

國立臺灣大學工學院工程科學與海洋工程研究所

碩士論文

Department of Engineering Science and Ocean Engineering

College of Engineering

National Taiwan University

Master Thesis

以石英晶體微天平為平台整合表面電漿共振與電化學

阻抗分析之生醫量測系統開發與研究

Research and Development on Using a Quartz Crystal

Microbalance Platform to Integrate Surface Plasmon

Resonance and Electrochemical Impedance Spectroscopy

林宇捷

Yu-Chieh Lin

指導教授：李世光 博士

Advisor: Chih-Kung Lee, Ph.D.

中華民國 99 年 7 月

July, 2010

國立臺灣大學碩士學位論文  
口試委員會審定書

以石英晶體微天平為平台整合表面電漿共振與電化學  
阻抗分析之生醫量測系統開發與研究

Research and Development on Using a Quartz  
Crystal Microbalance Platform to Integrate Surface  
Plasmon Resonance and Electrochemical Impedance  
Spectroscopy

本論文係林宇捷君（學號 R97525026）在國立臺灣大學  
工程科學及海洋工程學系完成之碩士學位論文，於民國九十  
九年七月二十一日承下列考試委員審查通過及口試及格，特  
此證明

口試委員：

李世光	<u>李世光</u>	(簽名)
	(指導教授)	
林啟萬	<u>林啟萬</u>	
林致廷	<u>林致廷</u>	
吳文中	<u>吳文中</u>	
謝志文	<u>謝志文</u>	
系主任、所長	<u>宋家驊</u>	(簽名)

## 謝誌

該感謝的人太多了，那就感謝天吧，其實我很想只打這句話就好，不然這個誌謝可能會太長，因為要感謝的人真的太多。

首先當然是要感謝我的父母與家人，因為你們的支持與幫助，我才能順利的成長、求學，在我實驗不順利的時候，你們的溫暖關懷，是我一直前進的動力。

再來要感謝老師們對我的幫助，指導教授李世光老師的學養淵博、想法創新，總是能在學生研究遇到瓶頸時指引出一條明路；工科所的吳文中老師、電子所的林致廷老師以及海洋大學的李舒昇老師也都在實驗過程中給予我適時的教導以及指正我的錯誤，讓我的研究得以順利完成；另外要感謝擔任口試委員的師長們在口試時的批評指教，使的本論文得以更加完善。

感謝我們大 BIO 組的所有成員們，感謝維廷學長領我進門，就像入門師傅一樣，讓我懂得 QCM 的原理與實驗操作，之後還常常不厭其煩的在工作之餘幫我解決問題；感謝菁松學長在實驗上的教導，沒有學長你教架流道系統和生物實驗的流程的話，我現在可能也沒辦法在這邊打謝誌；感謝英毅學長特地回實驗室與我討論研究方向和借我電化學相關書籍；感謝致祥學姐指引我研究上的方向，以及常給我一些關懷與鼓勵；感謝家銘、志豪、佩伊等學長姐，在 meeting、模擬與實驗時跟我討論，給我指點；感謝挺哥常常跟我討論我各自在實驗上的問題，比較抱歉的是都是你在幫我而我卻沒辦法給你什麼幫助；感謝侑勳、大寶、小 A 三位學弟妹，你們幫了我很多忙，多到我實在無法一一列舉了，也常常陪我訴苦喇賽，可惜學長我很弱，沒什麼能教你們，也沒留下什麼有用的遺產，但我想你們三個都那麼厲害應該是沒差，衷心的希望你們可以在研究所生涯學到自己需要以及想學到的能力，以及能夠順順利利的畢業，加油！BIO 組的未來就靠你們了；感謝 CY 哥，碩一跟我一起做計劃，做到最後只有你在做，而且還變成讓你延畢的論文，非常抱歉；感謝 Eddie 在我口試前特地從機場打電話替我加油，希望你

能把個漂亮的洋妞當老婆；感謝義鴻給我論文讓我做寫作時的參考。

義氣幫的成員，輪到你們啦！感謝列車長 KT 哥在我研究生生涯給我許多待人處事甚至是人生觀上面的建議，裡面有許多可以做為座右銘的話，最新的一句是做人要腳踏實地，我會好好記住，以及在 109 陪我度過的許多時光，祝你跟女朋友白頭偕老，帖子記得要發過來；感謝(日立)任在我整個研究生生涯的照顧，無論是碩一修課時的 cover 還是碩二實驗時的幫忙，要是沒有你我現在搞不好連學分都還沒修完，以及在 109 陪我度過的許多時光，祝你跟良敏白頭偕老，帖子記得要發過來；感謝 CT 哥當我的電路老師，幫我把我研究中的電路架起來，還被我當作老師 argue 時的擋箭牌，以及在 109 陪我度過的許多時光，祝你跟老情人白頭偕老，帖子記得要發過來；感謝 CT 哥的小弟智翔帶給我許多歡樂，遴選許多 109 之歌，還規劃許多活動，以及在 109 陪我度過的許多時光，祝你跟很乖的新情人白頭偕老，帖子記得要發過來；感謝小八常常聽我訴實驗之苦還花時間跟我一起討論問題的解決方法，以及在 109 陪我度過的許多時光，祝你跟很黏的八嫂白頭偕老，帖子記得要發過來；感謝 Biloo 帶我去衝浪，借我很多燒杯，以及在 109 陪我度過的許多時光，祝你跟阿鳥白頭偕老，帖子記得要發過來；感謝豪哥教我用黏度計，我都常常用軟電組的東西金歹勢，以及在 109 陪我度過的許多時光，祝你跟樂團女孩白頭偕老，帖子記得要發過來。

結束了發帖子系列，接下來要感謝鐵皮屋的其他成員們，感謝 RB 學長找我吃消夜聊天，以及借我高級相機拍實驗照片；感謝文清學長給予我研究方向上的指導；感謝弘傑學長在我陷入水深火熱的時候給我的鼓勵；感謝長宏學長陪我玩 board game，Mr. Jack 很好玩；感謝玉豪哥常常留在 109 做實驗到半夜，讓我在半夜的 109 偶爾還可以喇低賽；感謝順區學長幫我解決許多製程上的問題，祝學長跟小女友能永浴愛河；感謝 CCHO 講話很靠背，帶來許多歡樂；感謝士賢學長在我找研發替代役時的幫忙，可惜最後無緣成為你的同事；感謝伯禹哥教大家咖啡學，可是我居然錯過，X！太可惜了；感謝溼爺陪我討論很多問題，與你討

論總是可以激發出一些創新的火花，祝你早一日把到妹，超過你的繼德學長；感謝育正幫我解決許多電腦上的問題；感謝承恩在 109 及鐵皮屋陪我聊天，你的研究是 ok 的，不要怕吳大；感謝大白；在小白學姐離開後很好的扮演了鐵皮屋媽媽的腳色；你對大家的關懷我想大家都感念於心，祝你未來人生的道路上能順利，順著自己的心走，適量吸取別人的意見，你一定可以走得很好；感謝升格為鐵皮屋奶奶的小白學姐教我用高溫爐以及許多研究上的指導，我們明年一定會去接機歡迎學姐回國的；感謝小白兔對實驗室設備的物盡其用，常常把實驗室當自己的家，讓我有時候半夜回家前發現實驗室還有人，使我不至於太過寂寞。

感謝 109 美麗可愛漂亮大方的助理群們；感謝鈞億在報帳方面的幫忙，還借我剪刀膠水筆等等一堆東西；感謝佩寧總是在早上叫我起床，希望你的可愛小 baby 健健康康快快樂樂的長大；感謝紫瑞也常常叫我起床以及跟剛睡醒的我聊天，希望你順利考上公務員！

之後要感謝 433 大家庭成員們的幫助；感謝凱威哥常常在 109 與我一起做實驗，也恭喜你最後順利畢業；感謝旭明及怡君夫婦幫我解決許多實驗上及報帳幫面的問題；感謝伯誠碩零的時候陪我一起做計劃，雖然你後來跑了，也祝你博班之路順順利利；感謝宜沐幫我領 Sample，以及常常送我 fb 小遊戲的禮物；感謝德勳陪我度過在 515 的時光，與你討論實驗問題(其實更多是喇低賽)，對我幫助很多，也感謝你教我使用 Sputter 和光譜儀，祝你未來一路順風；感謝志仁幫我處理我非常非常多的電腦相關問題；感謝琪琪幫我買麵包；感謝家瑋即將要教我雕刻機，也祝你們三位順利畢業，同時得到你們想學的東西。

感謝我的大學同學們，感謝 wayne 在碩一修課時的幫忙，還讓我認識了小黃瓜跟大頭兩個有趣的人，祝你早日成為船界的霸主，每天開法拉利上班；感謝凱凱常常邀我參加很多活動讓我不至於太無聊，祝你在美國求學順利；感謝黃耀正夫婦，呃，該感謝什麼阿？好啦總之就是感謝就對了；感謝林傑常常約我打牌，雖然我總是無法成行；感謝謝胖、鴨姐和蔣公，一個不小心就在系館讓我遇到，

只好停下來陪我聊天；感謝小柏毅，都會跑來我們實驗室串門子讓我們出去玩的  
時候多了一咖。

感謝 ShareHouse 的所有成員：Lufe、塔哥、又元、重琨，以及最需要感謝  
的老胡，感謝你們幫忙處理很多生活上的問題，以及容忍我許多散漫的生活習慣，  
讓我在做實驗時能夠沒有後顧之憂。

最後感謝小殷，感謝你這一路上一直陪伴我，無論是在我順利時跟我一起慶  
祝或是在我不順時給我安慰，耐心聽著我一遍又一遍重覆說著你根本聽不懂得實  
驗問題，總算最後是成功了，這是我們兩個一起完成的論文喔！

以上，感謝大家。



## 摘要

生物分子彼此之間的親和力研究一直是生醫領域內的重要課題，由於分子間彼此作用的反應過程相當複雜，因此量測參數的增加有助於得到更完整的資訊。本研究嘗試以石英晶體微天平為平台，結合表面電漿共振的光強變化與電化學阻抗分析的阻抗圖譜分析，架設可同時量測此三系統參數之整合平台。

本研究透過將石英晶體微天平之下電極改成 ITO 電極的方式，以稜鏡耦合在石英上方之金電極激發表面電漿共振；在電化學阻抗分析方面採用與石英晶體微天平共用電極的方式以切換電路進行整合。希望能在不對原始架構進行太多改變的情況下，使三種生物感測器皆能保持其原有的量測特性。

本研究經由實驗證明以稜鏡耦合的方式加以整合會使石英晶體微天平之量測值偏離其原有理論模型，因此無法以此種方法整合這三個系統。但在石英晶體微天平與電化學阻抗分析、表面電漿共振與電化學阻抗分析的整合上皆取得成功。

關鍵字：石英晶體微天平、表面電漿共振、電化學阻抗分析

## ABSTRACT

Bio-affinity measurement is always an important issue in bio-technology research field. Since the interaction process between bio-molecules is complex, more parameters are needed for facilitating the analysis. In this study, Quartz Crystal Microbalance (QCM) was provided as a base platform. Surface Plasmon Resonance (SPR) and Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) functions were added on QCM to form a novel integrated system. That is, the change in resonance frequency and dissipation factor from QCM, the optical power change from SPR and the Impedance change from EIS could be simultaneously measured.

In this system, the bottom electrode of QCM was replaced with ITO and the prism coupling was used to excite SPR. The upper electrode of QCM was used as the working electrode for EIS function and a switching circuit was used for measurement of this two system by turns. The infrastructure of this integrated system not only provide multi-parameter measurement but also keep their own features.

According to our experimental results, we found that the use of coupling oil changed the features of QCM. That means there exists some problem when integrating these three system with prism coupling excitation. But the integration of QCM and EIS, SPR and EIS is successful.

Keywords : QCM 、 SPR 、 EIS



# 目錄

謝誌	i
摘要	v
Abstract	vi
目錄	vii
第一章 序論	1
1-1 研究背景	1
1-2 生物感測器介紹與發展	2
1-3 研究動機與文獻回顧	5
第二章 基本原理與特性	7
2-1 QCM 基本原理與特性	7
2-1-1 石英基本特性	7
2-1-2 QCM 理論模型	8
2-1-3 BVD 等效電路	11
2-1-4 消散係數	13
2-2 SPR 基本原理與特性	14
2-2-1 表面電漿波	14
2-2-2 表面電漿共振之激發	16
2-3 EIS 基本原理與特性	19
第三章 量測方法介紹與選擇	23
3-1 QCM 量測方式選擇	23
3-1-1 脈衝激發	23
3-1-2 震盪電路	23
3-1-3 阻抗分析	23

3-1-4 QCM 量測方式選擇-----	24
3-2 SPR 調製方法選擇-----	25
3-2-1 角度調制-----	25
3-2-2 波長調制-----	25
3-2-3 相位調制-----	25
3-2-4 光強調制-----	26
3-2-5 SPR 調制方式選擇-----	26
3-3 EIS 量測與分析方法選擇-----	27
3-3-1 EIS 量測方法選擇-----	27
3-3-2 EIS 分析方法選擇-----	28
第四章 QCM&SPR&EIS 機構整合設計-----	29
4-1 整體量測架構之設計-----	29
4-2 流動注射分析系統之設計-----	34
第五章 實驗結果分析與討論-----	37
5-1 流動注射分析系統之重複性測試-----	37
5-2 系統整合特性測試-----	37
5-2-1 SPR&EIS 系統整合特性測試-----	38
5-2-2 QCM&EIS 系統整合特性測試-----	41
5-2-3 QCM&SPR&EIS 系統整合特性測試-----	45
5-3 分子鍵結實驗-----	52
第六章 結論與未來展望-----	60
6-1 結論-----	60
6-2 未來展望-----	60



# 第一章 序論

## 1-1 研究背景

人類的平均壽命隨著科技的進步逐年增加，高齡化社會已經成為現今的全球趨勢，而台灣也從1993年開始進入高齡化社會，預計在2026年達到超高齡社會[1]。隨著高齡化的趨勢，醫療保健、健康照護等相關議題也越來越被重視，這也反應在生技產業上。而台灣從2002年推動「兩兆雙星」開始，生物產業便蓬勃發展，近年來政府依然大力發展生技產業，根據「生技起飛鑽石行動方案」，將生技產業納為未來三大新兆元產業之一[2]，台灣生技產業的產值也在政府的大力支持下逐年升高(圖 1-1)，即便是在2008與2009年受到金融風暴影響的時期，各方產業發展皆相繼受阻時，生技產業仍然不受影響，產值持續有所提高。

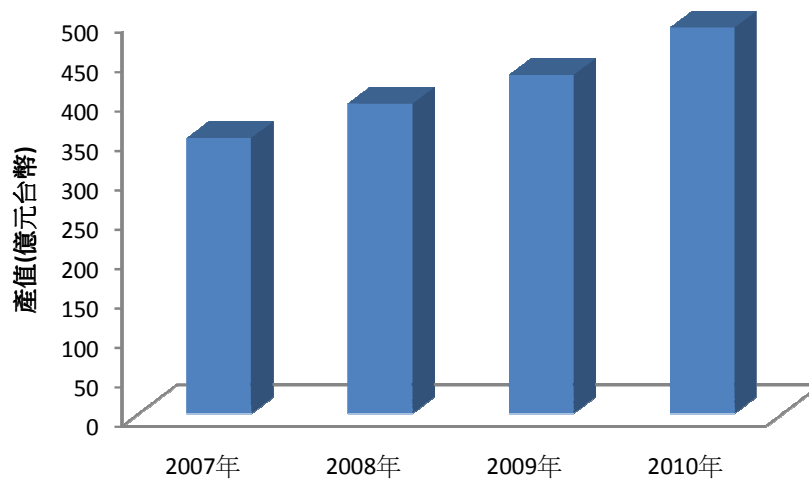


圖 1-1 2007 至 2010 年台灣生技產業產值變化[3]

自從基因圖譜定序以來，生醫方面的技術發展便開始突飛猛進，新興技術如雨後春筍般冒出。舉例來說，2003年時全球爆發 SARS 疫情，當時台大奈米生醫一號的研究成果就是罕見的利用生物分子的力學原理，使冠狀病毒的皇冠崩解來

摧毀病毒，此一技術後來更進一步發展成台大病毒崩(NTU-VirusBom)，可在不傷害人體的狀況下，於體外抑制禽流感病毒、流感病毒、腸病毒 71 型、以及金黃色葡萄球菌感染增殖的物質等奈米級病毒與微米級細菌[4]。

要了解生物分子的特性，首先必需從分子間的親和力著手，分子間的親和力包括了分子本身的基本物理特性，分子間鍵結的力學特性以及分子間因結合所引起的構型變化(Conformation change)等。而研究分子間親和力的方法最常見的是雜交法(Hybridization)與酵素免疫分析法(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA)這兩種，以往進行上述兩種分析方法時會先對欲偵測之生物分子進行標定(immobilized label)，之後再利用光譜分析或酵素呈色反應來量測，但是此種檢測法不能進行快速即時的量測也不能了解生物分子在反應時的交互作用狀況及動力學機制。因此各國的研究團隊致力於研發各式各樣的免標定(label-free)生物感測器(biosensor)，為達到體積微小化以及減少試劑用量等目的，此類生物感測器也被製作成晶片的形式，因此也被稱為生物晶片(bio-chip)。根據檢測標的物的不同有組織晶片(tissue chip)、細胞晶片(cell chip)、蛋白質晶片(protein chip)與基因晶片(gene chip)，此類型之生物感測器具有免標定、反應快速以及可即時反應力學特性等優點，因此可大量應用於重點照護、臨床檢測、醫療診斷以及基因工程之中，是現今生醫研究中的熱門領域。

## 1-2 生物感測器介紹與發展

生物感測器之基本架構可分為三大部分(圖 1-2)：(1)前端為生物受體(Bioreceptor)的部分，主要的作用為進行生物辨識(Bio-separation)，也就是只有待測物分子會與分子受體發生反應，常見的辨識方法有酶反應、細胞反應、核酸反應、仿生材料反應以及抗原/抗體反應等五種類型；(2)中間的部分為換能器元件(Transducer)，可將前端生物分子反應所引起的物理特性變化轉換成電子訊號，根據換能器量測原理的不同，可分為光學、電化學、熱學、聲學等感測方法(表 1-1)；

(3)後端則為訊號處理的部分，一般來說是將換能器轉換後所得到的訊號傳輸至電腦來進行處理與分析。

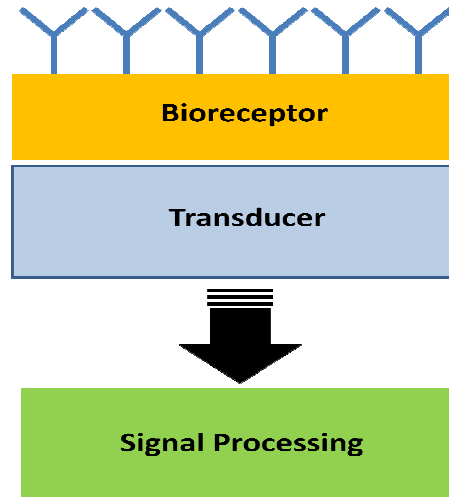


圖 1-2 生物感測器基本架構示意圖

表 1-1 各式生物感測器的感測原理[5]

電化學分析法	電流式	定電壓下量測電流之變化
	電壓式	定電流下量測電壓之變化
	電導式	量測電極間阻抗或導納之變化
光學分析量測法		量測光學特性之變化
熱學微量量測法		量測待測物之溫度變化
聲學特性感測法		量測換能器聲波特性之變化

生物感測器的發展最早是在 1962 由 Clark 和 Lyon 提出酵素電極的架構開始，而後在 1976 年，Updike 與 Hick 發展出將葡萄糖氧化酵素固定後製成薄膜，配合溶氧電極檢測葡萄糖的技術，隨後 Yellow Spring Instrument 公司將此概念商業化，於 1979 年開發出血液葡萄糖檢測器。而後在 1987~1988 年間，MediSense 公司利

用 Danielson 等人開發出可改善生物感測器反應速率和靈敏度的調節分子(mediator molecules)技術，相繼推出筆型及信用卡型的攜帶式血糖儀，其快速檢測以及可隨身攜帶的特性，使得血糖儀成為糖尿病患者的福音。時至今日，血糖儀已成為生醫市場的主流商品之一。而運用酵素電極為概念的感測器也被稱為第一代生物感測器[6]。

由於第一代生物感測器具有靈敏度較低且易受到其他物質雜訊干擾等缺點。因此，於80年代開始，科學家們便著手開發第二代生物感測器，第二代生物感測器的概念是以抗體或受體蛋白質作為生物辨識分子；與此同時，換能器的種類也更為多元化，諸如場效半導體(Effect Field Transistor, FET)，光纖(Fiber Optical System, FOS)，壓電晶體(Piezoelectric, PZ)，表面聲波器(Surface Acoustic Wave, SAW)等。但直至今日為止，大部分的第二代生物感測器技術依然停留在實驗室研究階段，未能真正應用在醫學檢測中。目前在醫檢市場發展較為成功的第二代感測器只有瑞典的Biacore公司(前身為Pharmacia)所推出以表面電漿共振技術(Surface Plasmon Resonance, SPR)為核心的Biacore系列產品(圖1-3(a))，以及Qsense公司推出的以石英晶體微天平(Quartz Crystal Microbalance, QCM)做為檢測技術的Q-sense系列商品(圖1-3(b))。

第二代的生物感測器普遍具有即時反應偵測的特性，不需預做反應分子純化、標定等繁雜程序，可免去破壞生物分子結構的風險等優點，但其缺點是必需具有專業的知識與嚴密的訓練後才能進行操作，導致此類產品的客層主要是學術界以及業界的研究人員，不利於普及。因此目前有許多研究團隊致力於開發具有自動量測、即時量測、即位量測功能且便於攜帶的第三代生物感測器，此類感測器多為應用微機電(MEMS)技術製作的陣列晶片式感測器。而現今也已經有學者定位未來第四代的生物感測器的開發方向，例如自動偵控、自動修補以及發展固定化的生物分子受體等目標[7]。

