

多功能 QCM 環境檢測晶片的開發、製程改良與晶片回收之 初探

易逸波，國立雲林科技大學環境與安全衛生工程系助理教授
莊智銘，國立雲林科技大學環境與安全衛生工程系專題生

摘要

壓電石英晶體生化感測器因具備有成本低廉、操作容易、原理簡單、應答快速等特性，同時可於電極表面塗覆具特异性吸附之物質，故可應用於環境中氣、液相特定污染物之檢測。在氣相方面，可檢測大氣中有害氣體濃度或監測工廠製程中的毒性氣體外洩等；而在液相方面則可檢測河川水質是否遭受污染、或是否具有某種危害生命健康之微生物等。由於壓電晶體感測器應用領域相當廣泛，隨著壓電晶體電極上所固定的偵測物性質之不同，可以任意變換為一生物感測器或化學感測器，而傳統的壓電晶體感測器都分別以氣相及液相各自進行偵測及討論；但在未知的偵測環境中，如果能夠具備有可同時偵測氣相及液相能力之晶片，將可使偵測工作進一步簡化。本研究即在嘗試開發出具有上述功能之晶片，同時針對相關之晶片製備流程做進一步之簡化與改良。

關鍵詞：QCM、THEED、HSA、氣相污染物、物理性吸附固定法

一、前言

感測器為近幾年來相當熱門的科技產業之一，它是以分子間的作用力為主，並且以不同型態的能量表現方式來呈現結果。其分析系統之感測原理可分為質量式、電化學式、熱量式及光學式等四種，其中質量式感測器以「壓電石英晶體感測器」或稱為「石英晶體微天平(quartz crystal microbalance, QCM)」為主要代表，其應用範圍甚為廣泛，目前已逐漸應用環境監測、醫學檢驗、食品分析及化學反應等各方面（吳宗正，1995）。由於其體積小、使用方便，預估未來將可普遍的應用於各個領域，取代一般傳統的分析儀器，因此目前各國不論是學術或產業界，無不積極投入發展。QCM 感測器由於具備有成本低廉、操作容易、原理簡單、應答快速等特性，故在所有感測器中最受到重視，可應用於環境中氣相及液相的檢測。在氣相方面，可檢測大氣中有害氣體（如 VOC）之濃度測量或監測工廠製程中的毒氣外洩等；而在液相方面，則可檢測河川水質是否遭受污染、飲用水的品質是否合乎規定、或是微生物等危害生物體健康之物質是否存在等，且在液相檢測的靈敏度更可達到 10^{-12} g，故此可於生物、化學兩方面運用之感測器，其偵測性能之提昇與製程改良已成為目前研究之重點。

二、研究原理與架構

1. 研究理論

壓電感測器的原理，由電子振盪電路、計頻器、以及固定感測分子之壓電石英晶體等三部分所構成。壓電石英晶體是由石英晶片之金屬電極兩面各披覆一層特異性感測分子（可為生物性或化學性物質）所構成，金屬電極（一般為金或銀）為壓電感測晶片之訊號轉換元件，其可將感測分子所吸附特異性物質的質量多寡轉換成電子訊號，傳送至測頻儀後再予以放大。電極的作用主要是沿晶片表面的垂直方向導入一振盪電場 (oscillating electric field)，使晶體內部因反壓電效應產生一機械振盪，若石英晶體的厚度一定，則此機械振盪將以一固定的頻率產生，利用一適當的電子振盪電路，即可將其共振頻率測定出來（見圖 1 及圖 2）。依據 Surgery 方程式，在特定溫度範圍內，對於 AT-cut 之石英壓電晶體，其電極表面質量的變化量與晶體振盪頻率變化量間會呈線性關係。

因此，欲選擇性地測定某一特定分析物時，僅需在石英晶體的電極表面上修飾一層具有高特異性的感測分子薄膜，而後將此感測晶片置於含有分析物的測試環境中，使分析物親和性地吸附於感測電極上，再由吸附後晶體之振盪頻率衰減值即可推知所吸附分析物的量。

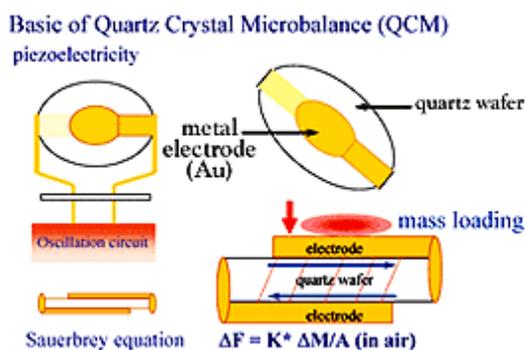


圖 1 晶片震盪圖

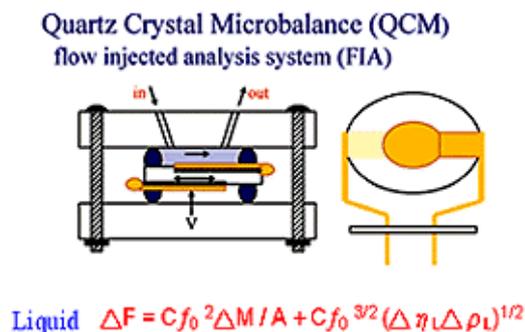


圖 2 晶片吸附圖

2. 研究架構

為了使單一石英晶片同時在氣液相具備有偵測之能力，理論上必須先確認晶片能夠單面進行氣相偵測或液相偵測，並且確保晶片製備技術成熟到一定水平。故吾人將氣液雙相偵測分別拆成「液相偵測」以及「氣相偵測」（如圖 3），一方面提升晶片製程技術，另一方面也必須確保晶片能做單面披覆及固定，待技術成熟後再將其合併以達氣液同時偵測之目標。

