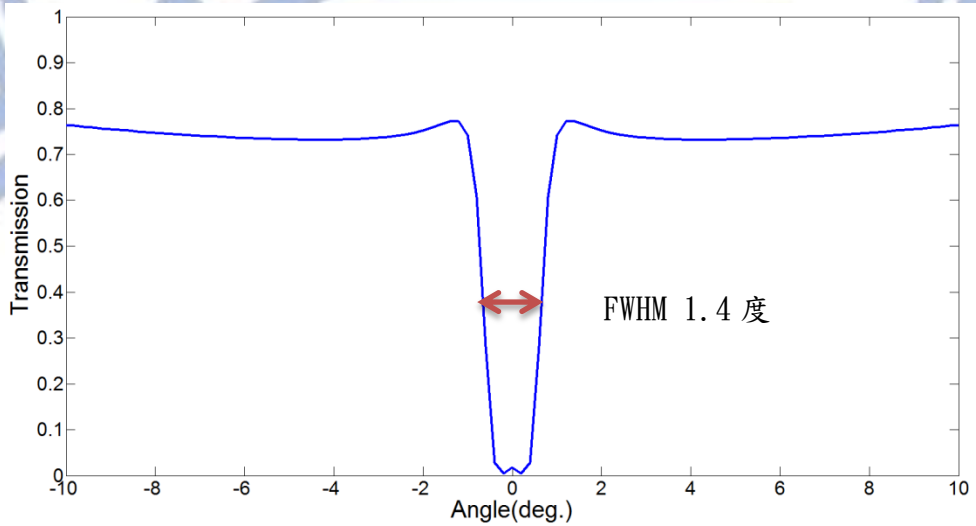
利用共振模態頻寬較窄的 TM 波激發，其流程和寬頻共振模態模擬相同，模擬後，其利用 633 nm 波長之激發光在零度入射可產生共振模態之結構週期為 360 nm，光柵深度 40 nm、二氧化鈦厚度 155 nm，二氧化矽與二氧化鈦折射率分別為 1.45 與 2.35，以下稱此結構為結構二。其利用寬頻光源在零度入射時之穿透率如附錄圖 7 所示，共振波長位置在 633 nm 處。利用寬頻光在正負 10 度範圍照射結構之穿透率如附錄圖 8 所示，而 633 nm 波長在不同角度下之穿透率如附錄圖 9 所示，其半高寬約 1.4 度。而其激發共振時之電場分佈與載玻片比較如附錄圖 10 所示，其具有 x 與 z(無顯示)方向電場。



