



國立中山大學 機械與機電工程研究所

碩士論文

電驅動式微混合器及整合光鉗之細胞操控平台於

生醫檢測之應用

Electrokinetic Micromixer and Cell Manipulation Platform Integrated
with Optical Tweezer for Bio-analytical Applications

研究生：簡育生 撰

指導教授：林哲信 博士

中華民國 九十四 年 六 月

國立中山大學研究生學位論文審定書

本校機械與機電工程學系碩士班

研究生簡育生 (學號：M923020089) 所提論文

電驅動式微混合器及整合光鉗之細胞操控平台於
生醫檢測之應用

Electrokinetic Micromixer and Cell Manipulation Platform Integrated
with Optical Tweezer for Bio-analytical Applications

經本委員會審查並舉行口試，符合碩士學位論文標準。

學位考試委員簽章：

林智信

高甫成

傅龍明

楊啟榮

指導教授

林智信

系主任/所長

黃承英

致謝

兩年的碩士研究生涯轉眼即過，在這期間的個中甘苦是旁人所無法理解的。首先要感謝我的指導教授林哲信老師在這段時間的啟發與教導，老師治學的態度嚴謹而條理分明，不僅引導學生如何規劃一件研究案，並且也讓學生學會了如何蒐集資料、整理資料、撰寫論文及口頭報告的技巧。此外，也讓學生親身體驗到在建立一間實驗室之草創時期，其所遭遇到的困難與挑戰。師恩浩瀚永銘於心，短短數言未能盡述，僅由衷祝禱恩師永遠身康體健、心悅情愉。

本論文得以如期順利完成，得感謝屏科大材料所傅龍明老師於數值模擬方面的協助與指導，老師在微流體領域的數值分析堪稱一絕，藉由老師的協助使得本研究的成果順利發表於頂級的學術期刊，也讓學生真正體驗到從事研究的喜悅與驕傲。同時也感謝中山光電所高甫仁老師無限制地提供光學設備，讓學生可以盡情地探索光學領域的奧妙。在此，也感謝宗堯於 DNA 實驗上的協助與奮鬥。當然，也得感謝口試委員亦是引領學生投入微機電領域的啟蒙恩師楊啟榮老師，於論文口試期間特地從台北南下高雄來參與學生口試，使得此論文更加完善。

在這兩年的日子裡，接踵而來的研究及挑戰得以順利的克服與達成，實乃非一人所能辦的到，在此尚得感謝均賢、哲偉、筱萍、岳鋒、明峰、閔忠、銘富、一均、敬修、純怡、志鵬、承彥、彥良、振成及惠美於這段日子在精神及實質上的幫忙。

往事難忘，來日方長。僅以此論文獻給這段日子以來曾經提拔、支持過我的師長與朋友們，讓我一路走來更加茁壯，在此表達最誠摯的謝意。

育生 于高雄西子灣

June 25, 2005

目 錄

目錄.....	I
圖目錄.....	V
表目錄.....	X I
中文摘要.....	X II
Abstract.....	XIV
第一章 緒論.....	1
1-1 前言.....	1
1-2 生醫微機電系統.....	4
1-3 文獻回顧.....	6
1-3-1 微型混合器.....	6
1-3-2 微型細胞分類器.....	12
1-3-3 整合型晶片實驗室.....	17
1-4 研究動機與目的.....	23
1-5 論文架構.....	29
第二章 基本理論與數值方法.....	31
2-1 微尺度流體特性.....	31
2-2 電雙層的形成機制.....	32

2-3	電滲透流原理.....	34
2-4	電滲流場數值分析.....	35
2-5	雷射光鉗基本原理.....	38
第三章 晶片製作及實驗架設.....		41
3-1	晶片設計.....	41
3-1-1	微混合器.....	41
3-1-2	DNA-酵素反應及萃取裝置.....	42
3-1-3	細胞分類器.....	43
3-2	光罩製作.....	44
3-3	玻璃晶片製程.....	45
3-3-1	晶片清洗.....	46
3-3-2	微影.....	47
3-3-3	微管道蝕刻.....	48
3-3-4	玻璃鑽孔.....	48
3-3-5	晶片接合.....	49
3-4	壓克力晶片製程.....	49
3-4-1	玻璃母模製作.....	51
3-4-2	晶片熱壓程序.....	52
3-4-3	壓克力晶片化學接合.....	54

3-5 實驗架設.....	55
3-5-1 電驅動式微型混合器.....	55
3-5-2 DNA-酵素反應及萃取系統.....	57
3-5-3 光鉗操控之細胞分類系統.....	59
第四章 結果與討論.....	62
4-1 T型微流體混合器之混合情形.....	62
4-1-1 直接切換模式之混合結果.....	62
4-1-2 籍位切換模式之混合結果.....	66
4-1-3 混合效率最佳化之操作參數.....	69
4-2 雙T型微流體混合器之混合情形.....	71
4-2-1 增加進樣側管之混合結果.....	71
4-2-2 直接切換模式之混合結果.....	73
4-2-3 混合效率最佳化之操作參數.....	77
4-3 微混合器於 DNA-酵素反應及萃取的應用.....	78
4-3-1 DNA 於微管道中被電滲透流帶動之流率分析.....	78
4-3-2 DNA 切位反應之膠電泳結果.....	79
4-3-3 DNA 切位反應之毛細管電泳結果.....	80
4-4 光鉗於微流道中粒子分類的應用.....	83
4-4-1 樣本流聚焦情形.....	83

4-4-2 雷射光鉗搬運微尺度粒子之結果.....	87
4-4-3 雷射功率與光鉗捕捉力的關係.....	89
4-4-4 光鉗於微流道粒子分類之結果.....	92
第五章 結論與未來展望.....	99
5-1 結論.....	99
5-2 未來展望.....	101
參考文獻.....	103
自述.....	108

圖目錄

圖 1.1	整合型快速生醫檢測系統之工作流程圖.....	4
圖 1.2	利用週期性壁面效應變化之微型混合器.....	8
圖 1.3	利用交替式施加空氣壓力於側管之渾沌式混合器.....	9
圖 1.4	整合換能器於微管道之超音波震動混合器.....	9
圖 1.5	埋置障礙物之渾沌式混合器.....	10
圖 1.6	平面型之被動式 Telsa 結構混合器.....	11
圖 1.7	利用自旋效應之三維渦流式微混合器.....	12
圖 1.8	整合微加工聲波換能器之微流體切換開關.....	14
圖 1.9	整合磁性微奈米尖端之磁珠/細胞分類器.....	14
圖 1.10	利用液動介電泳力之連續式細胞分類晶片.....	15
圖 1.11	整合光鉗及電腦迴授控制之微流體細胞分類系統.....	16
圖 1.12	整合光鉗及微流道之細胞分類器.....	16
圖 1.13	利用光鉗操縱之微流體細胞分類器.....	17
圖 1.14	整合型 DNA 切位及片段分析之微流體晶片.....	18
圖 1.15	整合細胞胞解、PCR 放大及電泳片段分析之微晶片裝置.....	19
圖 1.16	整合 PCR、微閥及電泳裝置之疾病檢測晶片.....	20
圖 1.17	整合 DNA 放大、電泳分離及線上光偵測之微流體晶片.....	21
圖 1.18	整合電滲幫浦、微混合器及晶片溫控裝置之自動化微流體晶片.....	22

圖 1.19 美國 Micronics 公司所生產之整合型微流體晶片(ORCA chip).....	22
圖 1.20 T 型微流體混合器之工作原理示意圖，(a) 一般切換模式，(b) 箱位切換模式.....	25
圖 1.21 雙 T 型微流體混合器之工作原理示意圖.....	25
圖 1.22 快速 DNA 切位之 T 型微混合器工作原理示意圖.....	27
圖 1.23 DNA-酵素反應及萃取系統之工作流程圖.....	27
圖 1.24 DNA-酵素反應及萃取系統之晶片實體影像圖.....	27
圖 1.25 微粒子於微管道中之作動示意圖.....	29
圖 2.1 電雙層及電位勢之離子分佈示意圖.....	33
圖 2.2 電滲流場速度分佈示意圖.....	35
圖 2.3 光鉗之工作原理示意圖.....	40
圖 3.1 T 型微流體混合器之尺寸大小示意圖.....	41
圖 3.2 雙 T 型微流體混合器之尺寸大小示意圖.....	42
圖 3.3 DNA-酵素反應及萃取裝置之尺寸大小示意圖.....	42
圖 3.4 細胞分類器之尺寸大小示意圖.....	43
圖 3.5 玻璃基材之微流體晶片製程示意圖.....	46
圖 3.6 微流體混合器之晶片實體圖.....	49
圖 3.7 細胞分類器之晶片實體圖.....	49
圖 3.8 壓克力晶片之熱壓製程流程圖.....	51

圖 3.9	空白玻璃光罩之熱壓母模製程示意圖.....	52
圖 3.10	壓克力晶片之熱壓成型示意圖.....	53
圖 3.11	熱壓成型參數示意圖.....	53
圖 3.12	壓克力晶片之化學接合製程示意圖.....	55
圖 3.13	電驅動式微混合器之實驗量測架設示意圖.....	56
圖 3.14	晶片毛細管電泳偵測之實驗架設示意圖.....	59
圖 3.15	運用雷射光鉗系統操縱微粒子之實驗架設示意圖.....	60
圖 3.16	光鉗顯微鏡系統圖.....	61
圖 4.1	T 型微流體混合器，在穩態注射下之模擬及實驗結果，(a) 電場強度分佈，(b) 流線圖，(c) 模擬之濃度影像圖，(d) 實驗之濃度影像圖.....	62
圖 4.2	T 型微流體混合器，在一般切換模式於兩段切換下之電場強度分佈及流線圖.....	64
圖 4.3	T 型微流體混合器於一般切換模式下，藉由數值模擬及實驗測試其於固定驅動電場強度 90 V/cm 及各種切換頻率下之濃度分佈影像圖.....	65
圖 4.4	T 型微流體混合器於一般切換模式下，在不同切換頻率於 T 型端下方 1000 μm 處之管道橫斷面的正規化濃度亮度值.....	65
圖 4.5	T 型微流體混合器於箱位切換模式，其兩段切換下之電場強度分佈及流線圖.....	67

圖 4.6	T 型微流體混合器於箝位切換模式下，藉由數值模擬及實驗測試其於固定驅動電場強度 90 V/cm 及各種切換頻率下之濃度分佈影像圖.....	68
圖 4.7	T 型微流體混合器於箝位切換模式下，在不同切換頻率下之混合效率.....	68
圖 4.8	T 型微流體混合器，其利用數值模擬及實驗評估在不同切換頻率及驅動電壓下於 T 型端下方 1000 μm 處之混合效率比較圖.....	70
圖 4.9	T 型微流體混合器於箝位切換模式下，藉由數值模擬及實驗測試其於低驅動電壓及高驅動電壓時，該混合效率最佳化之濃度分佈影像圖.....	71
圖 4.10	雙 T 型微流體混合器，以數值模擬在施加 100 V/cm 之電場下的電場強度分佈圖 (a) 及兩種平行注射模式之流線，分別表示同邊注射模式 (b) 及交錯注射模式 (c)	72
圖 4.11	雙 T 型微流體混合器，在平行流注射下之數值模擬及實驗所得之濃度分佈影像圖.....	73
圖 4.12	雙 T 型微流體混合器，於平行流注射模式在次 T 型下方 2500 μm 長之路徑上的混合效率變化圖.....	73
圖 4.13	雙 T 型微流體混合器，兩段切換模式之電場強度分佈及流線圖....	75
圖 4.14	雙 T 型微流體混合器，在藉由數值模擬及實驗測試其於固定驅動電場強度 100 V/cm 及各種切換頻率下之濃度分佈影像圖.....	76
圖 4.15	雙 T 型微流體混合器，其在不同切換頻率下之混合效率.....	76

圖 4.16 雙 T 型微流體混合器，其利用數值模擬及實驗評估在不同切換頻率及驅動電壓下於次 T 型端下方 1200 μm 處之混合效率比較圖.....	77
圖 4.17 微流道中 DNA 的濃度隨時間變化圖.....	79
圖 4.18 λ -DNA 於傳統大系統及微晶片裝置切位反應之膠電泳比較圖....	80
圖 4.19 ϕ X-174 DNA 與 Hae 切位酵素持續進行切位反應時，於不同時間進行 DNA 分離之產物，分別為：(a) 6 min，(b) 12 min 及 (c) 18 min.....	82
圖 4.20 ϕ X-174 DNA 與 Hae 酵素進行切位反應 25 分鐘所得的結果.....	83
圖 4.21 不同聚焦寬度之流體影像圖，(a) 90 μm ，(b) 75 μm ，(c) 60 μm ，(d) 45 μm ，(e) 30 μm ，(f) 15 μm	84
圖 4.22 在施加不同電壓下之聚焦寬度統計結果.....	85
圖 4.23 圖 4.23 樣品流中心偏移之影像圖，(a) 示意圖，(b) 下偏 45 μm ，(c) 下偏 30 μm ，(d) 下偏 15 μm ，(e) 正中央，(f) 上偏 15 μm	85
圖 4.24 微流體聚焦之粒子流動連續影像圖.....	86
圖 4.25 微粒子於顯微鏡載玻片上靜態搬運之連續影像圖.....	88
圖 4.26 微粒子於微流道內搬運之連續影像圖.....	89
圖 4.27 微流道中流動粒子捕捉之連續影像圖.....	90
圖 4.28 光鉗捕捉力之黏滯拉力法測試示意圖.....	91
圖 4.29 流體流速與捕捉粒子所需之雷射輸出功率關係圖.....	91
圖 4.30 雷射輸出功率與橫向捕捉力之關係圖.....	92

圖 4.31	微粒子於微流道中受到光鉗橫向吸引之路徑變化連續影像圖.....	93
圖 4.32	10 μm 微粒子於微流道中進行分類之連續影像圖.....	95
圖 4.33	5 μm 微粒子於微流道中進行分類之連續影像圖.....	96
圖 4.34	5 μm 及 10 μm 微粒子於微流道中進行分類之連續影像圖.....	98

表目錄

表 3.1 PMMA 之材料性質及熱壓成型參數.....	50
------------------------------	----

中文摘要

近年來在眾多微機電研究領域中，將微流體元件應用於生醫檢測尤其受到重視。然而，流體於微型化之微管道中流動時，其雷諾數非常小，對於生物反應須將不同生物樣本進行均勻混合的應用，將因微流體係以層流的特性來流動，因此僅能藉由擴散作用來進行混合，而造成需要較長的微管道或較長的擴散時間來達成。

為彌補上述缺失，本研究首先提出一利用交替切換之電滲透流驅動的微型混合器，並分別提出 T 型及雙 T 型兩種微管道設計。該混合器係直接利用驅動流體之電滲透力當作液體混合之作用力。因此，該混合器不需任何可動元件，或任何外加的機械力便可以獲得良好之混合結果。此外，在 T 型微流體混合器方面，本研究又提出一新穎之箝位切換模式，藉此來增大流體的擺幅，以提升混合性能。該研究不但透過實驗予以驗證，並利用電腦模擬分析其混合效果。藉由實驗與模擬的驗證，本研究所發展之混合器，其混合效能可在兩不同樣本液交界處下方行經 1 mm 時，即能獲得高達 95% 以上之混合效率。此研究所提倡之新方法，可容易地被運用於解決微全程分析系統領域內的混合問題。

此外，為了驗證上述微混合器於生醫反應的可行性，本研究並將其應用於一電驅動之整合型 DNA/酵素反應裝置，其包含：DNA 預濃縮區、DNA/酵素混合區、DNA/酵素溫控反應區及 DNA 純化區之整合型微流體晶片，以進行 DNA 之酵素切位及萃取收集之研究。在此晶片中，其濃縮部分係將 DNA 於瓊脂膠中進行電泳來達成。而試劑混合區，係利用交替切換電滲透流來達成液體混合的效果。另外，在混合器後端設計一長段的酵素反應區以進行 DNA 之酵素切位，並輔以溫度控制以提高其反應效率。研究採用 λ -DNA 和限制酶 EcoRI 的切位反應，並以大型膠電泳來驗證此系統的反應效果。結果顯示，原先在大型系統需要四十分鐘方能完成之 DNA 切位反

應，在微晶片系統中僅需大約十八分鐘即可完成。為達成晶片中之連續反應及檢測，本研究也利用 ϕ X-174 DNA 與 HaeIII 切位酵素進行晶片反應效能之測試，並透過線上十字形毛細管電泳晶片來驗證，確可分離出切位後的 ϕ X-174 DNA 片段。

而為了早日落實「晶片實驗室」的理念，本文也提出一創新之細胞/粒子操控平台，該系統成功地整合了雷射光鉗及電驅動式微流體晶片。此晶片具備一聚焦機構可用以進行流體聚焦，使樣品流中之粒子得以依序排列經過雷射光鉗作動區。在本研究中，分別於微管道內進行粒子的靜態搬運、流動粒子的捕捉及行走路徑切換/分類的實驗測試，並且針對微流道中粒子之捕捉力大小作一分析。此研究所提之創新方法，係一非接觸式之微粒子操控法，其可容易地被運用於樣品中特殊致病性細胞之捕捉、搬運、操縱及分類，並可解決微全分析系統領域內的細胞/粒子操控問題。

本論文中，選用鈉玻璃作為晶片之基材，並分別提出了一利用交替電滲透流驅動之微流體混合器、高速 DNA/酵素反應模組及整合光鉗之細胞操控/分類平台，其效果不僅經理論及實驗驗證，並獲得良好之效果。本文作者相信，此研究所達成之成果，將對未來微全分析系統之發展做出重要之貢獻，並期能藉由本研究之成果發展出一完全整合之電驅動式快速生醫檢測系統，以達成晶片實驗室之理想。

關鍵詞：電滲透流、微混合器、光鉗、細胞操控、生醫檢測、微流體

Abstract

Integrated microfluidic devices for biomedical analysis attract lots of interest in the MEMS (Micro-Electro-Mechanical-Systems) research field. However, the characteristic Reynolds number for liquids flowing in these microchannels is very small (typically less than 10). At such low Reynolds numbers, turbulent mixing does not occur and homogenization of the solutions occurs through diffusion processes alone. Hence, a satisfactory mixing performance generally requires the use of extended flow channels and takes longer to accomplish such that the practical benefits of such devices are somewhat limited. Consequently, accomplishing the goal of μ -TAS requires the development of enhanced mixing techniques for microfluidic structures.