為了實驗進行便利且迅速，吾人將「液相雙面檢測室」改良成既可獨立偵測氣相或液相之檢測室，又可組合成氣液共存之檢測室，分別執行「液相單面檢測」、「氣相單面檢測」以及「氣液雙相檢測」。而氣液相之感測分子及待測物質係選用 THEED/CO₂ 及 HSA/Anti-HSA 來作為代表（賴依旋等，2004）。

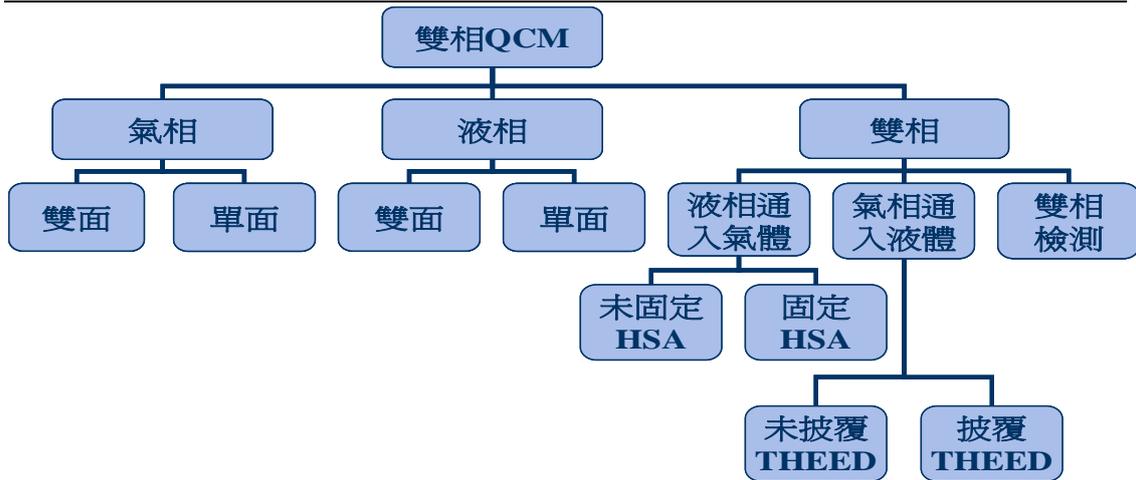


圖 3 研究架構圖

三、研究方法

1. 實驗設備

本研究所用之實驗設備，主要分為注流式分析 (flow injected analysis, FIA) 系統及氣罩式感測系統 (謝伊芬, 2003)，隨後吾人再將其合併為一氣液雙相系統。液相方面，先注入待測物樣本，經由蠕動泵以 135 $\mu\text{l}/\text{min}$ 的流速將含有樣本之流動相 PBS (磷酸緩衝液) 帶至流動檢測室(flow cell)中與晶片接觸，直至頻率達到穩定；在氣相方面，則持續通入流量為 50ml/min 之乾燥空氣並使其溫度維持在 20.5 $^{\circ}\text{C}$ ，進行偵測實驗時，再將 5ml 目標待測物注入氣相檢測室中進行待測物辨識，同樣等到頻率達到穩定。上述氣液相晶片接腳均與振盪器(oscillating circuit)相連，振盪器內之相關電路可驅動壓電石英晶體產生振盪，並可由電腦顯示的頻率變化情形，利用檢量線判斷出待測物質之濃度。

2. 液相檢測

(1)物理性吸附固定

- ①用微量滴管(micro pipette)取 15 μl 的人類血清白蛋白(HSA)滴於已鍍金之石英晶體電極上，放進乾燥箱中，在室溫下進行吸附反應 12 小時。
- ②在反應 12 小時後，以磷酸鹽緩衝液及去離子水將電極表面多餘的藥品清洗乾淨，並於室溫下乾燥。
- ③乾燥後的晶片即為固定完成之 HSA 晶片。

(2)液相檢測之步驟

- ①將固定完成的晶片置於流動檢測室中，並以 PBS 為流動相，蠕動泵的流速固定為 135 $\mu\text{l}/\text{min}$ 。
- ②頻率穩定後，晶片以 casein 進行遮蔽動作，遮蔽的主要作用是讓 casein 遮蔽晶片表面因固定不均勻所造成之孔洞，以避免產生非特異性吸附 (王智民, 2000)。

- ③待遮蔽結束後，注入待測物 Anti-HSA，觀察頻率下降情況，等待頻率穩定後，記錄其頻率變化情形。

3. 氣相檢測

(1) 薄膜塗覆 (張平, 2000)

- ①取適當量之 THEED 薄膜原料 (賴依旋等, 2004), 使其溶於酒精之中(0.1%(V/V)THEED), 待其完全溶解後, 再執行噴灑工作。
- ②噴灑時, 使用噴槍外接空氣壓縮機, 將辨識材料利用噴霧擴散的方法將其灑在石英晶片目標靶上。
- ③目標靶與噴槍之間距離為 15 cm, 持續噴灑約 1min。
- ④被覆辨識材料的石英晶片, 必須於乾燥箱中並以真空幫浦抽掉空氣, 而後靜置約五天左右使其穩定。晶片於被覆後因溶劑蒸發會產生頻率飄移現象, 約五天後才逐漸呈現頻率穩定狀態 (孫明煌等, 2005)。
- ⑤找出最適之加工條件來調整所需披覆之化合物量, 以便使晶片之頻率下降控制在所要求之頻率變化範圍之內。