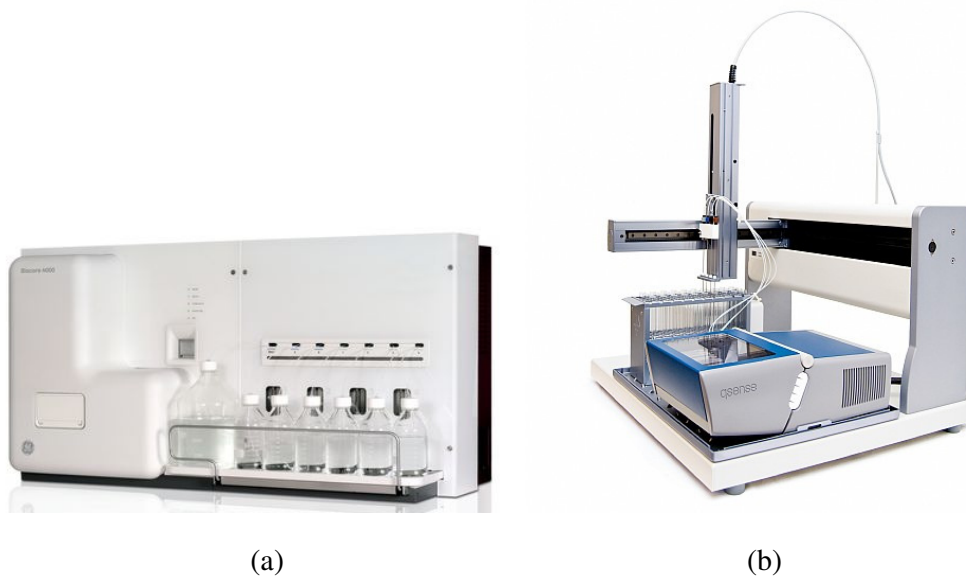


圖 1-3 (a) Biacore® 4000 (b) Q-Sense E4 Auto [8][9]

### 1-3 研究動機與文獻回顧

由於生物分子彼此作用時的行為相當複雜，若能在鍵結過程中得到越多的訊息，就可進行更完善的分析與探討。在眾多生物感測器中，QCM 因為是少數以力學驅動方式作為感測原理的感測器，因此能夠提供分子彼此間作用力的特性，其共振頻率變化的量測除了可偵測分子鍵結量外，也反應了接觸界面的特性，而消散係數(Dissipation factor)的量測可用來了解生物分子本身的結構變化，可以說本身就具有多參數的特性。同時 QCM 也具有易與其他檢測平台整合的特性，其中與電化學感測器整合而成的電化學石英晶體微天平系統(Electrochemical Quartz Crystal Microbalance, EQCM)，便是整合量測系統中相當成功的一個例子。

EQCM 系統的設計理念是以 QCM 來輔助電化學之量測，因為在電化學的反應過程中，常伴隨著複雜的機制，而電化學測定法本身所能提供的界面訊息相當有限，因此適當的以 QCM 量測法加以輔助，可以更精確的得知界面上的訊息。EQCM 的發展最早是在 1969 年由 Jones 所提出[11]，但此時的 EQCM 只用來進行氣相中的研究；直到在 1981 年，才由 Nomura 研究團隊將 EQCM 發展到液相量測的階段



[12]。而後 EQCM 因為具有可得知介面特性的優點，常被用來探討電化學反應中的質傳現象與電雙層現象[13-15]。近年來，EQCM 的應用被推展至生醫檢測上，像是蛋白質檢測[16]、DNA 檢測[17]等。

電化學阻抗分析(Electrochemical Impedance Spectroscopy, EIS)做為電化學量測的一個分支，因為具有頻譜量測的特性，可以比傳統的電化學量測法得到更多的訊息，近十多年來的發展非常迅速，以其與 QCM 整合之量測平台也有團隊進行研究，例如在 2002 年 Sabot 與 Krause 便以 QCM 與 EIS 之整合系統量測高分子薄膜的降解過程[18]。而在 2005 年，He 等人以此系統量測 IgG 與 Anti-IgG 之免疫反應[19]。之後在 2010 年，Elisabeth 等人也以此系統量測脂雙層的構型以及其與孔洞狀的肽分子之反應[20]。

SPR 技術作為被應用最為廣泛的光學量測法之一，也有團隊研究整合 SPR 與 QCM 的量測平台，2004 年時，Reimhult 等人以整合 QCM 及 SPR 之系統量測脂質的構型變化，並利用兩者參數之結合得到鍵結分子層的厚度[21]，但其 QCM 與 SPR 之量測雖然在同一腔體中，卻並非在同一平面上。在 2008 年，Zong 等人利用光柵耦合的方式以同一平面整合 QCM 與 SPR 系統並用於高分子薄膜之量測。本研究團隊同樣在 2008 年時也以稜鏡耦合的方式開發出整合 QCM 與 SPR 之量測平台用於生物連結物分子之測量[22]。而在 2010 年時，Kim 等人也以稜鏡耦合的方式開發出類似的整合系統並以超純水為樣本進行量測[23]。

本研究基於以往研究團隊之基礎，選擇以石英晶體微天平為載具來開發整合表面電漿共振及電化學阻抗分析之流動注射分析系統，不僅增加參數來對於分子鍵結的過程做分析與探討，還可以藉此比較此三系統之差異。

## 第二章 基本原理及特性

### 2-1 QCM基本原理與特性

#### 2-1-1 石英基本特性

石英是一種矽的氧化物，其化學組成為二氧化矽(Silicon Dioxide, SiO<sub>2</sub>)，以32點群(point group)的六方晶系形成的單結晶結構，其比重是2.66，硬度為7，熔點為1713°C，折射率為1.54至1.55。具有良好的硬度與透明度，以及雙折射(birefringence)和旋轉偏光面等光學特性。

石英晶體可分為x、y、z三個軸向。其中z軸一般被稱之為光軸(optics axis)，光軸的特性為當光線通過時，不會產生雙折射現象，依光軸的不同可分為左旋石英和右旋石英，若沿x軸方向施以電壓，右旋石英之正方向帶正電；而左旋石英則帶負電。而根據不同的軸向與角度，其物理特性也會有所不同，x軸稱為電軸(electric axis)，其特性為在外加應力下會有電效應的產生，其頻率也隨著溫度上升而減少；y軸稱為應力軸(mechanical axis)，其在外加應力下只產生形變而不產生電效應，具有正溫度係數。

一般最常使用的石英晶片是以人工長晶方式製造之 $\alpha$ 型石英( $\alpha$ -quartz)，若切割方向不同，則會有不同的震盪方式與特性，以因應不同的應用領域及工作溫度需求，常見的有ST、AT、AC、Y、X等。QCM主要是運用AT-cut的切割角度，因為AT-cut的石英有著高頻率穩定度( $\Delta f / f$ 約 $10^{-8}$ )以及溫度係數的影響在0度至40度之間趨近於零(約-0.039ppm/°C)之優點，使得AT-cut的石英最適合應用在QCM上。

以石英晶片為核心的QCM，是一種聲波感測元件(acoustic wave sensing device)。利用聲波原理的壓電材料由於其對重量變化具有相當高的靈敏度，已被廣泛應用在多種感測器上，除了重量變化的量測之外，亦可用來量測與其表面接觸之固、液體的其他特性，如黏滯度、液體密度、黏彈性質、親和力，導電度以及表面粗

糙度等，因此與其他生物感測器比較起來，QCM擁有多參數量測之優點。

常見的聲波感測元件包括厚度剪力模式(thickness-shear mode, TSM)、表面聲波(surface acoustic wave, SAW)、聲音平板模式(acoustic plate mode, APM) 及彎曲平板波(flexural plate wave, FPW)等，其優缺點顯示在表2-1中。綜合比較後，為因應生物量測所需之液相環境應用及考量震盪穩定度等因素，厚度剪切模態將會是最佳的選擇。

表2-1 聲波感測元件比較[24]

	TSM	FPW	SAW	SH/APM
<b>Typical frequency</b>	4~30MHz	30~500MHz	25~200MHz	2~7MHz
<b>Example</b>	Quartz	Quartz	Quartz	ZnO
<b>Temperature stability</b>	High	Medium	High/Medium	High
<b>Penetration depth</b>	$\lambda/2$	$\gg \lambda$	$3\sim 10\lambda$	$\ll \lambda/2$
<b>Q-factor</b>	High	Low	Medium	Medium
<b>Liquid or not</b>	Yes	Yes	No	Yes

### 2.1.2 QCM 理論模型

QCM對於質量吸附的效應，有著相當高的靈敏度，當均一厚度之外來物質施加在石英晶體表面時，石英晶體之共振頻率將會發生變化。在1959年時，首先由Sauerbrey確立此一關係。(1)量測的薄膜必須要固定地附著在震盪表面；(2)薄膜的聲波性質需和石英震盪器相符；(3)在實驗過程中，沒有其他外在的機械應力施加在石英震盪器上；(4)在薄膜與石英交介面沒有表面滑動的現象產。Sauerbrey 提出在滿足以上四個假設的情況下，便可利用駐波的原理，由頻率變化量( $\Delta f$ )推得厚度變化量( $\Delta d$ )，進而求得質量的改變量( $\Delta m$ )，此公式也就是Sauerbrey[3]所提出的QCM

基礎公式：

$$\Delta f = \frac{-2f^2 \Delta m}{A \sqrt{\rho_q \mu_q}} \quad \text{Eq.2-1}$$

從上式中我們可以得知吸附質量的增加會造成頻率的下降，其中共振基頻 $f$ 、石英晶體的密度 $\rho_q$ 、電極的表面積 $A$ 以及石英的剪力係數 $\mu_q$ 皆為常數，然而在實際運用上許多情況並不符合Sauerbrey事先的假設，例如實際上所吸附的物質特性以及密度並非皆與石英一致，黏附行為也可能產生表面應力，而造成頻率的漂移，因此理論值與實際值的誤差約1.5到2倍之間，而且吸附層越厚誤差也就越大[4]。

且當石英表面與溶液接觸或是附著黏滯性物質時，待測物之密度、聲波性質與石英晶體相差過大，接觸表面也會產生滑動，都與Sauerbrey之假設不符。且此時之共振頻率也會受到界面黏滯度與密度的影響，當石英產生剪切震盪時，會伴隨著剪力波傳遞至表面液體層，而液體的黏滯性會使其能量衰減，因此Sauerbrey Equation便不適用於液相感測，需要額外的修正公式加以輔助。

圖2-1為石英負載牛頓流體層的剖面示意圖，當石英產生剪切震盪時，液體的黏滯性會造成其剪力波的能量衰減，當表面液體層的厚度相較於傳遞至液體中剪力波的衰減長度(decay length)為無窮小，則液體可視為半無窮域(semi-infinite field)，晶體表面剪力運動之速度場在此條件下可用以下式子來描述[48]：

$$V_x(z) = V_0(x, y) \times e^{\frac{-z}{\delta}(1+i)} \quad \text{Eq.2-2}$$

此式表示晶體表面剪力之運動速度在液體中成指數下降，其中 $V_x(z)$ 為液體沿X軸方向各點之運動速度， $V_0(x, y)$ 為晶體表面之剪力速度，而 $\delta$ 如圖中所標示，為擴散層厚度，以10MHz之石英在20度水中為例，其擴散層為7500Å。

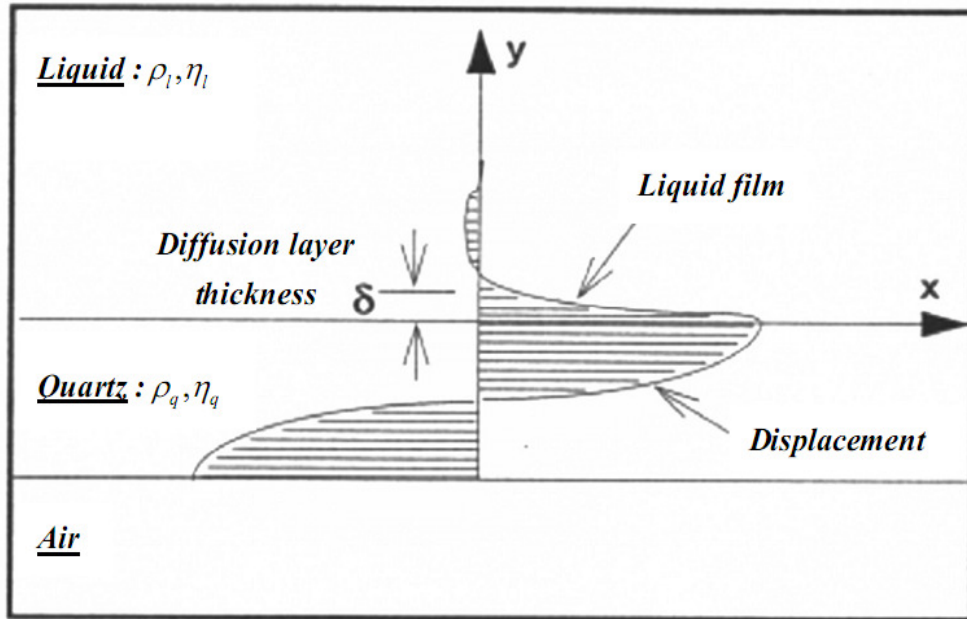


圖2-1 石英負載牛頓流體層時的剖面示意圖

將擴散層厚度視為液體薄膜吸附的厚度  $\delta = \sqrt{2\eta_L/\omega\rho_L}$ ，因此液體層之外加重量為：

$$\Delta m = V_L \rho_L \quad \text{Eq. 2-3}$$

將  $V_L$  以  $A\delta$  代入：

$$\Delta m = A\delta\rho_L = A\sqrt{\rho_L\eta_L/\pi f} \quad \text{Eq. 2-4}$$

再將上式帶入 Sauerbery equation，即可得到由 Kanazawa 與 Gordon [28] 在 1985 年提出的描述石英表面吸附液體現象之方程式：

$$\Delta f = -f^2 \frac{3}{\sqrt{\pi\rho_q\mu_q}} \sqrt{\rho_L\eta_L} \quad \text{Eq. 2-5}$$

然而厚度剪切模態之聲波元件的頻率通常操作在百萬赫茲的等級，而位移卻只有  $3\sim 10 \text{ \AA}$ ，因此界面層之間存在著高流速之複雜流體動力行為，且當表面剪應變率在  $1000/\text{s}$  的等級下，界面行為會有強滑動現象 (strong slip)，因此實際造成的頻率漂移量約為理論的 1.5 至 3 倍 [29]。

當 QCM 用於生物反應的分析時，根據 Eq. 2-5，我們可以得知在液相界面中，

頻率會與流體密度以及黏滯性之乘積開根號成正比。因此根據不同的流體，頻率大約會下降2k至4kHz不等，同時生物分子的鍵結在QCM之表面時，也會造成類似於Sauerbery equation所描述之現象而使頻率下降。因此整體的頻率漂移量為其加總，如Eq. 2-6所示。

$$\Delta f = -\frac{2f^2}{\sqrt{\rho_q \mu_q}} \left[ \frac{\Delta m}{A} + \sqrt{\frac{\rho_L \eta_L}{4\pi f}} \right] \quad \text{Eq. 2-6}$$

### 2.1.3 BVD 等效電路

石英晶體具有力電耦合效應，因此QCM表面與接觸介質的震盪力學效應可運用其所對應之等效電路來進行分析與探討，確立等效電路內各電子元件所對應之物理特性之後，可藉由容抗或阻抗分析的方式求得等效電路內各個電子元件的值，之後便可透過元件值的變化推得所對應之物理特性的改變。

Mason[30] 以具有四個元件的BVD等效電路(Butterworth-van Dyke circuit)來描述QCM在共振頻率附近的震盪行為。BVD等效電路由電端(electric branch)及聲波端(acoustic branch)兩部分並聯而成(圖2-2(a))。電端的電容 $C_0$ 是由兩電極間所產生的寄生電容及石英本身特性所造成，由於此電容是屬靜態，故又稱靜態端(static branch)；而在聲波端中，包括了 $C_1$ 、 $L_1$ 、 $R_1$ 三個元件。 $C_1$ 代表石英的機械彈力(mechanical elasticity)，即石英在震動中所儲存的能量， $L_1$ 代表慣性的質量所造成的影響，而 $R_1$ 則表示石英晶體在震動時所伴隨的能量損失(包括石英內部的摩擦力或是因液體之黏彈性質所造成的能量損失等等)。聲波端的三個電子元件也可以等效至機械震盪系統中(圖2-2(b))，由於聲波端的值會因為不同的介面特性而改變，因此又被稱作動態端(motional branch)。等效電路上各元件的電子特性可以類比至QCM及介質的物理特性，在無負載的情況下，等效電路各元件所代表之物理特性如表2-2所示。

表2-2 等效電路中各項參數與材料參數對應的物理特性[31]

	$C_0$	$L_1$	$C_1$	$R_1$
<b>Expression</b>	$\frac{\epsilon_{22}A}{t_q}$	$\frac{t_q^3 \rho_q}{8Ae_{26}^2}$	$\frac{8Ae_{26}^2}{\pi^2 t_q \mu_q}$	$\frac{t_q \eta_q \pi^2}{8Ae_{26}^2}$
<b>Mechanical analog</b>		Inertial mass	Elasticity	viscosity

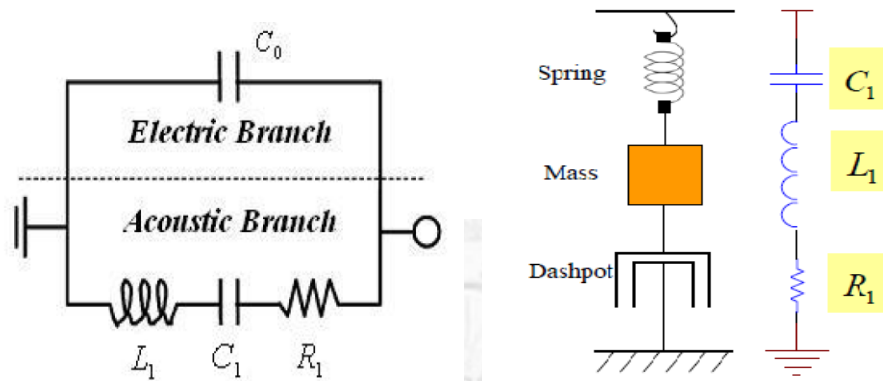


圖 2-2 (a)石英晶體共振的等效電路 (b)等效電路所對應之機械震盪模型[22]

Martin[32]等人利用力電耦合的效應來模擬厚度剪力模式震盪器同時負載質量薄膜和牛頓液體時的模型，也就是質量薄膜在液相中沉積吸附於表面電極上的情形。而在此特殊的情況下，假設質量層是均勻且固定結合在石英上，此時阻抗的效應是質量薄膜與牛頓流體相加。因此電路會增加一個額外的電感  $L_2$  來代表沉積薄膜的質量，另外一個電感  $L_3$  代表流體層結合在石英表面上所造成的黏彈效應，而電阻  $R_3$  則是代表流體所造成的能量消散(圖 2-3)。

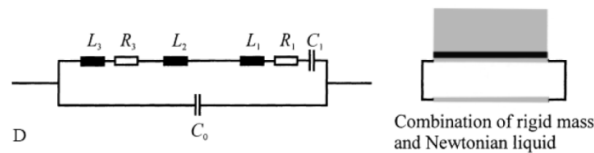


圖 2-3 負載質量薄膜與牛頓流體的石英等效電路[32]

此一等效電路模型之聲波端(acoustic branch)的阻抗為：

$$Z_a = (R_1 + R_3) + j\omega(L_1 + L_2 + L_3) + \frac{1}{j\omega C_1} \quad \text{Eq. 2-7}$$

當發生共振時其阻抗虛部為零，可導出

$$f_s = \frac{1}{2\pi\sqrt{(L_1+L_2+L_3)C_1}} \quad \text{Eq. 2-8}$$

$f_s$ 為串連共振頻率，與壓電的振動力學中的彈性常數相關，所以理論模型大部分皆以此值來做討論，在本論文中QCM的檢測也是以串連共振頻率為測量目標。

等效電路是一個相當方便的解析方式，因為在質量效應與流體介面的影響下，僅量測共振頻率的變化無法分辨其各別影響的量，然而透過等效電路可得知四個等效元件值，有助於分析各種影響頻率的因子。

#### 2.1.4 消散係數(Dissipation factor)

由於生物分子的吸附行為與構型變化(conformation change)之研究，近年來逐漸受重視。而石英晶體微天平應用共振的消散係數與共振頻率之偏移量，可以同時量取因分子吸附所造成之質量與構型變化。

消散係數為品質因數之倒數，可藉由等效電路的參數值推導出來，以先前所述的BVD等效電路的參數值推導後，其定義如Eq. 2-9所示，可看作在一次震盪週期中，平均消耗能量與儲存在系統中能量的比值，可以從圖2-4中發現，當鍵結在QCM上的分子層相當緊密且分子剛性較強時，因為能量不易消散，此時消散係數會較低；若QCM上鍵結的分子層較不緊緻或是分子剛性較低時，就會有著較高的消散係數。當QCM的共振頻率沒有變化而消散係數卻逐漸改變，意味著此時並沒有分子吸附或脫離，能量的消散卻變得不同，可能就是分子有構型變化的發生。

$$D_s = \frac{1}{Q} = \frac{E_{\text{dissipated}}}{2\pi E_{\text{stored}}} = \frac{R_1}{2\pi f_s L_1} \quad \text{Eq. 2-9}$$



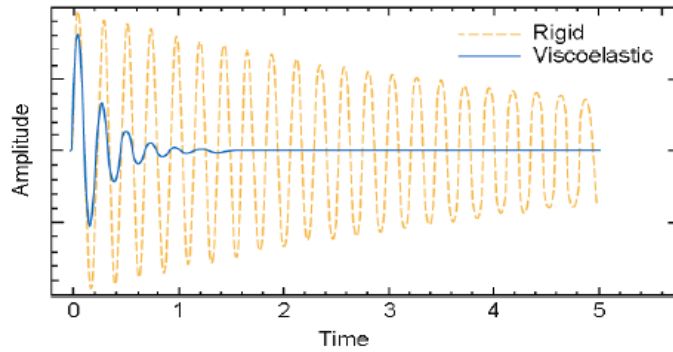


圖 2-4 不同構型分子層鍵結於 QCM 上時的能量消散情形[9]

## 2-2 SPR 基本原理與特性

### 2-2-1 表面電漿波

電漿是由帶電的離子及電子組成，當電子經過電離後，也就是其運動動能超過原子核對電子的束縛能，就會成為自由電子，當電離電子之數量到達一定程度時，就稱之為電漿。電漿具有屏蔽外加電場保持自身電中性之特性，為了維持電中性，電漿中的電子便會來回的震盪，每一種不同的導體在不同的電子濃度下都有其特定的震盪頻率，稱之為電漿頻率( $\omega_p$ )：

$$\omega_p = \sqrt{\frac{n_e q_e^2}{m_e \epsilon_0}} \quad \text{Eq. 2-10}$$

其中 $n_e$ 為電子密度， $q_e$ 為離子數量， $m_e$ 為電子質量而 $\epsilon_0$ 則是自由空間中的介電常數。藉由此式，由自由空間中的介電常數可推得電漿在介質中之介電常數與頻率之關係式：

$$\epsilon_p(\omega) = 1 - \frac{\omega_p^2}{\omega^2} \quad \text{Eq. 2-11}$$

因為折射率 $N = \sqrt{\epsilon_p}$ ，因此由上式可得知如果在介質中傳遞之電磁波頻率小於其電漿頻率，其介電常數為負數，以此計算出之折射率為複數，代表此電磁波將被介質所吸收。反之，若是電磁波頻率大於電漿頻率，折射率將為實數，電磁波就可以在此介質中傳遞。

