

第三章 實驗

基板的選擇與表面的乾淨度，對薄膜、電性、元件品質有決定性的影響。為了配合目前半導體製程，本實驗採用的基板為 Si-Tech Inc 公司生產之 p-type 之矽晶片，其為硼 (Boron) 摻雜、方向 $\langle 100 \rangle$ 、阻抗 $15\text{-}20\ \Omega\text{-cm}$ 、直徑 $100\ \text{mm}$ 。

3.1 感測薄膜的製作



沉積 PZT 薄膜前須先清潔基板上殘餘的油質、雜質等，為除去基板表面在研磨及拋光時留下來的研磨材料、油脂、蠟等各種有機物或雜質，必須使用特別的步驟，以獲得乾淨的基板表面，而清洗徹底的程度對沈積所得薄膜和基板之間的附著性及減少薄膜中的針孔(Pin hole)有非常關鍵的影響。基板清洗步驟如下：

1. 將基板置入裝有丙酮 (Acetone, ACE) 的燒杯中，利用超音波震盪器 (Ultrasonic cleaner) 內震盪 5 分鐘，以除去基板上的油性物質。

2. 基板置入異丙醇 (Iso-propanol, IPA) 內振洗 5 分鐘，除去 ACE 及可能殘留油漬。
3. 以去離子水(De-ionized water)沖洗 10 分鐘。
4. 以氮氣槍將基板吹乾。

3.1.1 薄膜披覆

首先在 PZT 溶膠—凝膠溶液滴在基板前，需先用 $0.2\ \mu\text{m}$ 的針筒先行過濾溶液，以防溶液中的雜質顆粒附著而影響薄膜品質；並需用氮氣槍將晶片表面吹乾淨以減少空氣中灰塵雜質之影響。本論文中採用兩段式旋轉塗佈法，使用的儀器為國家奈米元件實驗室 low-k 材料塗佈旋轉機(low-k spinner)，第一段轉速為 1000 rpm、時間為 10 秒，第二段轉速為 3000 rpm、時間為 30 秒；在第一階段時，先以較低速度將剛滴下之溶液均勻的塗佈在基板上，而後第二階段再利用較高轉速把多餘的溶液甩出，如此可使薄膜披覆更均勻一致。

3.1.2 熱處理過程

3.1.2.1 低溫焦化

接著將旋鍍完成之薄膜，在國家奈米元件實驗室加熱板（Hot plate）上進行低溫焦化熱處理，使有機溶劑揮發消失，並使金屬有機化合物轉換為無機薄膜。在此過程中，薄膜特性的好壞與否大多取決於升溫速率的快慢。一般 PZT 薄膜在快速升溫（Rapid heating）時，會因體積收縮太快而容易導致薄膜裂縫的生成；升溫速率太慢又會造成時間與成本的浪費。本實驗選擇 5 °C/min 的升溫速率加熱，升溫至 350 °C，持溫 0.5 小時，以形成晶核的微觀結構，然後重複薄膜披覆以及低溫焦化兩步驟，製備多層薄膜，以達成所需之薄膜厚度。

3.1.2.2 高溫結晶

為了解所製備之薄膜是否具有 PZT 材料的壓電性，因此將低溫焦化完後的壓電薄膜，利用國家奈米元件實驗室的快速退火爐（Rapid Thermal

Prpcessing System, RTA) 以 5 °C/min 的升溫速率, 加熱至 450 °C~850 °C 等不同燒結溫度, 持溫時間為 3 分鐘, 進行高溫結晶熱處理, 以提供薄膜結晶與晶向成長所需之能量, 然後使其緩慢降溫。特別注意, 絕不可直接在高溫時將薄膜從高溫爐取出, 如此薄膜可能因熱膨脹係數與基板不同, 易產生裂痕的情形; 亦可能在此過程中, 薄膜與基板或電極在高溫下產生反應, 生成二次相而破壞電性[35]。

3.1.3 薄膜性質分析



3.1.3.1 傅立葉轉換紅外線光譜儀 (Fourier Transform Infrared spectrometry, FTIR) 分析

整個輻射電磁波涵蓋的範圍非常的廣, 光子所具有的能量也不同, 對於不同能量光子在與物質反應時則會有不同的躍遷情形。所謂紅外光, 一般定義是指波長在可見光 ($0.78 \mu\text{m}$) 和微波 ($1000 \mu\text{m}$) 間的電磁波。從微觀的角度來看, 分子是隨時保持著振動或轉動, 若吸收適當頻率的紅外光, 會使躍升為激發態的分子, 所以我們可以透過紅外光譜來瞭解分子的

結構，作為鑑定分子結構的工具。如表 3.1 所示。

Peak (cm ⁻¹)	Assignment
3363	-OH
1735	C = O (ester)
1567、1411	COO ⁻
1080、1040	C - O

表 3.1 FTIR 光譜範圍



我們所研究的是屬於固體樣品，分子和分子間彼此會束縛，所以看不到轉動譜峰，只有振動譜峰。紅外光檢測對於樣品來說，是屬於一種非破壞性的分析，樣品在進行紅外光譜量測之後，並不會造成原本結構的破壞或改變。使用的機型為國家奈米元件實驗室的 ASTeX PDS-17 System 紅外光譜分析儀，來研究 PZT 薄膜在不同條件參數下，其有機溶劑的殘存情形。

而其量測結果如圖 3.1 所示，當燒結溫度為 300 °C 時，薄膜中尚存有一些未完全揮發之 1,3 丙二醇溶劑，因而造成薄膜特性並不穩定。當燒結溫度在 400 °C 與 500 °C 時，在薄膜中的溶劑已揮發較完全，且薄膜仍維

持非晶形之狀態，所表現的穩定性較佳。由圖 3.1 顯示隨著溫度之升高，有機鍵結逐漸消失，銦鈦酸鉛薄膜從金屬有機化合物轉換為無機薄膜的狀態，其轉換溫度大約為 500°C。

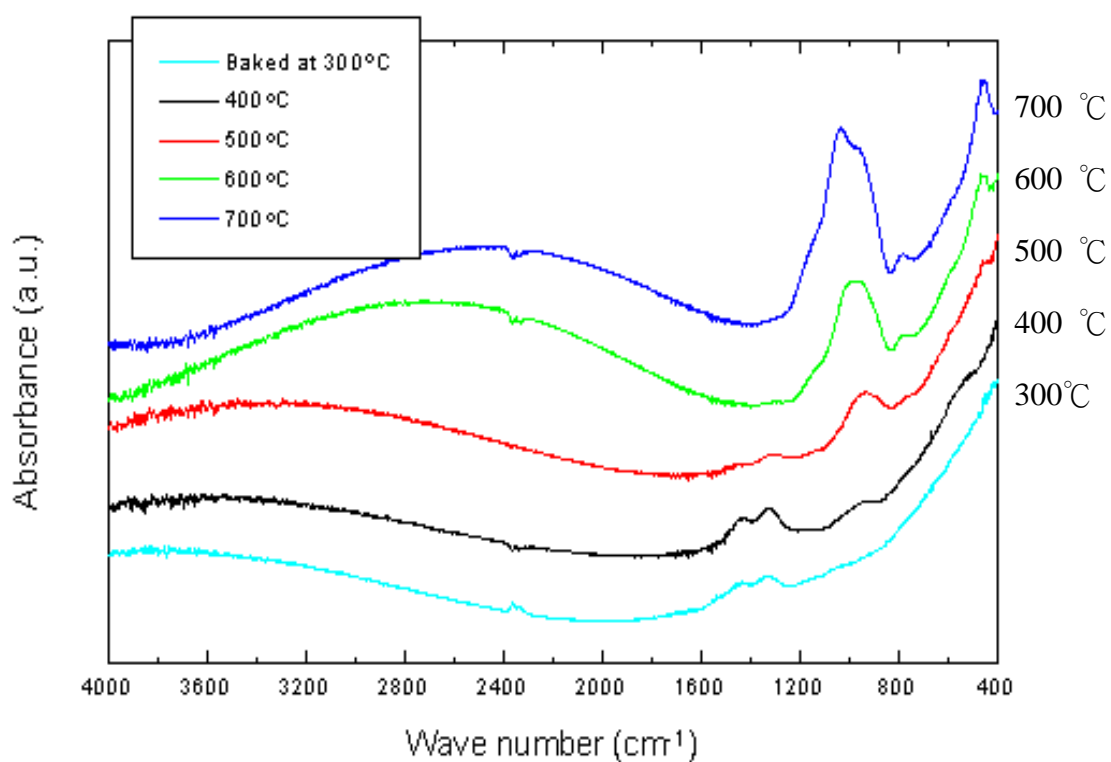


圖 3.1 PZT 薄膜熱處理 FRIR 圖

3.1.3.2 X 光繞射 (X-Ray Diffraction, XRD) 分析

X 光射線繞射法(X-ray diffraction, XRD)為一種簡單、直接、非破壞性的分析方法，可用在製程開發的早期階段分析薄膜。布拉格 (W. L. Bragg) 認為 X 光在進入晶體中時，會被原子所組成之晶面所反射，如圖 3.2 所示。