This study first presents a microfluidic mixer utilizing alternatively switching electroosmotic flow and proposes two microchannel designs of T-form and double-T-form micromixer. Switching DC field is used to generate the electroosmotic force to drive the fluid and also used for mixing of the fluids simultaneously, such that moving parts in the microfluidic device and delicate external control system are not required for the mixing purpose. Furthermore, this study also proposed a novel pinched-switching mode in the T-form microfluidic mixer, which could be effectively increase the perturbation within the fluid to promote the mixing efficiency. In this study, computer simulation for the operation conditions is used to predict the mixing outcomes and the mixing performance is also confirmed experimentally. Result shows the mixing performance can be as larger as 95% within the mixing distance of 1 mm downstream the common boundary between the different sample fluids. The novel method proposed in this study can be used for solving the mixing problem

in a simple way in the field of micro-total-analysis-systems.

Furthermore, in order to demonstrate the proposed micromixer is feasible for on-line bio-reaction, this study designs a fully integrated device for demonstration of DNA/enzyme reaction within the microfluidic chip. The microchip device contains a pre-column concentrating region, a micro mixer for DNA-enzyme mixing, an adjustable temperature control system and a post-column concentration channel. The integrated microfluidic chip has been used to implement the DNA digestion and extraction. Successfully digestion of λ -DNA using EcoRI restriction enzyme in the proposed device is demonstrated utilizing large-scale gel electrophoresis scheme. Results show that the reaction speed doubled while using the microfluidic system. In addition, on-line DNA digestion and capillary electrophoresis detection is also successfully demonstrated using a standard DNA-enzyme system of ϕ X-174 and Hae III.

Finally, this reasearch also proposes a novel cell/microparticle manipulation platform by integrating an optical tweezer system and a micro flow cytometer. During operation, electrokinetically driven sheath flows are utilized to focus microparticles to flow in the center of the sample stream then pass through an optical manipulation area. An IR diode laser is focused to generate force gradient in the optical manipulation area to manipulate the microparticles in the microfluidic device. Moving the particles at a static condition is demonstrated to confirm the feasibility of the home-built optical tweezer. The trapping force of the optical tweezer is measured using a novel method of Stocks-drag equilibrium. The proposed system can continuously catch moving microparticles in the flowing stream or switch them to flow into another sample flow within the microchannel. Target particles can be separated from the sample particles with this high efficient approach. More importantly,

the system demonstrates a continuously manipulation of microparticles using non-contact force gradient such that moving parts and delicate fabrication processes can be excluded. The proposed system is feasible of high-throughput catching, moving, manipulation and sorting specific microparticles/cells within a mixed sample and results in a simple solution for cell/microparticle manipulation in the field of micro-total-analysis-systems.

In this thesis, low-cost soda-lime glass substrates are adopted for the microchip fabrication using a simple and reliable fabrication process. Three kinds of novel microfluidic devices including an electrokinetically-driven microfluidic mixer, a high throughput DNA/enzyme reactor and an optically cell manipulation platform are successfully demonstrated. It is the author's believes that the results of this study will give important contributions in the development of micro-total-analysis-systems in the future. With the success of this study, we have a further step approaching to the dream of lab-on-a-chip system for bio-analytical applications.

Keywords: electroosmotic flow, micromixer, optical tweezer, cell manipulation, biomedical analysis, microfluidic

第一章 緒論

1.1 前言

近年來，由於微機電系統（Micro-Electro-Mechanical-Systems, MEMS）技術的進展，使得許多原本龐大之元件得以微小化，而開始有學者利用此一技術，從事以往所無法進行之實驗，例如細胞之操控以及蛋白質或 DNA 之分離...等。而在眾多微機電研究領域中，將微流體元件應用於生醫檢測尤其受到重視[1]。其藉由微機電製程技術所生產之微流體生醫檢測晶片，不但具有高檢測效能、低樣品消耗量、低消耗能源、體積小以及微機電批量製程所帶來的低製作成本，及可製作低成本的可拋棄式晶片，以減少交互污染等好處。此外，其在整合微流體、即時反應以及同步分析之微全程分析系統（Micro-Total-Analysis-Systems, μ -TAS）中，具有不可忽視之發展潛力以及市場應用價值。微全程分析系統的誕生將帶給人類生活上一大變革，其不但可隨時、隨地的利用此可攜式檢測儀從事個人生理情況的分析，更可利用此一系統來做環境偵測、食品檢測以及各種的化學分析。該系統不但快速、省時且僅需少量的檢體即可辨識，相當具有環保的概念。

因此，整合型快速生醫檢測技術之發展，乃目前生物技術之重點方向之一。由於該產業所需具備之技術層次較高，生產所需之廠房面積小，所衍生之附加利益高等許多特性。所以許多學者皆認為該技術是當前台灣生技產業可以切入的一個著力點。以美國 FDA 的管制規範而言，該組織對於

生醫檢測技術相關的法規限制較許多藥品和侵入性檢測技術少，因此發展之限制也較少，研究與商業化之機會因而較多。除此之外，快速生醫檢測技術對於人類疾病之檢測甚為重要，越快速的得知檢測結果，便可為病患增取更多的治療時間，因此，利用微機電製程技術所製作之生物晶片便可提供此一需求。

然而，隨著微型化之後，元件中許多的行為便與大型系統產生極大的差異，其中最值得注意的即是微管道內流體的特性。由於元件尺度變小，因此流體於微管道中流動時的雷諾數（Reynolds number）非常小，其數值遠低於可以造成紊流（turbulent flow）的 2500，所以流體在未施加任何外力時，於微管道中僅能以層流（laminar flow）方式流動。此一特性在微流體晶片中扮演著相當重要的角色，諸如：樣本傳輸[2]、聚焦[3]以及樣本流道切換[4]的作動，皆須仰賴層流此一穩定的流場特性來達成。但其對於微流體晶片領域之發展亦帶來了一需克服之難題，由於在從事任何生物反應時皆須將不同的生物樣本進行均勻的混合，以得到快速且準確的反應結果，但其微流體係以層流的特性來流動，因此流體於微管道中流動時，僅能藉由擴散作用進行混合，所以往往需要較長的微管道或較長的擴散時間，以達成不同種溶液的混合。然而，此一作法卻減低了微型化所帶來輕薄短小及快速檢測的優點，因此如何在微管道中進行快速流體混合，便成為一重要的研究課題。

本研究為發展一整合型之快速生醫檢測系統，分別提出了一整合光鉗之細胞操控/分類平台、高效能之電驅動微流體混合器及晶片上之高速 DNA/酵素反應模組，以期能發展出一微全程分析系統。此一研究所提出的概念如圖 1.1 所示，包括：細胞培養皿模組、DNA/酵素反應模組及整合酵素反應之毛細管電泳檢測模組，其中藍色方塊為此研究目前已建構完成之元件。其整個系統之運作流程如下所述：該整合型晶片可應用於疾病檢測，在操作時直接通入待測樣本，並從事細胞計數及致病性細胞的分類/收集的動作，且在晶片中進行細胞胞解，細胞內 DNA 之萃取、收集，並利用微型混合器將 DNA 與分解酵素進行 DNA 切割。之後，則將切割完畢之 DNA 與其他生物樣本、試劑等雜質分離並集中，隨後進入毛細管晶片電泳管道中進行電性量測，而完成一整合之「晶片實驗室」系統。該系統之特點在於晶片上之所有模組均由一部高壓電源供應器所供給，藉由驅動電源程式化之電源供給，以序列方式進行各模組之操作，而完成整個檢測過程，此一設計不僅可以大幅降低系統操作之複雜性與成本之外，並可避免各種不同模組在不同驅動力下之連接問題。

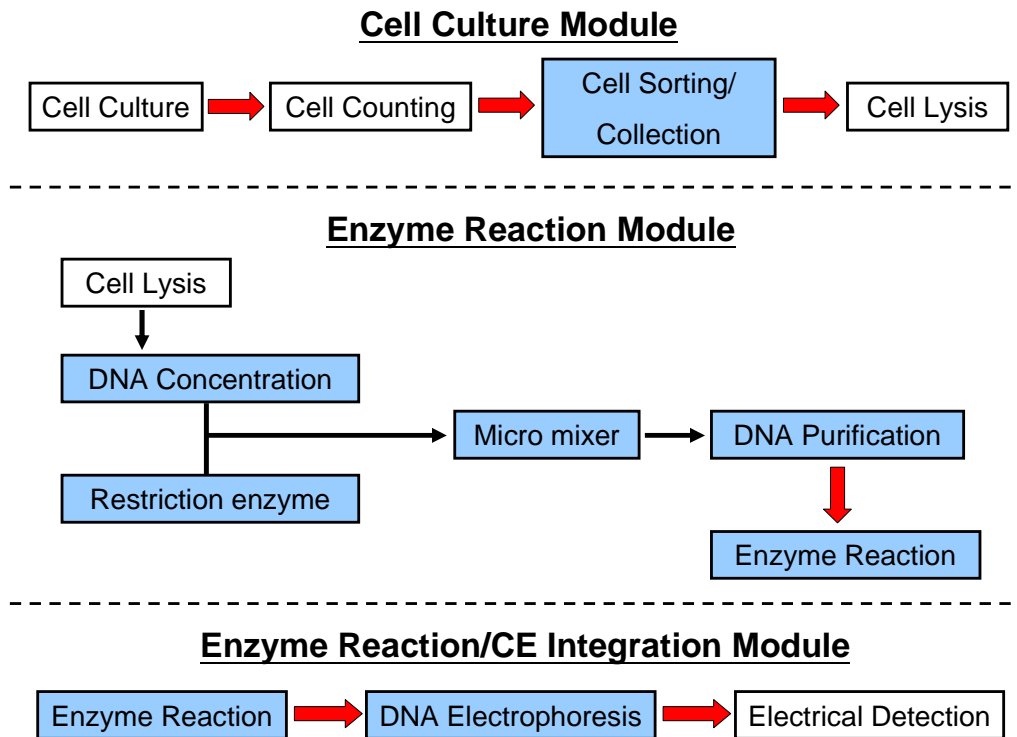


圖 1.1 整合型快速生醫檢測系統之工作流程圖。

1.2 生醫微機電系統

諾貝爾獎得主費曼 (Richard Feynman) 在 1959 年於加州理工學院發表了一場題目為「There's plenty of room at the bottom」的演講[5]，該場演講中首次提出了在微觀的世界裡仍有太多的東西是吾人所未知的，並具有無限的可能等待去研究開發。而在近十餘年，隨著半導體製程技術的蓬勃發展、技術成熟，使得製作微機電元件的可行性大大提升，並且為微機電系統技術奠定了發展的基礎。此後，微機電系統技術的發展隨即蓬勃了起來。所謂微機電系統技術，其係一種系統整合的技術，它整合機械、光學、電子、電機、生物及化學等多種技術，將微感測器、微致動器及微處理器等元件模組化於單一晶片上，以應用於生醫檢測、光通訊、精密機械及電

腦週邊產品等領域。

一般而言微機電系統的定義係利用微加工技術研製出微細元件及組件，並整合微電子電路與微控制器而形成的系統。以精度而言，微機電系統的定義又可為二類：

(1) 尺寸精度：元件本身的尺寸大小在微米範圍之內；

(2) 運動精度：元件的作動行程能達到微米尺度的範圍，但元件本身的大小並無限制。

而目前微機電系統領域的微製造技術可分為兩大類，分別敘述如下：

(1) 矽基微細加工：包括面型微加工 (Surface micromachining) 體型微加工 (Bulk micromachining) 技術；

(2) 非矽基微細加工：包括深光刻電鑄模造技術 (Lithographie, Galvanoformung, Abformung, LIGA) 類深光刻電鑄模造技術 (LIGA-like) 微機械加工、高分子微加工等技術。

在微機電系統的應用領域裡，其與生物醫學結合而成的生醫微機電系統 (Bio-MEMS) 是目前最受矚目的應用之一。在 1990 年代初期，微全程分析系統 (Micro-Total-Analysis-systems, μ -TAS) 的概念首先被 Manz 等學者提出[1]，此一系統最顯著的概念除了檢測裝置被微小化之外，尚可在需要高精確度以及高穩定度的系統中運作，並可將許多元件整合於一微小區域內、批次製造 (batch process) 可以有效的降低成本以及提高產業競爭力，

更重要的是分析效能大大地提升。其藉由微機電的技術，將傳統大型的分析儀器微小化並整合於一晶片中，將這些具有進樣（sampling）、反應（reaction）、分離（separation）及偵測（detection）等功能整合於同一晶片上。在此一微小的晶片中即能完成眾多實驗室設備可以完成的工作，所以該晶片又被稱為實驗室晶片（Lab-On-a-Chip, LOC）[6]。而該晶片的主要特點係其所使用的偵測樣本及試劑量少，能快速分析且精確性高。基於生物相容性材料考量，通常用玻璃、矽晶片、高分子等為基材，利用微小化技術，製作成應用於生醫化學分析的微小晶片。

1.3 文獻回顧

1.3.1 微型混合器

混合的工作在微尺度的領域裡，面臨了相當大的考驗，由於在微流道內其雷諾數相當的低，因此想要藉由紊流的效應來混合兩種以上的流體是相當困難的事。在近幾年，關於在微管道中進行混合的方法陸續被提出，其大致上可分為主動式混合器（active micromixer）和被動式混合器（passive micromixer）兩大類。所謂主動式混合器，即是在流體中施加額外的能量源以造成局部紊流進而增加其混合的效率，其中包含以機械力方式造成混合[7,8]、利用微電極在局部區域進行介電泳力操作以造成渾沌流場[9]或是利用超音波震動產生混合[10]。而被動式混合器，則完全沒有任何的可動元件，其輔助混合的方法是藉由各式各樣的微結構，來增加不同流體間的相

互接觸面積，其包括多孔式進料法[11]、三維折疊法[12]，其混合的過程全靠流體本身的擴散作用來達成。而在近幾年所發展之微型混合器中，僅列舉數項較為特殊者詳述如下：

a. 主動式混合器

Lee 等學者在 2004 年提出一種藉由區域性電容效應形成之微型電動力驅動混合器[13]，該電容效應可引發藉由玻璃基材所製成之微型管道壁面的界面電位變化。如圖 1.2 所示，以微機電製程技術製作之 T 型混合器係在玻璃基材上蝕刻出主流道及側面電極管道，並沉積金/鉻於側面電極管道中以形成電容電極。此電容可將電滲透流 (electro-osmotic flow, EOF) 內於鄰近管道之電雙層 (electrical double layer, EDL) 中激發出局限在一定區域內之界面電位變化，該變化可在同質流體中形成流速之改變，並可加強異質流體之混合效應。因此，微型混合器係藉由施加側壁電壓時鄰近電雙層流體速度之阻滯及兩側電壓之交互作用而形成。根據其實驗的結果指出，其可在 T 型交界處下方 2250 μm 處，達到 85% 以上之混合效率。

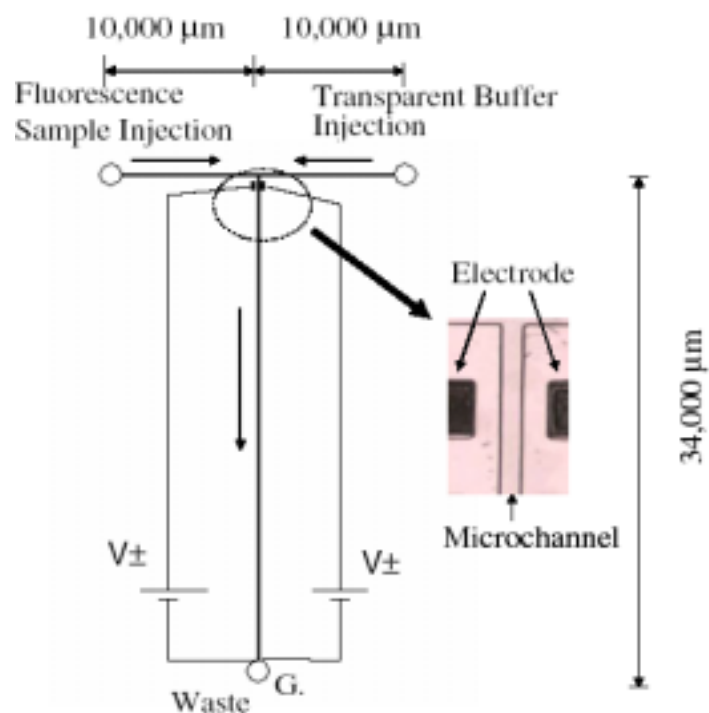


圖 1.2 利用週期性壁面效應變化之微型混合器[13]。

Dodge 等人在 2004 年提出一渾沌式混合器[14]，如圖 1.3 所示，其於兩種不同液體交界處下方，交替式地施加空氣壓力的模式來產生樣本流體推擠的動作，藉此來產生流體的不穩定性以增加不同流體間的相互接觸面積，來提高混合的性能。該元件的設計主要係由三層結構所組裝而成，分別使用玻璃和 PDMS 高分子材料，藉由空氣壓力的施加可使 PDMS 軟性模板產生形變，此時位於下室樣本流的容積會受到壓縮，而使得該流體被擠出至主管道，當兩側管道分別週期性的施加空氣壓力時，即可有效地對主管道內的流體產生渾沌的現象，來獲得優越的混合效能。

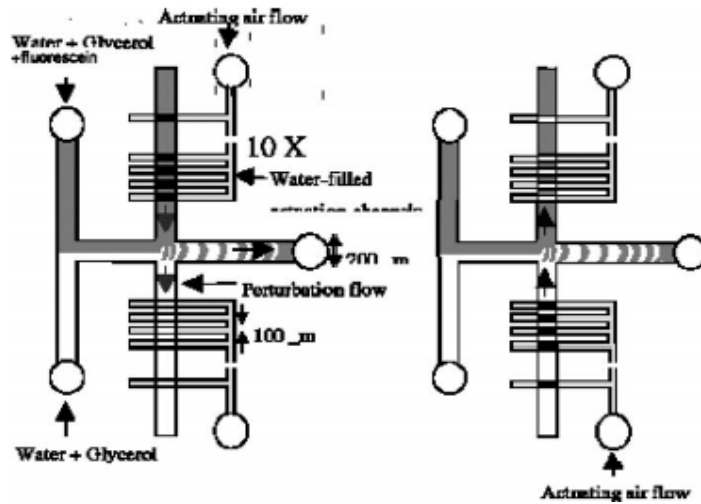


圖 1.3 利用交替式施加空氣壓力於側管之渾沌式混合器[14]。

Yaralioglu 等人在 2004 年提出了一整合換能器於微管道之超音波震動混合器[10]，如圖 1.4 所示。微流體晶片所使用的材質分別為石英基板及 PDMS，並透過氧電漿（ O_2 plasma）來進行晶片接合的工作，而超音波元件係選用 ZnO 來當作微電極材料。其設計的方式是在兩不同液體相互接觸之主管道正下方外側佈置非對稱的電極排列圖形，並且製作各種不同大小、數目及排列方式的超音波元件來從事混合試驗。