若是上述之電漿震盪子產生在金屬與介電質之邊界上，也就是說當金屬與介

電質邊界上存在一外加電場使得金屬中的電子可以自由的移動，在外加電場的趨使及電荷重新分部的受力下在界面上來回的震盪，此種電漿子稱之為表面電漿子。而因表面電漿子震盪而產生之波傳現象即為所謂的表面電漿波(圖 2-5)。表面電漿波存在於兩邊介電值一正一負的界面，對兩邊介質而言均為漸逝電磁波，意即在界面處形成漸逝場分布，其強度在界面上最強，而隨著兩側的距離呈指數衰減。而表面電漿波僅能傳遞 TM 方向之偏振波，也就是光學上所謂的 P 偏極光，這是因為 TE 方向偏振波(S 偏極光)之電場方向與界面平行，無法在金屬表面累積自由電子的緣故。

根據馬克士威方程式(Maxwell's equations)以及兩邊介電值一正一負之界面的邊界條件，可導出沿 x 方向傳播之表面電漿波波傳向量為：

$$k_{x,spw} = k_0 \sqrt{\frac{\epsilon_1 \epsilon_2}{\epsilon_1 + \epsilon_2}} = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{N_1^2 N_2^2}{N_1^2 + N_2^2}} \quad \text{Eq. 2-12}$$

其中  $k_0 = \omega/c$  為自由空間之波傳向量， $\epsilon_1, \epsilon_2$  為兩介質之介電常數， $N_1, N_2$  為兩介質之折射率，介電常數與折射率之關係式為  $N^2 = \epsilon/\epsilon_0$ 。因金屬材質會吸收沿金屬與介電值界面傳播的表面波，使得表面波產生歐米損失(ohmic loss)，將金屬材質之折射率以  $N_2 = n_2 - ik_2$  帶入上式可得：

$$k_{x,spw} = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{N_1^2 (n_2 - ik_2)^2}{N_1^2 + (n_2 - ik_2)^2}} = k_x^{(0)} - \frac{i\alpha_x}{2} \quad \text{Eq. 2-13}$$

其中  $\alpha_x$  為能量消散係數(power attenuation coefficient)， $k_x^{(0)}$  是波傳常數(propagation constant)。兩者可分別用以下式子來表示

$$k_x^{(0)} = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{N_1^2 (n_2^2 - k_2^2)}{N_1^2 + (n_2^2 - k_2^2)}} = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\epsilon_1 \epsilon_2 R}{\epsilon_1 + \epsilon_2 R}} \quad \text{Eq. 2-14}$$

$$\alpha_x = \frac{\omega}{c} \frac{2n_2 k_2 N_1^3}{\sqrt{(n_2^2 - k_2^2)(N_1^2 + n_2^2 - k_2^2)^3}} = \frac{\omega}{c} \frac{\epsilon_1^{3/2} \epsilon_2}{\sqrt{\epsilon_2 R (\epsilon_1 + \epsilon_2 R)^3}} \quad \text{Eq. 2-15}$$

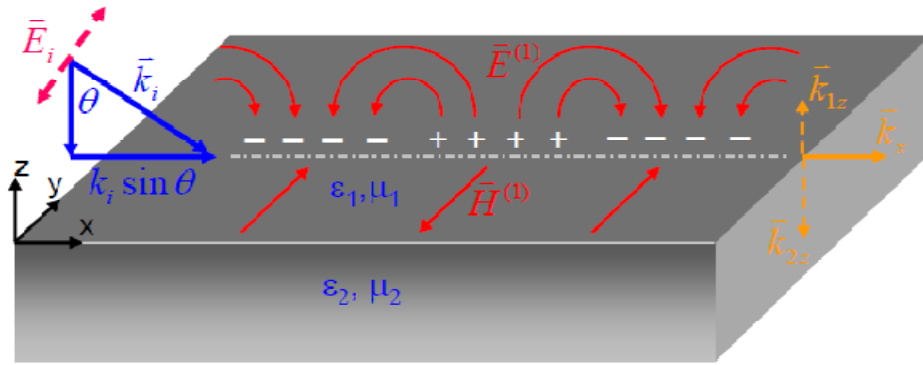


圖 2-5 金屬與介電質之間的表面電漿波傳遞[22]

### 2-2-2 表面電漿共振之激發

要達到利用表面電漿波之特性偵測表面變化的目的，首先必須在金屬與介電質的界面上激發表面電漿子共振，產生表面電漿波。本研究中是以光學的方式來激發表面電漿共振，在此情況下之激發條件為，入射光的波傳函數需與表面電漿波之波傳函數擁有相同的波數(wave number)，也就是所謂的波數匹配。激發過程如同圖 2-6 所示，圖中 $\epsilon_1$ 、 $\epsilon_2$ 分別為上下兩介電層之介電常數， $\epsilon_m$ 則為金屬之介電常數。入射光的部分能量將傳遞至所激發的表面電漿波中，使得反射光的能量較之入射光有大幅度的下降。

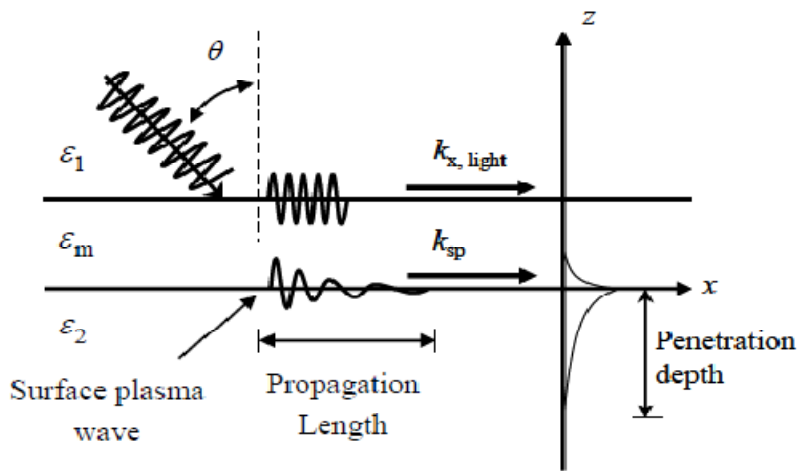


圖 2-6 以光波激發表面電漿共振之示意圖[33]

光在介面中沿邊界傳播之波傳向量為：

$$k_{x,\text{light}}(\omega) = k_0 \sqrt{\epsilon_1} \sin\theta \quad \text{Eq. 2-16}$$

而表面電漿波之波傳向量則為：

$$k_{x,\text{spw}}(\omega) = \text{Re} \left[ k_0 \sqrt{\frac{\epsilon_2 \epsilon_m}{\epsilon_2 + \epsilon_m}} \right] \quad \text{Eq. 2-17}$$

當上述兩式的波數相等時，可求得表面電漿共振之共振角  $\theta$ ：

$$\theta(\omega) = \sin^{-1} \left\{ \text{Re} \left( \sqrt{\frac{\epsilon_2 \epsilon_m}{(\epsilon_2 + \epsilon_m) \epsilon_1}} \right) \right\} \quad \text{Eq. 2-18}$$

由於激發表面電漿共振需要相當大的能量，因此必須藉由一些外部的耦合來增加入射光的波傳動量以達到波數匹配之目的，常見的耦合方法有下列兩種：

#### (1) 稜鏡耦合(Prism coupling)

此種耦合方式的架構較簡單，因此是目前最為普遍被使用的耦合方式，其架構如圖 2-7，分為 Otto 式與 Kretschmann 式兩種。其耦合原理可由圖 2-8 來說明，以 Otto 式稜鏡耦為例，若光直接從三角稜鏡入射至金屬薄膜，在兩者界面中所產生之相速  $v_{ph}$ ，也就是圖 2-8 中色散曲線之斜率，會大於表面電漿波之相速度， $v_{spw,ph} < v_{ph}$ 。因此在此情況下的色散曲線 I 無法與表面電漿共振之色散曲線 B 產生交點，也就無法達成波數匹配的激發條件。若使用 Otto 架構，則在稜鏡與金屬層之間隔有一層厚度極小的空氣層，則此時之介面相速度  $v_{ph}$  就有機會小於  $v_{spw,ph}$ ，此時之色散曲線 II 與使表面電漿波的色散曲線 A 就會有交點，使表面電漿共振的激發變的可能。

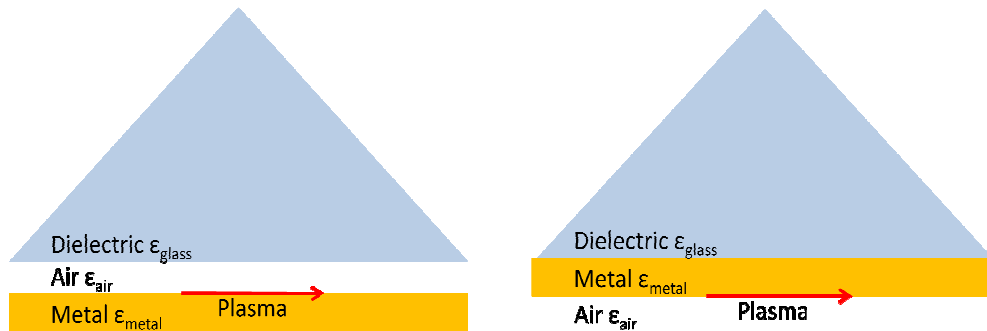


圖 2-7 稜鏡耦合激發架構示意圖 (a) Otto 式 (b) Kretschmann 式

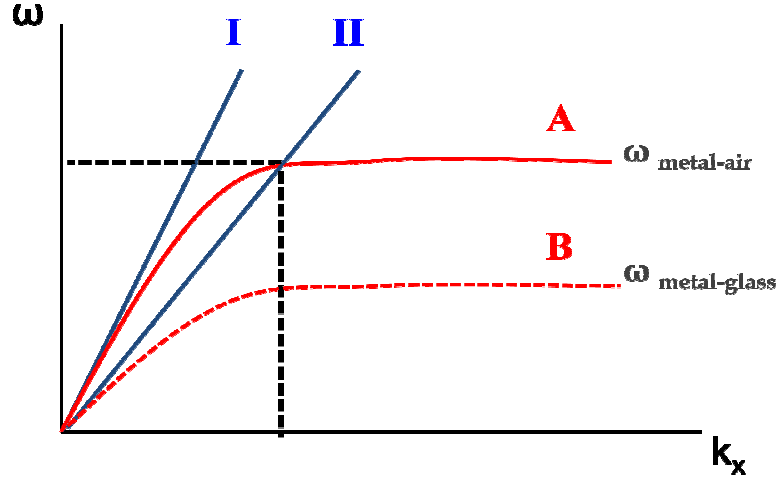


圖 2-8 稜鏡耦合之色散曲線

(2) 光柵耦合(Grating coupling)

圖 2-9 為光柵耦合的示意圖，此種耦合方式乃是將入射光先導引經過週期變化之金屬光柵，經過此光柵的光子可額外增加  $2\pi/\Lambda$  的分量，此時入射光之波傳向量可表示為：

$$k_{x,\text{light}} = k_0 \sin\theta + \frac{2\pi}{\Lambda} m = \frac{\omega}{c} \sqrt{\frac{\epsilon_m}{1+\epsilon_m}} k_{x,\text{spw}} \quad \text{Eq. 2-19}$$

其中  $m$  為整數，從上式可知，藉由調整入射光波長、角度、光柵週期及不同模態，可增加入射光之波傳向量，使其色散曲線 II 與表面電漿波之色散曲線產生交點(圖 2-10)。

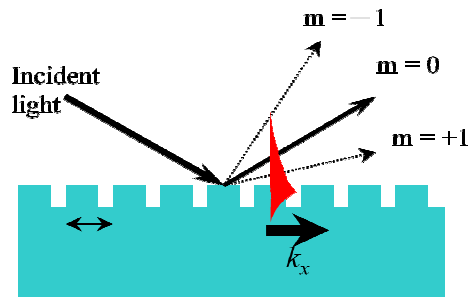


圖 2-9 光柵耦合激發架構示意圖[33]

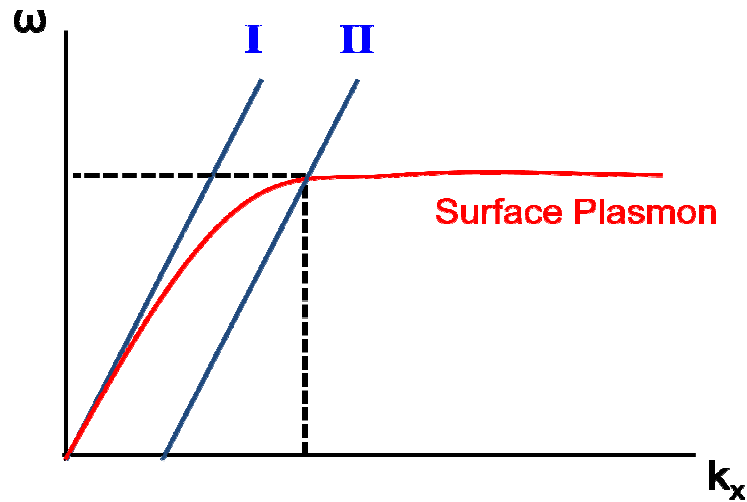


圖 2-10 光柵耦合之色散曲線

### 2-3 EIS 基本原理與特性

電化學阻抗分析(Electrochemical Impedance Spectroscopy, EIS)為電化學量測法與電組抗分析法的一種結合，近幾十年來有著非常迅速的發展，其應用的範圍包括電極過程動力學、生物成模特性，材料科學與傳統電化學量測等，已經超出以往的電化學領域[34]。

電化學阻抗分析法與一般傳統電化學量測法不同的是，在電壓源(Source)的部分不採用直流電源，轉而使用小幅度對稱的交流電源對電極進行極化，進行掃頻式的阻抗掃描，一般而言所使用的交流電振幅介於 1mV 至數十 mV 之間，而掃描的頻率約在 $10^5 \sim 10^{-3}$ Hz的範圍內。以此掃描法可得到不同頻率時阻抗變化，透過後端電腦資料處理後，可得到如 Nyquist 圖、Bode 圖與 Randles 圖等各種 EIS 圖譜，之後解析這些圖譜來分析反應過程中電極上方分子吸附的情形。另外也可透過等效電路的建立與分析來得到量化的反應，能比傳統的電化學法得到更多的界面變化訊息，且因為在工作電極上交互進行陽極過程與陰極過程，不易有沉積等現象發生，較能維持系統的穩定性。

電化學組抗分析法依據不同的用途與樣本有著許多不同的等效電路，而最常被使用等效電路為所謂的 Randles 等效電路(圖 2-11)。此電路中包含四個元件，其中  $R_s$  為溶液電阻， $R_{ct}$  為離子轉移電阻， $C_{dl}$  為電雙層電容， $Z_w$  則為溶液與電極間濃度差所形成的阻抗，由  $R_w$  與  $C_w$  串聯而成，也被稱為 Warburg 阻抗或擴散阻抗。

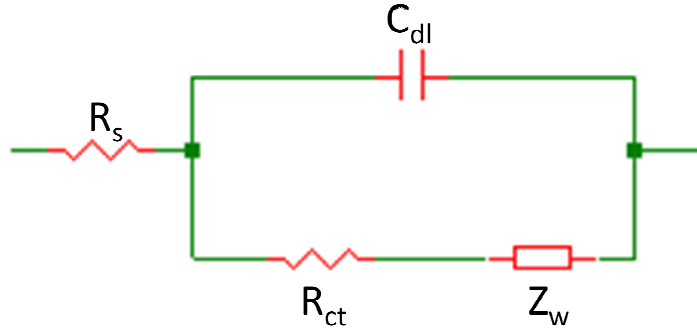


圖 2-11 Randles 等效電路圖

Randles 等效電路之阻抗分析如下：

$$\begin{aligned}
 Z &= R_s + \frac{1}{j\omega C_{dl} + \frac{1}{R_{ct} + R_w - j\frac{1}{\omega C_w}}} \\
 &= R_s + \frac{R_{ct} + R_w - j\frac{1}{\omega C_w}}{1 + \frac{C_w}{C_{dl}} + j\omega C_{dl} R_w + j\omega C_{dl} R_{ct}} \\
 &= R_s + \frac{(R_{ct} + R_w - j\frac{1}{\omega C_w}) [1 + \frac{C_{dl}}{C_w} - j(\omega C_{dl} R_{ct} + \omega C_{dl} R_w)]}{(1 + \frac{C_{dl}}{C_w})^2 + (\omega C_{dl} R_{ct} + \omega C_{dl} R_w)^2} \\
 &= R_s + \frac{R_{ct} + R_w - j[\frac{1}{\omega C_w} (1 + \frac{C_{dl}}{C_w}) + \omega C_{dl} (R_{ct} + R_w)^2]}{(1 + \frac{C_{dl}}{C_w})^2 + (\omega C_{dl} R_{ct} + \omega C_{dl} R_w)^2} \quad \text{Eq. 2-20}
 \end{aligned}$$

其中實部為：

$$Z' = R_s + \frac{R_{ct} + R_w}{(1 + \frac{C_{dl}}{C_w})^2 + (\omega C_{dl} R_{ct} + \omega C_{dl} R_w)^2} \quad \text{Eq. 2-21}$$

而虛部則為：

$$Z'' = \frac{\frac{1}{\omega C_w} (1 + \frac{C_{dl}}{C_w}) + \omega C_{dl} (R_{ct} + R_w)^2}{(1 + \frac{C_{dl}}{C_w})^2 + (\omega C_{dl} R_{ct} + \omega C_{dl} R_w)^2} \quad \text{Eq. 2-22}$$

其中擴散阻抗 $Z_w$ 中的分量 $R_w$ 與 $C_w$ 可以擴散方程式加以推導，當給予電化學腔體施加一交流電流 $I = I_0 \sin \omega t$ 時，以下邊界條件成立：

$$I_0 \sin \omega t = nFD_0 \left( \frac{\partial c}{\partial x} \right)_{x=0} \quad \text{Eq. 2-23}$$

其中 $D_0$ 為待測物擴散係數， $c$ 為待測物之濃度， $\frac{\partial c}{\partial x}$ 為電極表面待測物的濃度梯度。當時間為 $t$ 時，與電極表面距離無限遠之待測物濃度等於初始濃度，可視作另一個邊界條件，其表示式為：

$$c(\infty, t) = c_0 \quad \text{Eq. 2-24}$$

而當時間為 $0$ 時，待測物在所有位置的濃度皆為初始濃度：

$$c(x, 0) = c_0 \quad \text{Eq. 2-25}$$

將上述三個條件帶入擴散方程式 $\frac{\partial c}{\partial x} = D_0 \left( \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \right)$ 後，可求得其在電極表面處( $x = 0$ )之濃度變化為：

$$\Delta c_e = \frac{I_0}{nF\sqrt{\omega D_0}} \sin\left(\omega t - \frac{\pi}{4}\right) \quad \text{Eq. 2-26}$$

其中 $n$ 為電子轉移數， $F$ 為法拉第常數， $D_0$ 為待測物的擴散係數，從上式中可看出電極表面濃度變化的相位落後於電流相位 $\frac{\pi}{4}$ 。

根據能斯特公式(Nernst equation)，當濃度變化幅度很小時( $\Delta c_e \ll c_0$ )的電極電位變化可表示成：

$$\Delta \phi = \frac{RT}{nF} \frac{\Delta c_e}{c_0} \quad \text{Eq. 2-27}$$

其中 $R$ 為理想氣體常數， $T$ 為溫度，將Eq. 2-26帶入後可得：

$$\Delta \phi = \Delta \phi_0 \sin\left(\omega t - \frac{\pi}{4}\right) \quad \text{Eq. 2-28}$$

可發現電極電位之相位變化與其表面粒子濃度變化的相位變化相同，落後電流相位 $\frac{\pi}{4}$ 。

以 $\Delta \phi_0$ 為電極電位的振幅， $I_0$ 為電流振幅，可得：



$$|Z_w| = \frac{\Delta\phi_0}{I_0} = \frac{RT}{n^2 F^2 c_0 \sqrt{\omega D_0}} \quad \text{Eq. 2-29}$$

擴散阻抗 $Z_w$ 是以 $R_w$ 與 $C_w$ 串聯而成，也就是 $Z_w = R_w - j \frac{1}{\omega C_w}$ ，當電位之相位落後於

電流 $\frac{\pi}{4}$ 時，意味著 $R_w = \frac{1}{\omega C_w}$ ，因此 $|Z_w|$ 也可以用下面的式子來表示：

$$|Z_w| = \sqrt{R_w^2 + \left(\frac{1}{\omega C_w}\right)^2} = \sqrt{R_w^2 + R_w^2} = \sqrt{2}R_w \quad \text{Eq. 2-30}$$

將 Eq. 2-29 與 Eq. 2-30 聯立後可求得：

$$R_w = \frac{RT}{\sqrt{2}n^2 F^2 c_0 \sqrt{\omega D_0}} = \frac{\sigma}{\sqrt{\omega}} \quad \text{Eq. 2-31}$$

$$C_w = \frac{\sqrt{2}n^2 F^2 c_0 \sqrt{D_0}}{RT\sqrt{\omega}} = \frac{1}{\sigma\sqrt{\omega}} \quad \text{Eq. 2-32}$$

其中

$$\sigma = \frac{RT}{\sqrt{2}n^2 F^2 c_0 \sqrt{D_0}} \quad \text{Eq. 2-33}$$

將 Eq. 2-31 與 Eq. 2-32 式帶入之前所推導的 Eq. 2-21 以及 Eq. 2-22，可將這兩個式子改寫為：

$$Z' = R_s + \frac{R_{ct} + \frac{\sigma}{\sqrt{\omega}}}{(1 + \omega\sqrt{\sigma}C_{dl})^2 + \omega^2 C_{dl}^2 \left(\frac{\sigma}{\sqrt{\omega}} + R_{ct}\right)^2} \quad \text{Eq. 2-34}$$

$$Z'' = \frac{\frac{\sigma}{\sqrt{\omega}}(1 + \omega\sqrt{\sigma}C_{dl})^2 + \omega C_{dl} \left(\frac{\sigma}{\sqrt{\omega}} + R_{ct}\right)^2}{(1 + \omega\sqrt{\sigma}C_{dl})^2 + \omega^2 C_{dl}^2 \left(\frac{\sigma}{\sqrt{\omega}} + R_{ct}\right)^2} \quad \text{Eq. 2-35}$$