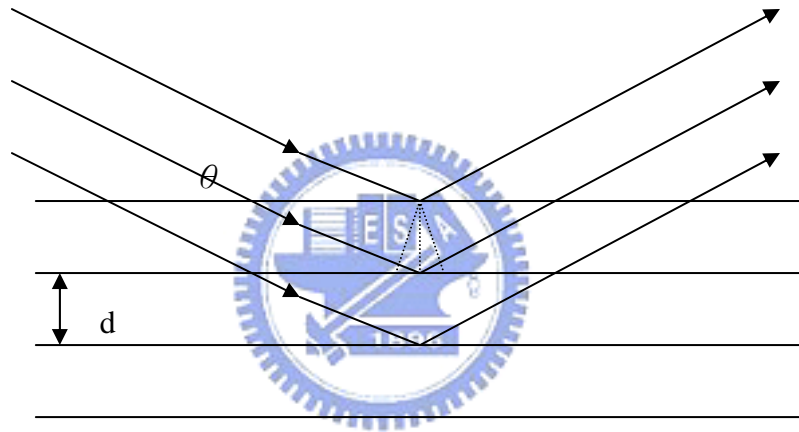


圖 3.2 布拉格繞射圖

當入射光被兩相臨晶面所反射，兩反射光束會有一光程差，由布拉格繞射定律 (Bragg' s Law)：

$$2d \sin \theta = n \lambda \quad (3-1)$$

其中 d 為晶面距離， θ 為入射光與晶面夾角。

當光程差為光源波長 λ 之整數倍時，各光波之振幅會有加成之效果，而形成建設性干涉。由於 X 光波長遠較可見光或紫外光短，可視晶格為三度空間光柵，用來從事材料內部原子結構的分析工作。X 光繞射儀（X-ray diffractometer, XRD）之原理，即為固定 X 光波長 λ ，改變入射角 θ ，用以求得晶體之面距，如圖 3.2 所示。

使用的機型為國家奈米元件實驗室的 D-5000 型 X 光繞射分析儀，來研究 PZT 薄膜在不同條件參數下其晶體結構的變化情形。其操作條件如下：X 光源為銅靶（Cu K, $\lambda = 1.54051 \text{ \AA}$ ）、繞射角度 2θ 為 $20^\circ \sim 60^\circ$ 、掃描速率為 $0.025^\circ/\text{sec}$ 。所得資料再對照 JCPDS（Joint of committee on powder diffraction standards）卡的資料，了解鈦酸鉛的 2θ 值及相對應之晶格平面間距，以確定製備之薄膜是否為正確的鈦酸鉛材料，並了解鈦酸鉛的結晶溫度，以作為不同燒結溫度與感測度之探討。

hkl	d (Å)	2θ
001	4.416	21.41
100	4.036	22.01
101	2.890	30.92
110	2.850	31.36
111	2.351	38.25
002	2.073	43.63
200	2.018	44.88
102	1.844	49.38
201, 210	1.810	50.37
112	1.677	54.69
211	1.655	55.48
022	1.446	64.38
220	1.427	65.34
003	1.382	67.75
212	1.361	68.94
221, 300	1.350	69.58
103	1.308	72.16
301, 310	1.280	73.99
113	1.244	76.52

表 3.2 JCPDS 表

而其量測結果如圖 3.3 所示，由圖顯示隨著溫度之升高，鉛鈦酸鉛薄膜從非晶相轉變為結晶的狀態，結晶溫度大約為 550°C，而在 650°C 與 850°C 時 XRD 的圖形並無太大差異，可知鉛鈦酸鉛薄膜在 650°C 時即已結晶完成。

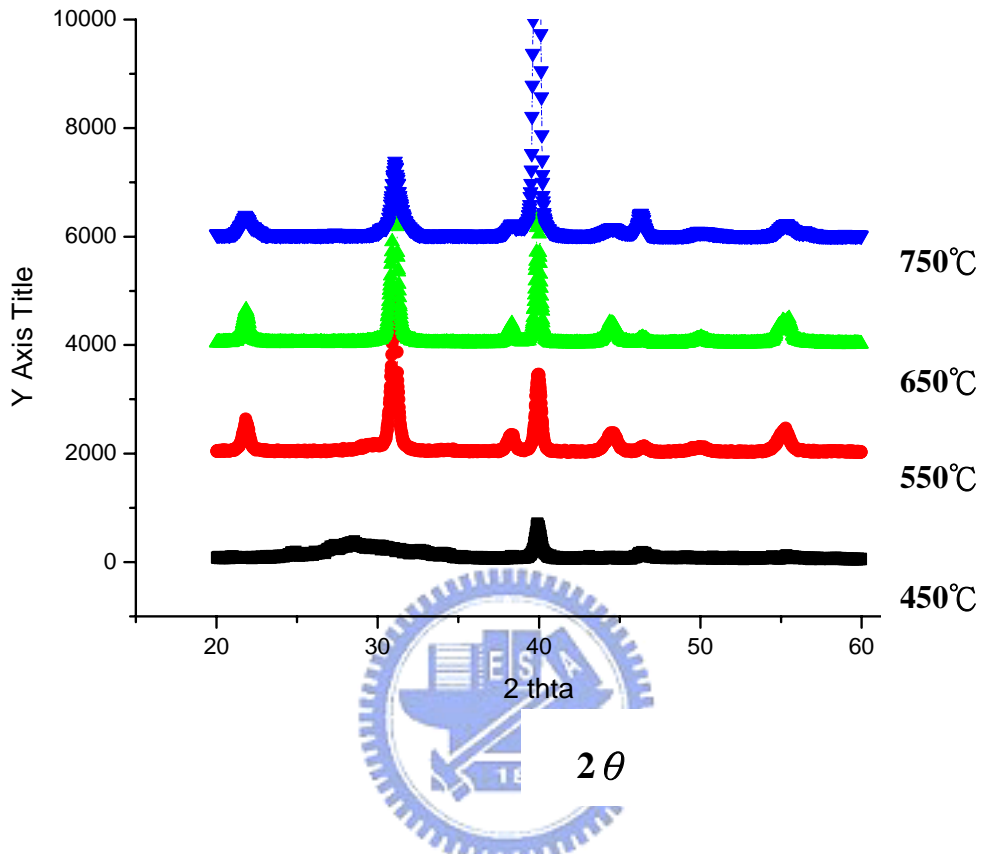


圖 3.3 PZT不同熱處理溫度之X光繞射圖

3.1.3.3 掃描式電子顯微鏡 (Scanning Electron Microscopy, SEM)

分析

利用掃描式電子顯微鏡(Scanning electron microscopy, SEM)可以觀察各種鍍膜條件下薄膜表面的組態(Surface morphology)，使用機型為國家奈米元件實驗室 HITACHI S-4000 型之掃描式電子顯微鏡，操作時加速電壓為 30 KV，以冷陰極場發射成像觀察薄膜表面晶粒大小及組態。