(2) 氣相檢測之步驟

- ①通入流量為 50 ml/min 之空氣並使其溫度維持在 20.5°C (一般半導體廠溫度), 直至頻率達到穩定 (此步驟亦可作為辨識材料之脫附再生之用) (謝伊芬, 2003)。
- ②注射 5 ml 目標氣體 (CO₂)。
- ③開始吸附實驗, 氣體與辨識材料結合造成頻率衰退。
- ④靜置晶片等待頻率再生直至頻率平衡穩定。
- ⑤反覆進行上述實驗。

4. 氣液共存檢測

(1) 酒精噴洗實驗

為了證實吾人在做單面披覆時, THEED 也會披覆在披覆面晶片之背面, 故追加了酒精噴洗披覆面之實驗。先測量晶片基頻, 隨後進行晶片披覆程序, 待晶片製備完成後, 重新用滴管噴洗晶片兩面, 抽真空後靜置五天後測其頻率是否與基頻吻合。

(2) 薄膜塗覆與物理性吸附固定

- ①將晶片鍍金完成後, 以距離 15 公分、時間 60 秒、THEED 濃度 0.01% , 單面披覆晶片。未披覆面以酒精利用滴管噴洗乾淨。
- ②將晶片以真空泵抽真空保存 4 天 12 小時後, 取 15 μ l 10mg/ml 的 HSA 用微量滴管滴於已鍍金之石英晶體電極上, 並使其均勻塗布, 放進乾燥盒中, 在室溫下進行吸附反應 12 小時。
- ③在反應 12 小時後, 以磷酸鹽緩衝液及水將電極表面多餘的 HSA 清洗乾淨, 並於室溫下乾燥。
- ④乾燥後的晶片即為固定好可進行氣液共存偵測之晶片。

(3) 氣液共存檢測步驟

- ①將固定完成的晶片置於流動檢測室中，液相該面以 PBS 為流動相，蠕動泵的流速固定為 135 μ l/min。氣相該面則通入流量為 50 ml/min 之空氣並使其溫度維持在 20.5 $^{\circ}$ C，進行辨識材料之脫附再生作用直至頻率達到穩定。
- ②頻率穩定後，晶片之氣相該面以 casein 進行遮蔽動作，遮蔽的主要作用是讓 casein 遮蔽晶片表面因固定不均勻所造成之孔洞，以避免產生非特异性吸附。
- ③待遮蔽結束後，氣液雙面分別或同時注入 Anti-HSA 液相待測物、5 ml 目標氣體 (CO₂)，開始吸附實驗，待測物與辨識材料結合造成頻率衰退。觀察頻率下降情況，等待頻率穩定再生直至頻率回至基準線。
- ④記錄不同濃度時其頻率變化情形。

吾人發現用微量滴管取 15 μ l 的藥品滴於已鍍金之石英晶體電極上，放進真空幫浦中抽氣後靜置 1 小時後即可完全乾燥，比傳統於室溫下進行吸附反應 12 小時，更能提升 HSA 晶片之生產效率。

5. 晶片回收流程

基於檢測迅速、操作便利、成本便宜的理念下，吾人進一步開發出晶片回收的製程。藉由酒精噴洗步驟去除晶片上披覆之 THEED 的實驗，吾人發現可利用酒精回收已經使用過的氣相檢測晶片，並將回收後的晶片保存在真空盒裡，使晶片不直接暴露於空氣中而造成氧化，如此可使晶片有效的保存以便能重複使用。

此外使用微量滴管取 15 μ l 0.1N NaOH 選擇性滴至液相晶片的電極區域來破壞晶片上的 HSA，再用酒精及去離子水洗淨晶片後，同樣可置於真空盒中保存。藉由上述實驗延伸出吸附劑與脫附劑之概念，由此推估若能知道吸附劑所相對應之脫附劑使用量，且晶片在不毀損且可妥善避免電極氧化之情況下，吾人將可無限次數回收使用。

四、結果與討論

1. 單雙面 QCM 液相檢測

石英晶體微天平運用於液相之實驗主要在進行生化分析，其設計原則為：利用物理性直接吸附法固定抗原、抗體類生物分子 (王信仁, 2001) 於壓電石英晶體電極上作為辨識元件，用以檢測其相對物質的存在與否。但由目前文獻得知，此方面的運用已趨近成熟，要有所突破實屬困難。

傳統液相偵測均屬於單面檢測，一般初學者僅需多次練習即可使操作技術達到一定水準。液相雙面檢測係由本實驗室所開發 (洪菱偵等, 2003)，利用連通管將原本之液相單面檢測改為雙面檢測，其優點為：可在同樣操作條件下，將原本之量測訊號放大為兩倍 (參考圖 4、圖 5)。為了證實有足夠能力製造及檢測氣液雙相晶片，吾人首先將本實驗室目前所使用之液相雙面檢測系統，改回液相單