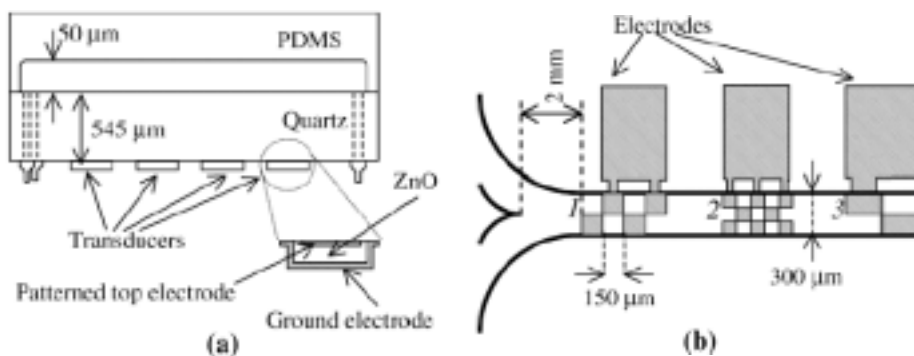


圖 1.4 整合換能器於微管道之超音波震動混合器[10]。

b. 被動式混合器

Kim 等人在 2004 年也提出了一埋置障礙物之渾沌式混合器[15]，如圖 1.5 所示，其主要係在微管道內設計出複雜的微結構，來使流場產生交替式旋轉的現象。該晶片係由 PDMS 灌模技術所製作的，並透過氧電漿來進行上、下板的接合。其設計的概念主要係根據渾沌螺旋桿的作動模式來製作的，於該晶片下板設計一整排之傾斜魚脊溝槽，同時在上板中央位置製作長條形障礙物，藉此來使流場產生雙曲線點及橢圓點，以令微管道內的流體產生交錯式旋轉的現象，來達到混合的目的。

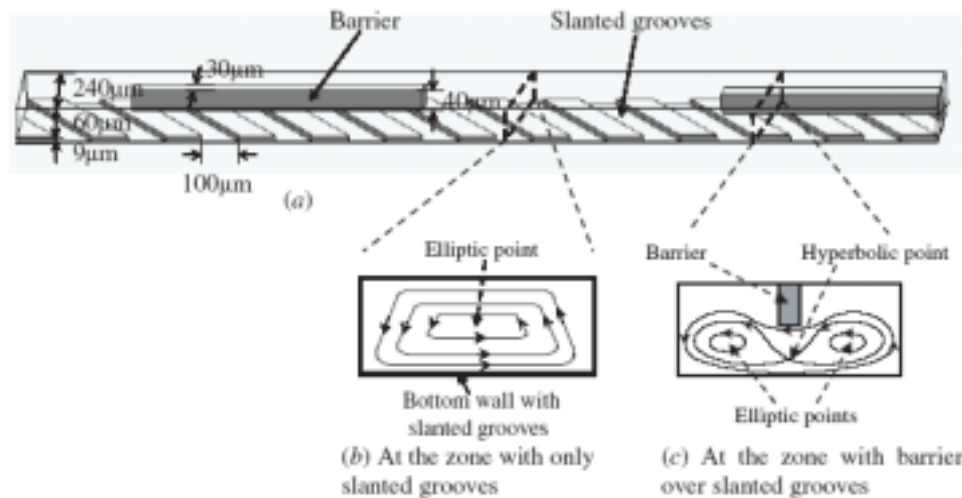


圖 1.5 埋置障礙物之渾沌式混合器[15]。

另外，Hong 等人在 2004 年也提出了一平面型之被動式 Tesla 結構混合器[16]，如圖 1.6 所示，其主要係在微管道內設計一長串之 Tesla 微結構，並藉由 Coanda 的效應以使流場產生互相碰撞的現象，來達到不同液體相互混合的機制。根據其模擬及實驗的結果相對照，該混合器在高流率的條件

之下仍可得到良好之混合效能，且其壓降在 $100 \mu\text{L}/\text{min}$ 的流率情形下可低於 100 kPa ，此一數值在被動式的混合器中可說是相當小的。

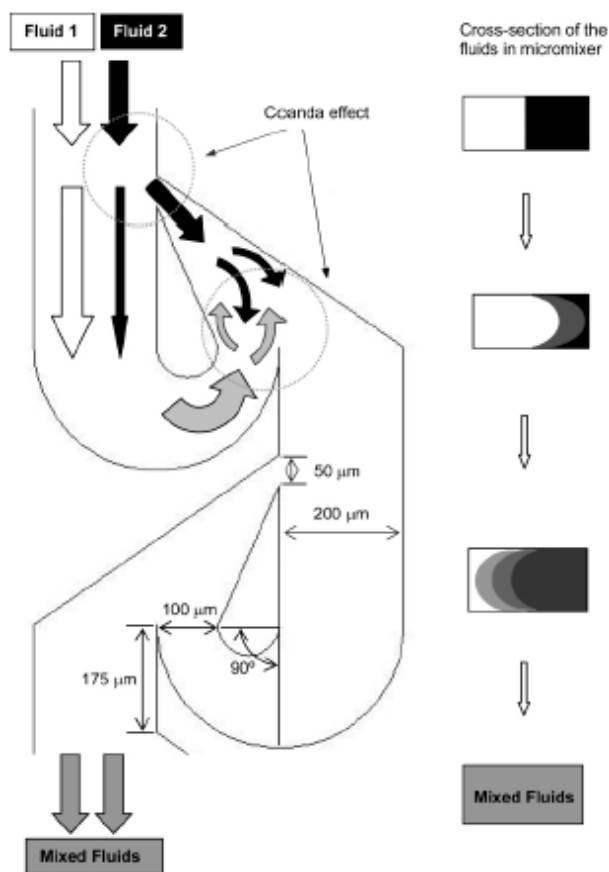


圖 1.6 平面型之被動式 Telsa 結構混合器[16]。

Lin 等人在 2005 年提出了一利用自旋效應之三維渦流式微混合器 [17]，如圖 1.7 所示，其主要係在微晶片底部設計八條樣本流進樣口，利用流體打入室內時所產生的自旋效應來增加不同流體間的接觸面積，以提升混合的效能。該晶片主要係由三片鈉玻璃所製作而成，並透過熔融接合來進行上、中、下板的組裝。而此流體的驅動力僅限定使用液動驅動力，否則該混合器即無法產生自旋效應來得到混合的功能。在此研究中，該學者

並利用不同雷諾數去進行數值模擬，同時將其與實驗結果進行比較。據其結果顯示當雷諾數值為 4 的時候，其混合之效率可達 90% 以上。

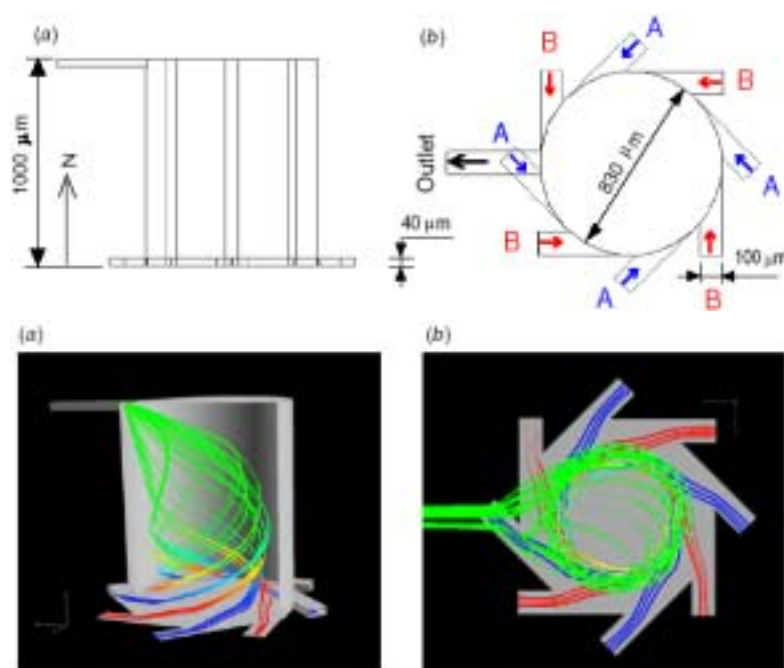


圖 1.7 利用自旋效應之三維渦流式微混合器[17]。

綜觀上述之微流體混合方式，在主動式混合器方面，除流體驅動力之外，均需提供一額外之作用力以混合流體，因此其系統之控制較為複雜，且很難整合成可靠的微流體系統。而在被動式混合器方面，其所需製造的微結構相當複雜，進而導致其製程非常的昂貴，不適合製作成大量且可拋棄式之晶片。

1.3.2 微型細胞分類器

迄今，已有相當多位學者提出許多種方法來操控微流道內之生物樣本，但這些大多得在微管道內製作一些相當複雜的微結構。例如：有些學

者提出在微管道內利用微小電極組的設計，縮小其電極之間距，即可在高頻率和低電壓下產生強大的非均一性電場，利用細胞在電場內被感應出不同的介電泳效應（dielectrophoresis, DEP）而產生吸引或排斥的原理來分類細胞[18]。或是在微管道內以壓電材料製作一些微結構，利用超音波的效應來對微粒子作操控[19-20]。也有學者利用電磁場的特性，藉由微機電的技術將電磁元件整合於微流道內，使其具備微粒子/細胞分類的功能[21]。綜上所述，雖然各元件皆可達到其功能性，但其製作過程皆免不了要透過昂貴的鍍膜製程來達成，此舉對於拋棄式晶片的理想呈現兩極化的背離。以下僅列舉數項較為特殊者進行詳述：

Jagannathan 等人在 2003 年提出了一整合微加工聲波換能器於微管道之流體切換開關[20]，如圖 1.8 所示。該晶片所使用的材質分別為石英基板及 PDMS，並透過氧電漿（O₂ plasma）來進行晶片接合的工作，而聲波元件係選用 ZnO 來當作微電極材料，且該聲波元件係製作於微流道內與樣本溶液直接接觸。其設計的方式是在樣本流道分叉處兩入口端分別置放一聲波元件，當一入口端之聲波元件作動時，管道內的流體則無法從該入口端進入，而被帶往另一端傳送來達成分類/切換的效果。

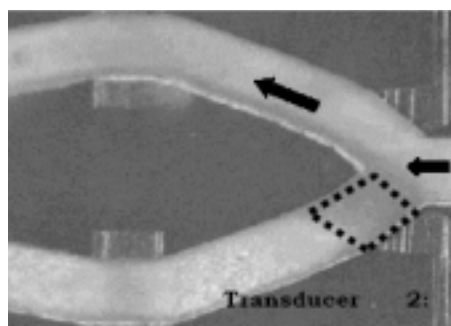


圖 1.8 整合微加工聲波換能器之微流體切換開關[20]。

Rong 等人在 2003 年提出一種整合磁性微奈米尖端之磁珠/細胞分類器 [21]，如圖 1.9 所示，此晶片係選用矽晶圓當作基材，而磁性元件是由鎳鐵合金所構成的。該晶片的作動原理主要係於管道交界處分別置放一磁場，根據欲分類之流向來啟動各個磁場線圈，以達到磁珠分離的功能。根據其實驗結果指出，此元件之分類的效率與其提供激磁的電流大小有關，當施加電流大於 500 mA 時，即可獲得 75% 以上的分離效率。

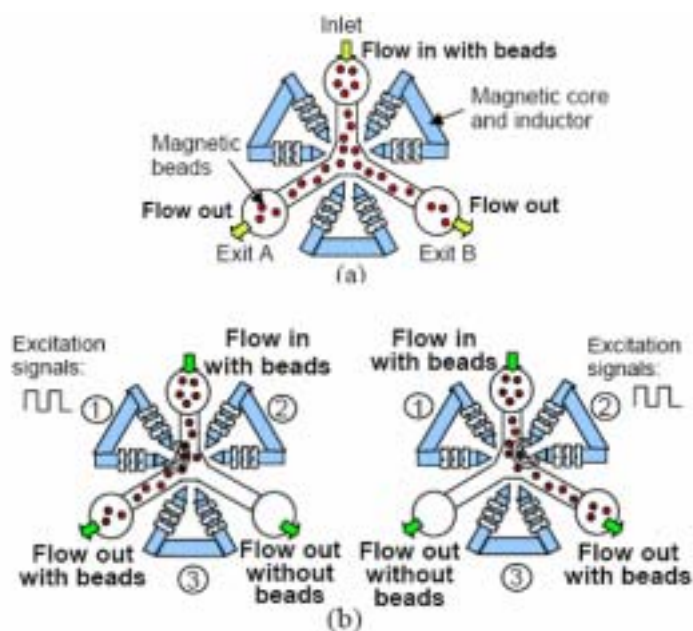


圖 1.9 整合磁性微奈米尖端之磁珠/細胞分類器[21]。

Doh 等人在 2005 年提出一種藉由液動介電泳力之連續式細胞分類晶片 [22]，如圖 1.10 所示，該晶片係由矽晶圓及 PDMS 所製作，利用氧電漿以進行接合的。其分類的原理係根據細胞樣本本身所帶的電荷性質不同，其會分別產生正、負介電泳力來進行分類。據其實驗結果指出，當細胞樣本的流率增加時，其分類的效率仍可維持不變。

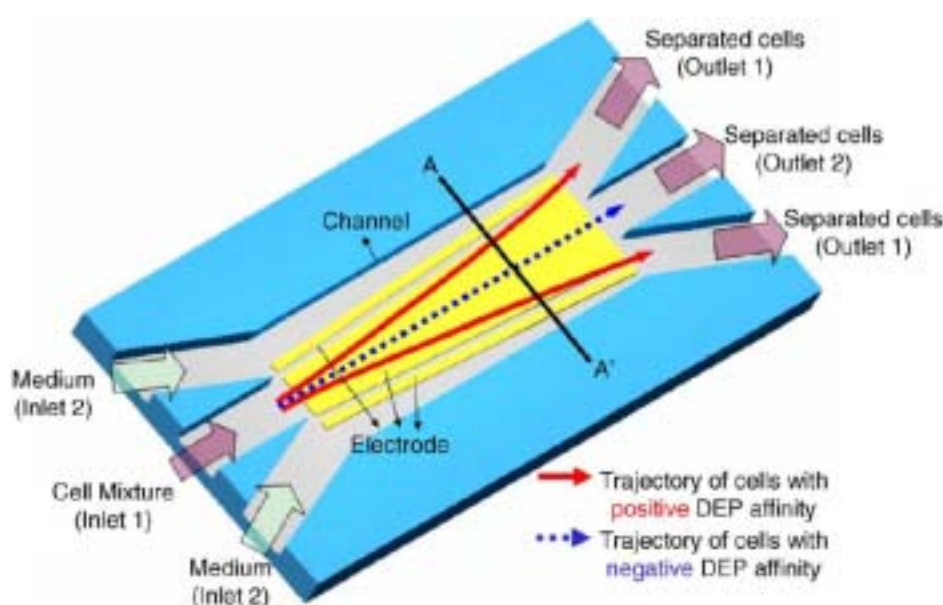


圖 1.10 利用液動介電泳力之連續式細胞分類晶片[22]。

另外，Rodrigo 等人在 2002 年首先提出利用光鉗此一非接觸式之操縱模式，以展現微管道細胞分類的概念[23]，如圖 1.11 所示，但其並無實際的實驗結果。該研究主要是驗證將光鉗系統與電腦迴授控制相結合之下，可執行較為複雜之微粒子排列、搬運的動作，並且已可根據粒子顏色的不同來執行所需的工作。

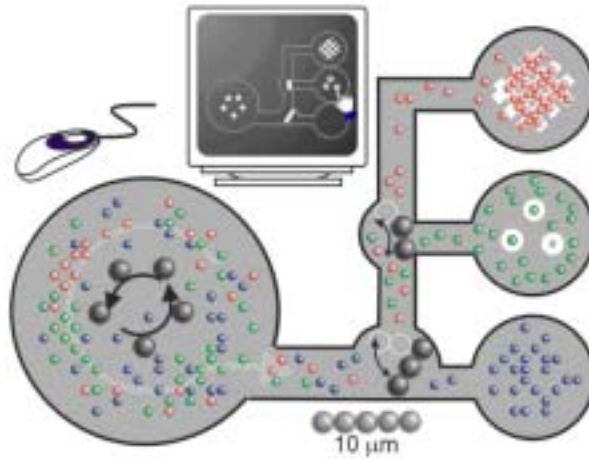


圖 1.11 整合光鉗及電腦迴授控制之微流體細胞分類系統[23]。

Ozkan 等人在 2003 年也提出利用光鉗去操縱微流體裝置內的生物細胞來從事分類的研究[24]，其分別提出了兩種操縱模式，如圖 1.12 所示。圖 1.12 (a) 是利用光鉗在一 T 型微流道進行粒子捕捉/搬運、分類的工作，而圖 1.12 (b) 是在一雙層 X 型的微流道內進行分類，其利用光鉗的吸引力將上層的粒子吸引到下層的流道來從事分類的工作。