由 SEM 觀察燒結溫度 350°C 薄膜之表面狀態及剖面厚度之分析，其量測結果如圖 3.4，另外亦發現利用 sol-gel 法所製備之 PZT 薄膜表面相當平坦均勻，因此藉由旋轉披覆法製作所得之薄膜在厚度與均勻度均可得到良好的控制。圖 3.5 是薄膜組成元素 EDS 分析圖，可瞭解薄膜的元素組成和 PZT 材料是相符合的，因此可再次證明此薄膜之材料為 PZT。

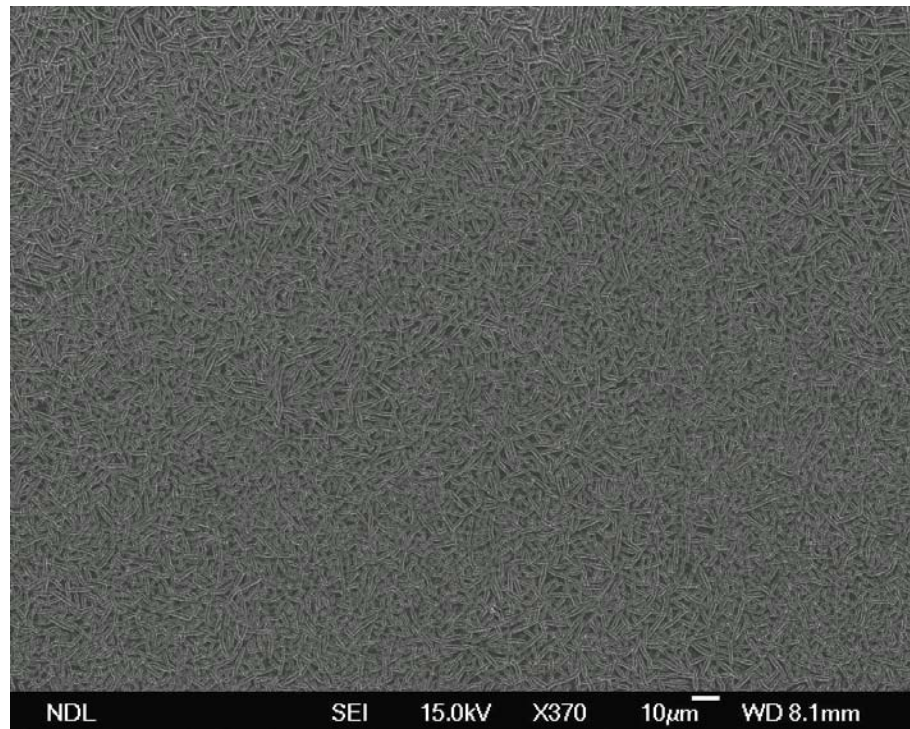


圖 3.4 PZT top-view 之 SEM 圖

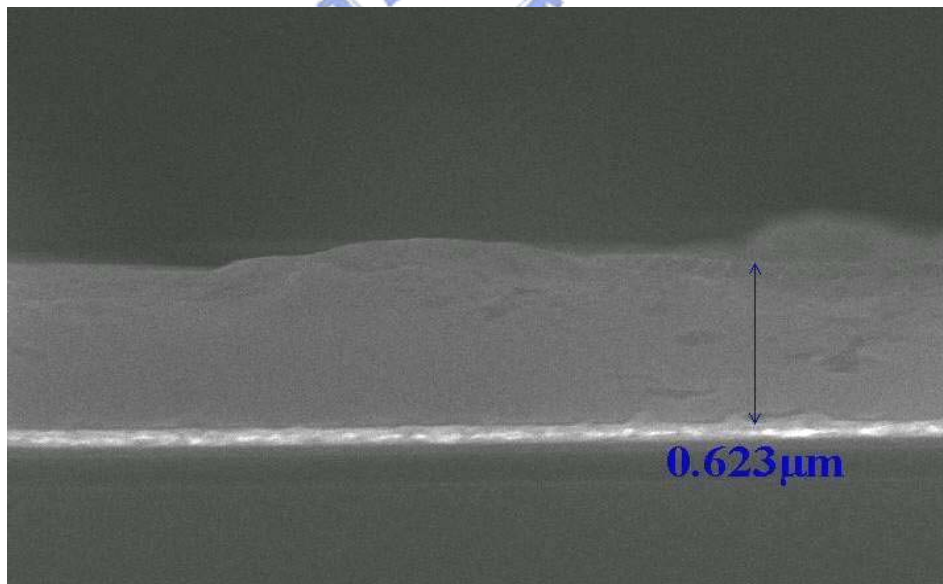


圖 3.5 PZT cross-section 之 SEM 圖

3.1.3.4 掃描探針顯微鏡 (Atomic Force Microscopy, AFM) 分析

掃描穿隧顯微術起源於1980年代初期,利用它能解析出晶體表面的原子結構及電子分佈情形,發明人G. Binnig及H. Rohrer於1986年獲頒諾貝爾物理獎。此技術有效並穩定地操控金屬探針,且利用量子力學的電子穿隧原理,藉探針在距樣品表面僅約幾個原子大小的範圍內來回掃描,讓原子的排列具體地呈現,有助於我們從基本層面來瞭解許多物理及化學現象。使用機型為國家奈米元件實驗室Digital Instruments DI 5000型之掃描式電子顯微鏡。由AFM觀察燒結溫度350°C薄膜之表面狀態及剖面厚度之分析,其量測結果如圖3.6。

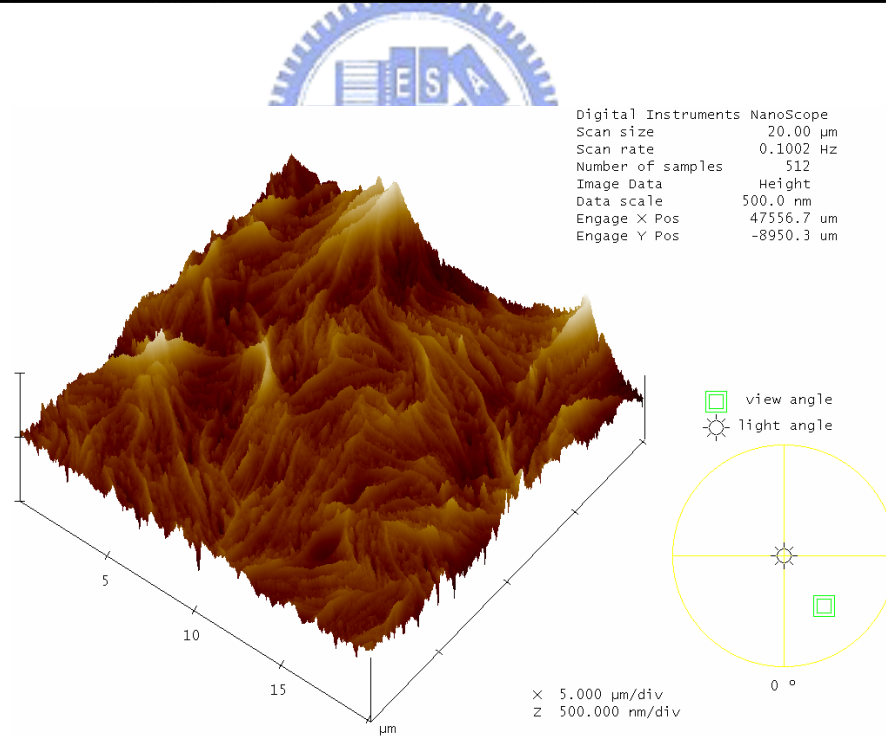
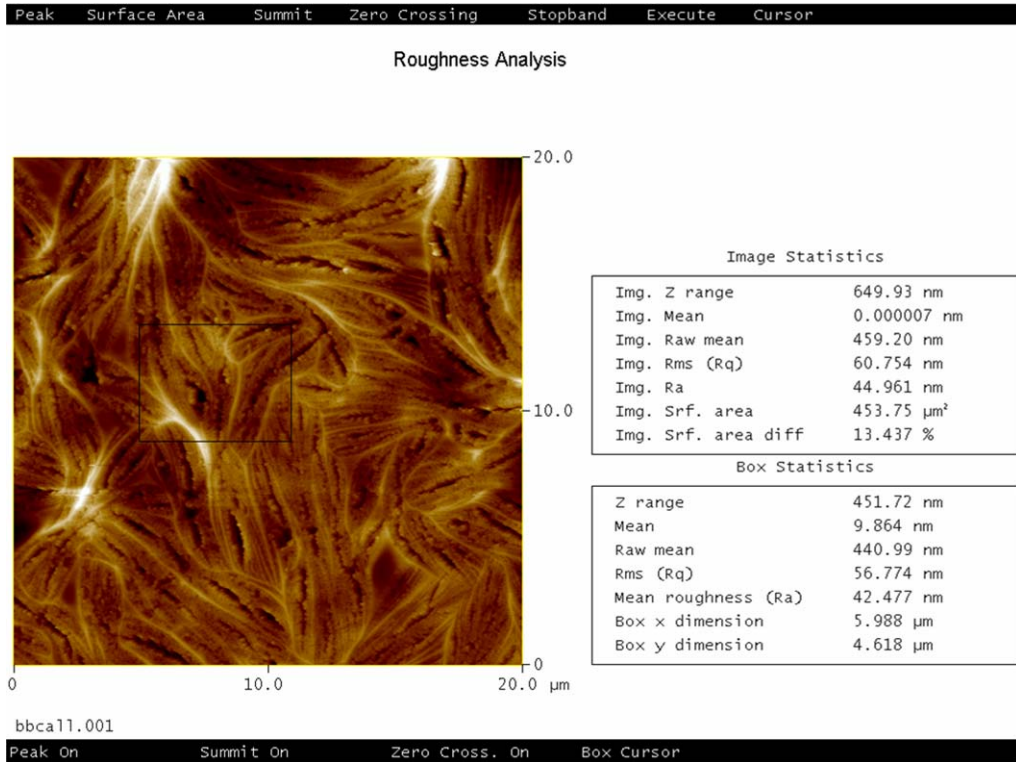