面檢測系統並進行系統穩定性測試。

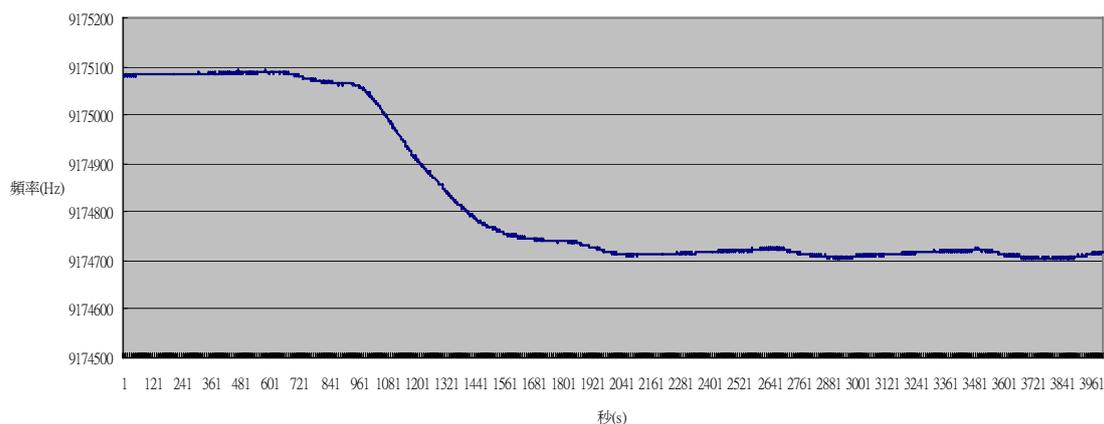


圖 4 液相單面檢測結果

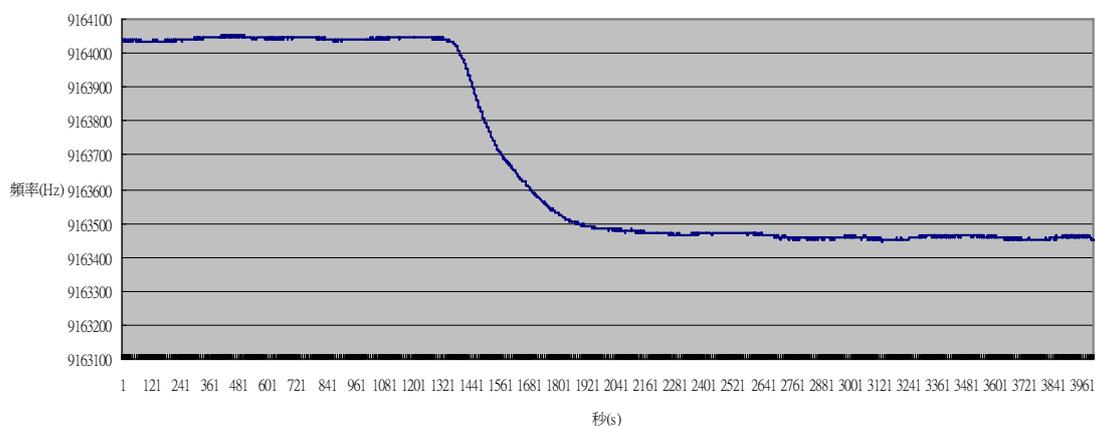


圖 5 液相雙面檢測結果

2. QCM 氣相檢測之改良

一般氣相雙面檢測技術係採用氣體罩來進行氣相雙面檢測，為了進行氣液雙相檢測，吾人將原本為液相之流動檢測室，改良為氣相單面檢測室系統以方便測試及實驗。通常在製作氣相晶片時，採用噴槍噴灑辨識元件時往往會噴灑至晶片背面。但在製作氣液共存晶片時必須做到單面披覆 THEED 的效果，為了確保氣相單面披覆（即背面晶片沒有殘留 THEED），本研究特別設計了以酒精噴洗方式去除晶片背面 THEED 之裝置（如圖 6 所示），並進行了以酒精噴洗晶片正反面的實驗，以確定此操作之效果。

當吾人以酒精噴洗單面披覆 THEED 晶片之正反面，待其乾燥後以氣體進行測試，發現晶片之測試頻率會回到基頻（如圖 7）；如僅以酒精噴洗單面披覆 THEED 之披覆面，則會測出有小幅之頻率下降訊號（如圖 8），由此證實氣相單面披覆時 THEED 也會披覆在晶片之背面。藉由酒精噴洗晶背裝置吾人找出了氣相單面披覆的關鍵，因此可以有效的製造氣相單面披覆晶面。

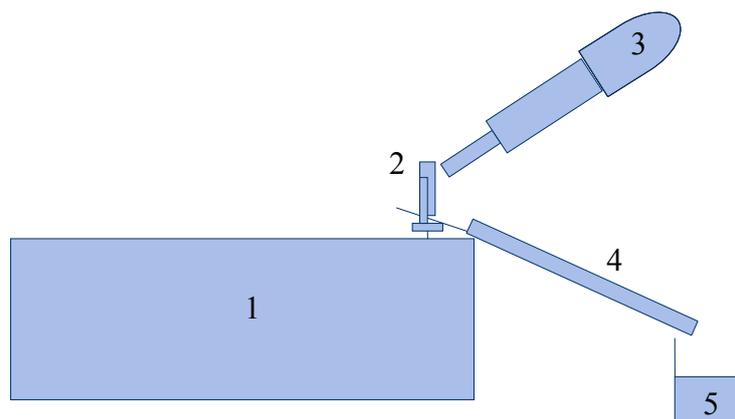


圖 6 酒精噴洗晶片背面裝置示意圖(1:保麗龍製晶片載台; 2:QCM 晶片;
3:噴灑酒精用滴管; 4:引流用吸管; 5:清洗廢液收集杯)