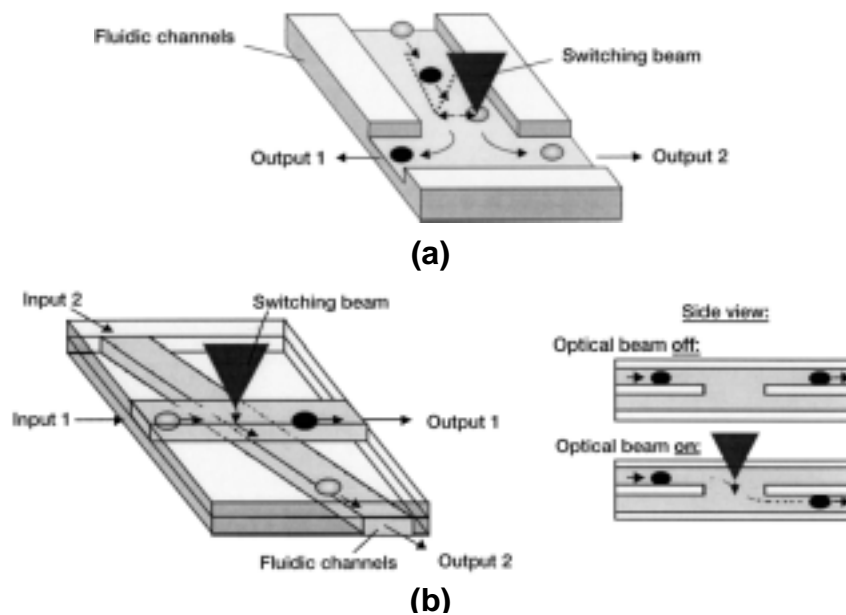


圖 1.12 整合光鉗及微流道之細胞分類器[24]。

Enger 等人在 2004 年也利用光鉗去從事微流體細胞分類的研究[25]，如圖 1.13 所示，該流體之驅動力係利用電驅動的方式達成。其首先利用光鉗將微流道內的酵母菌進行捕捉，再將其搬運至側管來進行分類及收集的工作。由此可見此一研究所提出之方法，由於一次僅能搬運一個生物樣本，因此其分類之效能相當的低。

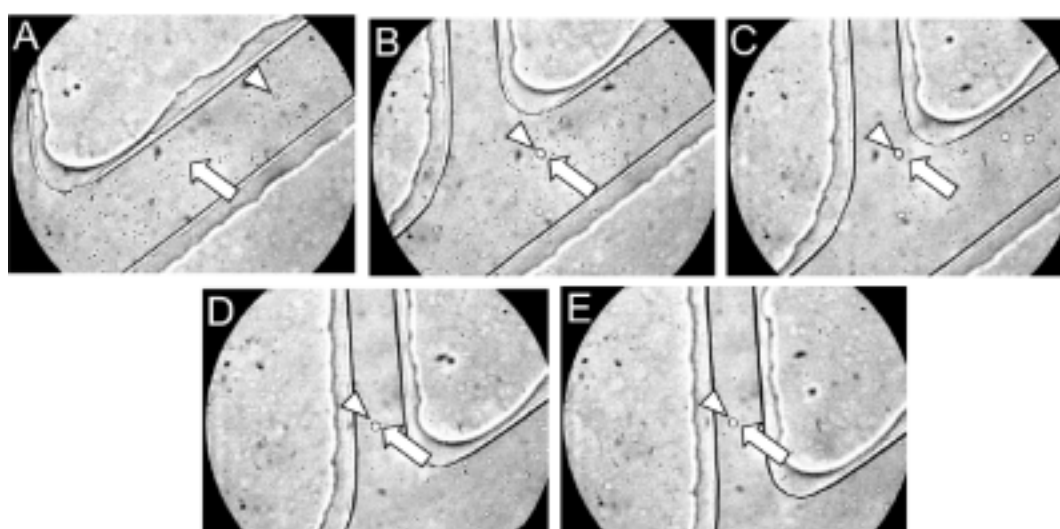


圖 1.13 利用光鉗操縱之微流體細胞分類器[25]。

1.3.3 整合型晶片實驗室

整合乃微機電製程技術之重要概念與優勢，現今而言，許多利用微機電所製作之微型生醫檢測元件均已逐漸發展成熟，諸如微型混合器[7-17]、微型 PCR 裝置[26-28]，微型細胞分解裝置[29]，以及晶片電泳裝置[30]等。此外亦有許多的研究嘗試將數個獨立元件加以整合而成為一整合型晶片，以下將分別針對各學者所提出的研究成果來加以說明：

Jacobson 等人於 1996 年提出一 DNA 切位及片段分析之整合型微裝置 [31], 如圖 1.14 所示。該研究成功地在微晶片中將質體 pBR322 與酵素 *Hin*I 進行切位反應, 並在晶片內直接進行電泳分離 DNA 片段, 根據其實驗結果指出, 已可明確地將該片段完全分出, 以此來驗證微晶片系統於生化反應的可行性, 並帶給了微全程分析系統一大進展。

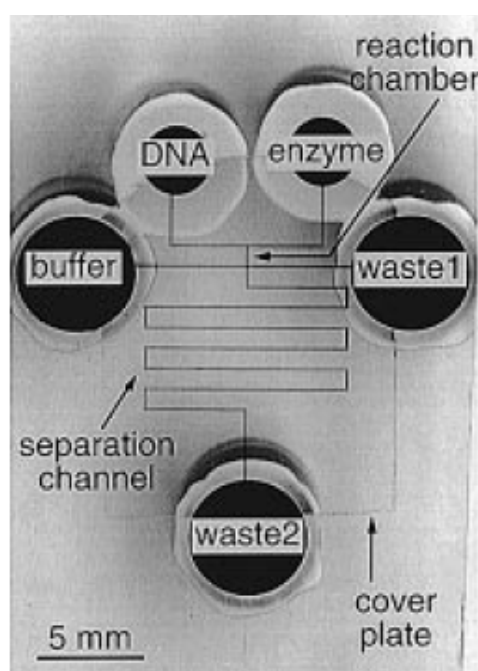


圖 1.14 整合型 DNA 切位及片段分析之微流體晶片[31]。

Waters 等人於 1998 年提出一整合細胞胞解 PCR 放大及電泳片段分析之微晶片裝置[32], 如圖 1.15 所示。該研究成功地将 *E. coli* 細胞於微晶片中進行胞解, 並透過 PCR 放大 DNA 後, 直接在微管道中進行片段分析。另外, 由於該晶片係由玻璃材質所製作而成, 所以此晶片需將管壁進行表面改質, 來抵抗其電滲透流的產生, 以防止分離效率不佳的情況產生。

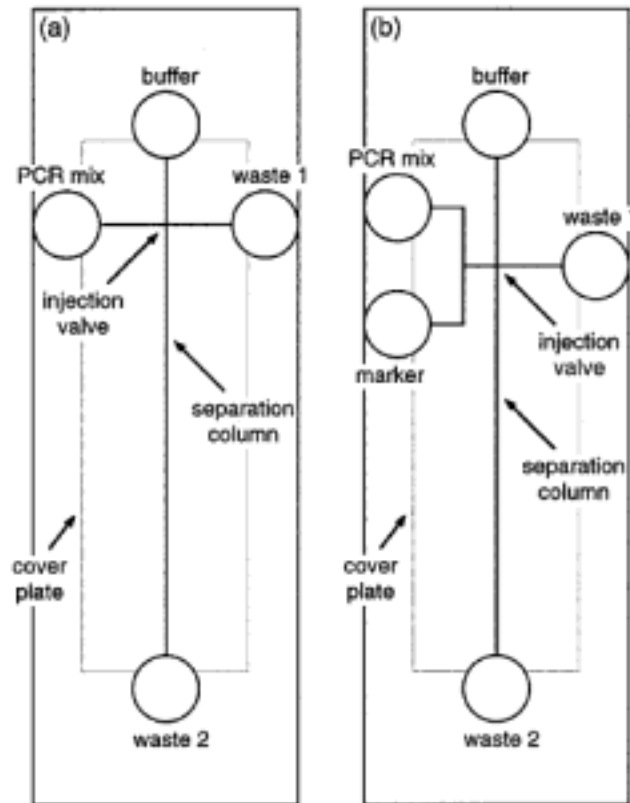


圖 1.15 整合細胞胞解、PCR 放大及電泳片段分析之微晶片裝置[32]。

Koh 等人在 2003 年提出一結合 PCR 放大、微閥以及電泳裝置之晶片 [33]，如圖 1.16 所示。該研究在電泳管道中整合一 PCR 放大裝置，為避免 PCR 操作時之溶液污染電泳管道，造成實驗之失敗。該研究提出一創新之解決方案，其利用進行 DNA 分離時之電泳膠作為一閘門，如此利用電場將放大後之 DNA 樣本牽引至另一處儲存槽，因此可將 DNA 與其他雜質有效地隔離開來，之後即可直接進入晶片毛細管電泳管道進行 DNA 的片段分離及偵測。

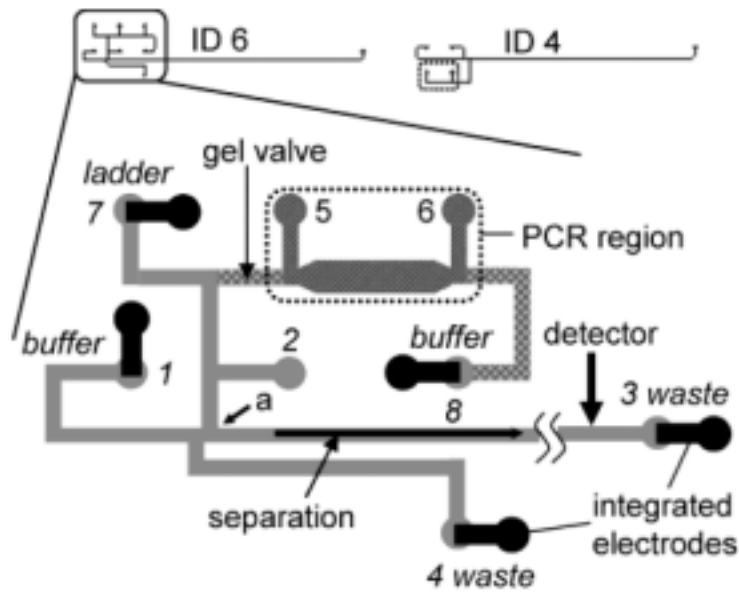


圖 1.16 整合 PCR、微閥及電泳裝置之疾病檢測晶片[33]。

Lee 等人在 2003 年提出一整合 PCR 放大、微晶片電泳 DNA 分離及光學檢測之微流體晶片[34]，如圖 1.17 所示，該晶片主要係由三層結構所構成，上面兩層為 DNA 分離之微管道及光纖偵測結構，而下層則為 PCR 所需之加熱電極、溫度感測器及微晶片電泳驅動電極。另外，該研究為獲得良好之 DNA 分離效果，其提出一新穎之微管壁表面改質方法，於管壁上塗佈一薄層的 SOG (spin-on-glass)，來抑制電滲透流的產生。根據該研究指出，其已成功地利用肺炎雙球菌為樣本，進行 DNA 抽取、放大及檢測，並且獲得良好之結果。

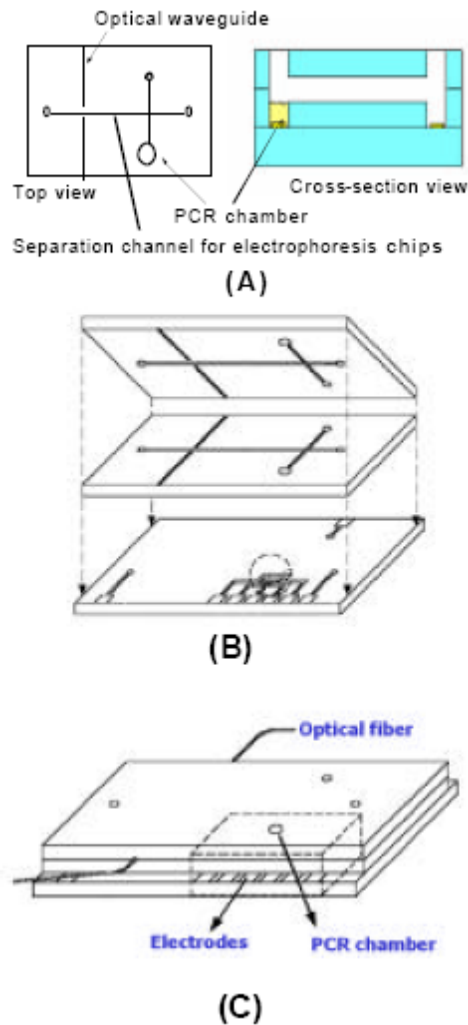


圖 1.17 整合 DNA 放大、電泳分離及線上光偵測之微流體晶片[34]。

Lee 等人在 2005 年提出一全自動化微流體系統來執行 DNA 放大的工作[35]，如圖 1.18 所示，其整合了電滲幫浦、主動式微混合器及晶片溫控系统。其工作的原理，首先係先將細胞放置於胞解槽進行胞解，再將其抽取 DNA，並將所有的生物試劑傳遞至混合室進行均勻混合，以進行 PCR 放大 DNA 的動作。由該研究結果可知，此一整合性裝置已可成功地藉由自動化來將細胞進行 DNA 的抽取及放大。

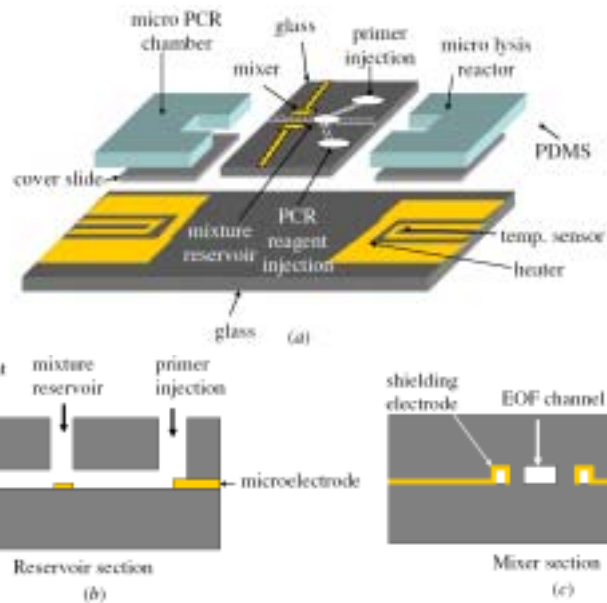


圖 1.18 整合電滲幫浦 微混合器及晶片溫控裝置之自動化微流體晶片[35]

最後，列舉一商品化之整合型微流體晶片[36]，如圖 1.19 所示，該晶片係由華盛頓大學所開發的，並且衍生出一間生物晶片公司（Micronics）。該公司的整合型晶片係由七層高分子結構所組裝而成，其命名為 ORCA chip，此晶片包含一細胞計數裝置、層流萃取裝置、微型混合裝置於單一晶片上，可應用於血液分析的診斷。但此晶片係用壓力驅動，所以必須提供一體積龐大之注射幫浦，其乃唯一美中不足的地方。



圖 1.19 美國 Micronics 公司所生產之整合型微流體晶片(ORCA chip)[36]

1.4 研究動機與目的

a. 電驅動式微混合器

在進行化學反應時，將兩種或多種的試劑、檢體混合是必要的，這個工作在巨觀的尺度容易達成，但一旦進入了微尺度的世界，便不是那麼容易作到。不過為達到迅速診斷的目的，有效率地將試劑混合是需要的。混合程序在生物晶片中扮演著相當重要的角色，諸如：試劑混合、樣品混合、異相萃取、微量藥品配置、DNA 及蛋白質分解等方面皆須透過此一過程來達成。然而，過去所發展之微型混合器其結構過於複雜、且操作程序甚為繁複，其雖可使微流體在微尺度下進行混合，但各自仍具有其缺點與不便性，因而使得晶片系統的整合困難，混合工作時間過長及整體製程造價昂貴，因此發展一簡單且高效能之微型混合器是有其必要性的。

本研究提出了一利用交替式電滲透流驅動之微流體混合器，在此分別開發出 T 型微流體混合器及雙 T 型微流體混合器，其工作原理及系統架設如圖 1.20、圖 1.21 所示。在 T 型微混合器方面，又分別提出兩種操作模式，其為一般切換模式(圖 1.20(a))及箝位(pinch)切換模式(圖 1.20(b))。圖 1.20(a)所示，其利用一典型之 T 型微流體管道進行流體混合的工作，研究中採用一部高壓電源供應器以提供流體電滲透流之驅動，及一個單刀雙開高壓繼電器進行直接交替電滲透流驅動，利用循環切換之電場，造成兩種溶液互相折疊並增加其接觸面積，進而提高流體不穩定性而達成混合

之目的。而圖 1.20 (b) 所示，其提出另一利用雙刀雙閘之高壓繼電器，進行箝位交替電滲透流驅動之操作模式。亦即一端有電滲透流驅動時，另一流體入口端通過一可變電阻接地，利用管道中液體之阻抗及可變電阻所構成之分壓電路，以決定另一入口端之電位，而得以更有效的控制電滲透流切換時，流入另一入口端之溢流量，藉此可使流體的擺動能量增大，進而提高單位長度流體相互接觸的面積，使其迅速且均勻的混合。在雙 T 型微混合器方面，如圖 1.21 所示，操作中利用一固定值之電壓源施加於上端 T 型樣本槽，並於次 T 型端以一繼電器操控等值之高壓電源於樣本液儲存槽交替輸出，藉此電壓源的供應以使樣本液從儲存槽交替注射入混合主管道，來提供混合的機制。因此，本研究所提出之微混合器僅需施加一電動驅動力來驅動樣本液，並同步產生週期性之切換頻率，其不需再增添額外的能量源即可於微管道中產生不穩定的流場，且利用此一週期性切換模式對欲注入溶液進行交錯式樣本注射，亦可增加兩樣本間之接觸面積及時間，有效地提升微尺度內混合的效應。本文所提倡之方法不但製作成本低廉，且相當易於整合在微全程分析系統的晶片當中。