圖 3.6 PZT 熱處理 350°C 之 AFM 圖

3.2 感測元件的製作

製作 PZT 鐵電薄膜通常需要相當高的製程溫度(600~700°C)，且處於氧化環境，電極在製程裡扮演著極為重要的角色。其中以下電極為最為重要，因為其上堆積著鐵電材料，它的材料特性將直接影響到上面薄膜性質的表現。因此，好的電極材料除了導電性要好之外，附著性、抗氧化能力、表面狀態是否有助於鐵電薄膜之成長，以及是否能作為擴散阻絕層，以防止鐵電薄膜與其他元素之相互擴散都是考量的因素。



貴金屬(Ag、Au、Pt)具有抗氧化特性。但Au在溫度高於 500°C 製程下會與鈣鈦礦(perovskite)材料形成固溶體，一般不使用在上電極。而Pt和Si在 830°C 有一共晶點，容易形成矽化物，因此在Si上鍍Pt時會先長一層SiO₂作為隔絕層。但Pt與SiO₂的附著性不好，所以在中間加入Ti薄膜，以增加附著性。本論文使用Pt/Ti/SiO₂/Si製作壓電薄膜的下電極結構。

由於考慮到生物相容性，所以使用金做為此元件的上電極。故本論文的生物壓電感測結構為Au / Cr / PZT / Pt / Ti / SiO₂ / Si。

3.1.1 實驗儀器

3.2.1.1 雙電子槍蒸鍍 (Electron-beam evaporation)

蒸鍍法是目前在實驗中最常用的物理氣相沉積 (PVD) 方法。把欲蒸鍍的材料放在一個可以加熱的凹槽內，加熱後之原子飛向且凝聚在基板表面上，基板表面需在蒸鍍前淨化處理。



雙電子槍蒸鍍以一束 8-10 KeV (100-200 mA) 電子射向蒸鍍物，電子束功率的控制 ($1\text{KW}/\text{mm}^3$)，產生接近 2800°C 的溫度，可以藉由以用於蒸鍍所使用之金屬。為了避免陰極受到損害，經常把陰極置於蒸鍍源的下半位置，且使電子束經磁場聚集在靶源表面成電弧狀。

對於一些貴重金屬 (Au, Pt) 的鍍著，因為彼此低反應所以經常需要以很薄 (10-30 nm) 的高反應金屬 (Ti, Hf, Cr) 粘著層當作介面 (因其熱膨脹係數與

矽接近)。可精確的利用電場控制電子束，使得其照射在蒸鍍源合金（靶）上，而得到不同混合比例的蒸鍍源。

3.2.1.2 熱蒸鍍（Thermal Evaporation）

利用直接加熱的阻抗源（resistance source）：通常是由像鎢般具有高電阻係數材料所製成，將這些材料壓成薄片而中間深凹，以使蒸鍍的材料放置其中。當電流通過時，凹槽受熱而使得欲蒸鍍材料熔解蒸發，以蒸鍍於晶圓上，其主要限制是鎢的熔點約 1400°C，可適用於 Au, Al 及 Mg 等較低熔點的金屬，而 Cr 則在其邊緣。此方法基本上屬於蒸氣凝結過程，所以基體本身的溫度會影響膜的變形與否。

3.2.1.3 剝離成形（Lift-off patterning）

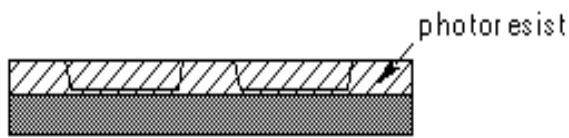
光阻是一種感光的材料可分為正光阻及負光阻，正光阻經曝光顯影後，會得到與光罩相同的圖案；反之，負光阻則得到反相的圖案。由於正

光阻的解析度較佳，且顯影及去除都較負光阻簡單，因此常被用於小線寬的微影製程中。本研究依製程的需求分別使用了兩種正光阻 FH6400 及 AZ4620，前者為薄膜光阻，厚度在 $1\ \mu\text{m}$ 左右，後者為厚膜光阻，厚度在 $6\text{-}9\ \mu\text{m}$ 之間。

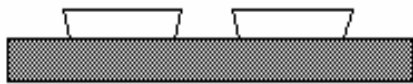
顯影是利用曝光部分及未曝光部分之光阻在顯影液中溶解度的差別，如正光阻曝光後其鍵結被打斷，可將之溶解，未曝光部分則存留，使光罩影像出現。微影製程完成後就可進行薄膜的沉積或蝕刻工作，當光阻的利用結束後，就用丙酮（Acetone）來去除光阻。



而剝離成形（Lift-off patterning）製程則是利用需有金屬區域之負光罩，黃光製程後，蒸鍍金屬上去，再利用蝕刻方式將犧牲層溶解以剝離其他區域的金屬附著。此種方法對於無法利用蝕刻達成之金屬圖樣特別有用。步驟如圖3.7所示。



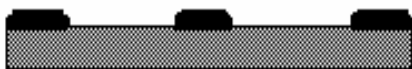
1. 旋塗上光阻，進行負光罩曝光。



2. 定影負光罩圖案。



3. 蒸鍍上金屬。



5. 藉由 ACE 溶去光阻，帶走光阻上的金屬，留下所需金屬圖案。



圖 3.7 lift-off 流程圖

3.1.2 元件過程流程

我們所採用的基體規格如下：雜質成份為 Boron 的 p 型矽晶圓，晶格方向為 $\langle 100 \rangle$ ，電阻係數是 15-20 ohm-cm，直徑為 4 英寸。