透過上述的 Randles 等效電路阻抗的分析與推導，可以更加了解阻抗譜圖中的訊息，另外對一些後端的分析，例如高低頻區域的分析時也有所助益。

## 第三章 量測方法介紹及選擇

### 3-1 QCM 量測方式選擇

#### 3-1-1 脈衝激發

脈衝激發(Impulse excitation)是將一脈波送入石英中，藉由後端的傅立葉轉換函數來量測輸入脈波經過石英所產生的變化，其優點是概念簡單且不需經過電路驅動，但因為在黏滯性較高的情況下脈波傳遞會有延遲的現象，在以液相為主生物量測上會有困難，另外尚有理想脈波不易產生，後端尚需額外量測儀器輔助等問題。

#### 3-1-2 震盪電路

利用震盪電路可石英產生共振，再藉由後端儀器設備來取得其共振頻率的漂移量，可即時反應出待測物的資訊。其優點是體積小，成本低，反應快速，是現今相當常見的量測方式。但在液相量測時容易有能量上的損耗以及回授相位產生的變化，因此需要特殊的電路設計。此外震盪電路的量測方式僅能提供頻率變化值，如要增加額外參數的量測會使得整體電路設計過於困難，此種限制也使得此方式在生物量測上有其劣勢。

#### 3-1-3 阻抗分析

阻抗分析(Impedance analysis)其量測原理乃是利用阻抗對頻率的關係配合石英震盪之等效電路，藉以獲得待測物的資訊。最普遍的方法是使用阻抗分析儀進行分析，一般的阻抗分析儀內部皆有精準的電路可經由掃頻後得到的阻抗對頻率訊號來分析共振頻率點以及等效電路的參數，藉此得到其他例如黏度、消散係數等資訊。但阻抗分析儀的價格往往要數十萬甚至百萬，因此此量測法通常是研究

單位在使用，無法普及應用。

### 3-1-4 QCM 量測方式選擇

以上幾種是常見的 QCM 量測方法，其優缺點整理在表 3-1 中，由於脈衝激發的準確性較低，現已較少被使用；而在另外兩種方法中，震盪電路有著體積小、反應快等優勢，而阻抗分析則有穩定性高及可分析等效電路之特點，可說是各有其優缺點。但震盪電路量測法之優點較適合應用於手持式裝置之中，而阻抗分析則適合用在實驗研究，因為其多參數的優點能有效的幫助我們了解待測物特性，而其掃頻讀值一次的時間為 5~6 秒，雖然比震盪電路量測法慢了一些，但此速率已經足夠用以量測生物反應，因此在本研究中選擇使用阻抗分析來做為 QCM 之量測方法。

表 3-1 QCM 量測方式比較

量測方式	量測參數	優點	缺點
脈衝激發	轉換函數	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 架構簡單</li> <li>2. 可使石英直接震盪於機械共振頻</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 理想波形不易產生</li> <li>2. 準確性低</li> </ol>
震盪電路	共振頻率	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 體積小</li> <li>2. 價格便宜</li> <li>3. 反應速度快</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 系統穩定性低</li> <li>2. 液相相位易飄移</li> </ol>
阻抗分析	共振頻率 等效電路	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 多參數量測</li> <li>2. 系統穩定度高</li> <li>3. 準確性高</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 價格高</li> <li>2. 體積大</li> <li>3. 量測速度稍慢</li> </ol>

## 3-2 SPR 調制方式選擇

### 3-2-1 角度調制

此調制方式為在固定入射光波長的情況下，調整入射角度，比較反射光強的不同，因表面電漿共振發生時，部分能量將會耦合至表面的金屬薄膜中，此時之反射光強將會有大幅度的減少，因此將入射角調整到反射光強之最小值，此角度即為俗稱的 SPR 角。由於 SPR 角的變化與折射率的變化呈現正比的關係，因此可經由 SPR 角的變化推算折射率的變化

### 3-2-2 波長調制

此種方式是在入射光的入射角度固定，調整入射光的波長來比較反射光強的不同，與上述的角度調制剛好相反。當入射光的波長與耦合波長相同時，表面電漿波被激發，此時反射光強值會最小。此耦合波長一樣會與待測層之折射率呈線性正比關係，因此可由耦合波長的不同推算出不同的折射率。

### 3-2-3 相位調制

在金屬薄膜層發生表面電漿共振時，除了實部的反射光強變化之外，反射光的虛部也會產生變化，因此也可藉由麥克森(Michelson)或是馬赫增德(Machzender)干涉儀量測反射光相位的資訊後經由特定公式的轉換得到折射率值。其線性區段之斜率相當大，代表其有著相當高的靈敏度，但是與此同時，線性的區段卻相當的狹窄，意味著動態量測範圍較小。因此這種量測法適合用在待測物折射率變化範圍不大的情況。

### 3-2-4 光強調制

此調制法是一種相當直接的量測法，在固定入射角度及入射光波長的情況下，量測反射光的光強，推算待測層之折射率變化，雖然其線性區間的斜率略小於相位調制，但因為線性區間的大小比相位調制來的大，因此更適合做多樣本之動態量測。圖 3-1 是將入射光角度固定在水的 SPR 角時，不同待測物折射率對光強反射率圖。

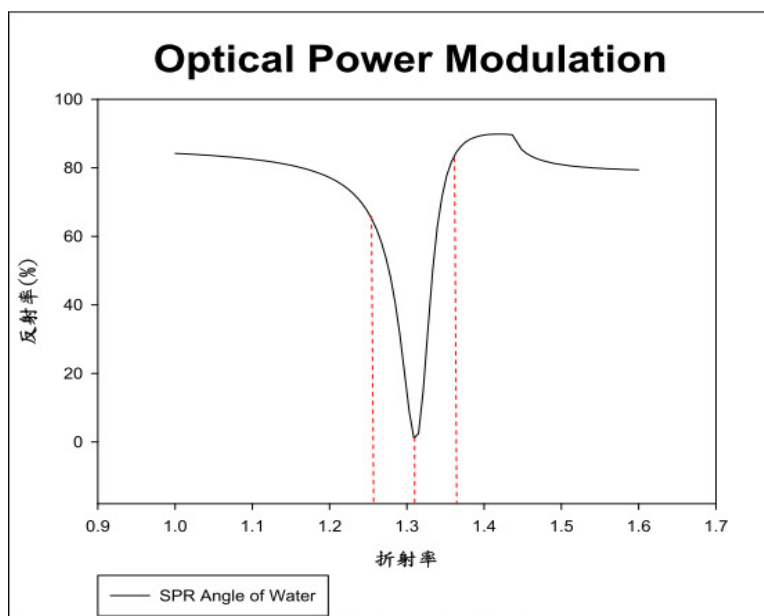


圖 3-1 光強調制之待測折射率對光強反射率圖[22]

### 3-2-5 SPR 調制方式選擇

上述幾種方式各有其優缺點，比起另外兩種方法，角度調制與波長調制的動態量測範圍雖然較不受限制，但角度調制與波長調制的方式是多點量測，整體的量測將會變得較花時間，無法做為即時監控系統，且不論是波長調制所需的光譜儀和角度調制所需的步進馬達系統皆會增加系統架構之複雜度，因此在本實驗中不考慮這兩種方法。光強調制與相位調制皆屬於單點量測，整體架構較為簡單，光強調制雖然訊雜比較低，但其靈敏度不遜於相位調制，而訊雜比可以透過對量

測環境參數的控制來降低，加上光強調制有動態量測範圍較大的優點，較適合應用在折射率多變的待測物樣本上，因此選擇光強調制做為本研究之 SPR 量測方法。

### 3-3 EIS 量測與分析方法選擇

#### 3-3-1 EIS 量測方法選擇

電化學之量測架構分為二極式(圖 3-2(a))與三極式(圖 3-2(b))兩種，二極式電解槽的兩個電極為工作電極(Working Electrode, WE)與輔助電極(Counter Electrode, CE)，外加電壓直接加至工作電極與輔助電極上，可使兩電極間產生外加電場，而利用外加電場推動電解槽中的陰離子與陽離子移動，使得整體系統產生一個迴路，藉此可測量電解液的阻抗與導電率。

與二極式系統不同的是，三極式系統多出了一個參考電極(Reference Electrode, RE)，以往二極式量測架構僅能得知兩電極間的電位差，無法得知與控制各電極的電位，但藉由參考電極的幫助，以固定參考電極與工作電極電位差的方式，使得各電極的電位可被清楚的定義。

雖然三極式量測架構比二極式量測架構來的精準且可以利用循環伏安法來量測電流-電位曲線(I-V curve)，但為配合阻抗分析儀的特性，因此本實驗採用二極式的量測架構。

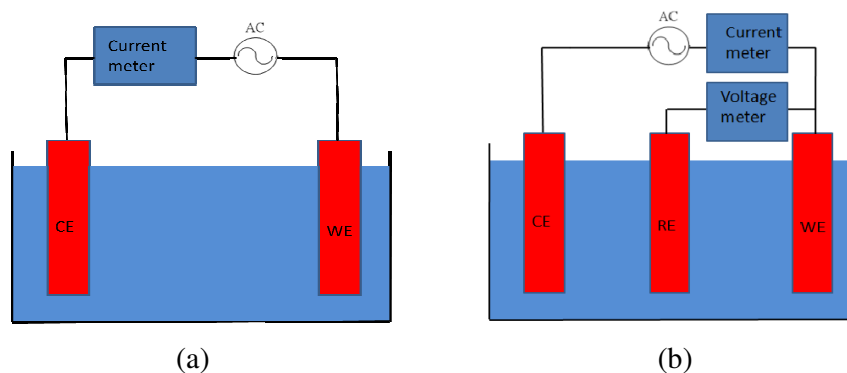
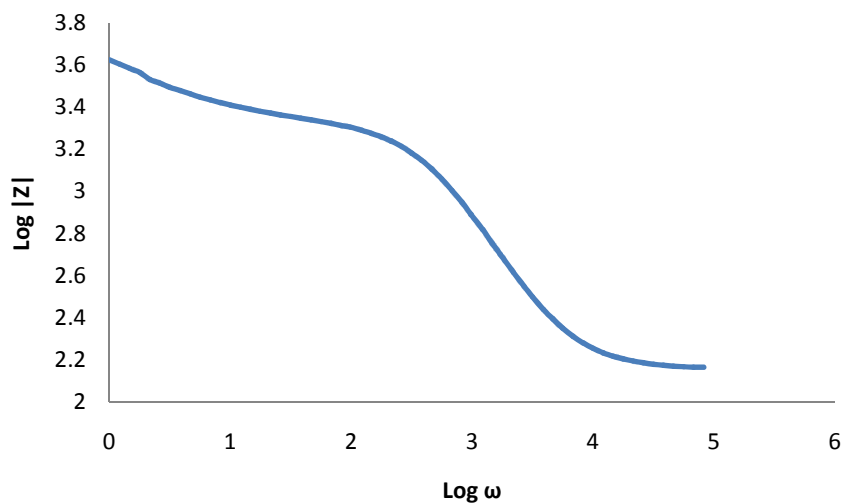
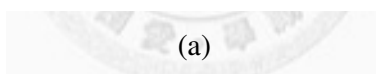
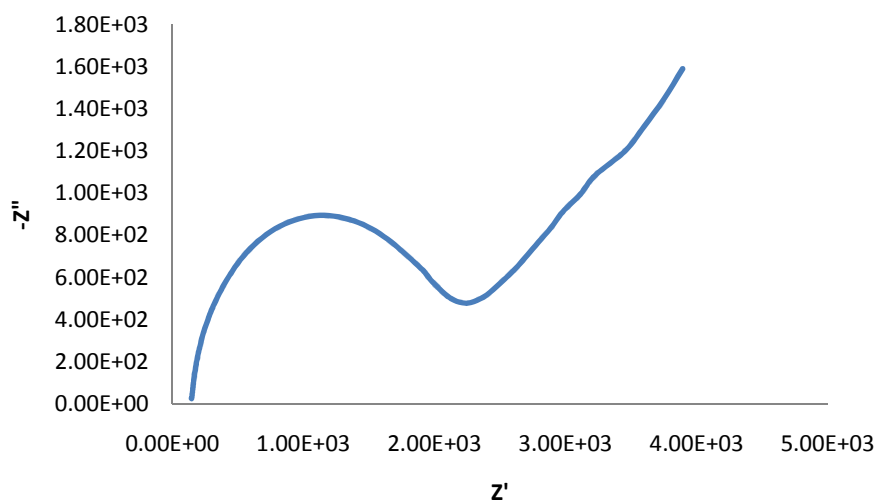


圖 3-2 電化學量測架構圖 (a)二極式量測架構 (b)三極式量測架構

### 3-3-2 EIS 分析方法選擇

最常使用的電化學阻抗譜分析法有奈式圖(Nyquist plot)與波德圖(Bode plot)兩種(圖 3-3)，奈式圖為以阻抗之實部為橫軸，虛部為縱軸來做圖，所呈現的訊號為阻抗及容抗的響應，也稱作 Sluyters 圖；而波德圖則是以頻率的對數值為橫軸，阻抗的對數值為縱軸來做圖，可量測不同頻率下阻抗的變化量，更能得知頻率與阻抗變化的相關性，因此本實驗中是以波德圖來作為分析方法。



(b)

圖 3-3 電化學阻抗分析圖譜 (a)奈式圖 (b)波德圖

## 第四章 QCM&SPR&EIS 機構整合設計

### 4-1 整體量測架構之設計

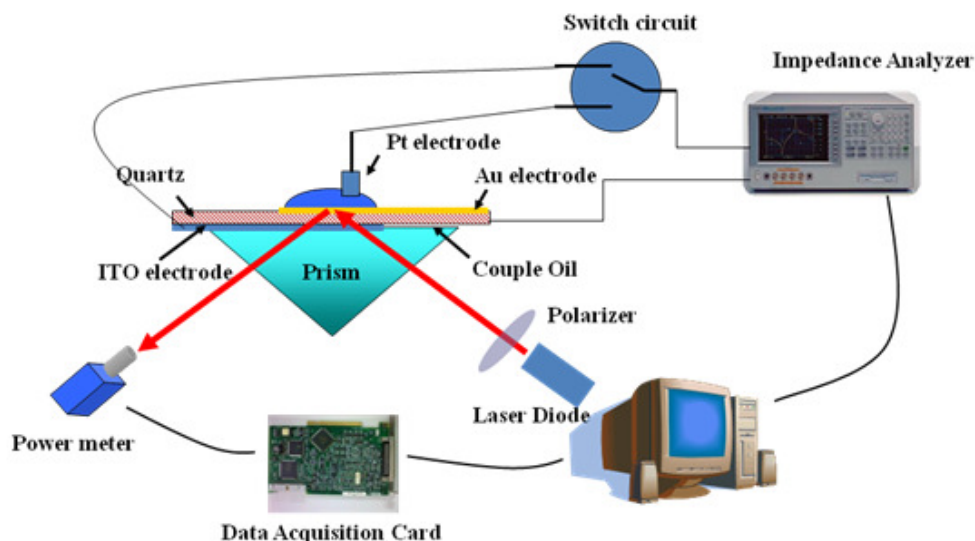


圖 4-1 實驗系統架構示意圖

QCM、SPR 與 EIS 分別為聲學、光學及電學三種不同的生物感測器，由於感測原理的不同，一般來說是以獨立分開量測為主；因為整合不同的系統雖能得到更多的資訊，可以更完整的觀測分子鍵結的情形，但往往也使得整個架構變的複雜使得訊號量測不易，有時甚至必須犧牲一些系統特性或精度。因此本實驗希望使用最直接的方式整合這三個系統並能穩定量測三者的訊號，以增加生物檢測的完整性及便利性。

圖 4-1 為系統架構示意圖，整個架構大致上可分為兩個部分。上半部為 QCM 及 EIS 的訊號量測架構，以切換電路(圖 4-2)進行白金電極及 ITO 電極間的切換，當切換至白金電極時，電路架構與 EIS 量測架構相同，而切換至 ITO 電極時，電路架構則與 QCM 的量測架構一致。在 QCM 與 EIS 量測上所使用的阻抗分析儀 (Impedance Analyzer) 型號為 4294A，為美商安捷倫(Agilent)公司所製造，以平衡電橋法為量測原理，頻寬為 40 至 11MHz。實際量測時，配合 QCM 與 EIS 不同的需



求，可掃描不同的頻寬，而所有量測的數據皆可利用 4294A 後端的 GPIB 介面連接至電腦進行分析。

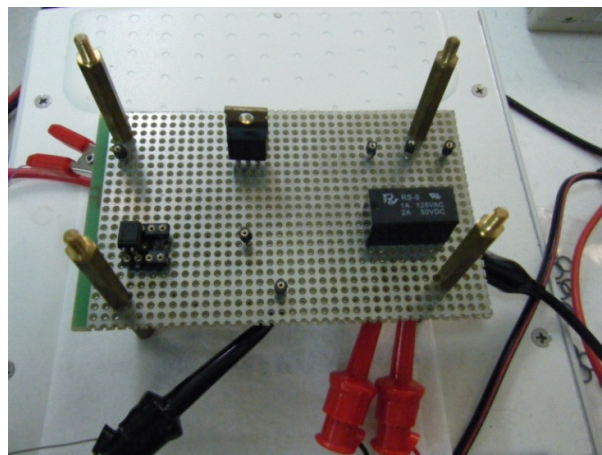


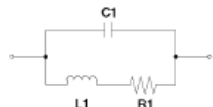

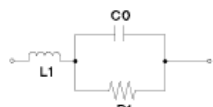
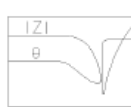
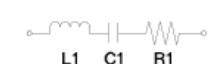
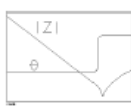


圖 4-2 切換電路實體圖

此外，為了配合不同量測的需求，4294A 內部提供五種等效電路來模擬不同樣本(圖 4-3)，而石英震盪器的 BVD 等效電路也是其中之一，因此適當的選擇有助於觀察 QCM 各項等效電路值的變化，方便進行品質因素及消散係數的量測；但 EIS 的等效電路 Rendles Circuit 並沒有在 4294A 所提供的五種等效電路中，因此若要觀察 EIS 等效電路值的變化需額外使用特殊的軟體來進行擬合。

	Equivalent circuit model	Typical frequency characteristics	Sample (example)
A			Inductor with greater core loss
B			Inductor Resistor
C			Resistor with greater value
D			Capacitor

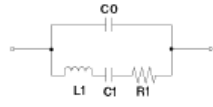
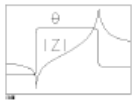
	Equivalent circuit model	Typical frequency characteristics	Sample (example)
E			Resonator

圖 4-3 阻抗分析儀 4294A 內部等校電路模型[35]

下半部屬於 SPR 訊號量測的部分，本實驗以 Krestchman 式稜鏡耦合來激發 SPR 訊號。圖 4-4 為光強調制的 SPR 光機架構示意圖，光源部分是採用波長為 633nm 的二極體雷射(Laser Diode)，其製造公司為美國 Edmund 公司[36]。以電源供應器(power supply)提供 5V 的直流輸入電壓，最大輸出功率為 3mW，室溫操作下誤差在 $\pm 4\%$ 以內，雖然其輸出光的同調性相對於氬氖雷射而言較不穩定，但由於體積小，可裝設於旋轉平台(Rotation stage)上，對於 SPR 角度的調校較為方便，因此較符合本次實驗的光機架構設計。

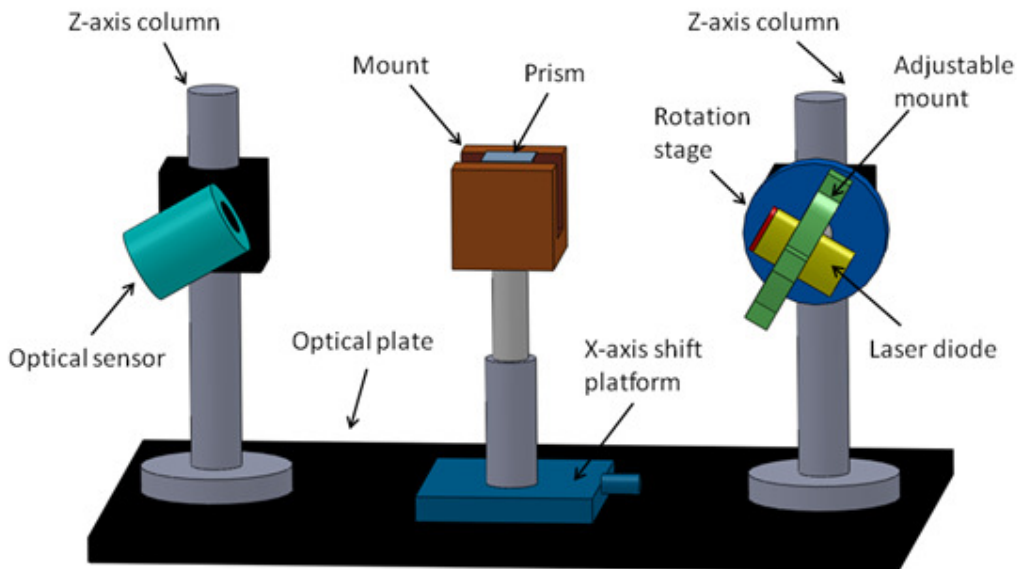


圖 4-4 SPR 光機架構

由於僅有 TM 偏振態的光能激發表面電漿共振，而雷射光的偏振方向卻是雜

亂無序的，因此需要使用偏振片(Polarizer)將非 TM 方向的光波濾除，本實驗所用的偏振片為一般液晶顯示器(Liquid Crystal Display)所使用的偏振片，以聚乙烯醇薄膜拉長後浸入碘溶液製成，工作波段為 470nm 至 680nm，消光比小於 0.01，雖然比碘質偏振片的 0.001 消光比略差，但價格便宜且容易取得，現為工業上大量生產的材料(圖 4-5)。