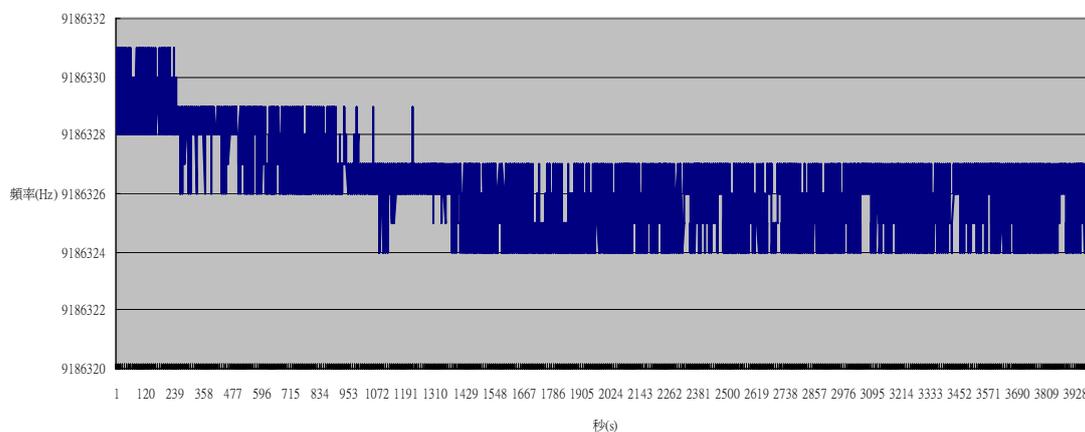


圖 7 酒精噴洗晶片雙面進行氣相檢測

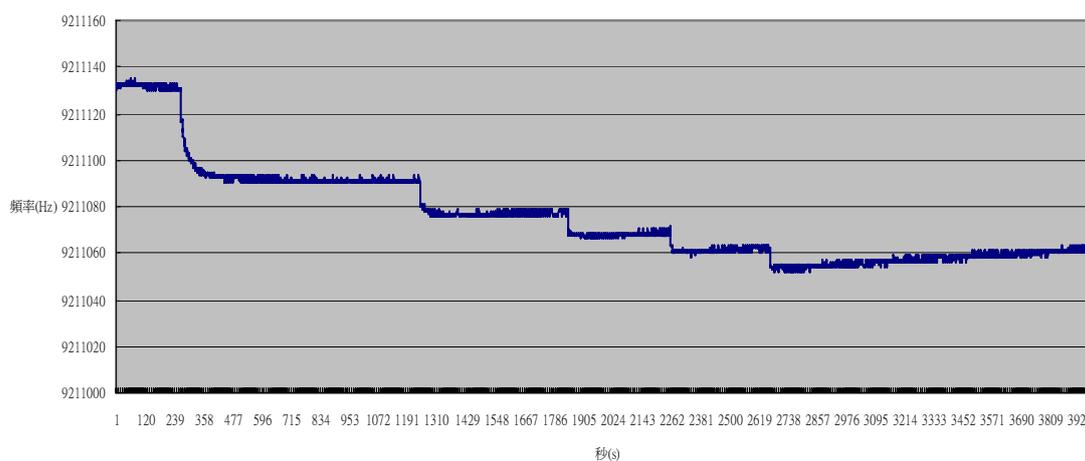


圖 8 酒精噴洗晶片披覆面進行氣相檢測

由上述實驗吾人證明不僅液相可進行單面檢測，氣相亦可進行單面檢測；同時證實氣相單面披覆後背面殘留之 THEED，可以利用酒精成功去除。本研究並提出氣相單面披覆之製程及檢測系統改良，首先將本實驗室所開發之液相雙面檢測（如圖 9 所示）恢復成可獨立偵測液相之「液相單面檢測室」（如圖 10 所示），隨後又改成可獨立偵測氣相之「氣相單面檢測室」（如圖 11 所示），最後再組成可同時執行氣液相檢測之「氣液共存檢測室」（如圖 12 所示）。

比較傳統之雙面檢測氣罩與改良後之氣相單面檢測室，吾人發現後者之檢測效果、降頻數、回覆性等均有顯著的提升，其中降頻數更可增加為原先之 5~7 倍（如圖 13、14、15 所示），推測其原因可能是檢測室體積變小，導致相同待測物注入量其濃度提高。

此外本研究首度將晶片製造成半面鍍金、半面鍍銀，並且成功進行氣相及液相檢測，證實晶片並不是一定要兩邊都鍍上相同金屬才可以使頻率平穩。我們也發現檢測室實驗圖形比較時，半金半銀銀面批覆（如圖 14 (B) 所示）與鍍金晶片（如圖 15 (B) 所示）的圖形類似，如果將來補足的半金半銀鍍金面的實驗，將可比較單面鍍金與雙面鍍金，如果單面鍍金與雙面鍍金的效果差異不大，那未來將可只鍍一面金，以節省研究資金。