1. 所有製程均依據 RCA 製程清洗並去除水分。
2. NDL生長 2000Å 二氧化矽 (SiO_2) 作為電性隔絕層，防止矽與白金起反應生成化合物。
3. 第一道光罩：
 - (a) 將晶片置入烤箱，以 150°C 烘烤 30 分鐘，以確實除掉表面水份。
 - (b) 上 HMDS，以確保負光阻 AZ4620 在表面的附著。
 - (c) 旋塗上負光阻 AZ4620，轉速 3000rpm，30 秒。
 - (d) 軟烤 (soft bake)： 80°C ，7 分鐘。
 - (e) 曝光：使用 Karl Suss 曝光機，加濾鏡，曝光時間為 200 秒。將微感測器的圖案先定義於基板上。
 - (f) 顯影加定影：浸入顯影液 AZ300 中大約 150 秒後，視晶片沒冒紅色水煙而定。再浸入純水中 30 秒定影，以氮氣吹乾。
 - (g) 金屬化：以雙電子槍 (E-gun)，於晶片上先蒸鍍上 200 Å 厚的鈦 (Ti)，再在其上蒸鍍上 2000Å 厚的白金 (Pt)。由於白金性質安定，因此不需擔心在鍍膜或熱處理的過程中與壓電薄膜有任何反應。蒸鍍鈦當作黏著層 (adhesion layer)，以增加白金與晶片的結合度。

(h) lift-off 製程；將鍍好白金的晶圓置入丙酮（Acetone）中，使蒸鍍於光阻上的鈦/白金隨光阻的溶解而脫落，為確定完全脫落，可將丙酮振盪。如此一來，即可將光阻上方的金屬層一併剝離，只留下微感測器之圖案於基板上。

4. 晶片lift-off後進入快速退火爐（RTA，Rapid Thermal Annealing），使用氧氣，溫度為 650°C，處理時間 60 秒。使晶片中的線路導電度增加，確保此基板部會因時間效應而使Pt/Ti/SiO₂/Si間的附著性變差。

5. 以第一段轉速 1000rpm 旋塗 10s，及第二段轉速 3000rpm 旋塗 60s，旋塗上 PZT sol-gel，放置在 hot plate 350 °C 上 30 分鐘。

6. 第二道光罩：

(i) 將晶片置入烤箱，以 150°C 烘烤 30 分鐘，以確實除掉表面水份。

(j) 上 HMDS，以確保負光阻 AZ4620 在表面的附著。

(k) 旋塗上負光阻 AZ4620，轉速 3000rpm，30 秒。

(l) 軟烤（soft bake）：80°C，7 分鐘。

- (m) 曝光：使用 Karl Suss 曝光機，加濾鏡，曝光時間為 200 秒。將微感測器的圖案先定義於基板上。
- (n) 顯影加定影：浸入顯影液 AZ300 中大約 150 秒後，視晶片沒冒紅色水煙而定。再浸入純水中 30 秒定影，以氮氣吹乾。
- (o) 硬烤 (hard bake)：120°C，8 分鐘。
- (p) 濕蝕刻：浸入 BOE 中大約 60 秒後，視晶片上有沒有白色殘留物而定。再浸入 HCL 中 20 秒清除殘餘 PZT。將蝕刻後的晶圓置入丙酮 (Acetone) 中，使光阻溶解而脫落，為確定完全脫落，可將丙酮振盪，沖水後以氮氣吹乾。



7. 退火處理：使用奈米元件實驗室高介電材料快速退火爐 (RTA) 650°C，處理時間 180 秒。使 PZT 的由非晶質轉為結晶化。
8. 第三道光罩：
- (q) 將晶片置入烤箱，以 150°C 烘烤 30 分鐘，以確實除掉表面水份。
- (r) 上 HMDS，以確保負光阻 AZ4620 在表面的附著。
- (s) 旋塗上負光阻 AZ4620，轉速 3000rpm，30 秒。
- (t) 軟烤 (soft bake)：80°C，7 分鐘。

- (u) 曝光：使用 Karl Suss 曝光機，加濾鏡，曝光時間為 200 秒。將微感測器的圖案先定義於基板上。
- (v) 顯影加定影：浸入顯影液 AZ300 中大約 150 秒後，視晶片沒冒紅色水煙而定。再浸入純水中 30 秒定影，以氮氣吹乾。
- (w) 金屬化：以熱蒸鍍機 (thermal coater)，於晶片上先蒸鍍上 50 Å 厚的鉻(Cr)，再在其上蒸鍍上 600Å 厚的金(Au)。蒸鍍鉻當作黏著層(adhesion layer)，以增加金與晶片的結合度。
- (x) lift-off 製程：將鍍好金的晶圓置入丙酮 (Acetone) 中，使蒸鍍於光阻上的鉻/金隨光阻的溶解而脫落，為確定完全脫落，可將丙酮振盪。如此一來，即可將光阻上方的金屬層一併剝離，只留下微感測器之圖案於基板上。