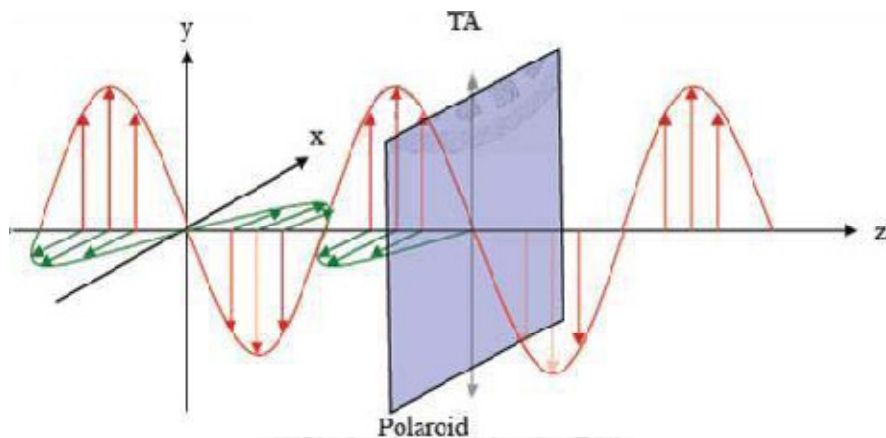


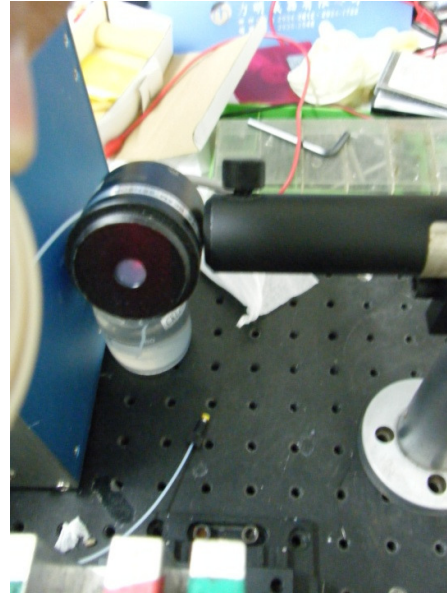
圖 4-5 偏振片示意圖[37]

SPR 後端的收光部分如圖 4-6，由光感測器(Optical Sensor)收光至光功率計(Optical Power Meter)來讀取，再透過光功率計的類比輸出功能，以訊號擷取卡(Data Acquisition Card)來讀取其類比輸出電壓值。

光功率計採用 Advantest 公司的產品，型號為 TQ8210，其光強值的讀取精度可至小數點以下第四位，誤差值在 $\pm 2\%$ 以內，可類比輸出 0 至 2V 的直流電壓訊號。光感測器為光功率計的感光配件，本研究所選用的型號為 Q82014A，其偵測波長範圍為 400nm 至 1100nm，感測光強的範圍則在 1nW 至 50mW 之間[38]。在訊號擷取卡(Data Acquisition Card)方面則採用美商國家儀器公司(National Instruments)的產品，型號為 USB-6281，具有 16 個類比輸入通道與兩個類比輸出通道，單通道取樣率可達 625kS/s，可量測之電壓範圍最大可至 $\pm 10V$ ，在此範圍下之精確度為 980 $\mu V$ [39]。



(a)



(b)

圖 4-6 (a)光功率計 (b)光感測器

整體系統量測的流程如圖 4-7，上半部為 QCM&EIS 量測流程，以訊號擷取卡的類比訊號輸出來控制開關電路的切換，當切換至 QCM 端時，阻抗分析儀掃描 QCM 量測所需的頻率範圍，以本實驗來說在 QCM 量測上掃描的範圍在一般情況下為 9.975MHz 至 10.025MHz，而後將掃描所得的訊號以 GPIB 線傳輸至電腦進行共振頻率與消散係數的分析；而當開關切換至 EIS 端時，則掃描 40Hz 至 100kHz 的頻率區段，掃描完畢後也以 GPIB 線將訊號傳送至電腦進行阻抗譜的紀錄與分析。下半部則為 SPR 的量測部分，以電源供應器驅動二極體雷射入射至稜鏡，經由稜鏡耦合後入射至待測晶片激發表面電漿共振，而後以光感測器接收反射光，之後利用光功率計的類比輸出功能以訊號擷取卡讀取類比訊號傳輸至電腦進行光強變化的分析。

## QCM&EIS



## SPR

圖 4-7 系統量測流程圖

### 4-2 流動注射分析系統之設計

一般生物實驗常用之系統分為滴定式系統(Titration System)與流動注射分析系統(Flow Injection Analyze System)兩種。滴定式系統雖然有快速、方便等優點，但其不穩定性較高，因為滴定式系統對於外界的擾動較為敏感且不易避免人為操作上所造成的誤差。流動注射分析系統，也被稱為 FIA 系統，其架構雖然往往會比滴定系統來的複雜，但若要進行較為精密之生物實驗還是需要使用流動注射分析系統。在本文中之生物實驗因其精確度需要達到  $\mu\text{g/ml}$  的等級，因此也選擇建立流動注射分析系統來進行實驗。

流動注射分析系統架構示意圖如圖 4-8，以針筒式幫浦(Syringe Pump)推送溶液，連接至手動進樣器(Manual Sample Injector)進行樣本及緩衝溶液(Buffer)的切換，而後連接至流道腔體，末端則為廢液處理瓶。

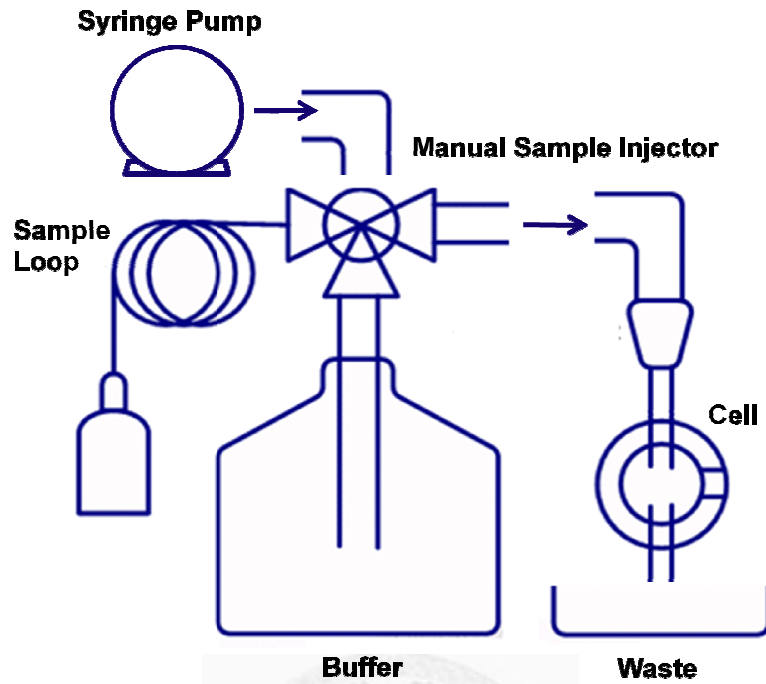
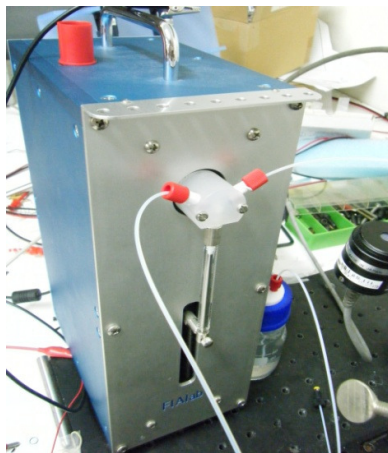
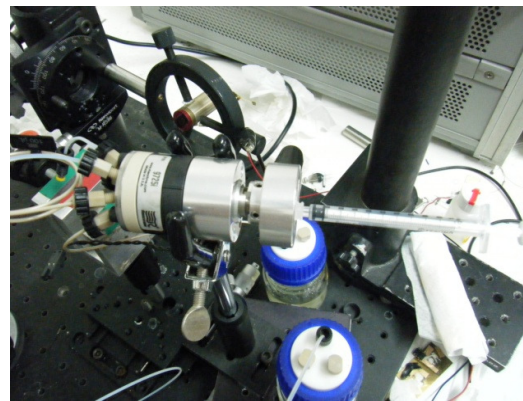


圖 4-8 流動注射系統架構示意圖

針筒式幫浦(圖 4-9(a))採用 FlatLab 的產品，以自行撰寫之 LabVIEW 介面程式控制幫浦運作，所使用的針筒大小為 500 $\mu$ l，最小流速為 25 $\mu$ l/min。手動進樣器(圖 4-9(b))則採用 Rheodyne 公司的產品，型號為 9725i，可用 Load/Inject 兩種型態來注入/排出樣本，在這裡所採用的樣本迴路(Sample loop)的大小為 100 $\mu$ l[40]。



(a)



(b)

圖 4-9 (a)針筒式幫浦 (b)手動進樣器

在腔體結構方面，為了符合本系統的特殊要求，此系統之腔體設計需滿足以下幾點：

- (1) 符合生物在液相量測的使用
- (2) 腔體結構需有一進一出的設計
- (3) 晶片僅單面能接觸液體，因此需隔開上下電極
- (4) 兩面電極要能導出以連接振盪電路
- (5) 能維持高品質因數以確保機械振盪的強度
- (6) 為兼具電化學反應，需得另外加入電極
- (7) 為兼具表面電漿共振反應，需具有可置入稜鏡之空間

在滿足上述需求的情況下，所設計出之腔體如圖 4-10(a)，分為上蓋、轉接板、下蓋三個部分，上蓋為溶液注入口及排出口，下蓋設置可置放稜鏡與光入射之空間，而晶片則放置在轉接板上，上下以相同大小之 O 型環夾住，再將這三個部件以螺絲鎖緊，由於上下 O 型環對稱的關係，此方法可最大限度降低對 QCM 震盪的品質因數的影響，圖 4-10(b)為腔體實體圖。

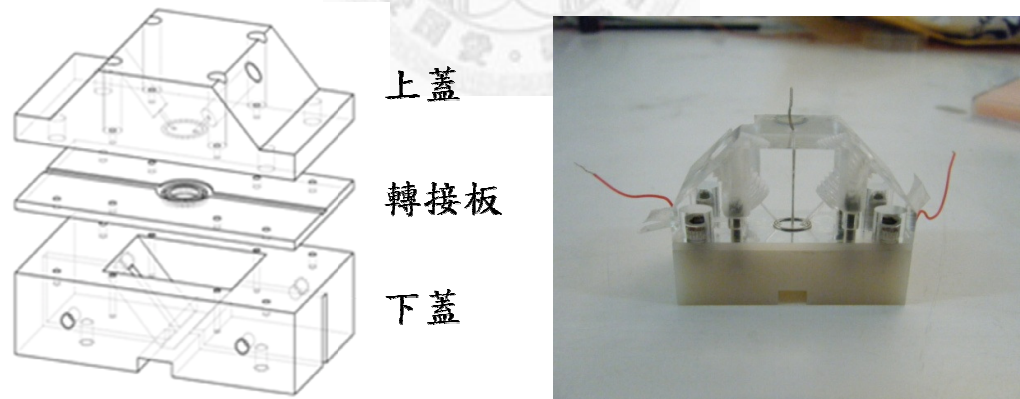


圖 4-10 (a)腔體結構示意圖 (b)腔體實體圖

## 第五章 實驗結果分析與討論

### 5-1 流動注射分析系統之重複性測試

表 5-1 流道重複性測試

	1 <sup>st</sup> round	2 <sup>nd</sup> round	3 <sup>rd</sup> round
$\Delta f(f_{H_2O} - f_{PBS})$ (Hz)	504	502	504
$\Delta D(D_{H_2O} - D_{PBS})$	$1.13 \times 10^{-4}$	$1.14 \times 10^{-4}$	$1.13 \times 10^{-4}$

在進行系統整合及樣本量測前首先需確定所架設之流動注射分析系統具有重複性，否則無法確保實驗的準確度。因 QCM 的量測可得知整個腔體內的表面變化，對於是否有微小的氣泡進入流道腔體也相當敏感，因此選擇以 QCM 來進行流動分析系統重複性的測試，測試樣本則選用超純水以及 10 倍稀釋的磷酸鹽緩衝溶液 (PBS)，從表 5-1 的測試結果可以看出不論是共振頻率或是消散係數均顯示出此系統具有相當良好的重複性。

### 5-2 系統整合特性測試

#### 5-2-1 SPR&EIS 系統整合特性測試

本研究之宗旨為開發整合 QCM、SPR 與 EIS 系統之量測平台，由於此前並沒有類似的整合此三系統之研究可供參考，因此在系統整合的量測部分先以自行架設之平台進行 SPR 與 EIS、QCM 與 EIS 等雙系統整合之量測，先確定以自行架設之平台整合這三個系統的可行性後，再進行整合 QCM、SPR 與 EIS 三系統之量測。

SPR 與 EIS 的整合特性測試以鍍有 50nm 金膜之 SF2 玻璃作為量測晶片(圖 5-1)，分析樣本則採用 10 倍稀釋的磷酸鹽緩衝溶液以及 95% 的酒精溶液 (Alcohol)，從表 5-2 及圖 5-2 中可發現無論是以磷酸鹽緩衝液或酒精溶液為樣本進行測試，合併量



測後 SPR 與 EIS 的訊號幾乎都與合併前相同，推測是因為表面電漿波的頻率與電化學阻抗分析之電流頻率差距超過五個數量級(order)，在此差距下，兩訊號間不易發生耦合的關係，因此合併量測並不會影響彼此原有的系統特性。

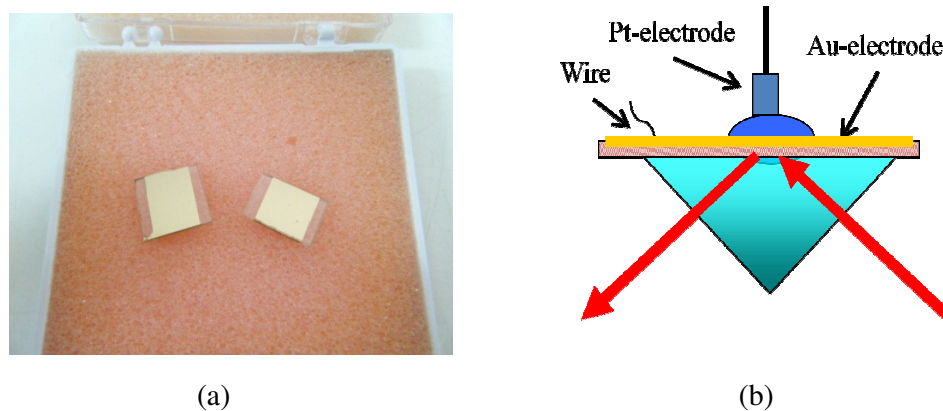
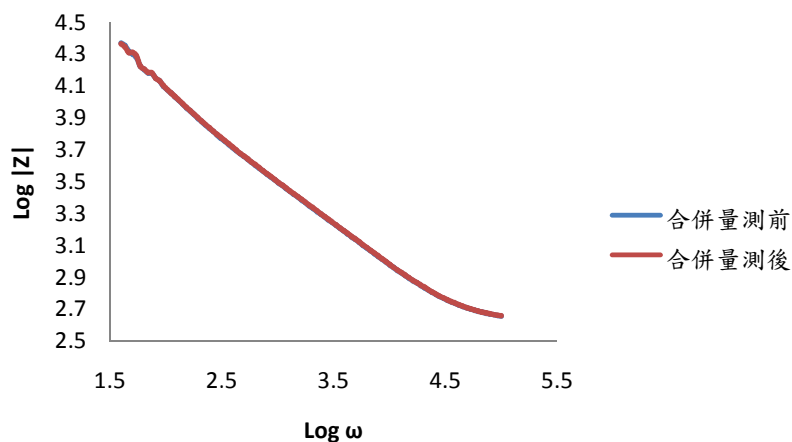
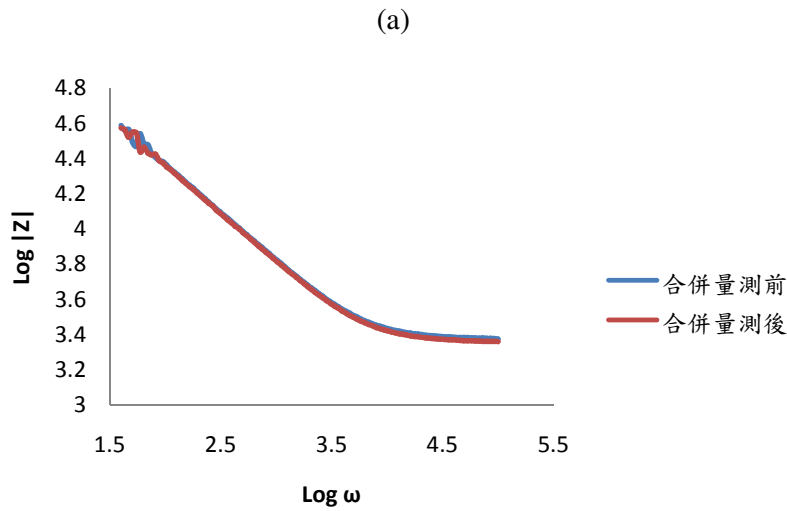


圖 5-1 (a)SPR&EIS 整合系統測試晶片 (b)量測示意圖

表 5-2 SPR 系統與 EIS 合併前後之比較

反射光強變化			
	空氣	磷酸鹽緩衝液	酒精溶液
合併量測前( $\mu\text{W}$ )	1081.92 $\pm$ 2.67	133.686 $\pm$ 0.27	680.303 $\pm$ 0.73
合併量測後( $\mu\text{W}$ )	1076.18 $\pm$ 1.44	131.635 $\pm$ 0.30	679.348 $\pm$ 0.24



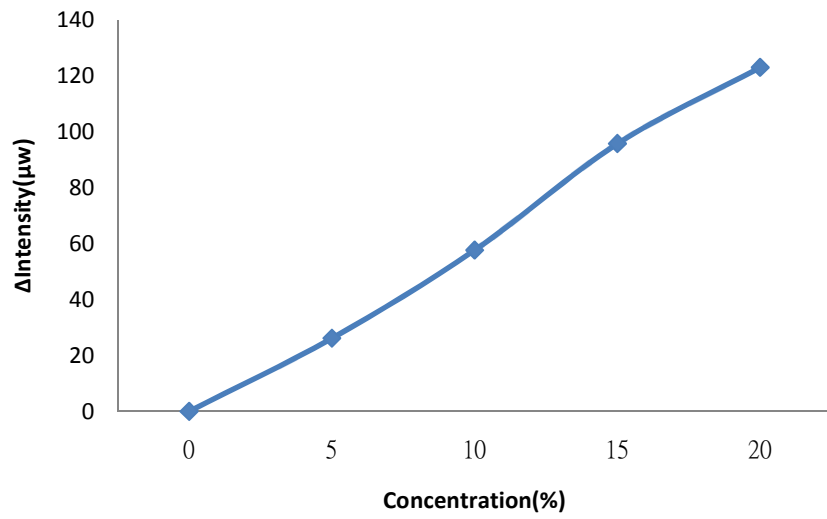


(b)

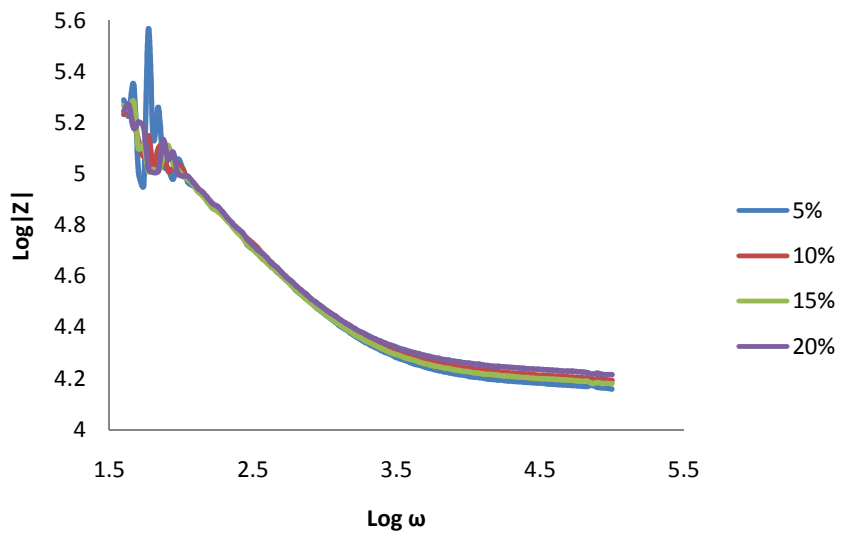
圖 5-2 EIS 阻抗譜在與 SPR 系統合併量測前後之比較 (a)磷酸鹽緩衝溶液 (b)酒精溶液

確立合併量測前後不影響原有的特性後，以酒精溶液與赤血鹽( $K_3[Fe(CN)_6]$ )溶液為樣本進行定量量測分析，確定整合 SPR 與 EIS 系統除了不會影響原有的特性外還可以做穩定連續的量測。從圖 5-3(a)可看出 SPR 的訊號隨著酒精的濃度不同有著相當明顯且線性的變化，因為酒精在低濃度時其折射率與濃度呈正比線性關係；但在 EIS 方面由於酒精並非電解質溶液也不會有分子吸附於電極表面的現象發生，其阻抗變化來自於溶液中自身原有的游離離子濃度，因此其變化與濃度並無明顯的相依性(圖 5-3(b))。

而在以赤血鹽作為待測樣本時，因為其折射率隨濃度的變化相當小，因此 SPR 的光強變化相當小(圖 5-4 (a))，有時甚至不到一個  $\mu w$ ，如果量測系統沒有十分精準的話，無法準確的量測出線性曲線，以本實驗的架構來說，由於不是架設在光學桌上，受外界震動等影響相對較大，因此量測結果的線性程度也並不完美；但在 EIS 的部分，因為赤血鹽溶液是一種電解液，在適當的外加電壓下赤血鹽會發生氧化還原反應，因此溶液的阻抗會隨著赤血鹽濃度的增加而下降。

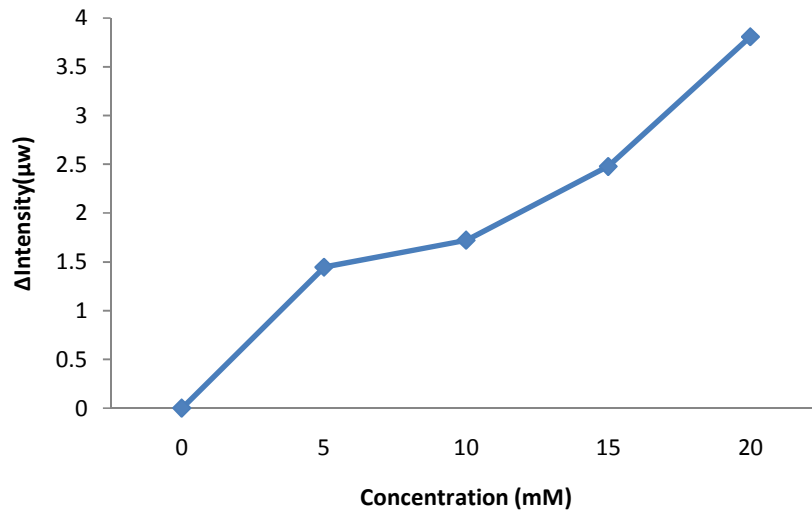


(a)