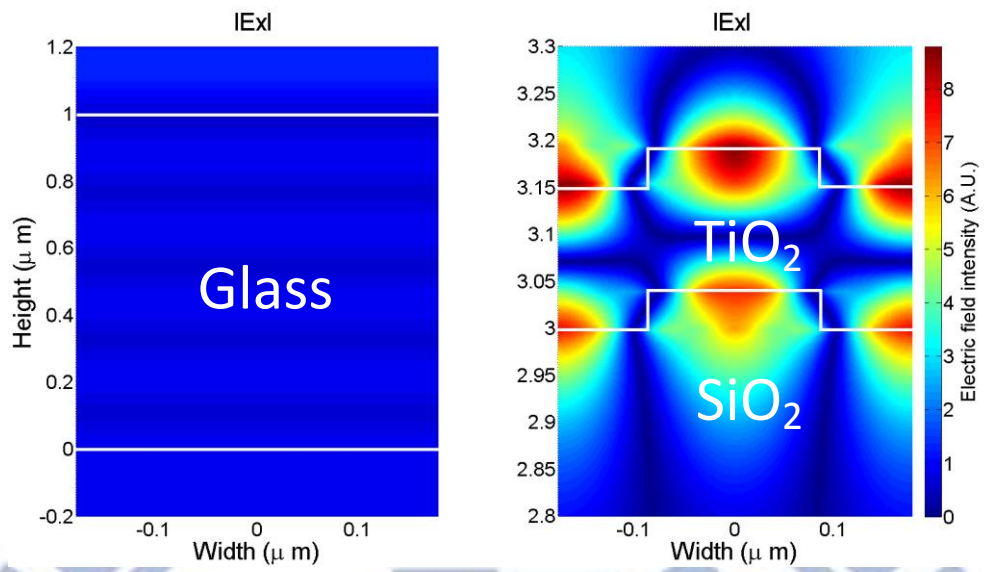
附錄圖 7 結構二寬頻 TM 波零度入射之穿透率



附錄圖 8 結構二之頻譜結構



附錄圖 9 結構二以 633 nm 波長光源照射在不同角度下之穿透率

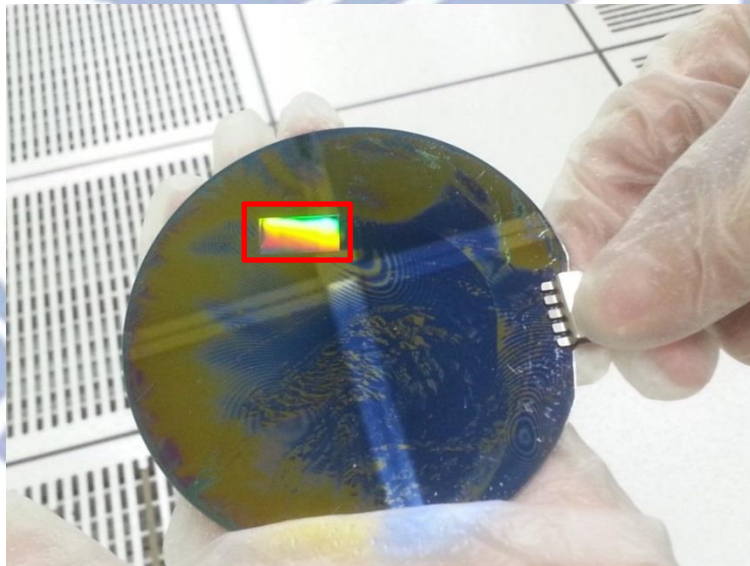


附錄圖 10 結構二以 633 nm 波長激發共振時之電場分布與載玻片比較

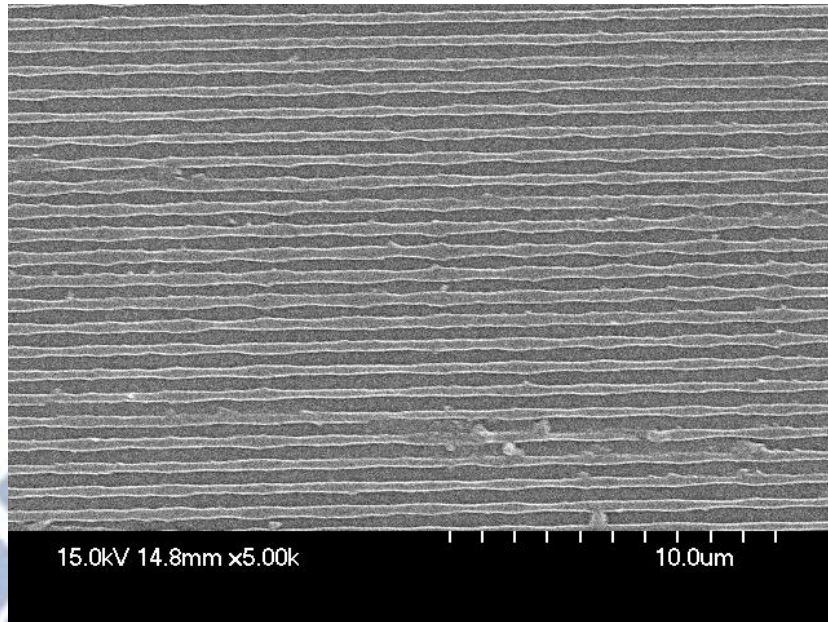


附錄三 相位光罩微影製作光子晶體實驗結果

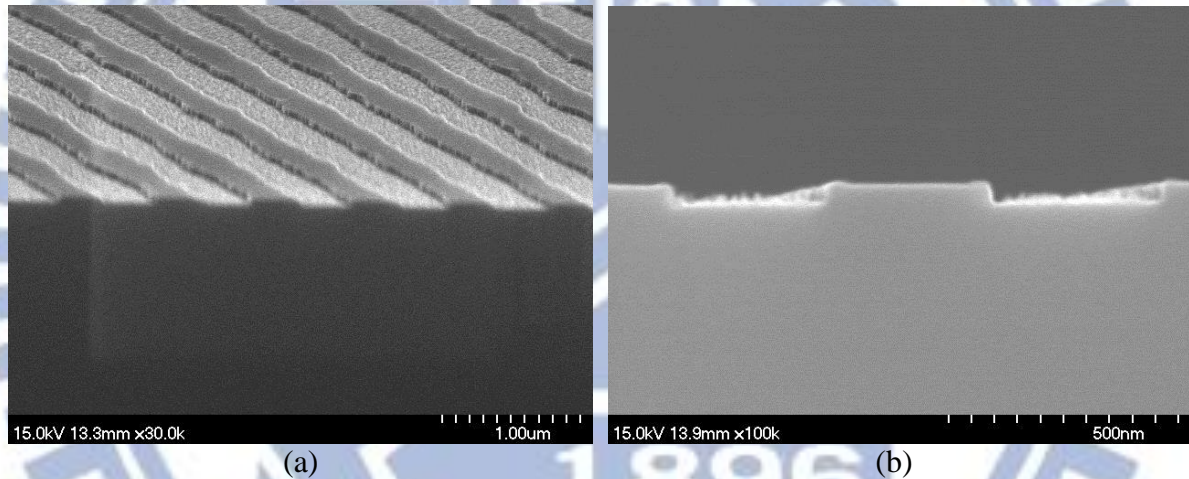
利用相位光罩在光子晶體的製作，本實驗室曾嘗試使用矽基板(Silicon wafer)與玻璃基板，以下將分別說明。矽基板外觀如附錄圖 11 所示，有大面積的光柵結構，但由於在接觸式曝光時，會產生干涉條紋，所以顯影後晶圓會有許多不規則的干涉環出現。