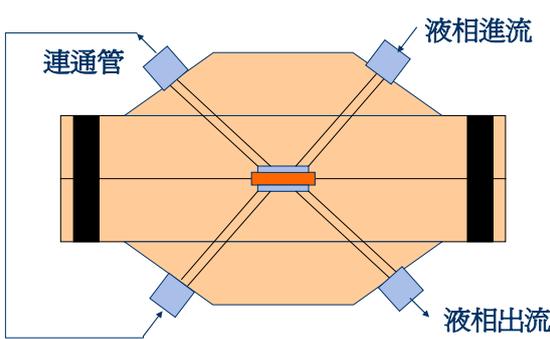


圖 9 液相雙面檢測室

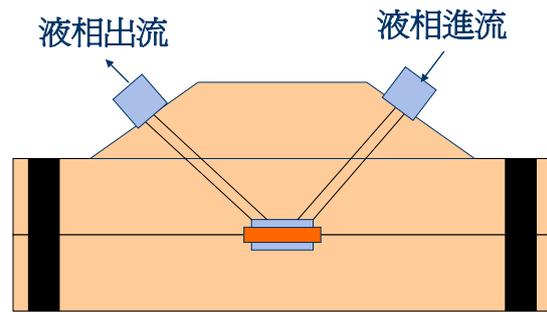


圖 10 液相單面檢測室

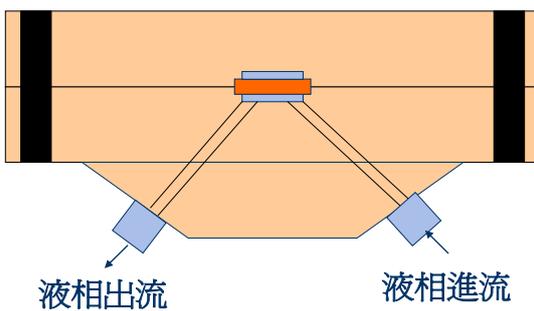


圖 11 氣相單面檢測室

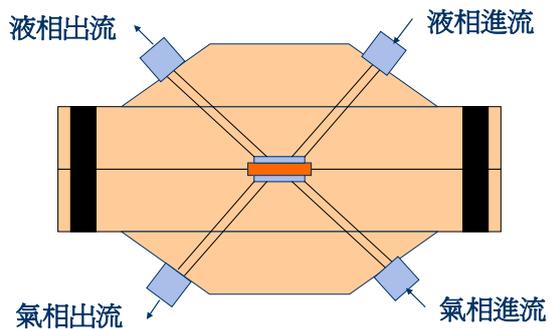
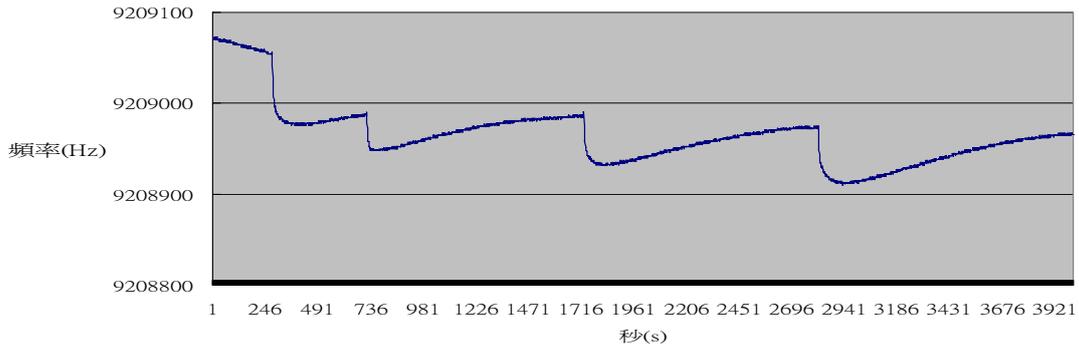
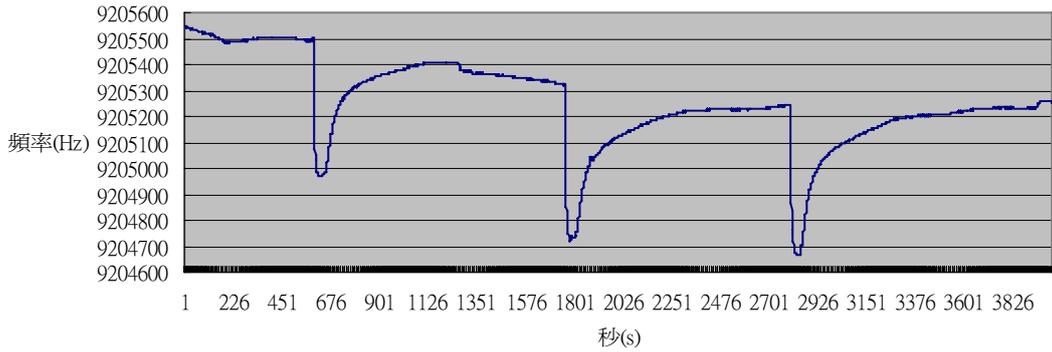