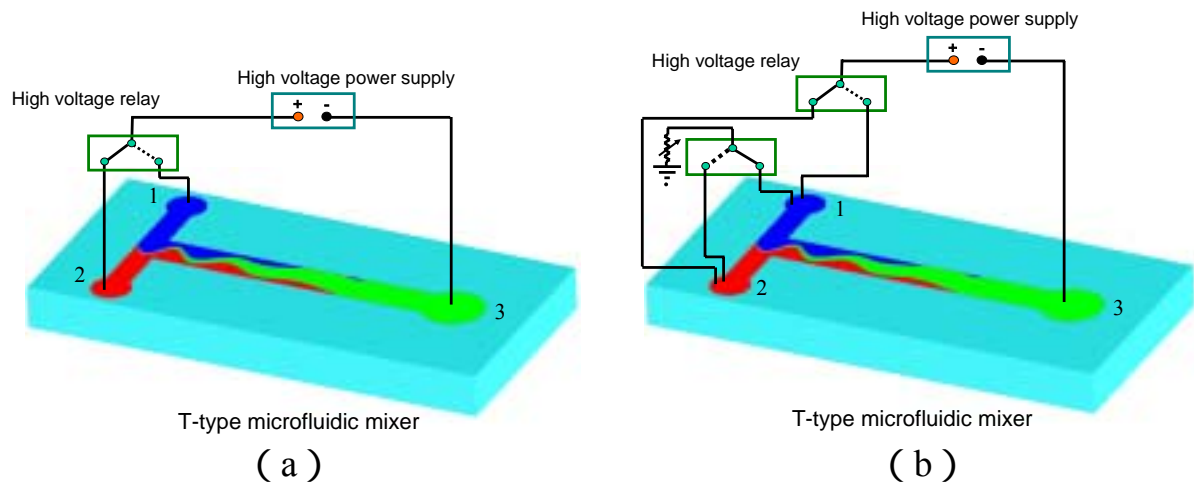


圖 1.20 T 型微流體混合器之工作原理示意圖，(a) 一般切換模式，(b) 箝位切換模式。

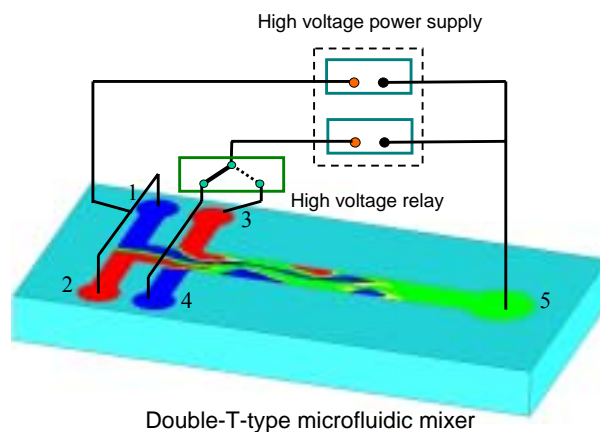
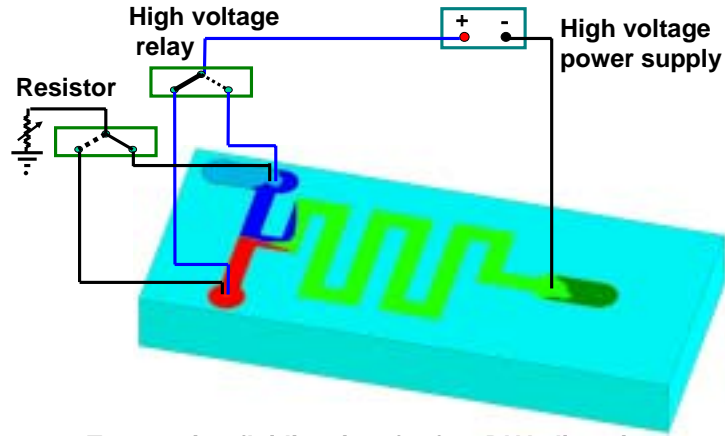


圖 1.21 雙 T 型微流體混合器之工作原理示意圖。

b. DNA-酵素反應及萃取系統

微全程分析系統的實現，其乃從事生醫微機電研究人員的一大目標，因此，如何將各微元件整合於一晶片上是一值得探討之課題，目前利用微加工技術所製作而成之微型生醫檢測元件均已逐漸發展成熟，且亦有許多的學者開始踏入整合型之晶片實驗室這個領域。

因此，本研究也嘗試將目前所開發出來之微型混合器作一整合，來從事微晶片 DNA-酵素切位的研究。圖 1.22 所示為快速 DNA 切位之 T 型混合器工作原理示意圖，其所使用的混合操作模式是利用箝位切換模式來混合生物試劑的。圖 1.23 所示，為 DNA-酵素反應及萃取系統之工作流程圖。而圖 1.24 所示，則為 DNA-酵素反應及萃取系統之晶片實體影像圖，此微裝置包含一 DNA 濃縮之預濃縮管、DNA 與切位酵素混合之混合管、DNA-酵素混合液反應之溫控管及切位 DNA 片段收集之純化管。首先，將欲進行切位實驗之 DNA 作濃縮，在儲存槽 (a) 與儲存槽 (b) 之間填入 1 % agarose gel，依照膠體電泳的原理來進行預濃縮的程序。之後，將濃縮後的 DNA 與切位酵素 (儲存槽 (c)) 於 T 型混合器進行試劑混合的工作，在將此混合液傳輸至下游的溫控反應端來進行切位反應，並於儲存槽 (d) 儲存。最後，將切位完畢之 DNA 片段與其它生物試劑進行純化的動作，此仍是藉由膠體電泳的原理將溶液從儲存槽 (d) 傳輸至儲存槽 (e)，以獲取切位完畢之 DNA 片段。之後，將此 DNA 片段分別以膠電泳及晶片毛細管電泳來驗證此整合型微裝置之效能。



T-type microfluidic mixer for fast DNA digestion

圖 1.22 快速 DNA 切位之 T 型微混合器工作原理示意圖。

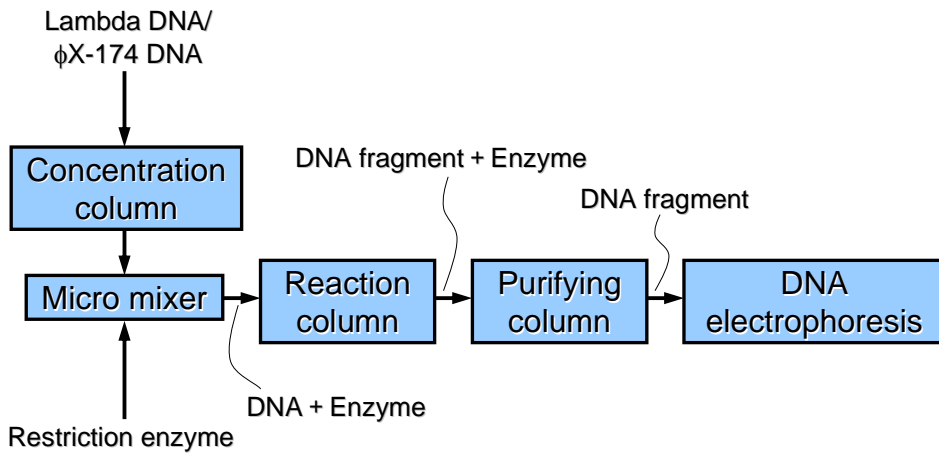


圖 1.23 DNA-酵素反應及萃取系統之工作流程圖。

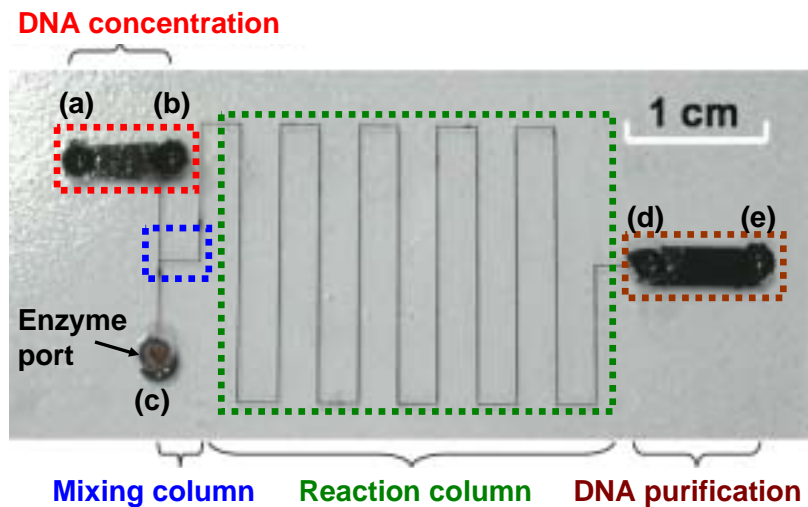


圖 1.24 DNA-酵素反應及萃取系統之晶片實體影像圖。

c. 光鉗操控之細胞分類系統

在生化反應的過程當中，不外乎是需要藉由一些外力來操控微流道中之生物樣本，使其於微尺度的空間裡進行樣本傳輸、混合、微閥開關或者是分類...等工作。而現今大部分細胞分析的研究上，對於特定的細胞或是構成細胞之生物分子的分離及操控是有其必要性的。至今，雖已有相當多位學者提出許多種方法來對細胞及生物分子進行分類及操控。譬如：傳統上所使用的螢光激發細胞分類器 (FACSSs)，由於其分離之效率相當高，所以已廣為大眾所使用，但其樣本必須先經前處理之螢光標的，此過程不但繁雜且螢光染劑大多具有毒性[37]，因此限制其在活性細胞研究之應用。在習知的微粒子操縱術中雖已可達到分類、收集等功能，但各自仍具有其缺點與不便性，因而使得晶片系統的整合困難，工作效率不佳及整體製程造價昂貴。

有鑑於此，本研究乃提出一種非接觸式之微粒子/細胞分類法，該系統成功地整合了雷射光鉗及微流體晶片。如圖 1.25 所示，該晶片具備一聚焦機構可用以進行流體聚焦，使樣品流中之粒子得以依序排列經過雷射光鉗的作動區來達到操控的目的。在本研究中，分別於微管道內進行粒子的搬運、流動粒子的捕捉、行走路徑切換及分類的實驗測試，並且針對微流道中粒子之捕捉力大小作一分析。此一系統的整合，不但可精準地利用雷射束來操控微尺度中細胞/粒子之作動。在透過與雷射光鉗之結合，可使操控

微流道中之細胞、細菌或生物分子為一非接觸式之作動，因此可減少對生化反應所產生的干擾與誤差。且該晶片之製程困難度可大為地降低，其成本也相對的減少，並可為一拋棄式晶片，以避免生醫檢測時交互感染的現象發生。此研究可容易地被運用於樣品中特殊致病性細胞之捕捉、搬運、操縱及分類，並解決微全程分析系統之細胞/粒子操控問題。

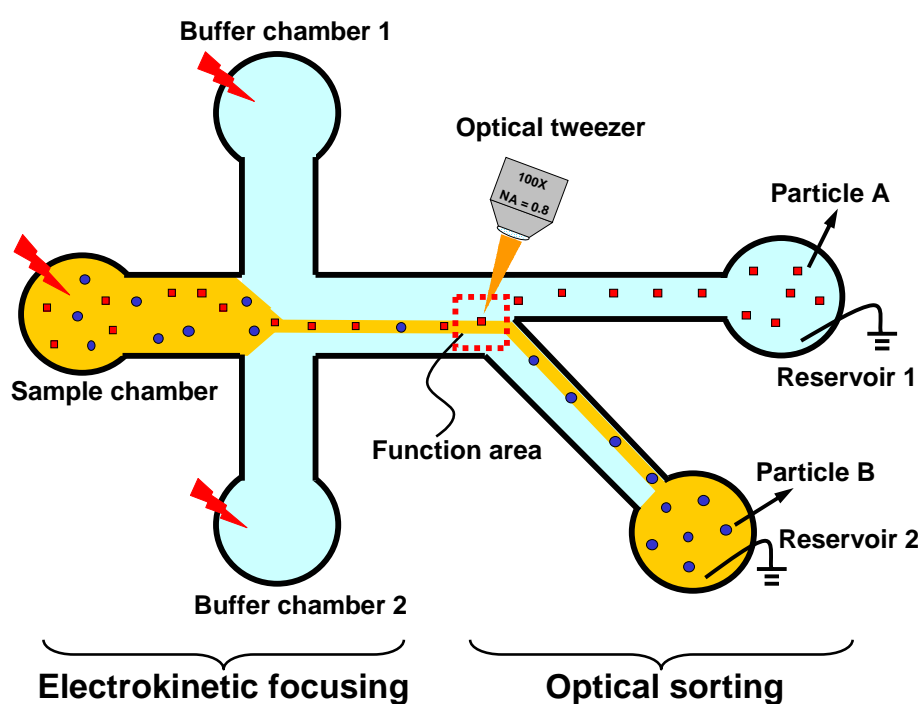


圖 1.25 微粒子於微管道中之作動示意圖。

1.5 論文架構

本研究乃為實現一整合型之快速生醫檢測系統，分別提出了一整合光鉗之細胞操控/分類平台、高效能之電驅動微流體混合器及晶片上之高速 DNA/酵素反應模組，以期能發展出一晶片實驗室系統。

在此論文將以下述的架構呈現：

首先，在第一章闡述本研究的研究背景、動機及目的，並清楚說明此研究涵蓋三大主題，包括：微型混合器、DNA-酵素反應器及整合光鉗之細胞操控/分類平台，並且針對過去相關的研究主題作一文獻回顧。

在第二章的基本理論與數值方法方面，將分別說明微尺度流體的特性、電雙層產生的機制、電滲透流的理論及雷射光鉗的捕捉機制。另外，由於本研究所開發之微型混合器有運用到數值模擬的方法來進行分析，因此亦在此作一簡單的撰述，而此部分的數值模擬是由本研究團隊傅龍明老師所協助完成的。

而第三章是描述本研究所使用的晶片之設計概念、製作流程及實驗架設，其分別說明了玻璃晶片及壓克力晶片兩種材質的製作方法，並且闡述本研究三大主題之相關量測設備的架設。

第四章的結果與討論，分別說明了本研究所開發之微流體混合器，其在不同條件之下的混合效率，並將其進行最佳化之測試。另外，也驗證了本研究所提出之整合型微裝置在藉由膠電泳及晶片毛細管電泳測試之下所得知的可行性及其反應效能。最後，並說明了光鉗與微流體晶片整合的測試結果，包括微管道內粒子捕捉、搬運、路徑切換/分類及捕捉力分析的測試。

最後一章，結論與未來展望說明了本研究目前的貢獻以及有待改進的細節，並且對於更進一步的系統整合做出相關的建言。

第二章 基本理論與數值方法

2.1 微尺度流體特性

一般而言，微管道係指管徑尺寸介於 $1\ \mu\text{m}$ 至 $1\ \text{mm}$ 之間的管道，其通常藉由各式微加工技術，在矽基材料或聚合物材料上所製造出來的，該尺寸大小通常係介於 $20\ \mu\text{m}$ 至 $250\ \mu\text{m}$ 之間，而流體在此管道雖可視為連續體，但其與一般大尺寸管道的流體行為仍有一些差異之處。而且微管道因其幾何形狀的關係，表面積與體積之比（Surface-to-volume ratio）極大，流體將明顯受到剪應力的影響，導致其流阻將比大尺寸管道提高許多[6]。

而管壁與液體間之界面效應，主要來自於帶電介質其正負離子交互作用而形成的電位差，此電位差將會造成物體力（Body force）而影響流場特性，此效應稱為電動效應（Electrokinetic effect）[38]。過去，已有Mala [39]和Yang[40]等人以此效應來解釋流體在微管道的特性，並指出此一效應將會影響到微管道內流場的速度分佈、摩擦係數、黏滯力大小及其熱傳的現象。

此外，流體在微管道的驅動力大致上可分為以下數種，包括：壓力（pressure）電滲（electro-osmosis）磁力（magnetic force）超音波（traveling ultrasonic wave）表面張力（surface tension）和電動力（electro-hydrodynamic）等方式推動流體。而在微流體晶片的應用上，使用壓力推動流體，必須額外搭配一大型之注射幫浦，此舉與晶片實驗室的理念相當不符，因此較少

使用。近幾年來較被廣泛使用的驅動力，係利用電滲透流的方式來推動流體，因其具備了不須額外搭配外接裝置及可精準的控制流體的優點。

在微流體晶片的工作程序中，包括了在微管道內進行流體之驅動 (pumping)、樣本流向之切換 (flow switching)、樣本之傳送分配 (sample dispensing) 及生物分子分離 (bio-molecule separating) 等過程。若透過對這些傳輸過程的基本瞭解，將有助於設計和控制各種微機電系統、實驗室晶片及微流體裝置。然而，在微尺度下有許多的流體傳輸現象承受界面現象 (interfacial phenomena) 的影響極大，如電動效應 (electrokinetic effect)、壁面粗糙度效應 (surface roughness effect)。而在實驗室晶片上的微流體程序過程，大多是藉由界面電動現象 (interfacial electrokinetic phenomena) 進行設計和控制。因此，在以下幾節將針對此一現象作詳加的探討。

2-2 電雙層的形成機制

電雙層 (electrical double layer, EDL) 大多存在於固液界面 (solid-liquid interface) 之間，若以矽基 (silica) 材料而言，其管道壁面的 Si-OH 官能基在水溶液中進行解離時，會使得壁面產生負電荷 (SiO^-)，因而吸引電解液中帶正電荷的離子聚集於壁面附近，如圖 2.1 所示。而電雙層大致可分為兩部分：一是被吸附於管道壁面固定不動的帶正電荷離子，此層稱為固定層 (Stern layer)。另一則為離管壁較遠且可移動的擴散離子，其電荷密度隨著徑向距離的增加而急速遞減，此層稱為擴散層 (Diffuse layer)，而 Deybe

length則是代表電雙層之特徵厚度。該電位勢在壁面時為最大，而隨著通過固定層時迅速下降，在固定層與擴散層交界處的電位勢稱為Zeta電位勢（Zeta potential）[38]。Zeta 電位勢與毛細管壁的電荷有關，而電荷又與溶液的pH值有關。因此，電滲流實際上與溶液的pH值有很大的關係，pH值越高表示電滲透流也越大。由於固定層內的性質不易預測，因此Zeta電位勢可藉由電滲流的方式進行量測，而在電滲流的研究上通常不考慮固定層對流場的影響。