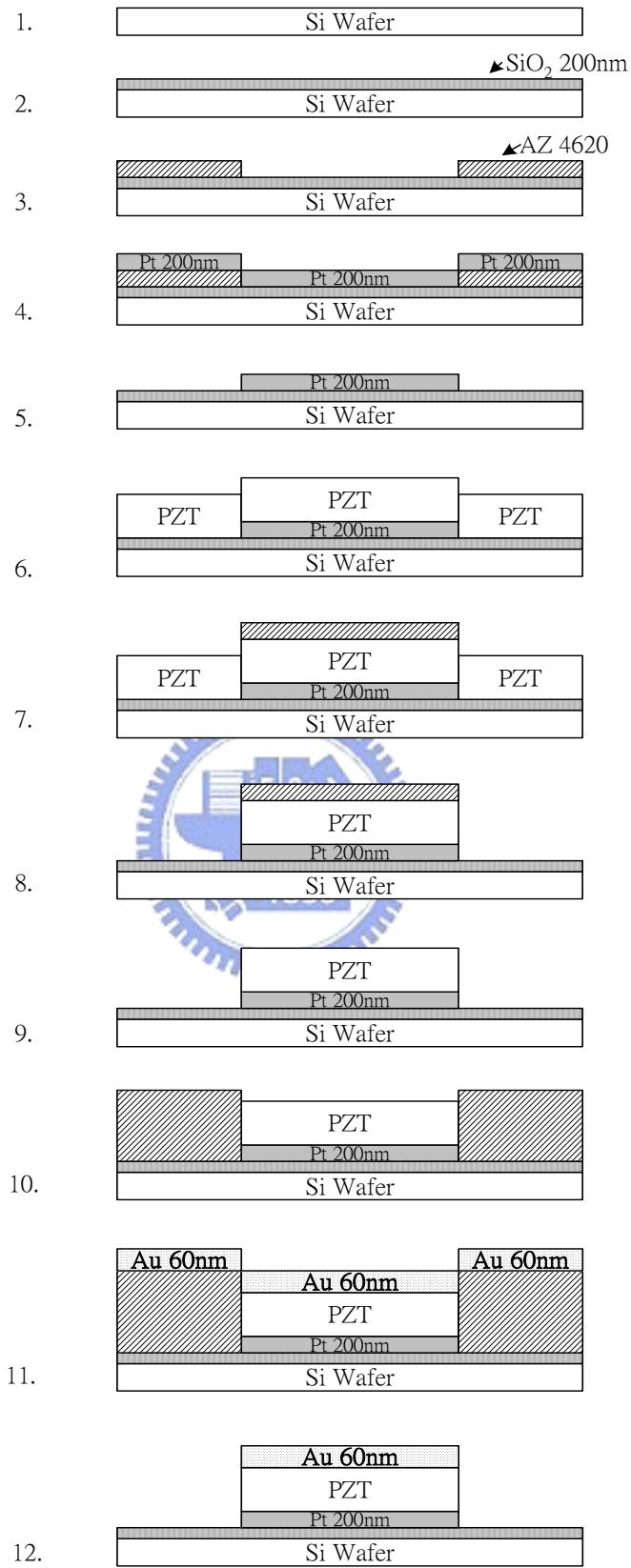


圖 3.8 元件製作流程圖

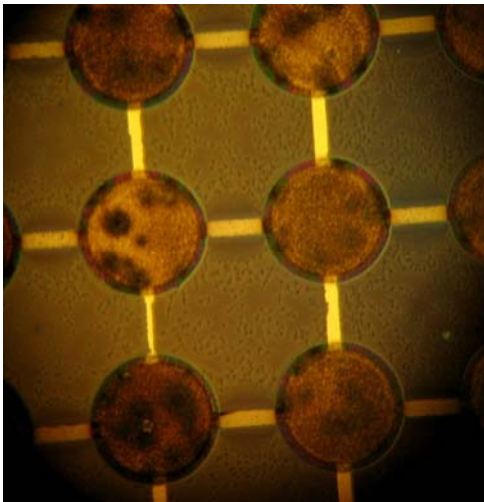


圖 3 .9 PZT 微感測器 OM 圖

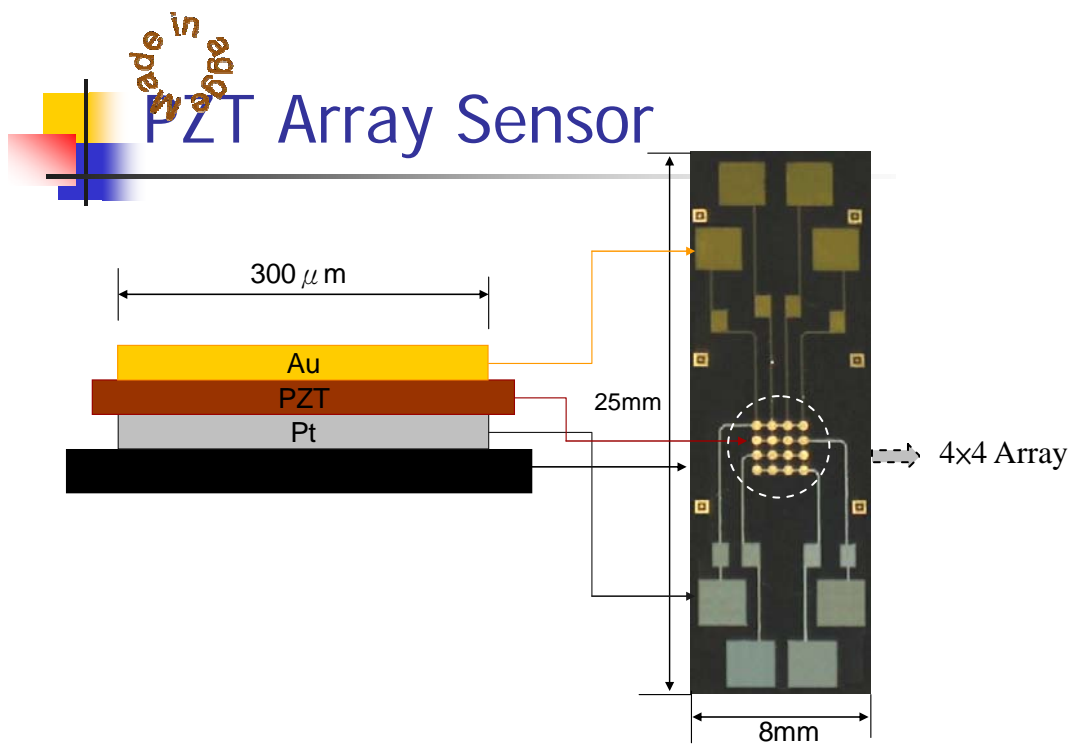


圖 3 . 10 PZT 微感測器示意圖與實體圖

3.2.3 元件電路分析

使用銀膠與焊錫進行最後的電路封裝，連接元件與整個電路系統。熔融的焊錫（solder ball）具有的表面張力會使接觸面積成爲最小。要與很小的焊點部（pad）維持良好的接觸，需要熟練的工夫，且焊點的金屬氧化膜會構成妨礙，需先破壞此一氧化膜。將所完成的PZT微感測器安裝至震盪電路上進行震盪測試，如圖3.11所示。經過一段靜置時間，得到一個穩定的震盪頻率10.2MHz。如圖3.12所示。圖3.13則是本實驗中穩定性測試圖，達穩定時，頻率SD變化少於20Hz。