而其在電子顯微鏡下，如附錄圖 12 所示，週期為 720 nm，利用高密度離子蝕刻系統蝕刻後，深度約 50 nm，如附錄圖 13(a)(b)，但矽基板的結構與所預期產生 360 nm 週期結構不同，其週期為 720 nm，有可能是因為在曝光時，矽基板反射曝光光源，使其在光阻內產生不必要的干涉所造成，這也使得這項製程的重現性相當低，可能的解決方法是利用底部抗反射塗層(Bottom anti-reflection coating, BARC)來減少矽基板的反射，但由於此化學品非常昂貴，所以後來是改成使用玻璃基板來做，由於玻璃的折射率較矽基板低，所以其可以減少基板底部的反射。



附錄圖 11 矽基板上之光柵結構



附錄圖 12 掃描式電子顯微鏡量測矽基板光柵結構(含光阻)



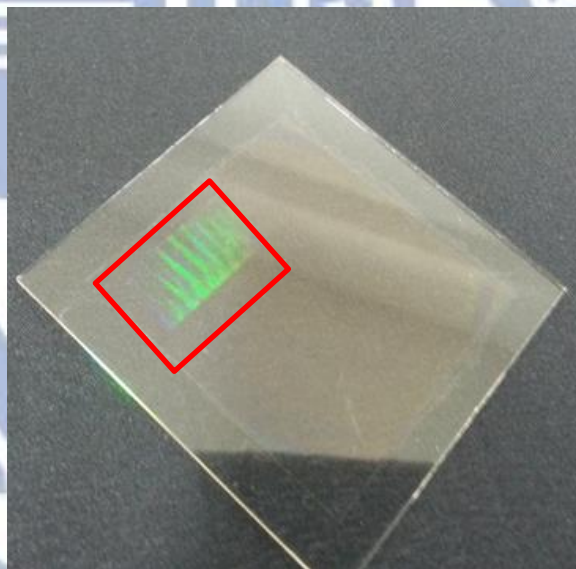
附錄圖 13 蝕刻後的矽基板形貌，(a)三維形貌，(b)剖面

本論文利用相位光罩在玻璃基板上進行黃光微影後外觀如附錄圖 14 所示，同樣有大面積之光柵結構，在原子力顯微鏡量測後如附錄圖 15(a)(b)，其週期為 360 nm，但其在光柵底部還有殘餘光阻，玻璃表面並沒有露出來，所以不能繼續蝕刻的製程，其可能的解決方法有兩種：