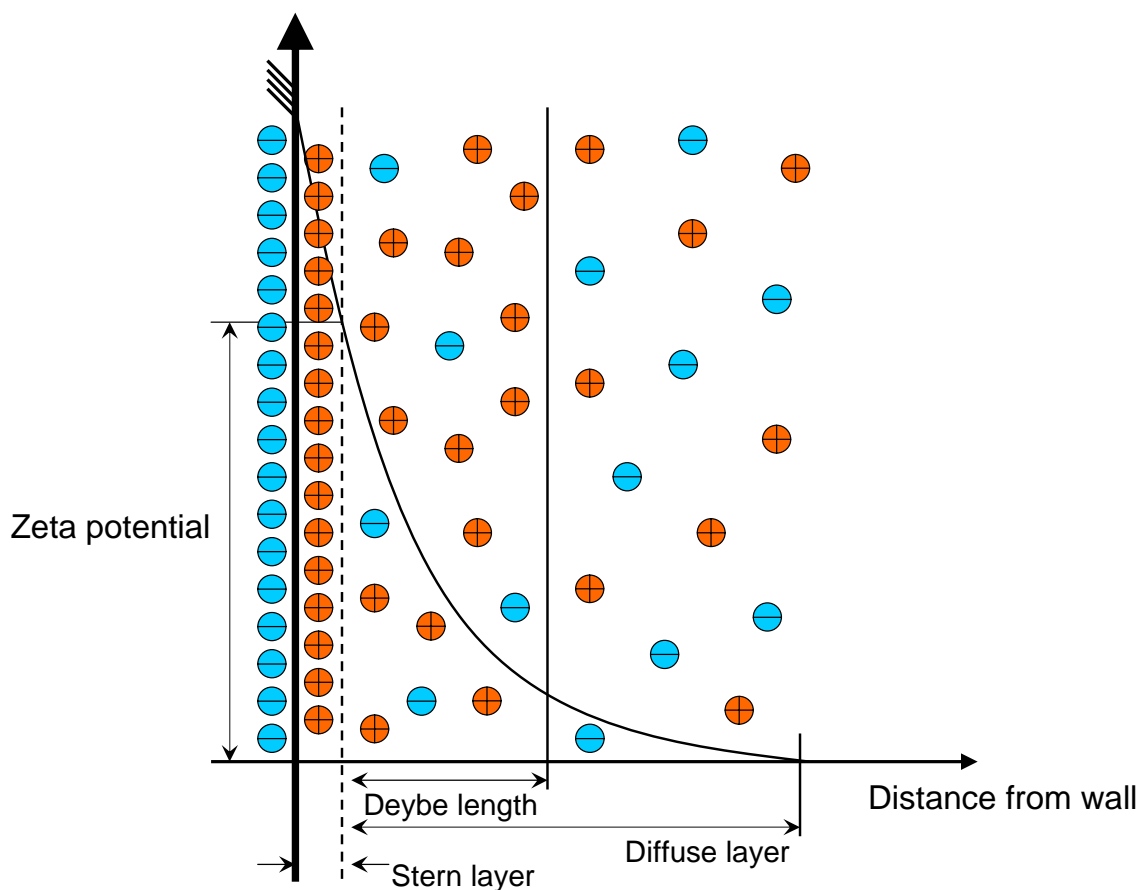


圖 2.1 電雙層及電位勢之離子分佈示意圖。

2-3 電滲透流原理

所謂的電滲透流(electro-osmotic flow, EOF)的效應，即是施加一電場於微管道中的液體，此時因電雙層中電荷分佈的關係，擴散層中的帶正電荷離子將受到電場的影響而移動，此時因受到黏滯力的影響，這些移動中的離子將會帶動周圍的液體一起移動，而造成液體在微管道中的流動，如圖 2.2 所示，其移動的狀態是由高壓電場朝向低電位方向以等速度流動，而電滲透流的流速 V_{eof} ，可被定義如下[41]：

$$V_{\text{eof}} = \mu_{\text{eo}} E_{\text{el}} \quad (2-1)$$

$$\mu_{\text{eo}} = \frac{\varepsilon \zeta}{\eta} \quad (2-2)$$

其中， μ_{eo} 為溶液本身的電滲透泳動率， E_{el} 為所施加的電場強度， ε 為溶液介電常數， ζ 為界面電位， η 為溶液的黏度，而由式子(2-1)可知該流速正比於所施加電場的強度。

此外，當其流場達到完全發展流時，該橫截面的速度分佈會呈現近似平坦狀，與壓力驅動流之拋物線形的速度分佈有明顯的差異。而在電泳分離的偵測上，需避免微管道內流體的速度分佈呈現拋物線形，而使流場產生渦漩(vorticity)來擾亂帶寬的分佈，造成偵測的品質不佳，所以得藉由使用電滲流的方式來改善此現象。而電滲透流流速大小的增減，除了改變電場的強度之外，也可改變緩衝溶液的pH值，或是添加有機溶質，界面活

性劑等，都可以用來改變電滲透流的大小。此一現象目前已被廣泛的應用於微全分析晶片領域，用以傳輸樣品[2]、聚焦 (electrokinetic focusing) 樣品流[3]或是當作切換進樣的開關[4]。

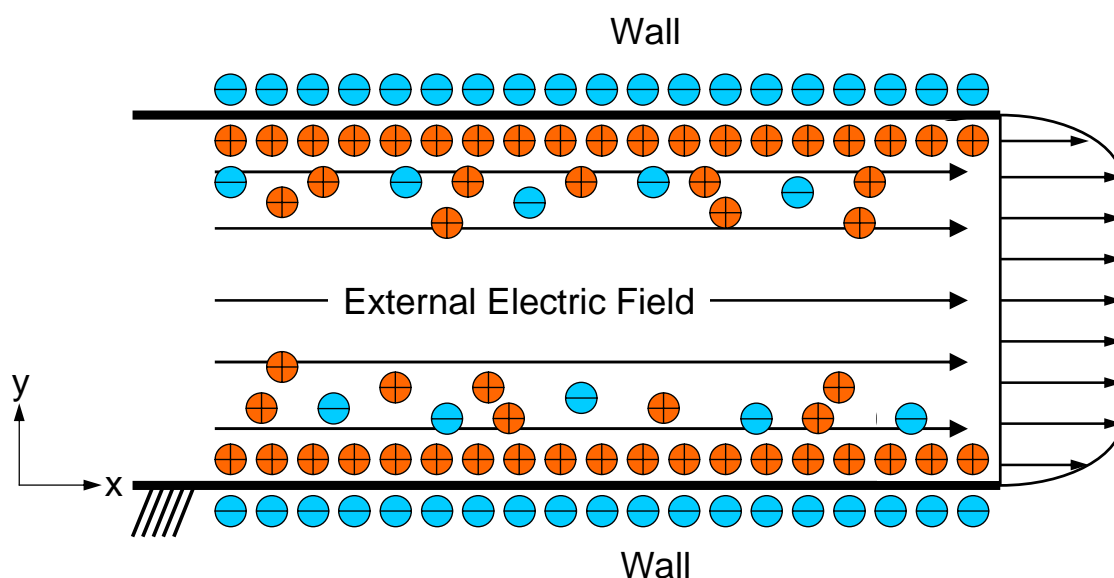


圖 2.2 電滲流場速度分佈示意圖。

2-4 電滲流場數值分析

在此一節內，主要是說明如何藉由數值模擬的方法來預測微流體混合器在不同操作條件之下，其電滲透流所產生的變化行為。在此，先分別提出一些可被忽略的模擬參數。首先，當電場施加於微管道時，電滲透流的效應會在數十微秒間被建立，而此段時間主要是根據該微管道的尺寸大小及其緩衝液的離子濃度而定[42]。由於此段時間與一般微流體操縱機制所需的時間相比，其是非常地短暫的，譬如：樣本注射、分離或溶液混合等，因此該時間可被忽略。另外，在熱效應方面也可以不被考慮進去，因為在微

流體晶片中的散熱能力相當地高，即使是在施加電場高達 800 V/cm 之下 [43,44]，其焦耳熱 (Joule heating) 對於微流體的影響是相當微小的。因此，為了簡化整個數學模型方程式，分別提出幾個基本假設，如下所示：

1. 無化學反應產生。
2. 流體為牛頓流體。
3. 流場為不可壓縮流場。
4. 忽略流體的重力效應。
5. 擴散係數為一常數。
6. 忽略焦耳熱效應。

而在電滲透流的模擬方面，其係根據下列的方程式所發展的物理模型來計算的，包括：(a) 電場強度和界面電位所構成的 Poisson 方程式，(b) 離子濃度所建構的 Nernst-Planck 方程式，(c) 依據電場和電荷密度的物體力效應所修正的 Navier-Stokes 方程式，(d) 樣本液分佈的濃度方程式。其詳細內容可參考文獻[45-47]，而上述的方程式經無因次化後可表示成：

$$\frac{\partial^2 \psi}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \psi}{\partial y^2} = -\frac{\kappa^2}{2} \rho_e \quad (2-3)$$

$$\frac{\partial n^+}{\partial t} + u \frac{\partial n^+}{\partial x} + v \frac{\partial n^+}{\partial y} = \frac{1}{\text{ScRe}} \left(\frac{\partial^2 n^+}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 n^+}{\partial y^2} \right) \pm \frac{1}{\text{ScRe}} \left[\frac{\partial}{\partial x} \left(n^+ \frac{\partial \psi}{\partial x} \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left(n^+ \frac{\partial \psi}{\partial y} \right) \right] \quad (2-4)$$

$$\frac{\partial u}{\partial x} + \frac{\partial v}{\partial y} = 0 \quad (2-5)$$

$$\frac{\partial u}{\partial t} + u \frac{\partial u}{\partial x} + v \frac{\partial u}{\partial y} = -\frac{\partial p}{\partial x} + \frac{1}{\text{Re}} \left(\frac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u}{\partial y^2} \right) - \text{Gx} \cdot \rho_e \frac{\partial \psi}{\partial x} \quad (2-6)$$

$$\frac{\partial v}{\partial t} + u \frac{\partial v}{\partial x} + v \frac{\partial v}{\partial y} = -\frac{\partial p}{\partial y} + \frac{1}{\text{Re}} \left(\frac{\partial^2 v}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 v}{\partial y^2} \right) - \text{Gx} \cdot \rho_e \frac{\partial \psi}{\partial y} \quad (2-7)$$

$$\frac{\partial C}{\partial t} + u \cdot \nabla C = \frac{1}{\text{Sc Re}} \nabla^2 C \quad (2-8)$$

上述的方程式中， $\kappa = W \times K$ 電動分離距， $K = (2n_0 z^2 e^2 / \epsilon \epsilon_0 k_b T)^{1/2}$ 為 Debye-Huckel 參數， $1/K$ 為電荷密度的特徵厚度， $\rho_e = (n^+ - n^-)ze$ 電荷密度， n^+ 和 n^- 分別代表正負離子的濃度， ϵ 為介電常數， ϵ_0 為真空中的介電常數， n_0 為離子的體積濃度， k_b 為 Boltzmann 常數， T 為絕對溫度， $L_{\text{ref}} = W$ ，且 W 為管道高度，而 $U_{\text{ref}} = \psi_{\text{inlet}} \epsilon \epsilon_0 |\zeta| / \mu L$ ，其中 ψ_{inlet} 為入口的 activated 電位勢， $\text{Re} = \rho_f U_{\text{ref}} L_{\text{ref}} / \mu = \rho_f \left(\frac{\psi_{\text{inlet}} \epsilon \epsilon_0 |\zeta|}{\mu L} \right) \left(\frac{L_{\text{ref}}}{\mu} \right)$ 為雷諾數， $S_c = \mu / \rho_f D_i$ 為 Schmidt 數， μ 為流體的黏滯係數， ρ_f 為流體的密度， D_i 為樣本液的擴散係數， ζ 為壁面的界面電位勢， p 為壓力， $\text{Gx} = 2n_0 k_b T \rho_f W^2 / \mu \text{Re}^2$ 為電雙層與機械運動能的比值， C 為樣本液濃度。而此數值方法的初始條件、邊界條件及其細節可參考文獻[48]。

在此數值模擬的情況中，所設定的對象為二氧化矽基材 (silica-based) 之微管道及硼酸鈉緩衝溶液 (sodium borate buffer)，該溶液之電性及物理性質分別列出如下：

- ◆ 介電常數 (Dielectric constant), $\epsilon = 80$,
- ◆ 管壁之初使界面電位 (initial zeta potential of the channel wall),

$$\zeta = -75\text{mV} ,$$

- ◆ 電動分離距 (electrokinetic diameter) , $\kappa=32$,
- ◆ 流體黏度 (fluid viscosity) , $\mu=10^3\text{N}\cdot\text{s}/\text{m}^2$,
- ◆ 電解液濃度 (electrolyte concentration) , $c = 10 \text{ mM}$,
- ◆ Schmidt 數的電荷密度 (Schmidt number of charge density) ,
 $Sc = 10^5$,
- ◆ 軸向電場強度 (applied longitudinal electrical field) , $50 \sim 300 \text{ V}/\text{cm}$,
- ◆ 樣本液之擴散係數 (Diffusion coefficient) (Rhodamine B) ,
 $D = 10^{-10} \text{ m}^2 / \text{s}$

2-5 雷射光鉗基本原理

目前大部分的光操控技術，包括：光學氣體幫浦[49]、雙光束鉗住、光學漂浮[50]及雷射致冷和捕獲術 (laser cooling) [51]等。而其中應用最為廣泛的可以說是由 Arthur Ashkin 等人[52,53]所提出之單束雷射的光學鉗住技術，而這種鉗住技術又稱為光鉗 (Optical tweezer)。其基本原理，如圖 2.3 所示。光鉗的基本概念主要是將一道雷射光束經由一高倍率、高數值孔徑 (numerical aperture, NA) 之顯微物鏡聚焦後，在雷射聚焦處會形成一穩定的位能阱 (potential well)，即可用來抓取比周圍介質折射率高的微粒。而此高度聚焦的雷射光在焦點處能產生一與光束前進之方向相反的軸向吸力，且此軸向吸力抵消了重力及軸向推力，加上原有的橫向吸力，即可以

將微粒穩定地鉗住。因此，光鉗便可利用此非機械接觸的光梯度力來將微粒子穩定地吸引在焦點中心，進而達到三維捕捉與操控的目的。

由於光鉗能捕捉到的微粒子大小約在 nm ~ μm 的等級，恰好與生物學中微小物的尺度相符，且其所能產生的力量約在數個至上百個皮牛頓（pico-Newton, pN）左右，因此在光鉗誕生之後，隨即被運用在生物學的研究上。其在生醫方面的應用，已有學者將其用來操控細胞或細菌[54]，觀察細胞分裂或結合的過程[55]，或是用來進行細胞手術等應用[56,57]。

而在本研究中，主要是探討如何利用光鉗之橫向捕捉力的特性來對微流道中的粒子進行捕捉、搬運及路徑切換的機制。因此對於橫向捕捉力的分析，有其存在之必要性。對於捕捉力的量測方法，目前雖無一標準之流程，但一般都是根據黏滯拉力法（viscous-drag force）來作分析。由於粒子是在微流體的環境中被操控的，所以其雷諾數（Reynolds number, Re）一般都小於 10，故其粒子之橫向捕捉力可藉由 Stoke's Law 來加以描述[58,59]：

$$F_{\text{drg}} = 6\pi r v \eta \quad (2-9)$$

其中， F_{drag} 為受該位能阱所牽引之力量，而 r 為粒子半徑、 v 為流體的速度、 η 為流體的黏滯係數，若是水溶液則 $\eta = 1.025 \times 10^{-3} \text{ N-Sec-m}^{-2}$ 。

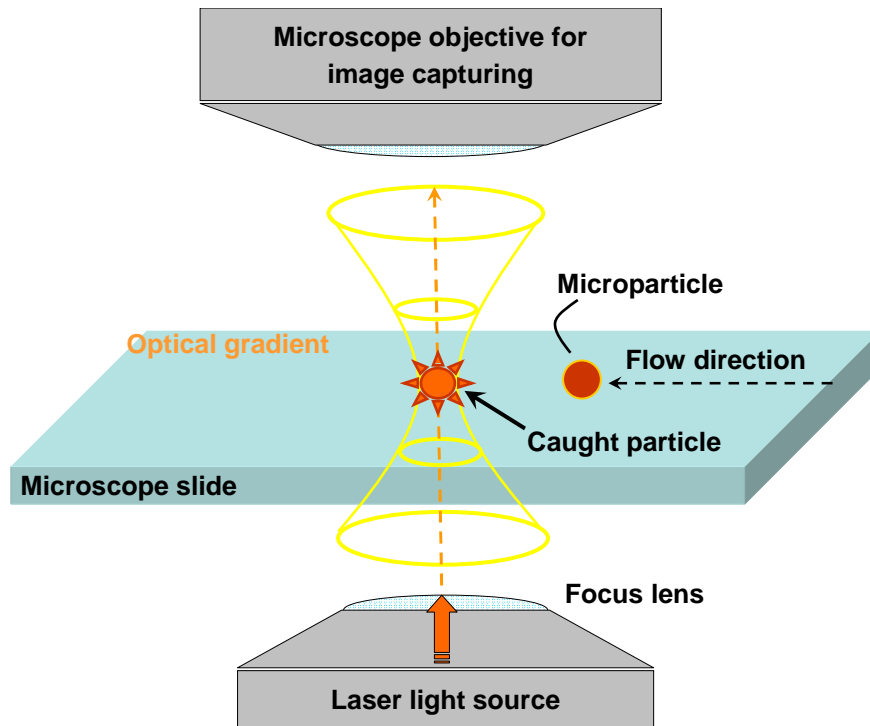


圖 2.3 光鉗之工作原理示意圖。

第三章 晶片製作及實驗架設

3.1 晶片設計

本研究所使用的晶片，係藉由微機電製程技術所加工出來的微流體晶片。在此，將分別說明所設計出來的三種微流體裝置，包括：微混合器、DNA-酵素反應及萃取裝置及細胞分類器，其詳細的元件設計及尺寸大小如下所述：

3.1.1 微混合器

在微混合器方面，其分別提出了兩種設計，一為 T 型微流體混合器，圖 3.1 所示為詳細的晶片設計尺寸，另一則為雙 T 型微流體混合器，如圖 3.2 所示。依其構造大致上可分為兩部分，包括：左半部之樣本進樣端，用來將不同的樣本液傳輸至混合主管道，來產生混合的機制，而右半部則為樣本收集端，用以將混合後的樣本液傳送至末端的儲存槽。