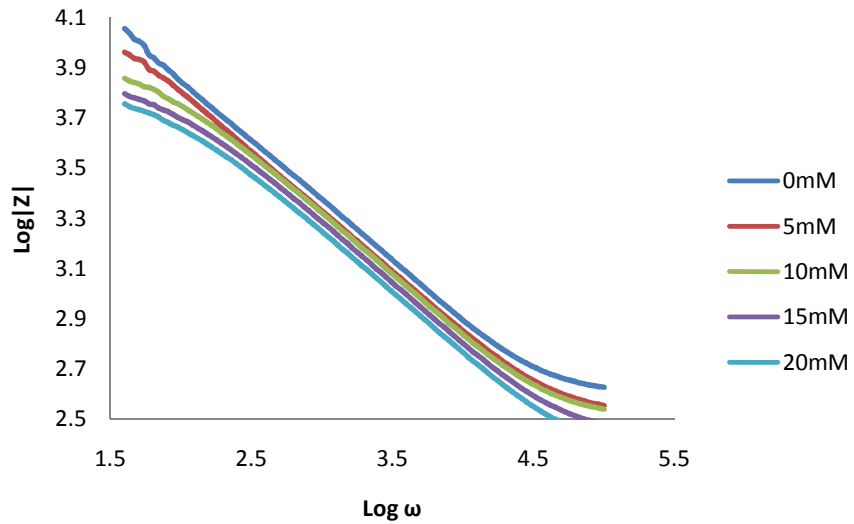


(b)

圖 5-3 SPR 與 EIS 對酒精濃度之定量量測圖 (a)SPR 量測訊號 (b)EIS 量測訊號



(a)



(b)

圖 5-4 SPR 與 EIS 對赤血鹽濃度之定量量測圖 (a)SPR 量測訊號 (b)EIS 量測訊號

### 5-2-2 QCM&EIS 系統整合特性測試

在 QCM 與 EIS 之整合量測方面，以雙面鍍金之石英晶片(圖 5-5(a))在不激發表面電漿共振的情況下進行量測，測試結果顯示在表 5-3 與圖 5-6 中，其結果也顯

示出合併量測無論對於 QCM 或 EIS 系統皆無顯著的影響，因為其合併量測所採用的方法為使用切換電路來進行量測，並非同時在電極上施加 QCM 與 EIS 量測所需之電壓，因此不會有互相干擾的問題產生。

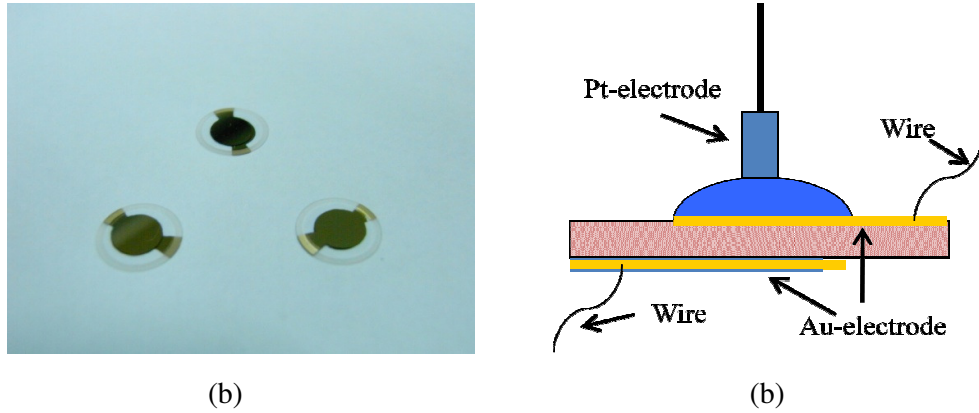
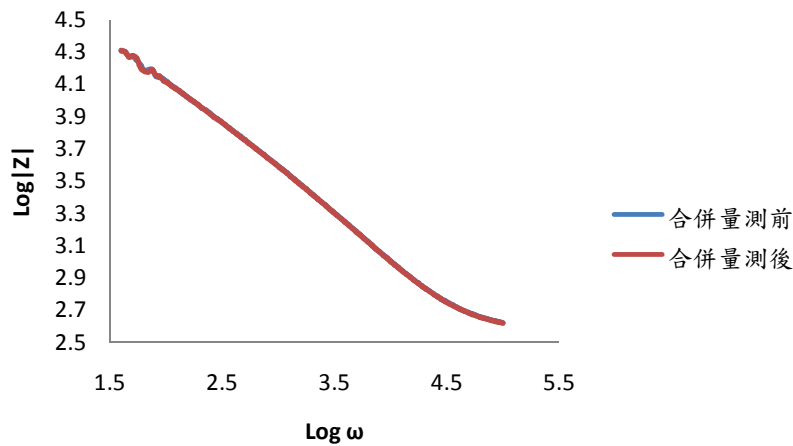


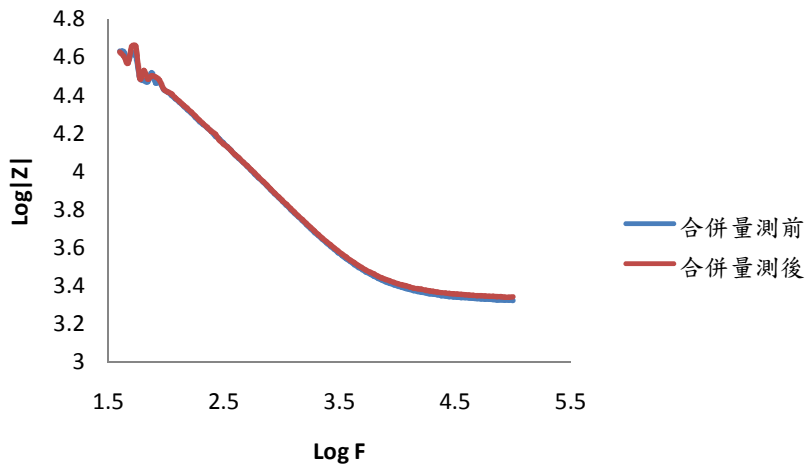
圖 5-5 (a)QCM&EIS 整合系統測試晶片 (b)量測示意圖

表 5-3 QCM 系統與 EIS 合併量測前後比較

共振頻率變化			
	空氣	磷酸鹽緩衝液	酒精溶液
合併量測前 (Hz)	10008922±1.7	10005844*±3.1	10003783±3.1
合併量測後(Hz)	10002923±1.2	10005848±4.3	10003782±7.5
消散係數變化			
	空氣	磷酸鹽緩衝液	酒精溶液
合併量測前	$6.57 \times 10^{-5} \pm 1.8 \times 10^{-7}$	$8.21 \times 10^{-4} \pm 1.4 \times 10^{-6}$	$1.36 \times 10^{-3} \pm 1.6 \times 10^{-6}$
合併量測後	$6.61 \times 10^{-5} \pm 2.4 \times 10^{-7}$	$8.21 \times 10^{-4} \pm 1.0 \times 10^{-6}$	$1.35 \times 10^{-3} \pm 2.5 \times 10^{-6}$



(a)



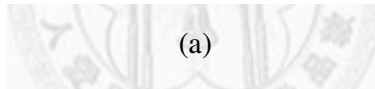
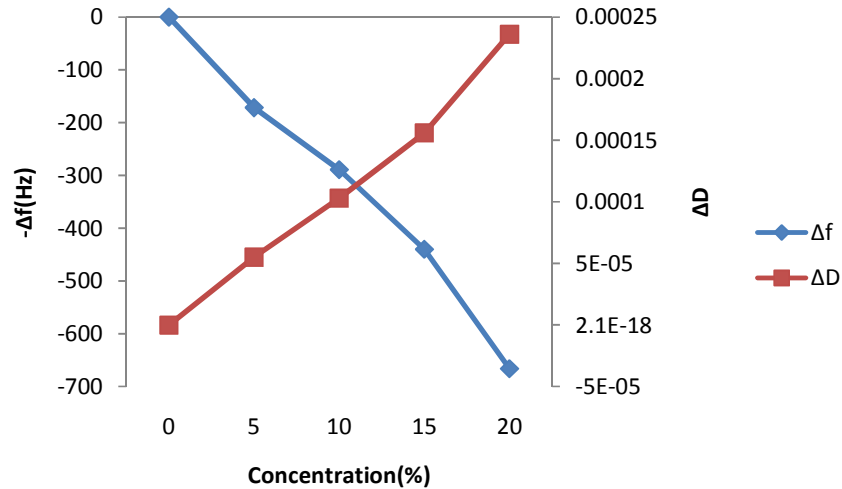
(b)

圖 5-6 EIS 阻抗譜在與 QCM 系統合併量測前後比較 (a)磷酸鹽緩衝液 (b)酒精溶液

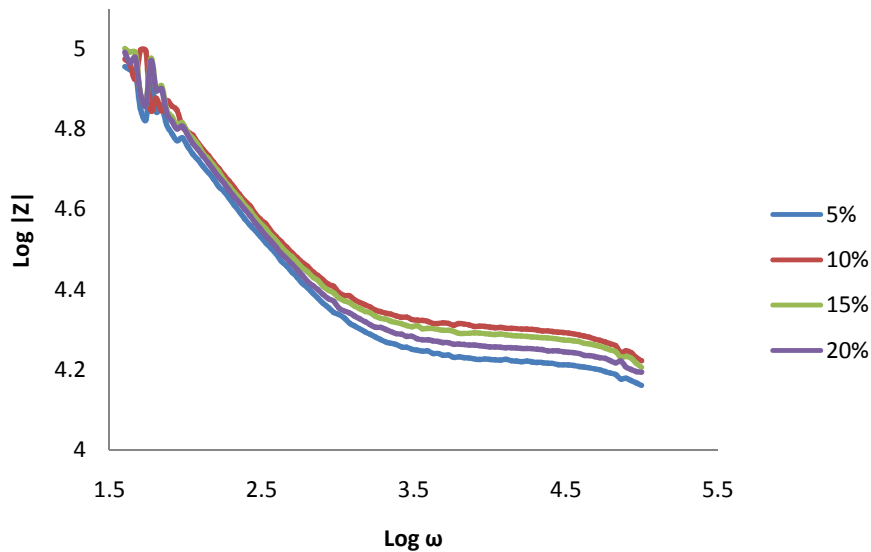
而後與 SPR&EIS 整合測試相同，也以酒精溶液與赤血鹽溶液為樣本進行定量量測分析。依據 QCM 之理論公式，在沒有生物分子鍵結時，其共振頻率與消散係數之變化最主要來自於液體的密度與黏滯性變化。而酒精溶液無論是密度或黏度皆會隨著其濃度的變化而改變，因此從圖 5-7 (a)中可以看到 QCM 無論共振頻率或消散係數均隨著酒精的濃度增加而改變；而在 EIS 方面，與前面所提到的一樣，因為酒精溶液中沒有氧化還原對，所以無法看出其是否有顯著的與濃度相依的變

化(圖 5-7(b))。

當量測樣本換成赤血鹽溶液時，雖然配置的濃度很低，但由於 QCM 的靈敏度相當高，因此依然能測得其溶液密度及黏滯性的微小變化(圖 5-8 (a))；而在 EIS 的阻抗圖譜的變化上，也與之前的 SPR&EIS 整合測驗時的結果大略相同，其阻抗會隨著赤血鹽溶液濃度的增加而降低(圖 5-8(b))。

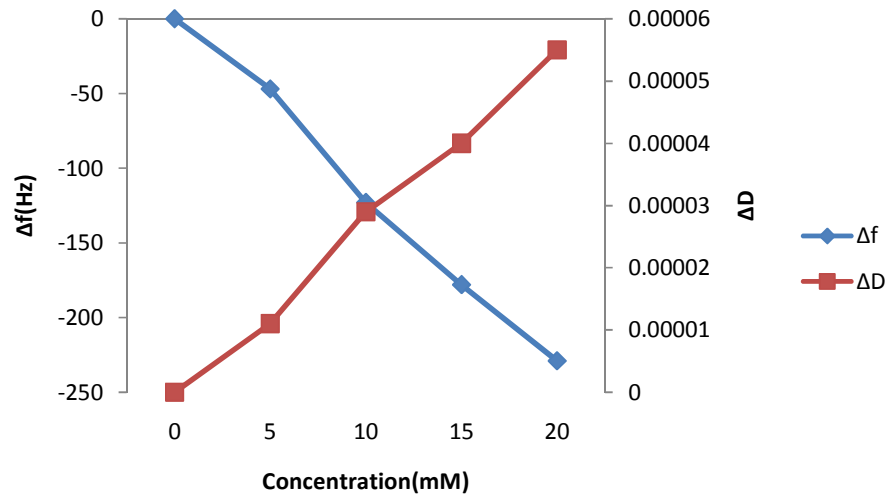


(a)

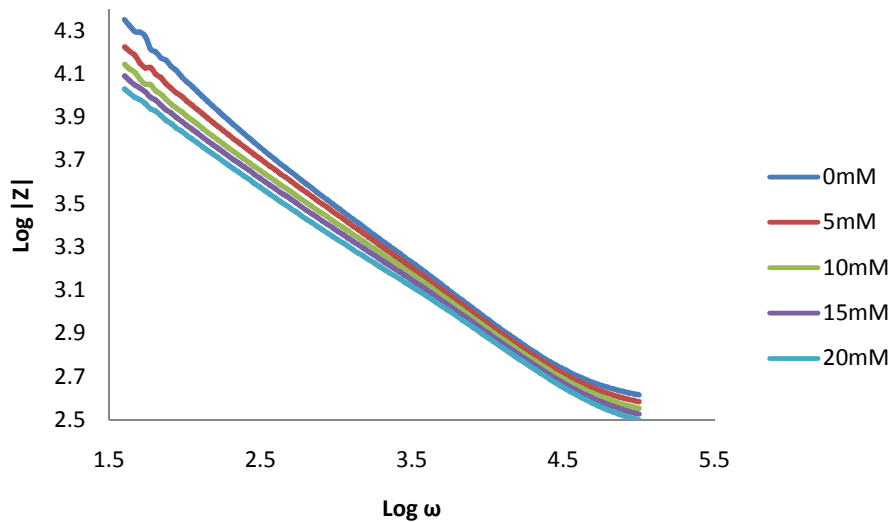


(b)

圖 5-7 QCM 與 EIS 對酒精濃度之定量量測圖 (a)QCM 量測訊號 (b)EIS 量測訊號



(a)



(b)

圖 5-8 QCM 與 EIS 對赤血鹽濃度之定量量測圖 (a)QCM 量測訊號 (b)EIS 量測訊號

### 5-2-3 QCM&SPR&EIS 系統整合特性測試

從表 5-4、表 5-5 及圖 5-10 中可以看到，QCM、SPR 與 EIS 所量測的訊號也和之前 QCM&EIS、SPR&EIS 之整合系統一樣，在合併量測的前後訊號皆沒有太大的變化。但是可以發現此時 QCM 訊號的量測誤差值比先前 QCM&EIS 系統大上



許多。原因是為了配合 SPR 的量測而將實驗晶片的下電極的材料從金置換成銻錫氧化物(Indium Tin Oxide)，也就是所謂的 ITO (圖 5-9(a))，以及在晶片下方負載耦合油的行為對 QCM 之量測特性造成了很大的影響，其中最直接的影響就是震盪品質因數下降，而震盪品質因數的下降代表了震盪的品質變差，導致了共振頻率的量測誤差值增加且因為消散係數的量測精度也會受到品質因數下降的影響。

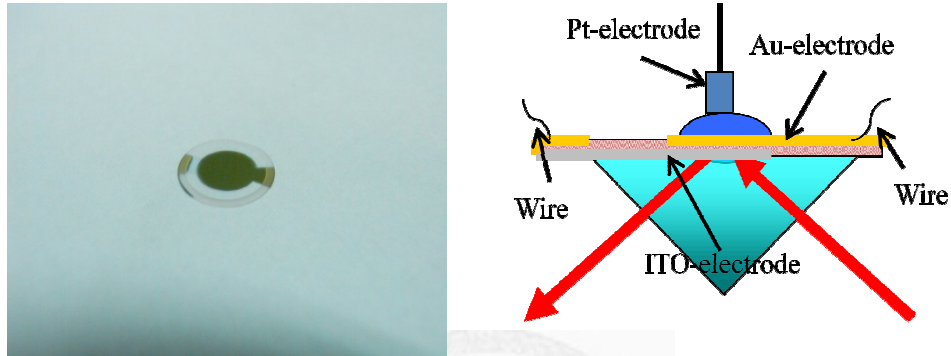


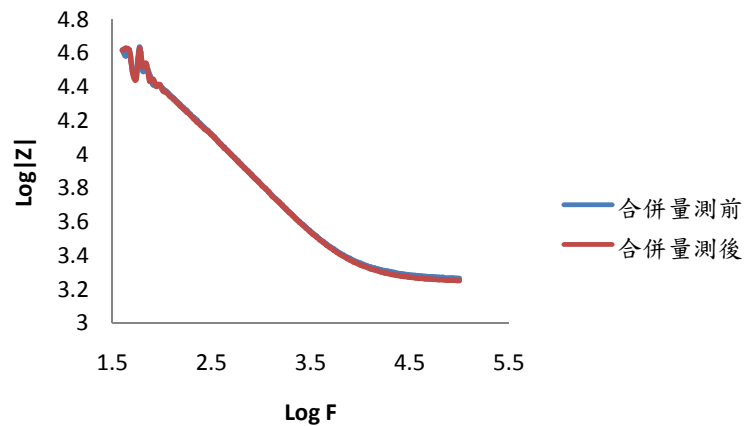
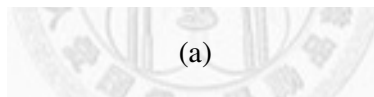
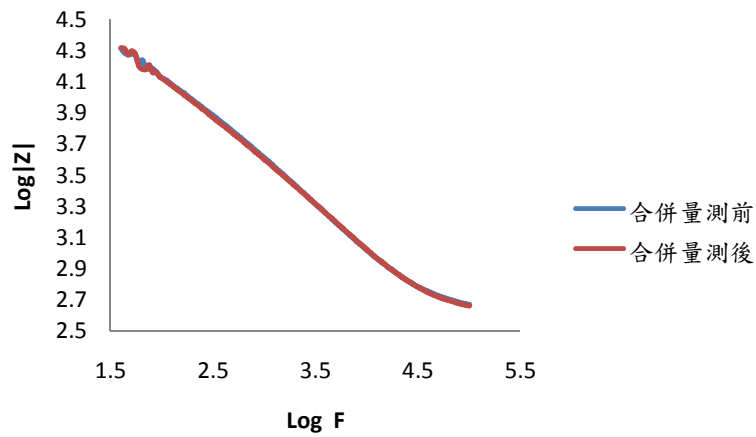
圖 5-9 (a)QCM&SPR&EIS 整合系統測試晶片 (b)量測示意圖

表 5-4 QCM 系統與 SPR、EIS 合併量測前後比較

QCM 共振頻率變化			
	空氣	磷酸鹽緩衝液	酒精溶液
合併量測前(Hz)	10053995±14.87	10038148±346.6	10038834±192.8
合併量測後(Hz)	10054007±10.39	10037918±355.4	10038952±228.5
QCM 消散係數變化			
	空氣	磷酸鹽緩衝液	酒精溶液
合併量測前	$2.18 \times 10^{-3} \pm 1.7 \times 10^{-6}$	$7.01 \times 10^{-3} \pm 7.7 \times 10^{-5}$	$6.74 \times 10^{-3} \pm 5.3 \times 10^{-5}$
合併量測後	$2.17 \times 10^{-3} \pm 3.3 \times 10^{-6}$	$7.23 \times 10^{-3} \pm 5.5 \times 10^{-5}$	$6.72 \times 10^{-3} \pm 4.7 \times 10^{-5}$

表 5-5 SPR 系統與 QCM、EIS 合併量測前後比較

SPR 反射光強變化			
	Air	PBS(PH 7.2)	C2H5OH
合併量測前( $\mu\text{W}$ )	1195.4 $\pm$ 2.81	408.38 $\pm$ 2.72	686.84 $\pm$ 2.82
合併量測後( $\mu\text{W}$ )	1094.6 $\pm$ 1.16	407.685 $\pm$ 1.96	688.38 $\pm$ 2.73



(b)

圖 5-10 EIs 阻抗譜在與 QCM&SPR 系統合併量測前後之比較

以圖 5-11 來說明品質因數的下降情形，在將下電極改成 ITO 且負載耦合油之後，以原先的掃頻頻寬設定(50kHz)，在注入磷酸鹽緩衝溶液後品質因數甚至降為零，此乃是因為此時的震盪品質過差，50kHz 的頻寬已無法切確的包含整個震盪波形的關係，在這樣的情況下無法進行品質因數的計算。將掃頻頻寬改成 100kHz 之後，可測得品質因數約在 100~150 之間，這樣的值與一般量測時相比起低了許多，為了更明確的了解晶片電極改質與負載耦合油對品質因數所造成的影響，以商用震盪子之石英晶片、自製雙面金電極石英晶片與自製 ITO 下電極石英晶片這三種不同的晶片分別量測其負載耦合油前後的品質因數，並將結果整理在表 5-5 中進行比較與分析。

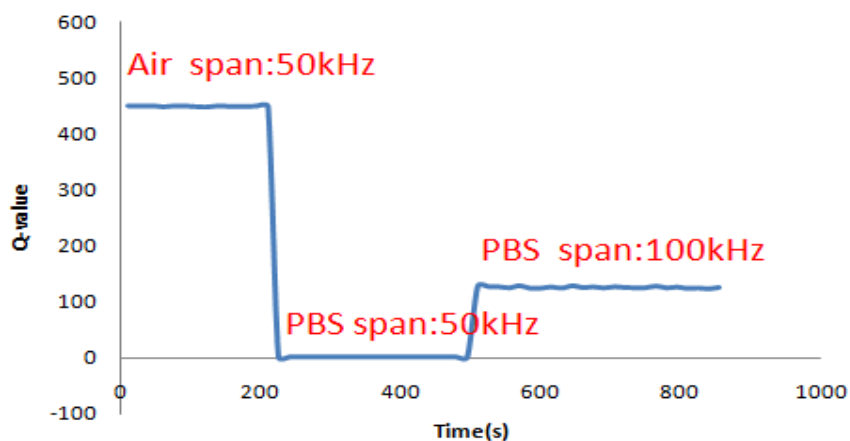


圖 5-11 石英晶片電極改變與負載耦合油後的品質因素下降情形

表 5-6 電極改質與負載耦合油對品質因數影響整理表

無負載耦合油之品質因數			
	商用震盪子 晶片	自製雙面鍍 金晶片	自製 ITO 電 下極晶片 (頻寬 50K)
空氣	15000	4000	1150
磷酸鹽緩衝溶液	1300	1200	700