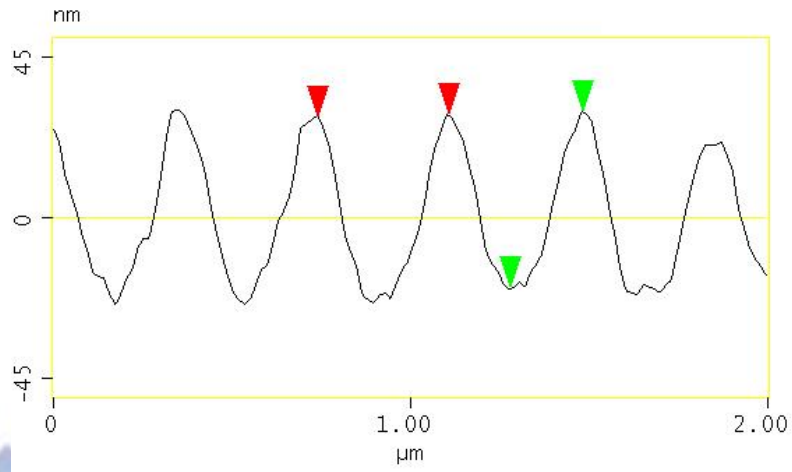
1. 稀釋光阻:利用光阻稀釋液 PGMEA(Propylene glycol monomethyl ether acetate)來稀釋光阻，降低光阻厚度，由於光阻厚度變薄，當光阻接收到相同能量的光源時，應該可以使表面之光阻的化學鍵結徹底改變，並被顯影液顯影掉後露出玻璃表面以利後續蝕刻。

2. 增加曝光時間：增加曝光的秒數以增加曝光能量，使光阻接收足夠的曝光能量並產生化學反應，使殘餘光阻都能被顯影掉。

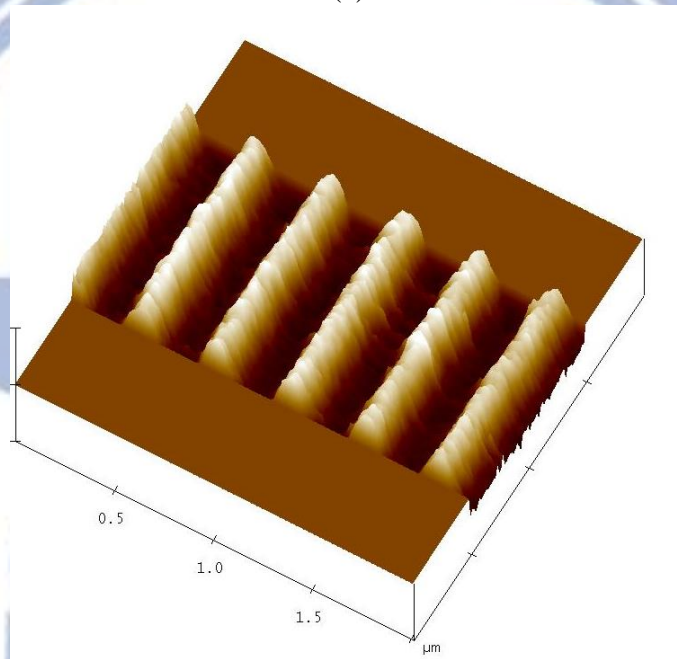
這兩種解決方式都還未成功過，而它們困難的地方是在於若使用稀釋光阻，光阻厚度變薄後顯影時間會大幅縮短，相當容易就過顯，且在人為的操作下很難精準控制顯影時間。另外若增加曝光時間，其過顯的現象雖然不會像稀釋光阻這麼明顯，但同樣地，曝光時間越長，顯影時間就越短，一樣不好控制，重現性也相當低，未來若要繼續使用相位光罩來製作具光柵結構的光子晶體，首要工作應當是尋找解析度更高的光阻，與具有高相干性的曝光光源。



附錄圖 14 玻璃上之光柵結構



(a)



(b)

附錄圖 15 原子力顯微鏡量測玻璃基板光柵結構，(a)剖面，(b)三維形貌