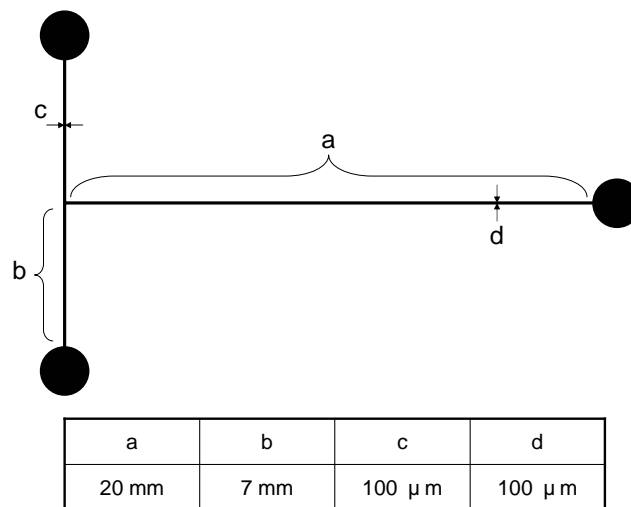


圖 3.1 T 型微流體混合器之尺寸大小示意圖。

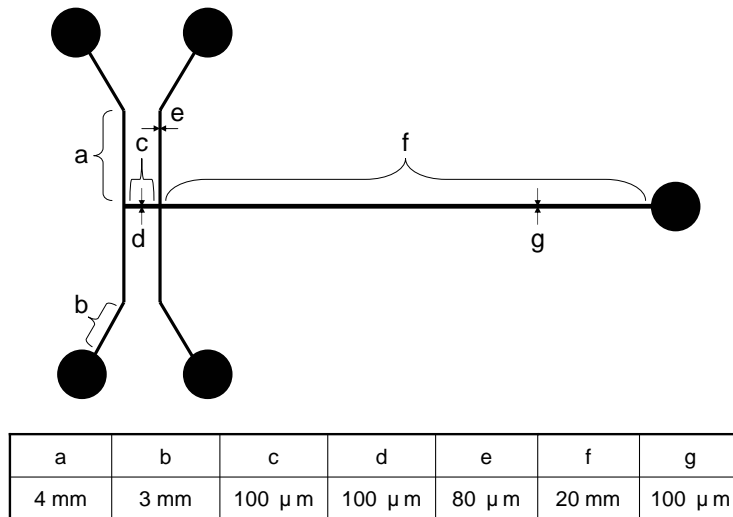


圖 3.2 雙 T 型微流體混合器之尺寸大小示意圖。

3.1.2 DNA-酵素反應及萃取裝置

在 DNA-酵素反應及萃取裝置方面，此一晶片的設計涵蓋了相當多的功能元件，如圖 3.3 所示，其構造由左至右說明，分別包括了：具有膠電泳功能之 DNA 預濃縮管、DNA 和酵素混合之 T 型混合區、長達 18 cm 之溫控反應管道及 DNA 切位片段之純化管。

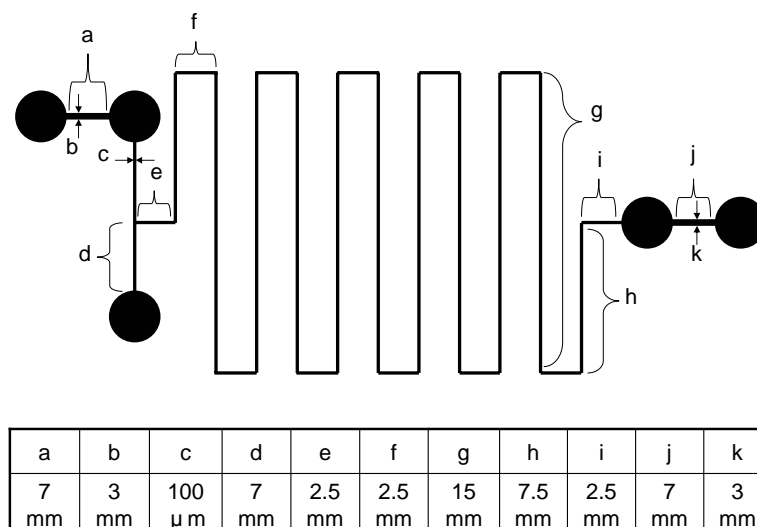


圖 3.3 DNA-酵素反應及萃取裝置之尺寸大小示意圖。

3.1.3 細胞分類器

在細胞分類器方面，此一晶片主要具備兩大功能性元件，包括：十字形聚焦機構和 Y 字形無閥切換開關，其詳細尺寸如圖 3.4 所示。在微管道前端設計一十字形聚焦機構，可藉由邊鞘流聚焦效應，將樣品流之寬度縮小至十幾微米之範圍內，以限制其寬度僅允許單一細胞通過，因此細胞可於樣本流中依序流動，並通過光鉗操控區以進行捕捉、路徑切換/分類等工作。而在微管道末端設計一無閥切換開關，當細胞受到光鉗之橫向捕捉力作動時，其會被吸引至另一流道，並透過微尺度中層流的現象，穩定地被傳輸至後方以進行分類儲存。

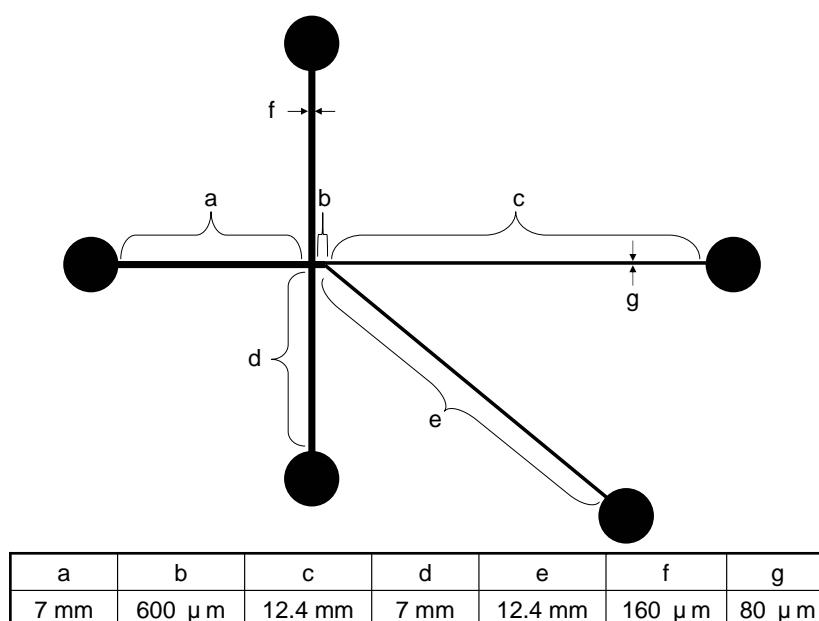


圖 3.4 細胞分類器之尺寸大小示意圖。

3.2 光罩製作

一般而言，光罩可分為透光區與不透光區。在進行曝光的過程中，透光區下方的光阻會照射到光線，而不透光的部分則會被擋住。在進行光刻的過程中，若是選用正光阻當作蝕刻罩幕時，光阻受到光照射的區域會起化學反應，而經過顯影液顯影後，光照射的部分會被去除。若是選用負光阻，則其所得到的結果恰與正光阻相反。

而在光罩的材質方面，大致上包括：石英光罩、玻璃光罩及塑膠光罩等。石英光罩具備高透光性及低熱膨脹係數之優勢，因此適用於解析度（線寬）需求度較高的地方，但其成本昂貴且製作之時間較長。而玻璃光罩的透光性較石英光罩差，且其熱膨脹係數較石英光罩高，因此較適合使用於線寬在次微米以上之圖形，其成本較石英光罩便宜。在膠片光罩方面，其係利用高分子材料所製成，因此透光性遠不如石英及玻璃光罩佳，且熱膨脹係數較高、又容易受到周遭環境而變質。但其製作方式可藉由高解析度之雷射印表機來完成，因此製作速度較快且成本較為低廉。

有鑑於此，由於本研究所需的線寬大小僅需 20 μm 即可，所以就成本及時間的考量上而言，此研究乃選擇塑膠光罩來完成晶片之製作，且此光罩係藉由繪圖軟體 AutoCAD 2000 來設計圖案，並經由解析度高達 10,000 dpi 之專業雷射印表機來輸出的。

3.3 玻璃晶片製程

由於本研究所使用的晶片係藉由透過電動力 (electrokinetic force) 來驅動流體的，因此其晶片表面需要富有-OH 官能基以產生電滲透流，所以本研究採用低成本之顯微鏡載玻片作為基材，該玻片是由德國 Marienfeld 公司所生產，其尺寸為 25 mm × 75 mm × 1.0 mm。在製造此晶片前必須先將玻璃置於 400 °C 的環境中退火四小時，以釋放先前於生產加工時所產生的殘餘應力，再將其利用沸騰之 Piranha 溶液清洗十分鐘。圖 3.5 所示為玻璃基材之微流體晶片的簡化製作流程。在此，本研究利用許多創新之製程方法，捨棄昂貴的金屬鍍膜製程，而利用簡單的正光阻做為玻璃濕式蝕刻的罩幕，再利用化學方式，去除蝕刻過程所產生之沈澱物，而得到表面平整度良好之蝕刻結構。在玻璃接合方面，本研究利用一快速的熱熔融接合製程，使全部的製程能在十小時之內快速完成，而這是在所有文獻內中最快速、方便的玻璃製程。

而在傳統的製程中，玻璃蝕刻皆利用金屬薄膜作為蝕刻罩幕，但金屬薄膜的製作皆需要利用真空鍍膜程序，此程序是一昂貴且耗時的製程。因此，為了達到方便且快速的目的，本實驗採用 AZ4620 正光阻薄膜做為玻璃蝕刻時的蝕刻罩幕。為了使 AZ4620 正光阻能抵擋氫氟酸緩衝液(buffered oxide etchant, BOE)，本研究利用兩個階段的烘烤方式進行光阻的軟烤及硬烤程序，使光阻的殘留應力值減到一最低程度，形成一低殘留應力的蝕刻

罩幕。此正光阻蝕刻罩幕能在蝕刻液中抵擋一小時以上，再加上一創新的蝕刻方式，將鈉玻璃蝕刻所產生之沈澱物加以去除，而得到一光滑的蝕刻表面。蝕刻後再利用高溫接合法將兩片玻璃接合，使接合處達到強力接合的目標。其製程之流程將敘述於下節，而詳細之晶片製程可參考文獻[60]。

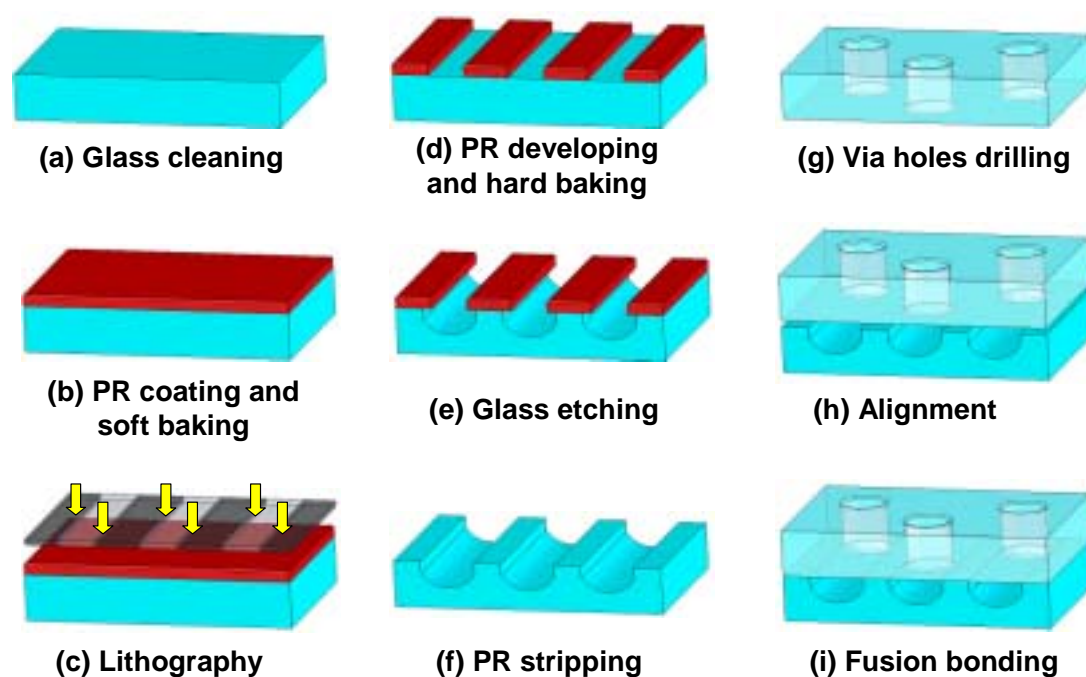


圖 3.5 玻璃基材之微流體晶片製程示意圖。

3.3.1 晶片清洗

所有玻璃在使用之前必須將它放在溫度約 200 之沸騰的 Piranha 溶液 (H_2SO_4 (%) : H_2O_2 (%) = 3 : 1) 中，煮過 10 分鐘。接著以去離子水 (DI water) 將之沖洗乾淨並用乾燥空氣吹乾。然後將吹乾的玻璃片放在 100 的電熱板烘烤 3 分鐘，以便將玻璃表面的水分子徹底去除。

3.3.2 微影

微影目的是藉著光阻將光罩圖形轉移至晶片上，其方法是經由塗佈光阻、曝光、顯影等步驟來完成，如圖 3.5 (b)~(d) 所示。待玻璃冷卻後，將其置於一密閉容器中，並在容器裡滴入數滴 HMDS(hexamethyldisilazane) 溶液，密封後放置約 5 分鐘。5 分鐘後將玻璃取出，再將其放在電熱板上以 100 °C 烘烤 3 分鐘，待玻璃片冷卻至室溫後，將 AZ4620 正光阻劑以旋轉塗布機均勻的塗佈在玻璃的表面，此塗佈的參數係一開始以 500 rpm/s 的加速度於 10 秒內旋轉至 5000 rpm,再以轉數 5000 rpm 的速度持續運轉 30 秒，來控制光阻塗佈的厚度，接著將塗佈完成的晶片取下，並以 100 °C 烘烤 3 分鐘。此時，光阻劑在軟烤之後的厚度大約是 3 μm。軟烤完待其冷卻，開始進行曝光，其所使用的光源為 g-line(365 nm)，而所需的曝光劑量為 169 mJ/cm²，由於晶片曝光所需的時間取決於曝光機的功率和光阻所需的能量，因此光阻所需能量除以曝光機功率即是曝光所需的時間。曝光完畢之後便進行顯影的動作，將晶片浸泡入顯影液 (AZ400K : DI Water = 1 : 3) 約 60~70 秒。顯影完成之晶片以乾燥的氮氣吹乾後進行硬烤。在光阻的硬烤上，本研究採取兩階段逐漸增溫的方式來增加光阻在蝕刻緩衝液中能夠抵擋的時間。首先將電熱板昇溫到 100 °C，並將乾燥後的晶片置於其上，接著將溫度設定成 150 °C，開始加熱，待溫度升高到 150 °C 時開始計時 10 分鐘，即完成硬烤。

3.3.3 微管道蝕刻

硬烤後待玻璃冷卻，將玻璃基材浸泡在蝕刻緩衝液 (buffered-oxide-etchant, BOE) 中來進行微管道的蝕刻，如圖 3.5(e) 所示，而整個蝕刻環境是放置在超音波震盪槽中，以加快其蝕刻速率，此蝕刻槽之蝕刻速率約為 $0.9 \mu\text{m}/\text{min}$ 。在蝕刻的過程中，會有沉澱物產生附著在微管道的表面，而影響蝕刻品質。因此，本研究利用 1 M 的鹽酸來除去這些表面的沉澱物。每隔 5 分鐘，就將玻片從蝕刻液中取出，先經過去離子水沖洗後，將其放置於鹽酸溶液裡浸泡，稍微晃動攪拌，時間約 10-15 秒。完成後亦先浸泡過去離子水後，再放回蝕刻液中進行蝕刻。如此反覆進行，直到完成所設定之蝕刻深度。之後，在將蝕刻完成之晶片放入 80 之 KOH 稀釋液 (KOH : DI = 1 : 4) 來進行光阻去除的動作，如圖 3.5(f) 所示。

3.3.4 玻璃鑽孔

在進行晶片接合之前，需先將微管道的各個樣本液進樣口和出口處進行鑽孔，如圖 3.5(g) 所示，使流體可以順利地注入及排出晶片。而晶片的鑽孔係利用鑽石鑽頭對玻璃進行研磨鑽孔，且在鑽孔時須緩慢進行，以避免因應力集中造成微管道損壞、晶片破裂或鑽頭斷裂。在鑽孔的過程中，鑽頭與晶片摩擦會產生高溫，因此配合水流對晶片進行降溫，同時也讓水流帶走研磨時所產生的玻璃碎屑。

3.3.5 晶片接合

玻璃表面經清潔之後，將上、下玻璃板進行對位，如圖 3.5 (h) 所示，並在兩塊玻璃板之間滴上少許的去離子水，再利用大氣壓力將兩塊玻璃板給“黏”起來後，置於燒結爐中。利用高溫將玻璃加溫至稍微熔融的狀態使之接合，如圖 3.5 (i) 所示。其升溫速率為 5 /min，並在 580 的狀態下持溫 10 分鐘後降溫，而完成該微流體晶片。圖 3.6、3.7 所示，分別為熔融接合後之微流體混合器及微型細胞分類器之晶片實體影像圖，影像中管道內所填充之染料，使管道之影像更為清晰，由圖可見，該熔融接合製程可提供玻璃晶片良好之接合強度，染料完全沒有洩漏之情形發生。

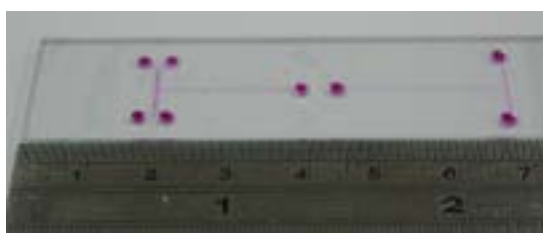


圖 3.6 微流體混合器之晶片實體圖。

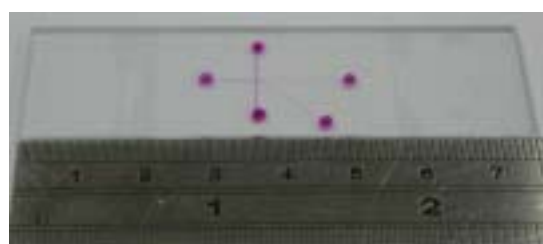


圖 3.7 細胞分類器之晶片實體圖。

3.4 壓克力晶片製程

由於本研究中會從事有關DNA分離之晶片電泳實驗，所以有必要製作

一壓克力 (Poly-Methyl-Meth-Acrylate, PMMA) 材質之十字形毛細管電泳晶片。壓克力為一高分子有機化合物，其表面不會因水解而帶有電荷，因此其與DNA產生的吸附作用較小，意即晶片中之微管道表面不需經過任何加工處理，即可獲得良好之DNA分離結果。