負載耦合油之品質因數				
	商用震盪子 晶片	自製雙面鍍 金晶片	自製 ITO 下 電極晶片 (頻寬 50K)	自製 ITO 下 電極晶片 (頻寬 100K)
空氣	650	600	450	450
磷酸鹽緩衝溶液	450	400	0	150

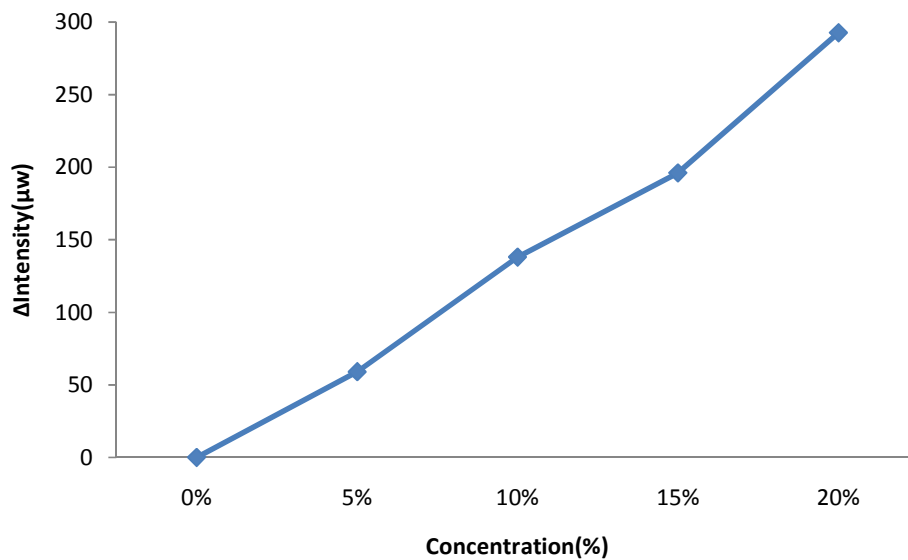
在品質因數下降的方面分別就電極改質與負載耦合油兩個面相分別來進行探討，首先從表 5-6 中可發現在無負載耦合油的比較中發現電極改質所造成的影響，自製 ITO 下電極的石英晶片無論在空氣或是磷酸鹽緩衝溶液中，其品質因數皆是最底的，推測可能是 ITO 與金本身的阻抗值差距過大，加上 ITO 鍍製時的均勻度較差，因此造成震盪品質下降；而負載耦合油無論是對於商用震盪子晶片、自製雙面金電極晶片及自製 ITO 下電極晶片都造成了品質因數的下降，這是因為耦合油的黏度(7.32Cp)比空氣的黏度(0.02Cp)大非常多的關係，從 QCM 之理論公式可發現，黏度的增加會使得石英震盪時的阻尼變大，進而造成品質因數下降。

從上述的分析可以得知電極改質與負載耦合油的确對於品質因數造成了影響，而品質因數的下降又影響其量測的精度。從之前 QCM&SPR&EIS 整合前後的特性表中可發現在以 ITO 電極的石英晶片在負載耦合油的情況下進行液相量測時，其品質因數與雙面金電極的石英晶片在無負載耦合油時進行液相量測相較，大約降低了 10 倍左右，因為如此，此時的誤差也來到百赫茲等級，以這樣的精準度很難準確的量測到分子鍵結所引起的頻率變化。

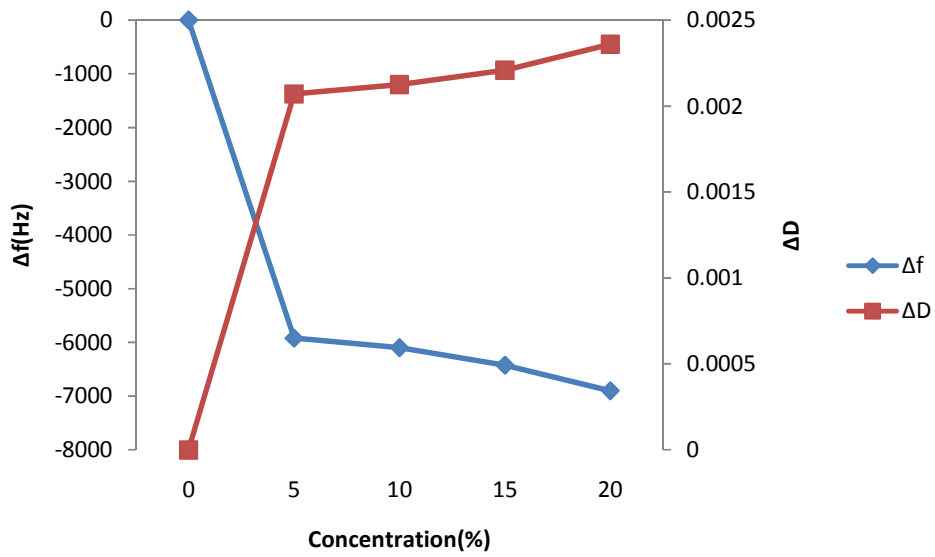
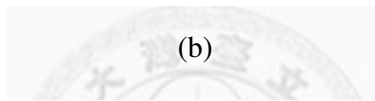
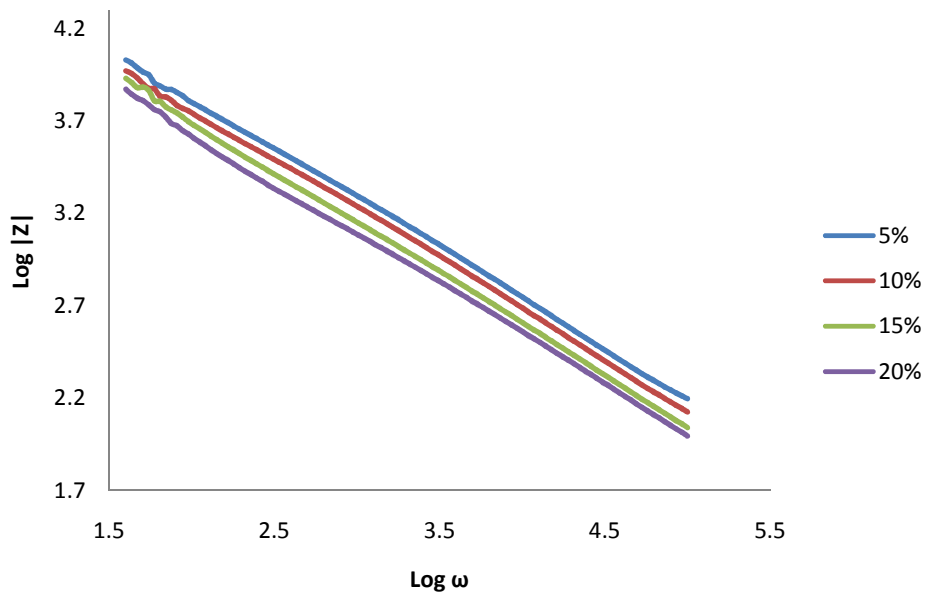
而後以氯化鈉(NaCl)溶液為樣本進行定量量測分析，選擇以此為樣本的原因是因為氯化鈉溶液除了是電解質溶液的一種之外，其濃度變化所對應之折射率、黏度及密度變化皆十分明顯且線性。從實驗結果(圖 5-12)中發現 SPR 與 EIS 之變化皆十分正常，但 QCM 之訊號變化卻沒有隨著液體的濃度改變呈現線性變化，而後

以雙面鍍金之石英晶片在不負載耦合油的情況下進行氯化鈉溶液之定量量測實驗(圖 5-13)，其變化卻十分的正常。

而我們回去觀察 QCM&SPR&EIS 之整合特性表時可以發現，QCM 在負載空氣與負載磷酸鹽緩衝溶液時的差值約為 16kHz，負載空氣與負載酒精溶液時的差值約為 15kHz，這樣的差值與一般雙面鍍金無負載耦合油的情況下之差值有著顯著的不同(見表 5-3)；而無負載耦合油時所量測出的差值是與理論值較為接近的[29]，推測是因為在負載耦合油的狀況下，QCM 的震盪情況與理論模型不吻合的關係，這表示如果要在負載耦合油的情況下進行 QCM 的量測，推測需要自行建立一個新的理論模型，會讓情況變得複雜，再考慮到前面所討論的因負載耦合油時震盪品質過差造成 QCM 訊號雜訊過大，液相量測時的誤差通常為數百赫茲等級，因此判定以此方法整合三種系統的量測平台進行較為精密的量測例如自組裝薄膜或是生物分子鍵結量測時，其量測精度及準確性是值得懷疑的。



(a)



(c)

圖 5-12 QCM、SPR 與 EIS 對氯化鈉溶液之濃度定量量測圖 (a)QCM 訊號 (b)SPR 訊號 (c)EIS 訊號

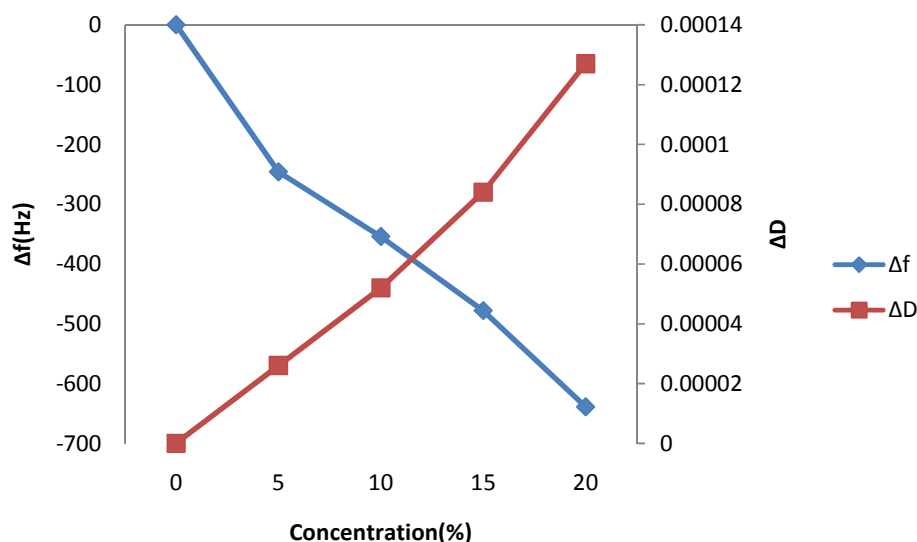


圖 5-13 雙面金電極之 QCM 對氯化鈉溶液之濃度定量分析圖

### 5-3 分子鍵結實驗

在確立 QCM&SPR&EIS 之系統不適合進行生物量測後，本研究在分子鍵結實驗的部分選擇以 QCM&EIS 結合系統來進行量測，因為 SPR&EIS 所能量測到的參數重複性較高，而 QCM 之多參數特性特別是消散係數的量測使其與別的系统加以結合後的新系統可提供更完整的反應資訊。至於樣本選用方面，本實驗選用卵白素(Avidin)作為動態量測的標的物，以修飾 12 碳-硫醇(12C-Thiol)與 CB2C 兩種不同生物連結物(bio-linker)的晶片比較其對卵白素之鍵結能力(圖 5-14)，其實驗流程如下：

1. 將晶片泡入修飾物溶液中靜置數小時
2. 將晶片置入流動注射分析系統注入緩衝溶液後靜置等待訊號穩定
3. 將 EDC/NHS 活化劑注入腔體並靜置約 40 分鐘
4. 以緩衝溶液清洗表面約 20-30 分鐘後靜置至訊號穩定
5. 將卵白素注入腔體並靜置約 40 分鐘
6. 以緩衝溶液清洗表面約 20-30 分鐘後靜置至訊號穩定

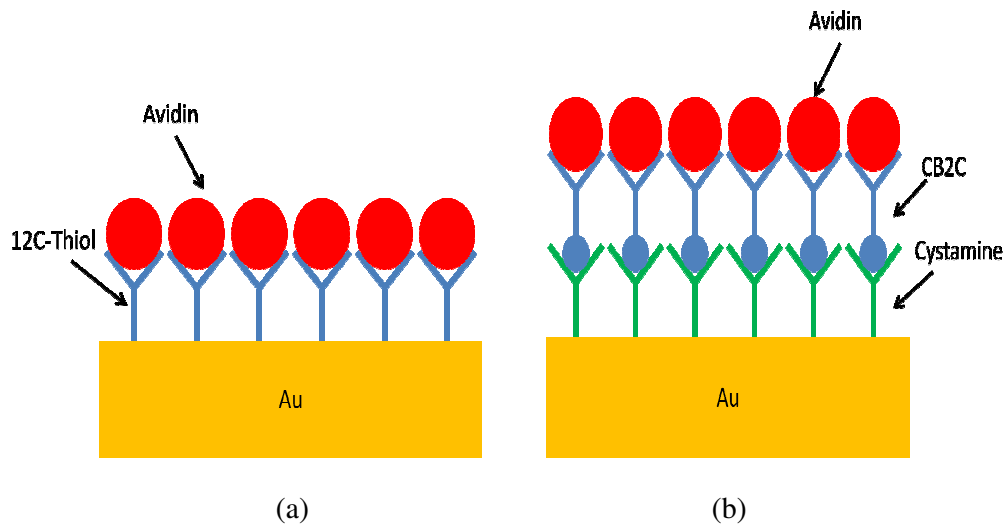


圖 5-14 以不同修飾物之晶片鍵結卵白素之示意圖 (a)以 12C-Thiol 修飾之晶片 (b) 以 CB2C 修飾之晶片

首先先比較以 CB2C 和 12C-Thiol 兩種不同的自組裝分子修飾後的晶片初始值是否有所差距。從圖 5-15 中可發現與鍵結 CB2C 後的晶片之阻抗值無論是在磷酸鹽緩衝液中或是在赤血鹽溶液中都比鍵結 12C-Thiol 後的晶片來的低，這是因為 CB2C 分子的導電性比 12C-Thiol 來的好的緣故，特別在赤血鹽溶液中，其阻抗值之差距十分明顯。



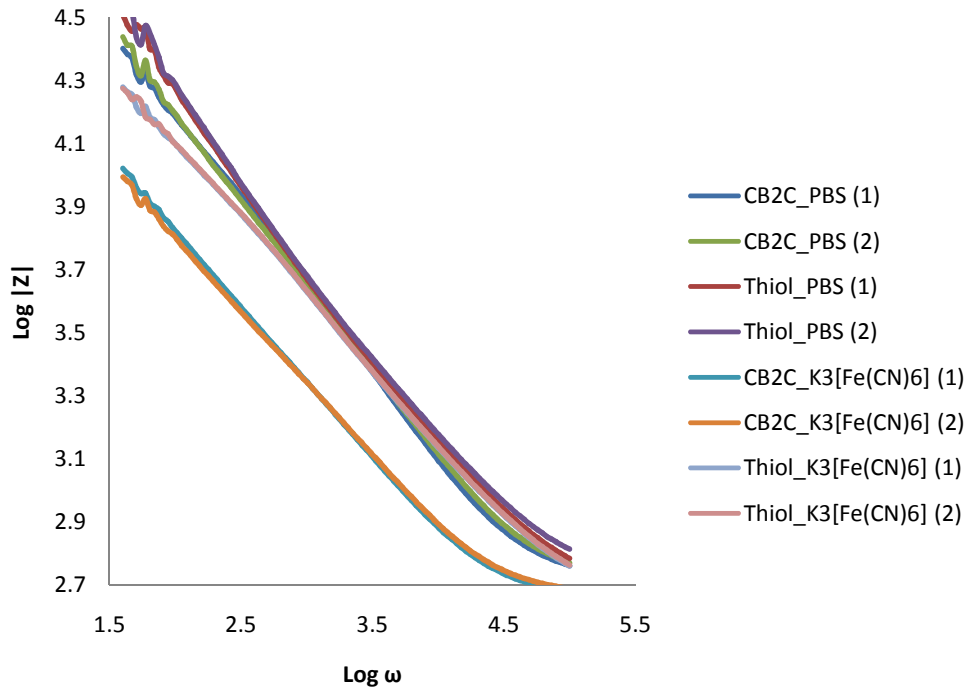


圖 5-15 石英晶片修飾 CB2C 與 12C-Thiol 之比較

以 QCM 進行卵白素鍵結過程之即時觀測之結果如圖 5-16 所示，可發現卵白素之鍵結對於 QCM 之共振頻率有顯著的影響，但在消散係數方面則變化不大，可能是因為卵白素形成了一層緊密的單層分子，對於消散係數的影響較小，不過消散係數對於觀察活化劑是否有作用可以起到用處，推測是因為活化劑與自組裝分子所起的反應類似於一種構型變化的關係。EIS 之量測由於受到液體流動所造成的影響較大，在注射 Sample 後需靜置一段時間等待訊號穩定，而卵白素之鍵結反應又相當的快速，因此 EIS 只能進行端點(End-point)的量測。

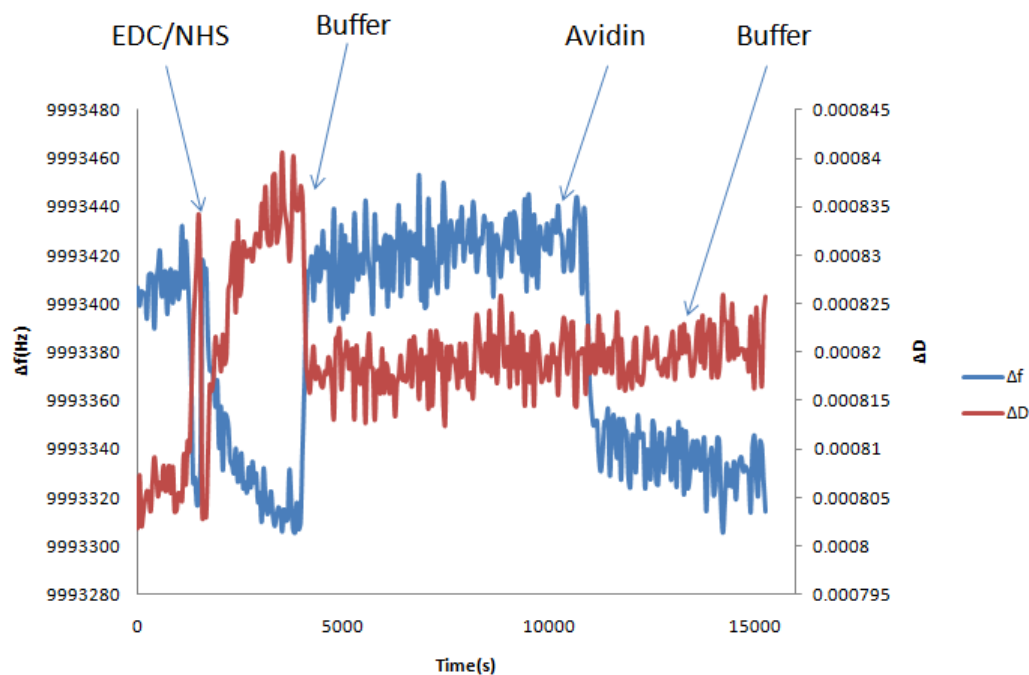


圖 5-16 QCM 對卵白素鍵結反應之即時觀測圖

而後進行卵白素之定量量測分析，從圖 5-17 中看到 QCM 的共振頻率隨著濃度而變化，大約在  $20\mu\text{g/ml}$  左右達到飽和，而先前從即時量測圖中發現消散係數並沒有隨著卵白素的注入發生顯著變化，這是因為卵白素吸附所造成的消散係數變化為  $10^{-6}$  等級，與本系統之消散係數量測的誤差值幾乎相等，無法觀察出顯著的變化，所以在這邊就不多加討論。

在 EIS 方面，在使用磷酸鹽緩衝液作為緩衝溶液時，鍵結前後阻抗譜幾乎沒有改變(圖 5-18)，因為磷酸鹽緩衝液並非電解質溶液，以其做為緩衝溶液時，溶液中沒有氧化還原對，使得電子轉移阻抗之初始值變得很大，因此無法量測到分子鍵結所造成的微小變化。

雖然 EIS 方面無法量測到變化，不過從 QCM 之共振頻率的變化來觀察，CB2C 與 12C-Thiol 對於卵白素濃度的飽和曲線幾乎相同，因此還是可以以此結果得知這兩種生物連結物對於卵白素之鍵結能力大致上是相同的。

有鑑於以磷酸鹽緩衝液做為緩衝溶液時無法量測到 EIS 的變化，之後將緩衝溶液替換成濃度為 1mM 之赤血鹽溶液，以鍵結 CB2C 的晶片來進行量測。可發現其 QCM 之共振頻率變化的飽和曲線也與以磷酸鹽緩衝液做為緩衝溶液時相差無幾，但此時因為溶液中有氧化還原對，因此阻抗譜就會隨著分子的鍵結而有所變化。從圖 5-19 的圖組中可看出隨著卵白素濃度的增加，鍵結卵白素後的阻抗譜與初始值相較下的差值就越大，特別是在表現分子鍵結的低頻方面的變化更為明顯，證明此量測平台可同時以 QCM 及 EIS 系統量測分子鍵結所造成的變化。