圖 12 氣液共存檢測室

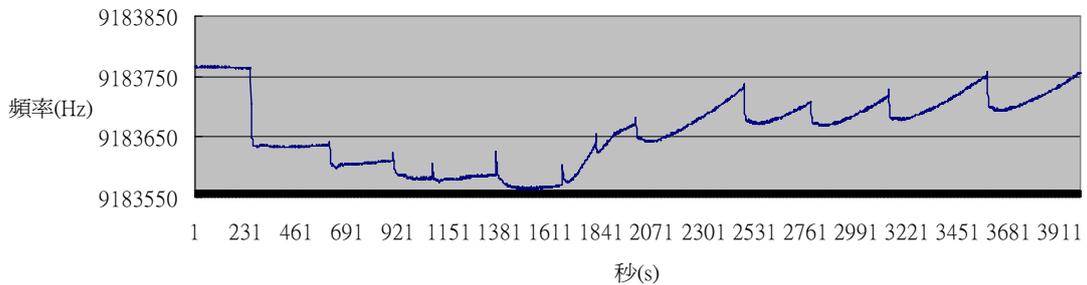


(A)雙面空氣罩

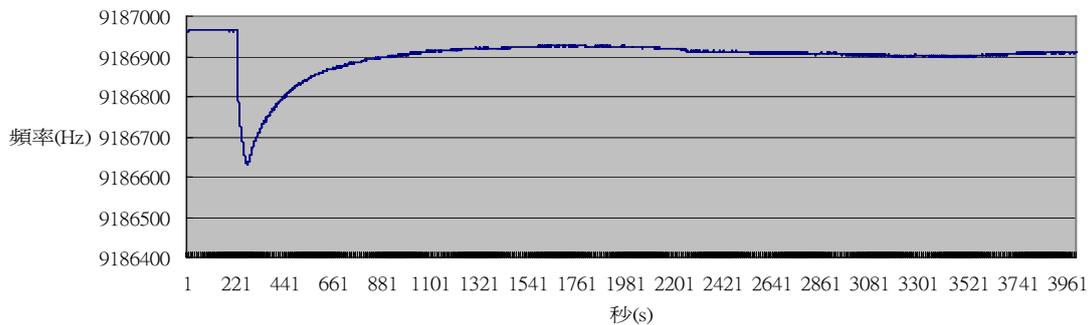


(B)氣相單面檢測室

圖 13 氣相鍍銀披覆比較

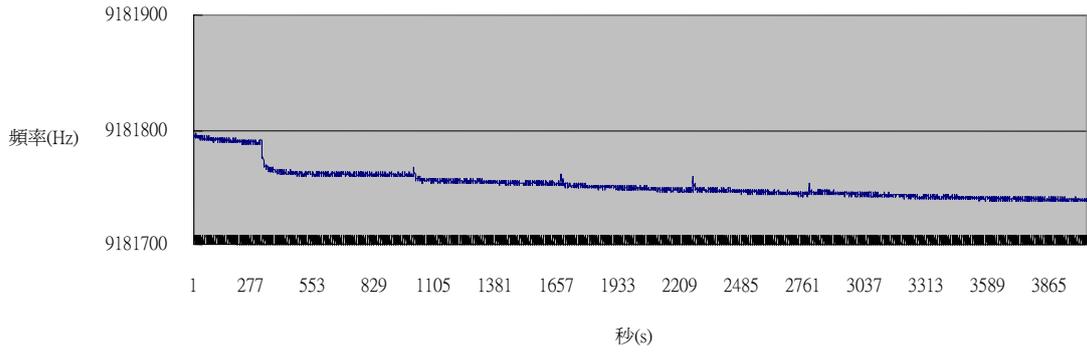


(A)雙面空氣罩

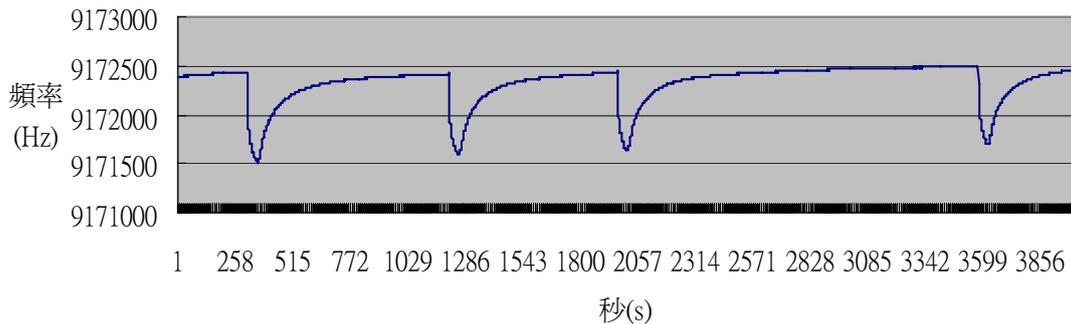


(B)氣相單面檢測室

圖 14 氣相鍍金單面披覆比較



(A)雙面空氣罩



(B)氣相單面檢測室

圖 15 半金半銀銀面披覆比較

3. 石英晶體微天平應用於雙相檢測

由前述實驗證實吾人有足夠的能力製造雙相檢測晶片，由於石英晶體振盪器屬於簡單原理之感測器，故吾人推估若雙相晶片僅單一檢測氣相或液相，且晶片可維持穩定之理想情況下，應該是跟單獨檢測時是一樣的（如圖 12 所示）。然而本研究採用之實驗模具是手工製作，以至於不能與晶片均勻密合，以螺絲鎖緊晶片時，易使晶片受力不均而產生裂痕甚至破裂。欲避免上述缺點，故僅採用單面墊圈，故導致氣液相間無法完全隔離，使得實驗一再失敗，實驗困難度增加不少；此外本研究所採用之晶片規格，原廠已經停產，導致實驗無法持續進行，故截至目前為止仍無法驗證此項推測。