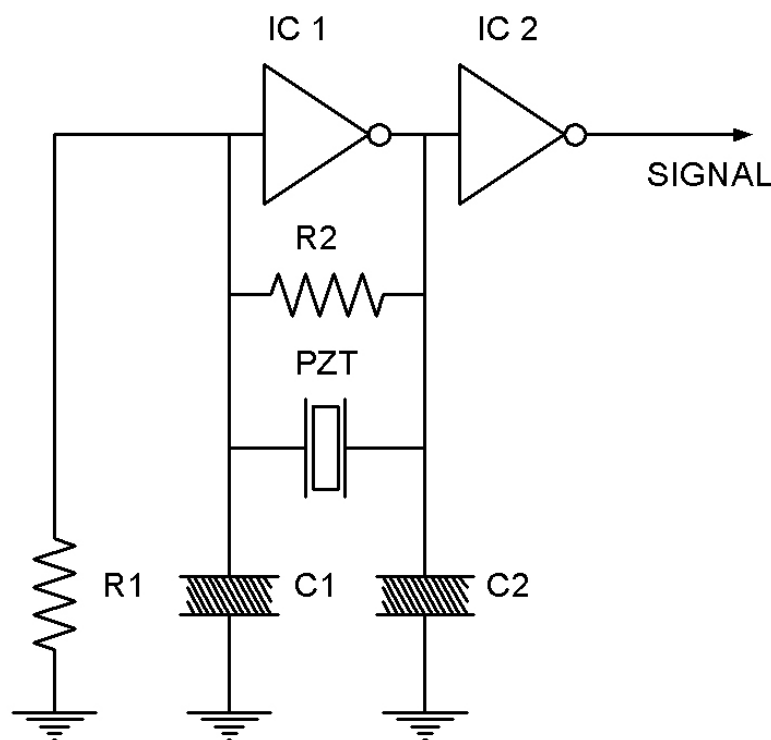


圖 3 .11 震盪電路電路圖

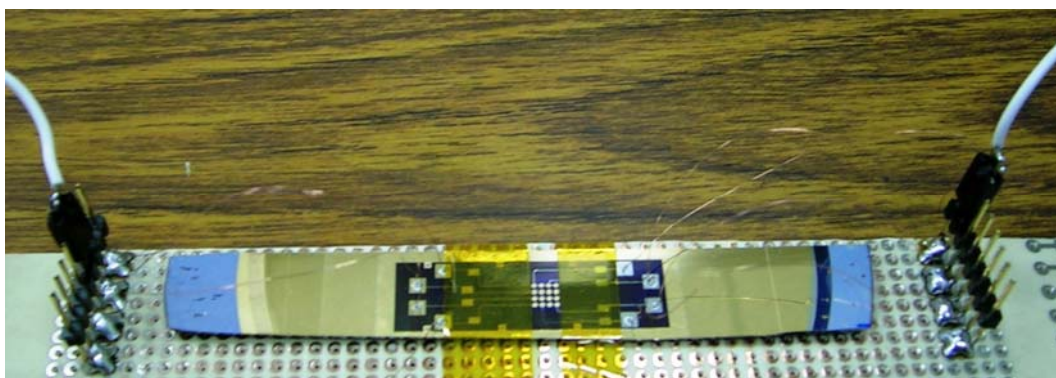


圖 3 .12 PZT 微感測器安裝至震盪電路上進行震盪測試

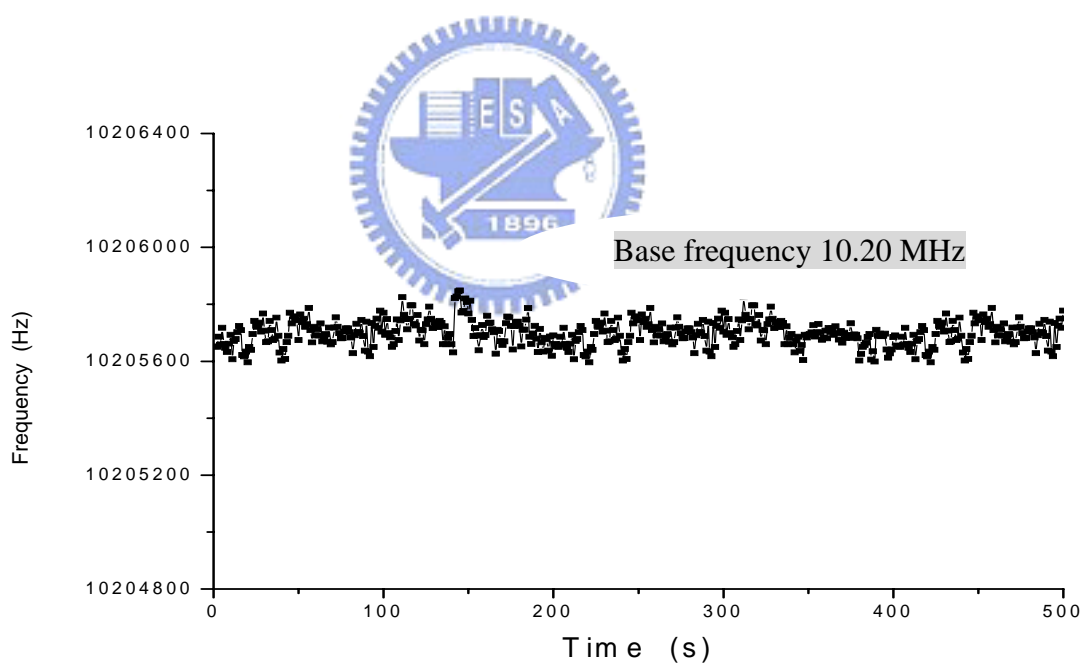


圖 3 .13 固相穩定性測試圖

3.3 生物感測元件的製作

此部分為生物感測元件的的檢測部分，其中再區分為固相BSA濃度偵測極限測試與液相DNA專一性感測測試。首先進行蛋白質定量，以小牛血清蛋白（bovine serum albumin，BSA）作標準曲線進行濃度校正，進行檢量線的實驗，確定PZT壓電薄膜生物感測器的偵測極限。接著在液相中即時偵測生物分子結合的專一性與敏感度，以確定其應用於在生物檢測上的價值。

3.3.2 固相BSA濃度偵測極限測試



本次實驗採用小牛血清蛋白（bovine serum albumin，BSA）（Amerdham. LIFE SCIENCE Co. CAT.10857），分子量 67000 M.W.，進行檢量線量測。先取 1mg BSA 加入 10mL 的 DI Water 中，混合均勻後再使用 0.2 μ m Syringe Filter 進行過濾。再將過濾完成之 BSA 稀釋至 1E-3g、1E-4g、1E-5g、1E-6g、1E-7g、1E-8g、1E-9g、1E-10g、1E-11g、1E-12g 來進行實驗量測。

以純水沖洗表面後，將 PZT 微感測器以超音波震盪器，震盪 10 分鐘，去除表面物理吸附。依序以 95% 酒精浸泡 3 分鐘，以純水 1mL 沖洗 3 次，以氮氣吹乾；再以 1.2 M 20 μ L NaOH 覆蓋表面 30 分鐘後，以純水 1mL 沖洗 3 次，以氮氣吹乾；再以 1.2M 20 μ L HCl 覆蓋表面 5 分鐘(以 O-Ring 限制範圍)，後以純水沖洗，再以氮氣吹乾；最後以純水清洗金電極表面，使用氮氣槍吹乾後待用，完成表面清洗。將所完成的 PZT 微感測器安裝至震盪電路上進行震盪測試，得到一個穩定的震盪頻率 10.20 MHz。量測後皆需再重複此一潔淨步驟。



先滴上 0.5 μ l 的純水做空白實驗，測出無生物物質存在的基頻 (base frequency)。接著分別滴上 0.5 μ l 之 1E-3g、1E-4g、1E-5g、1E-6g、1E-7g、1E-8g、1E-9g、1E-10g、1E-11g、1E-12g 之 BSA 溶液，等待水分充分乾燥後，測出因微量 BSA 生物分子所造成的共振頻率下降。重複數次。比較純水與不同濃度之 BSA 溶液的共振頻率下降值 (frequency shift)。

3.3.2 液相DNA專一性感測測試

此部分再區分為感測設備 flow cell 設計、感測器表面修飾、生物分子結合。首先針對實驗需要設計出液相迴路震盪系統，接著對感測器的表面進行修飾，以提高生物相容性。最後，藉以準確分析不同種類的生物分子，以期達到具有專一性水準的感測器。

3.3.3.1 感測設備 flow cell 設計

由於實驗需要於液相中檢測，必須自行設計一個適合 PZT 微感測器 flow cell。參考文獻，我們取用了市售壓克力材質來當作 flow cell 的主體，flow cell 本體為長 85mm，高 40 mm，寬 20 mm 的長方體，

本實驗裝置的示意圖 3.14，包含了三大部分： flow cell、PZT 微感測器震盪裝置、數據處理系統。分別說明如下：

- A. 1 處為樣品注入閥(Sample injection valve)：從此處注入不同樣品。
- B. 2 為載體溶液：磷酸鹽緩衝溶液（Phosphate Buffer Solution，PBS）

- C. 3 為 flow cell；中心黑色圈圈部分為 O-ring 的範圍，虛深度 0.4mm，直徑 5mm，預留溝槽，將 PZT 感測元件至於其中。兩根斜直線則代表 flow cell 的流進口及流出口。
- D. 4 則為震盪裝置，採用 DC 電源。如圖 3.11 所示。
- E. 5 則為計頻器迴路設計。
- F. 6 為個人電腦，具有程式可即時擷取訊號。
- G. 7 是蠕動幫浦。
- H. 8 是廢液桶。