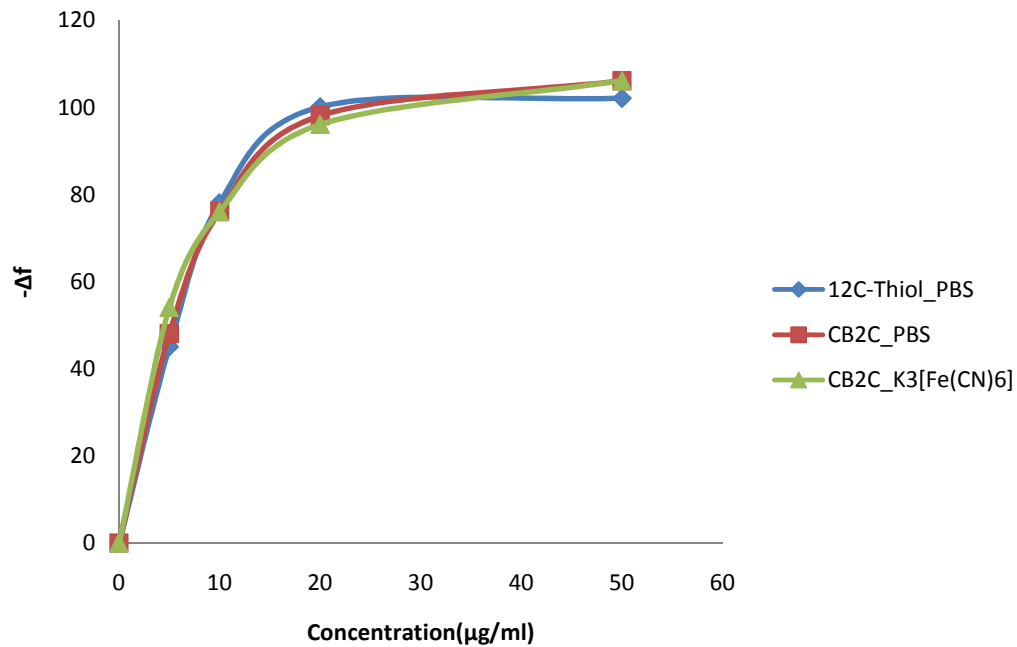
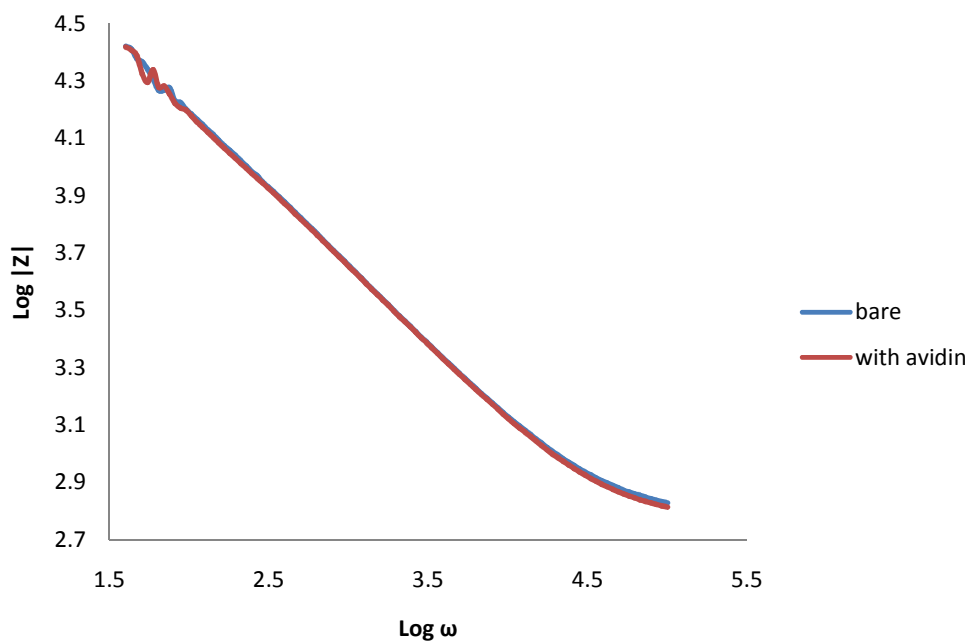
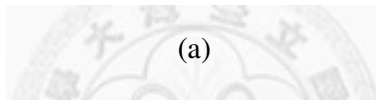
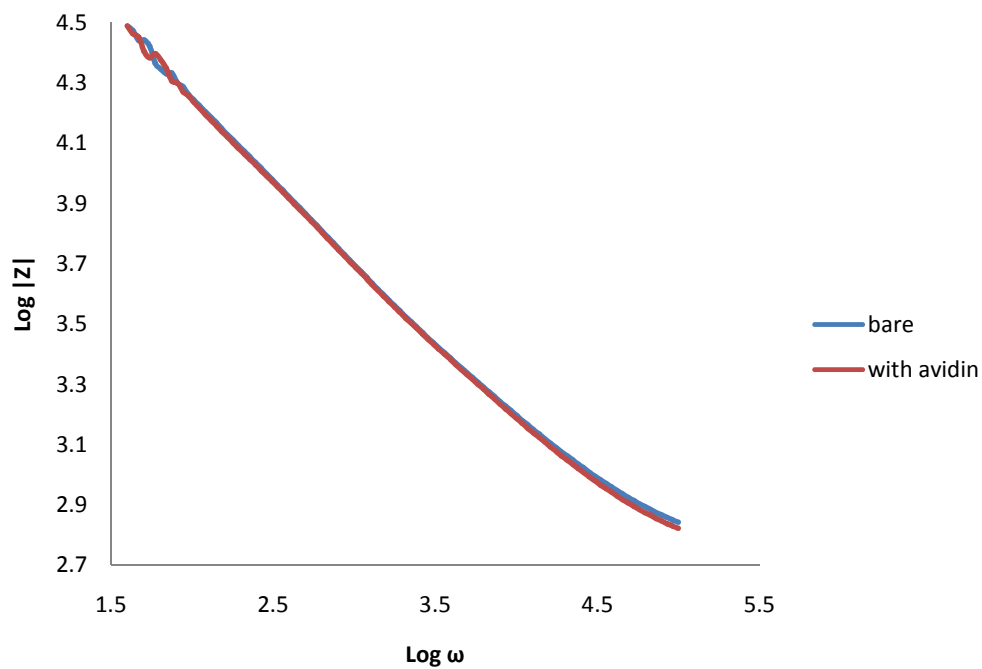
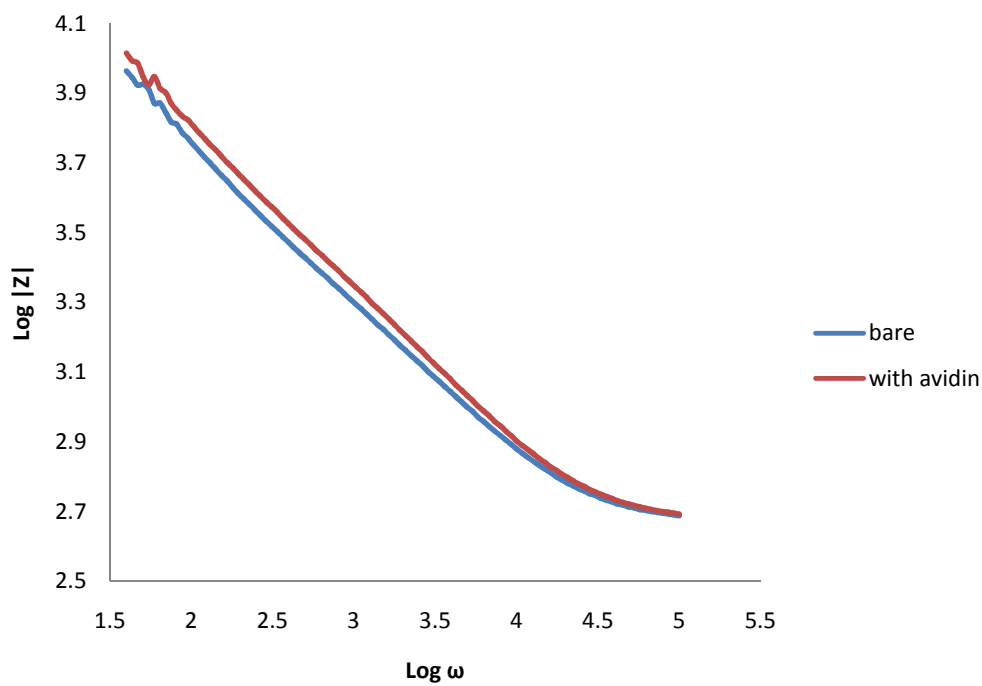
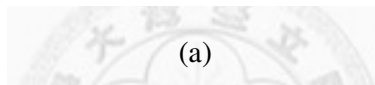
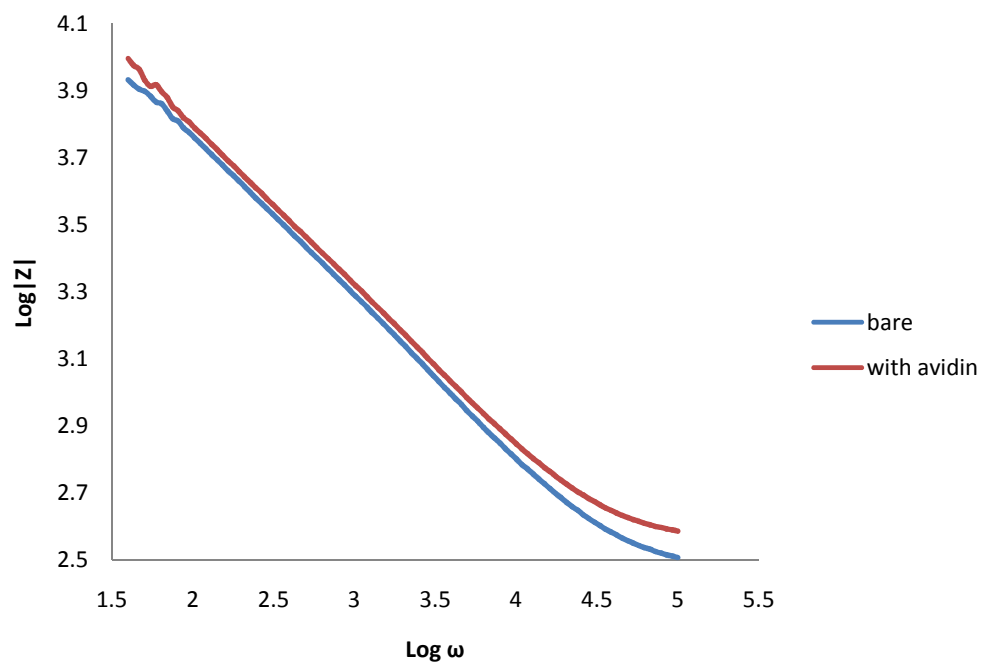


圖 5-17 QCM 共振頻率變化對卵白素鍵結之飽和濃度曲線

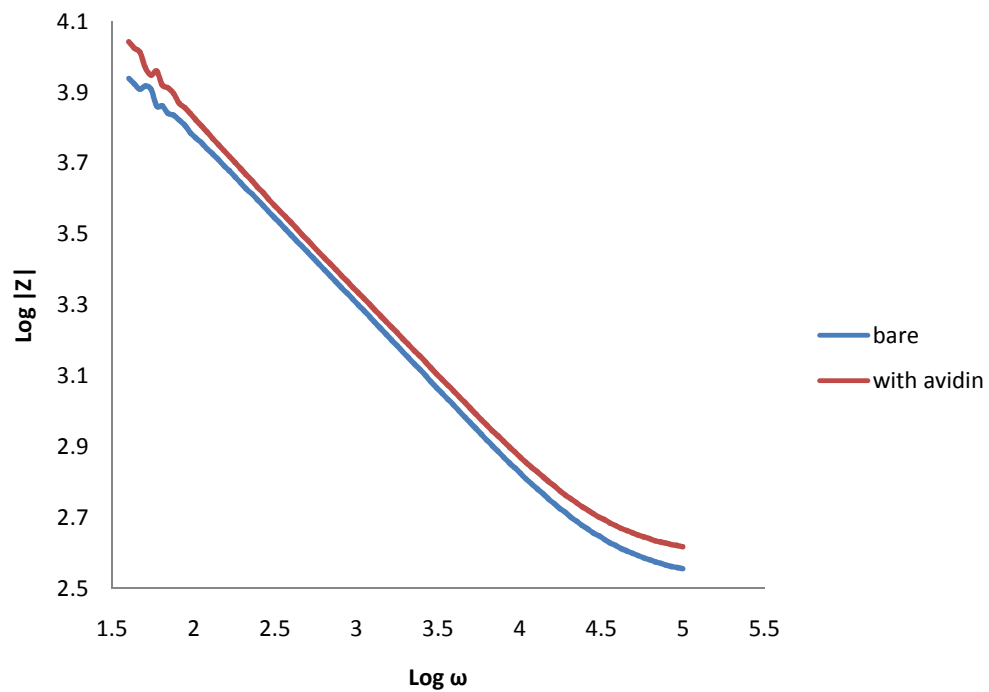
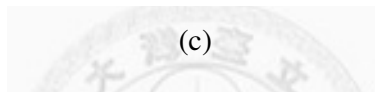
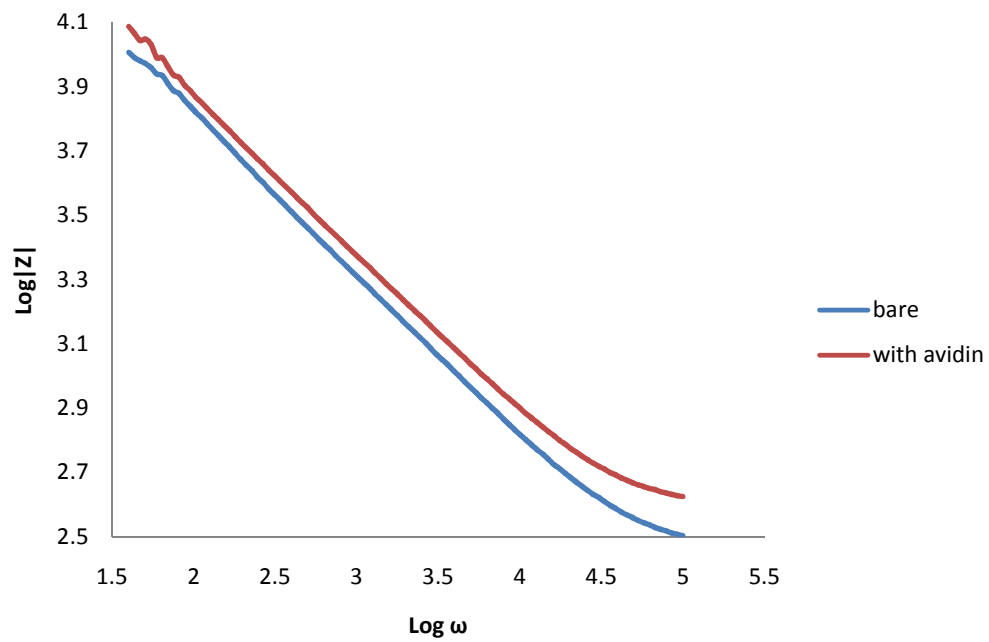


(b)

圖 5-18 以磷酸鹽緩衝液作為緩衝溶液時 EIS 阻抗譜在卵白素濃度為  $50\mu\text{g/ml}$  時的  
鍵結前後變化 (a)修飾 12C-Thiol 之晶片 (b)修飾 CB2C 之晶片



(b)



(d)

圖 5-19 以赤血鹽溶液作為緩衝溶液時 EIS 阻抗譜在不同濃度卵白素鍵結時的鍵結

前後變化 (a) 5 $\mu$ g/ml (b) 10 $\mu$ g/ml (c) 20 $\mu$ g/ml (d) 50 $\mu$ g/ml

## 第六章 結論與未來展望

### 6-1 結論

透過本論文之實驗證明，以稜鏡耦合的方式結合 QCM 與 SPR 系統時，QCM 之量測會受到電極改質以及下方負載耦合油的影響，其量測的靈敏度與精準性皆有相當程度的下降。但在 QCM 與 EIS 以及 SPR 與 EIS 的整合方面，皆成功的以自行架設之量測平台加以結合，可同步觀察到兩種不同物理量的生物感測器對於同一樣本的反應，除了可進行重複確認減低誤差的影響外還可利用多參數的特性更完整的分析樣本的反應過程。

在生物分子量測方面也成功以 QCM 及 EIS 之整合系統量測到不同的生物連結物對蛋白質之鍵結反應，證明此量測平台足夠用做分子鍵結之檢測，且因為同時可得到兩種不同物理量的變化，因此更適合應用在生物分子的定性量測與分析。

### 6-2 未來展望

本研究所架設之量測平台精準度雖已能達到  $\mu\text{g/ml}$  等級，但比起一般的期刊文章還是有所不足，未來可在實驗儀器的選用與晶片製作的部分稍做修改。

在 QCM 方面可使用專門的量測儀器或震盪電路代替阻抗分析儀來驅動；而晶片部分可購買專門為生物量測所設計擁有高共振頻率和大面積之石英晶片，相信可提升量測精準度至  $\text{ng/ml}$  等級。

在 EIS 方面，同樣受制於阻抗分析儀的關係，無法進行三極式的量測，若使用專用之電化學阻抗量測儀，精準度也能夠有效的提升，還可以在後端處理部分使用專門的軟體對於其等效電路各參數值進行量化的分析。

在 SPR 方面，由於本系統是架設在光學板上，因此所受到外界震動的影響較大，若能架設於光學桌上，外在環境所造成之誤差便可大幅減少，精度也可隨之

上升。

如能針對上述部分進行改進，相信可將此一量測平台整體量測精準度可大幅提升，不僅可應用量測小分子蛋白質之鍵結，也可用於 DNA 之檢測。





## 參考文獻

- [1] 行政院人口政策白皮書，2008。
- [2] 廖美智，「2010 年第一季我國生技產業回顧與展望」，生物技術開發中心，2010。
- [3] 朱兆文，「2009 年第四季我國生技產業回顧與展望」，生物技術開發中心，2009。
- [4] <http://www.virusbom.com/index.php/zh/home>
- [5] 林佳珈，「穿膜胜肽與生物細胞膜間的交互作用之探討(I)－膽固醇的含量對蜂毒胜肽穿膜機制之影響」，國立中央大學化學工程與材料工程研究所碩士論文，1994
- [6] 吳宗正，「生物感測器」
- [7] 謝振傑，「光纖生物感測器」，物理雙月刊，第 28 卷，第四期，2006
- [8] <http://www.biacore.com/lifesciences/index.html>
- [9] <http://www.q-sense.com/>
- [10] J. L. Jones and J. P. Meiore, Piezoelectric Transducer for Determination of Metals at the Micromolar Level, *Anal. Chem.*, 41, 484 (1969).
- [11] T. Nomura, T. Nagamune, K. Izutsu and T. S. West, 水晶発振子を用いる水溶液中での金属イオンの新電解分析法の検討と微量銅(II)定量への応用, *Bunseki Kagaku*, 30, 494 (1981).
- [12] D. A. Buttry and M. D. Ward, Measurement of Interfacial Processes at Electrode Surfaces with the Electrochemical Quartz Crystal Microbalance, *Chem. Rev.*, 92, 1355 (1992).
- [13] W. W. Lee, H. S. White and M. D. Ward, Depletion Layer Effects on the Response of the Electrochemical Quartz-Crystal Microbalance, *Anal. Chem.*,

- 65, 3232 (1993).
- [14] A. Bund and G. Schwitzgebel, Investigations on metal depositions and dissolutions with an improved EQCMB based on quartz crystal impedance measurements, *Electrochimica Acta*, 45, 3703 (2000)
- [15] C. Eickes, J. Rosenmund, S. Wasle, K. Doblhofer, K. Wang and K. G. Weil, The electrochemical quartz crystal microbalance (EQCM) in the studies of complex electrochemical reactions, *Electrochimica Acta*, 45, 3623 (2000).
- [16] N. P. Cosman and S. G. Roscoe, Electrochemical quartz crystal nanobalance to detect solvent displacement by pH-induced conformational changes of proteins at Pt, *Anal. Chem.*, 76, 5945 (2004).
- [17] T. Hianik, A. Porfireva, I. Grman and G. Evtugyn, EQCM Biosensors Based on DNA Aptamers and Antibodies for Rapid Detection of Prions, Protein and Peptide Letters, 16, 363 (2009)
- [18] A. Sabot and S. Krause, Simultaneous Quartz Crystal Microbalance Impedance and Electrochemical Impedance Measurements. Investigation into the Degradation of Thin Polymer Films, *Anal. Chem.*, 74, 3304 (2002)
- [19] H. He, Q. Xie, Y. Zhang and S. Yao, A simultaneous electrochemical impedance and quartz crystal microbalance study on antihuman immunoglobulin G adsorption and human immunoglobulin G reaction, *J. Biochem. Biophys. Methods*, 62, 191 (2005)
- [20] E. Briand, M. Zäch, S. Svedhem, B. Kasemo and S. Petronis, Combined QCM-D and EIS study of supported lipid bilayer formation and interaction with pore-forming peptides, *Analyst*, 135, 343 (2010)
- [21] E. Reimhult, C. Larsson, B. Kasemo, and F. Höök, Simultaneous Surface Plasmon Resonance and Quartz Crystal Microbalance with Dissipation

- Monitoring Measurements of Biomolecular Adsorption Events Involving Structural Transformations and Variations in Coupled Water, *Anal. Chem.*, 76, 7211 (2004)
- [22] 顏維廷, 「多參數石英晶體微天平與表面電漿共振整合生醫系統平台之研究與發展」, 國立台灣大學應用力學研究所碩士論文, 2008
- [23] J. M. Kim, S. H. Kim, T. Ohashi, H. Muramatsu, S. M. Chang and W. S. Kim, Construction of simultaneous SPR and QCM sensing platform, *Bioprocess Biosyst Eng.*, 33, 39 (2010)
- [24] Grate J. W., S. J. Martin, R. M. White, Acoustic wave microsensors, *Anal. Chem.*, 65, A940 (1993)
- [25] G. Sauerbrey, Verwendung Von Schwingquarzen Zur Wagung Dunner Schichten Und Zur Mikrowagung, *Zeitschrift Fur Physik*, 155, 206 (1959)
- [26] C. Lu and A. W. Czanderna, Applications of Piezoelectric Quartz Crystal Microbalances, (1984)
- [27] White F. M., Viscous Fluid Flow, McGraw-Hill, New York, (1974)
- [28] K. K. Kanazawa and J. G. Gordon, Frequency of a Quartz Microbalance in Contact with Liquid, *Anal. Chem.*, 57, 1770 (1985)
- [29] R. P. Buck, E. Lindner, W. Kutner, and G. Inzelt, Piezoelectric chemical sensors – (IUPAC Technical Report), *Pure and Applied Chemistry*, 76, 1139 (2004)
- [30] Mason, W.P., New York: Academic Press, Vol. 2A (1965)
- [31] F. N. Nunalee and K. R. Shull, Contact mechanics studies with the quartz crystal microbalance: Origins of the contrast factor for polymer gels and solutions, *Langmuir*, 20, 7083 (2004)
- [32] S. J. Martin, V. E. Granstaff, and G. C. Frye, Characterization of a Quartz Crystal Microbalance with Simultaneous Mass and Liquid Loading, *Anal.*

Chem., 63, 2272 (1991)

- [33] 詹家銘，「圓偏光表面電漿干涉儀之研製」，國立台灣大學應用力學研究所碩士論文，2006
- [34] 胡會利, 李寧, 電化學測量：國防工業出版社, 2007
- [35] "Agilent Technologies Impedance Measurement Handbook," Agilent Technologies, Inc. July, 2006.
- [36] <http://www.edmundoptics.com/SG/>
- [37] 陳逸豪，「手持式表面電漿共振儀的設計與研製」，國立台灣大學工程科學及海洋工程研究所碩士論文，2006
- [38] <http://www.advantest.co.jp/>
- [39] <http://www.ni.com/zht/>
- [40] <http://www.rheodyne.com/>