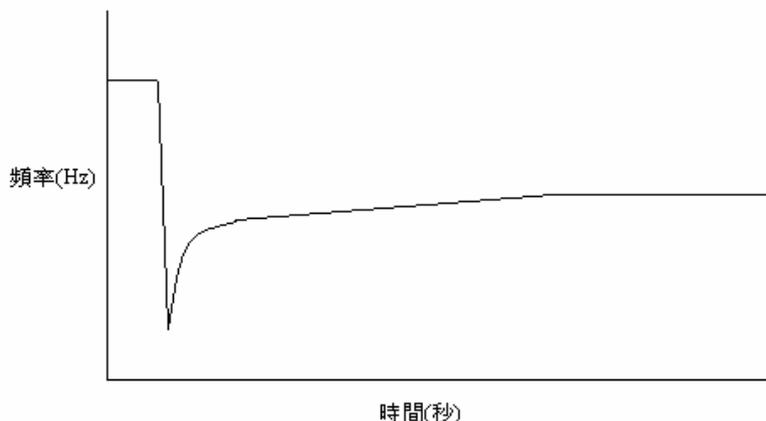


圖 12 雙相檢測之應答趨勢推測圖

五、結論與建議

1. 結論

- (1)目前學術界大多僅採用單純氣相或單純液相之檢測系統，本研究首度提出氣相單面披覆之製程及檢測系統改良，將傳統液相檢測室改成氣相單面檢測室，進而開發出不僅可單面進行液相檢測，亦可同時進行氣相檢測的多用途流動檢測系統，不僅明顯提升其檢測效果，在實際應用時亦方便許多。
- (2)本研究成功研發出氣相單面檢測之晶片製備流程，並且證實氣相單面披覆後背面殘留之 THEED 可以用酒精完全洗去，以確保為氣相單面披覆晶片。此外本研究首度將晶片製造成半面鍍金、半面鍍銀，並且成功進行氣相及液相檢測，證實晶片並不是一定要兩邊都鍍上相同金屬才可以使頻率平穩，未來可利用其他金屬分別鍍在正反面來證明此一推論。
- (3)在開發氣液雙相晶片製備流程時，吾人發現以物理性吸附固定 HSA 於液相晶片的操作步驟中，用微量滴管取 15 μ l 的藥品滴於已鍍金之石英晶體電極上，放進真空幫浦中抽氣後靜置 1 小時後即可完全乾燥，比傳統於室溫下進行吸附反應 12 小時，更能提升 HSA 晶片之生產效率。
- (4)此外本研究亦開發出氣液相晶片之回收流程。藉由酒精噴洗實驗可去除晶片上披覆 THEED 之經驗，吾人成功的將其應用在回收已經使用過之氣相檢測晶片上；另外在液相晶片上，使用 NaOH 直接滴在液相晶片電極區以破壞 HSA，再以酒精及去離子水洗淨晶片，並將回收之晶片保存在真空盒裡，以避免直接暴露於空氣中而造成氧化，將可使晶片更有效的保存。

2. 建議

- (1)本研究所採購的晶體為銀極表面，金電極之實驗不論單面或雙面皆由鍍金步驟所完成，所以需要再行採購配置鍍金液所需之氯化金 Gold Chloride ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)。由於氯化金本身親水性佳並具有侵蝕性，因此保存時

需多加留意。本研究所用之氯化金為 1g 之小玻璃瓶包裝，目前市價約 NT\$1,300~1,600/g 左右。在研究過程中因保存不當（將未開封之包裝直接置於櫥櫃中），故曾造成整批藥品外漏，4 瓶原本固態之未開封藥粉因潮濕液化，侵蝕瓶蓋護膜而流出，形成無法使用的狀況。建議在保存此類具有親水性及侵蝕性藥品時，應嚴格置於乾燥箱中同時將藥品立起存放，才可避免類似情況發生。

- (2)本實驗所用之蠕動幫浦、QCM 超微量分析儀及雜訊隔離系統皆採購於亞新科技股份有限公司（ANT, <http://www.anttech.com.tw>），該公司目前已成功研發出 ANTQ300 液相超微量分析儀及 PSS(Piezo Sensor System)氣體感測器（經濟部，<http://www.sbir.org.tw/result/spotlight/spotlight-56.asp>）。由於上述設備之檢測室係採用雷射加工，故尺寸較傳統加工方式更為精密，不會發生實驗模具與晶片無法緊密結合的情形，故可有效的降低實驗誤差，然而價格太高為其缺點。未來若能針對此類設備進行製程改良，將能使得本研究所提出之氣液雙相晶片之概念成為可行，同時亦能使得類似之檢測系統於野外現地量測趨於可行。

參考文獻

1. 吳宗正，“嗅覺生物晶片”，科學月刊，第三十卷第九期，頁 744-750(1995)。
2. 賴依旋、何振武，“石英晶體微天平塗覆生物及化學材料進行液相及氣相特定物種偵測之研究”，專題報告，國立雲林科技大學環境與安全衛生工程系(2004)。
3. 謝伊芬，“微陣列洩漏偵測器之研究”，碩士論文，國立雲林科技大學環境與安全衛生工程研究所(2003)。
4. 王智民，“探討壓電石英晶體生物感測器應用於免疫分析之可行性”，碩士論文，國立中興大學化學工程研究所(2000)。
5. 張平，“有機氣體石英壓電晶體感測器的研製與應用”，博士論文，國立台灣師範大學，化學研究所 (2000)。
6. 孫明煌、游智凱，“田口法於 QCM 偵測器製作時之製程改良應用”，專題報告，國立雲林科技大學環境與安全衛生工程系(2005)。
7. 王信仁，“抗體活性染料染色最適化條件及免疫層析法的應用”，碩士論文，國立中興大學化學工程研究所 (2001)。
8. 洪菱偵、吳宜珊，“雙面壓電生物感測器檢測水中微量污染物質與靈敏度改善之研究”，專題報告，國立雲林科技大學環境與安全衛生工程系(2003)。
9. 亞新科技股份有限公司 <http://www.anttech.com.tw>
10. 經濟部技術處 SBIR 計畫成果，焦點報導—亞新科技股份有限公司，<http://www.sbir.org.tw/result/spotlight/spotlight-56.asp>