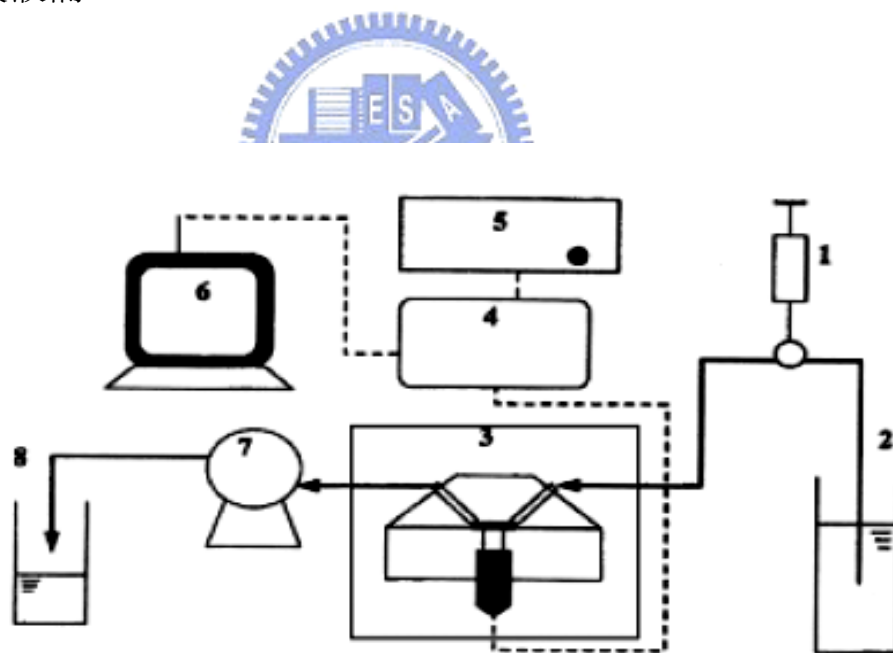


圖 3.14 本實驗液相裝置示意圖

圖 3.15 則是本實驗中流動系統的穩定性測試圖，達穩定時，頻率 SD 變化少於 50Hz。

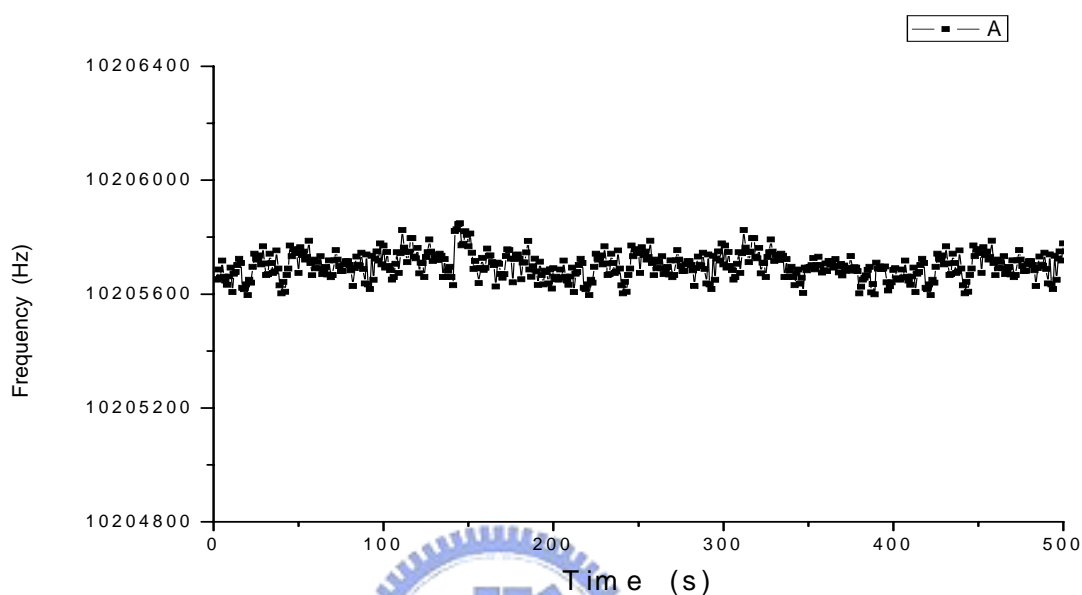


圖 3.15 液相穩定性測試圖

3.3.3.2 感測器表面修飾

以純水沖洗表面後，將 PZT 微感測器以超音波震盪器，震盪 10 分鐘，去除表面物理吸附。依序以 95% 酒精浸泡 3 分鐘，以純水 1mL 沖洗 3 次，以氮氣吹乾；再以 1.2 M 20 μ L NaOH 覆蓋表面 30 分鐘後，以純水 1mL 沖洗 3 次，以氮氣吹乾；再以 1.2M 20 μ L HCl 覆蓋表面 5 分鐘（以 O-Ring 限制範圍），後以純水沖洗，再以氮氣吹乾；最後以純水清洗金電極表面，使用氮

氣槍吹乾後待用，完成表面清洗。量測後皆需再重複此一潔淨步驟。將所完成的 PZT 微感測器安裝至震盪電路上進行震盪測試，得到一個穩定的震盪頻率 10.2MHz。

在 2×10^{-2} torr 的 O_2 電漿下表面改質一分鐘 (P. K. Chu, Plasma-surface modification of biomaterials, Elsevier, 2002.)，圖 4.16 與圖 4.17 即是比較有無電漿改質之差別 [64]。接著進行表面修飾的步驟，以 2.5 % 戊二醛 (glutaraldehyde) 2.5ml 浸泡 15 分鐘，以純水 1mL 沖洗 3 次，再以 PBS 1mL 沖洗 3 次，以氮氣吹乾。再以 2.5 μ L (streptavidin-beta-galactosidase, st- β -gal) 覆蓋表面一小時 45 分鐘後，以純水 1mL 沖洗 3 次，再以 PBS 1mL 沖洗 3 次，以氮氣吹乾，完成 streptavidin-beta-galactosidase (st- β -gal) 反應固定化的步驟。

再以 2mg/ml 20 μ L BSA 覆蓋表面一小時 (以 O-Ring 限制範圍)，此步驟之目的在於封鎖填補 (blocking) 未被 st- β -gal 覆蓋之電極表面，以降低非專一性的訊號干擾，接著以純水沖洗，再以氮氣吹乾；最後以 PBS 清洗金電極表面後待用，完成表面修飾。

3.3.3.3 生物分子結合

戊二醛 (Glutaraldehyde, $\text{CHO}(\text{CH}_2)_3\text{CHO}$) 為帶有兩個醛基的同雙官能基架橋劑(homo-bifunctional crosslinker)，兩端的醛基可分別與胺基進行反應，因此利用 glutaraldehyde 一端的醛基與晶片表面的胺基反應，而另一端則可與抗體序列中的 lysine 側鏈的 ϵ -胺基或是 N 端 α -胺基進行反應，最後利用還原劑將 aldehyde - amine 反應生成的 imine 鍵還原成爲穩定性較佳的二級胺鍵結即完成抗體固定化步驟 (Wu & Tsai, 1992; Babacan et al, 2000; 黃, 2000; Su et al, 2002)。如圖可以簡單的表示這個反應。而這個固定方法的優點是反應相當的快速，簡單。

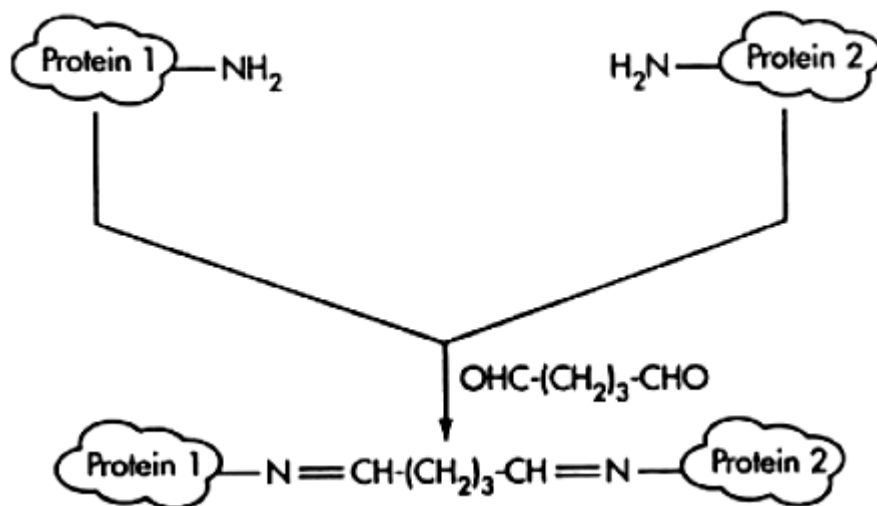


圖 3.16 戊二醛固定法示意圖

生物分子結合部分，利用仿 ELISA 抗原檢定方式，首先把 (streptavidin-beta-galactosidase, st- β -gal) 固定在感測器表面，若加入的樣本中含有 DNA，則此 DNA 會被專一性地留在感測器表面，此時晶體的共振頻率會因為生物分子吸附而發生變化。反之，但若加入的樣本不具有與 st- β -gal 鍵結的特性，則會被緩衝溶液直接帶走，而不會留在感測器表面，此時晶體的共振頻率也不會因為生物分子吸附而發生變化。



利用本實驗之壓電薄膜元件器的感測流程，因為不需要如 ELISA 抗原檢定法做二次抗體的標定，也減少了其二次抗體對螢光檢驗的影響，因此在檢驗上更為便利、即時、準確。

本論文將以上各節所述各部分加以整合，初步建立一套 PZT 壓電薄膜元件感測器的檢測系統，並利用此系統做生物分子微量感測的定量以及定性分析工作。並獲得良好的實驗結果。