而壓克力微流體晶片之製作，可藉由熱壓成型法或射出成型法來完成，其中熱壓成型條件如表3.1所示。由於壓克力之價格低廉，利用壓模技術可以低成本的大量製造，故此技術極適合研究實驗室製作出便宜且可拋棄之壓克力微流體晶片。一般而言，壓克力晶片之熱壓製程的流程，如圖3.8所示，其細節將敘述如下。

表 3.1 PMMA 之材料性質及熱壓成型參數。

密度 (10^3 kg/m^3)	玻璃轉換溫度 T_g ()	楊氏模數 (kg/cm^2)	熱壓溫度 ()	壓力 (kg/cm^2)	持壓時間 (min)	脫膜溫度 ()
1.17-1.20	106	31600-33600	115-140	13.2-15.3	5-10	95

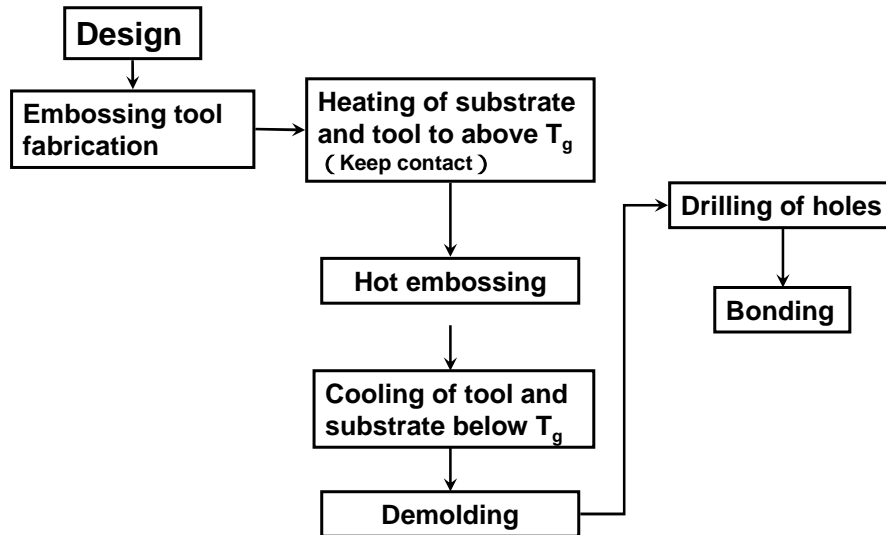


圖 3.8 壓克力晶片之熱壓製程流程圖。

3.4.1 玻璃母模製作

在本研究中，選用空白玻璃光罩（CBL5009Du-AZP, Clean Surface Technology, Japan）當作母模之基材。利用微機電製程技術，以微影及化學濕式蝕刻法，在基材上製作出立體微管道之凸型結構，作為熱壓成型之母模，其主要之製程步驟如圖 3.9 所示。由於空白玻璃光罩本身已旋塗上一層 AZ1350 正光阻，因此可直接以設計之光罩來進行圖形定義，在此所需的曝光能量為 50 mJ/cm^2 。之後，將曝完光之晶片浸泡入顯影液（AZ400K：DI Water = 1：3）20 秒進行顯影，再以氮氣吹乾並將其放在 120°C 之加熱板上 5 分鐘進行硬烤。待其冷卻後，將晶片放入 Cr 蝕刻液（CR-7T）15 秒，以定義金屬圖形。之後，將其光阻以 KOH 溶液進行清除。最後，將晶片浸泡在放置於超音波震盪槽中的蝕刻緩衝液（BOE）內來進行蝕刻，蝕刻槽之蝕刻速率為 $0.9 \text{ }\mu\text{m/min}$ ，而該蝕刻步驟與上節之玻璃製程相同。

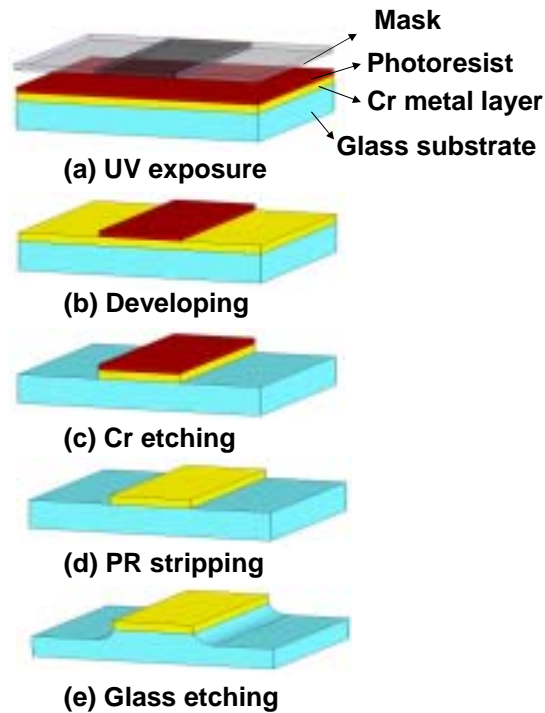


圖 3.9 空白玻璃光罩之熱壓母模製程示意圖。

3.4.2 晶片熱壓程序

當熱壓母模製作完成後，配合微熱壓成型技術，便可將玻璃母模上之圖案轉印至壓克力材質上，而獲得晶片之微管道結構，如圖3.10所示。而熱壓程序的操作參數如圖3.11所示，其中橫軸表示時間，縱軸表示加熱之溫度，其操作方式如下所述[61]：

1. 將清潔之壓克力基板與玻璃母模進行對位，並放入熱壓機中；
2. 施加 1 kg/cm^2 之壓力將玻璃母模與壓克力基材稍加固定；
3. 以升溫速率約 $10 \text{ }^\circ\text{C/min}$ 由室溫 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 加熱至 $120 \text{ }^\circ\text{C}$ ，並持溫5分鐘，使壓克力均勻軟化；

4. 將壓力增加至 15 kg/cm^2 ，以使玻璃母模微結構嵌入壓克力基材中，並持壓10分鐘使壓克力基材與玻璃母模產生較佳之密合度；
5. 最後在 15 kg/cm^2 的持壓狀態下，以降溫速率 $10 \text{ }^\circ\text{C/min}$ 將溫度降至 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ，之後將壓克力基材與母模脫膜取出，即可完成熱壓工作。

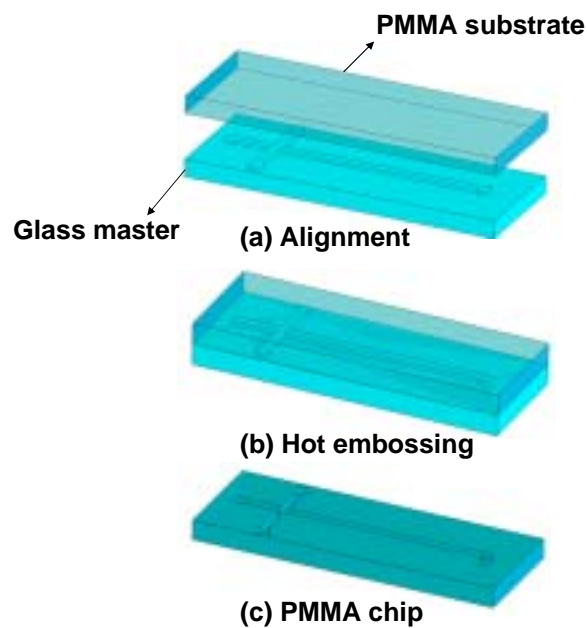


圖 3.10 壓克力晶片之熱壓成型示意圖。

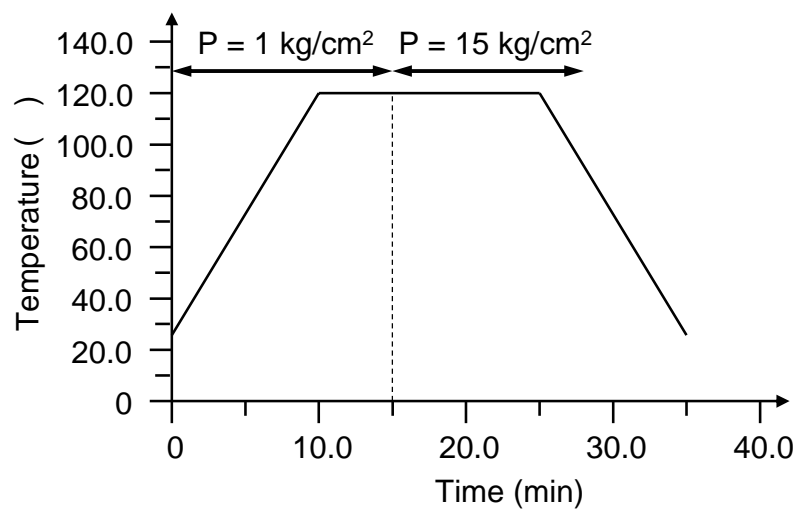


圖 3.11 熱壓成型參數示意圖。

3.4.3 壓克力晶片化學接合

由於傳統的壓克力高溫融熔接合法 (fusion bonding) , 其接合強度較低、且容易造成微管道崩塌的現象。因此, 本研究乃採用實驗室自行開發之低共沸點化學溶劑接合法 (low azeotropic solvent bonding) [62], 其主要係控制二氯乙烷的濃度, 將其均勻的塗在壓克力表面上, 使其表面產生膨潤現象。而所謂的膨潤, 指的是溶劑滲透進入高分子, 因而隔開高分子鏈, 使得高分子的體積膨脹。同時由於溶劑分子隔開了高分子鏈, 使得分子鏈間的吸引力降低。因此高分子變的容易運動, 而改變了許多物性。這時僅需施加輕微的壓力, 即可以完成壓克力板間的接合程序, 如圖3.12所示。

其操作步驟如下:

1. 將熱壓完成的微流道晶片及鑽好儲液槽進樣孔之上板以氣槍清潔乾淨, 以避免接合面有任何塵粒或是凹凸不平的狀況, 並且將其進行對位。
2. 將對位貼合後之晶片利用毛細現象填入化學溶劑, 其化學成分為20%的二氯乙烷於乙醇中($C_2H_4Cl_2 : C_2H_5OH = 1 : 4$), 並施加壓力約 1 Kg/cm^2 , 進行持壓10分鐘。
3. 10分鐘後取出晶片, 待其管道內的化學試劑完全揮發完畢即可使用。

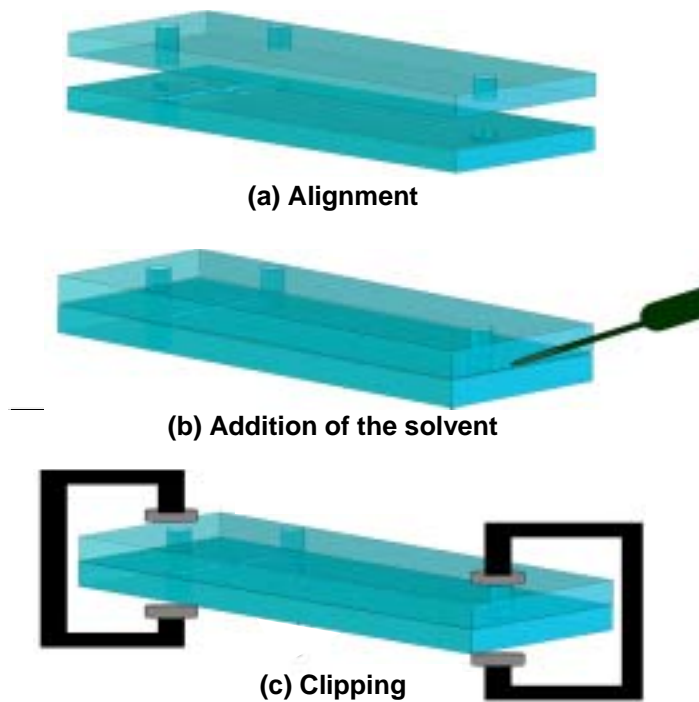


圖 3.12 壓克力晶片之化學接合製程示意圖。

3.5 實驗架設

3.5.1 電驅動式微型混合器

a. 微流體影像擷取

本研究所用之測試平台係在一螢光激發之汞燈模組的螢光顯微鏡 (E-400, Nikon, Japan) 下進行, 並透過一具備高速影像擷取介面 (DVD PKB, V-gear, Taiwan) 之彩色 CCD 攝影機 (DXC-190, Sony, Japan) 來捕捉微管道中之影像, 如圖 3.13 所示。此螢光濾鏡組由三個濾片所構成, 分別是: Excitation filter 為 510-560 nm, Dichroic mirror 為 575 nm, 而 Barrier filter 為 590 nm。此外, 研究中所用的兩種樣本液分別為 1 mM 的硼酸鈉緩衝溶液 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) ($\text{pH} = 9.2$, Showa, Japan) 及帶有 10^{-4} M 玫瑰紅螢光

染劑 (Rhodamine B) 之硼酸鈉緩衝溶液所構成。此樣本液於微管道中透過一可提供切換頻率達 10 Hz 之可程式高壓電源供應器 (MP-3500, Major Science, Taiwan) 來驅動。研究中，利用一繼電器在 T 型端以等值之高壓電源於樣本液儲存槽交替輸出，藉此電壓源的供應以使樣本液從儲存槽流至另一端，並提供混合的機制。

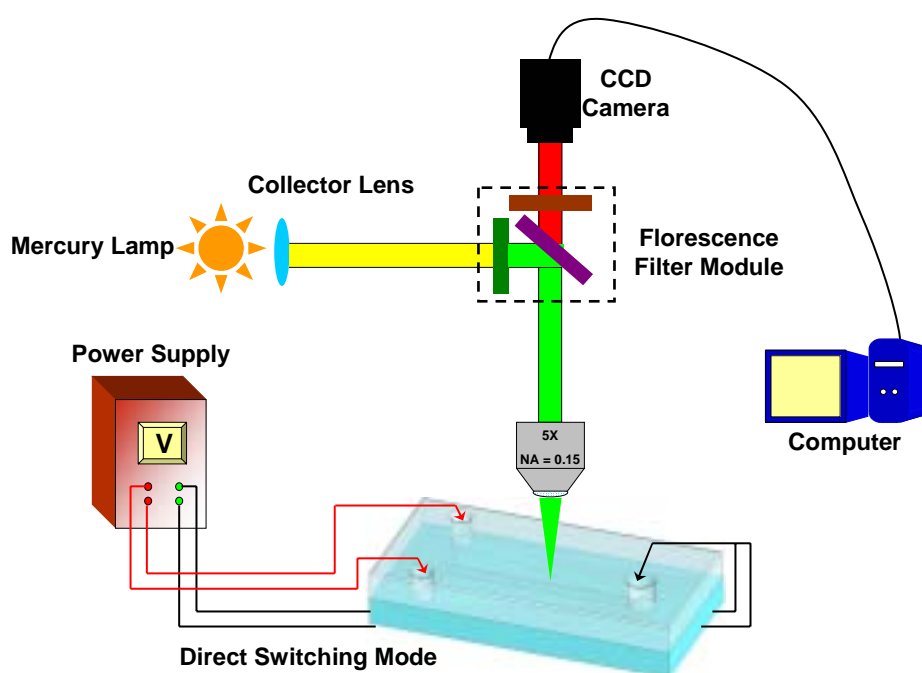


圖 3.13 電驅動式微混合器之實驗量測架設示意圖。

b. 混合效率量測

該混合器之混合效能係利用數位影像分析軟體 (Scion Image beta 4.02 , <http://www.scioncorp.com>) 來對實驗所擷取之影像圖來作分析，為得到較佳之螢光亮度辨識效果，辨識中將所擷取之彩色影像轉換為相對應的灰階圖片，並且假設灰階值所對應之影像的特定螢光染劑濃度。因此，本

研究假設微管道中填滿螢光染劑時之灰階值為1、完全無染劑之灰階值為0。為判定混合管道之濃度分佈，量測時於兩不同樣本液交界處下方，在不同的距離下量測其橫斷面所對應的灰階值，並將其正規化。此時，在每一個橫斷面的量測，於100 μm寬之微管道中量取到10個不連續的量測值，並將實驗所獲得的數據和模擬的結果作一比較。

而對於混合主管道的混合程度之量化分析而言，此研究係根據下述的混合效率參數 σ 來定義[63]：

$$\sigma = \left(1 - \frac{\int_0^W |C - C_\infty| dy}{\int_0^W |C_0 - C_\infty| dy} \right) \times 100\% \quad (3-1)$$

其中， C 是混合主管道寬度的濃度分佈曲線， C_0 和 C_∞ 則分別是完全無混合（0 或 1）及完全混合（0.5）狀態的濃度分佈值，而 W 為管道之橫斷面寬度。

3.5.2 DNA-酵素反應及萃取系統

在微晶片 DNA-酵素切位反應及萃取系統的研究上，分別使用 λ -DNA 和 ϕ X-174 DNA 兩種生物樣本作測試。在進行酵素反應時，係以致冷片（Thermo-Electric cooler）將其溫度控制在 37 °C，而混合器之操作參數是設定為 60 V/cm 的驅動電壓及 4 Hz 的切換頻率。在 λ -DNA 的反應過程，係

將 6 μL 的 λ -DNA 樣本 (0.45 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, Takara, Japan) 填入預濃縮端 , 以 -60 V/cm 的電場強度進行樣本的濃縮 , 另一酵素端係填入 1 μL 的限制酶 EcoRI (2 units, GeneCraft, Germany) 和 5 μL 的酵素反應緩衝液 buffer SH (10 \times , GeneCraft, Germany) 來進行切位。此外 , 在這兩端及末端分別填入 8 μL 及 14 μL 的硼酸鈉緩衝溶液 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) (10 mM, pH = 9.2) 以利於進行電滲透流操作。該切位反應完成的產物 , 係以瓊膠電泳系統於 1% 之 agarose gel 中進行 DNA 測試。

而在進行 $\phi\text{X-174}$ DNA 的反應時 , 係將 5 μL 的 $\phi\text{X-174}$ DNA 樣本 (0.5 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$, Takara, Japan) 填入預濃縮端 , 同樣以 -60 V/cm 的電場強度進行樣本的濃縮 , 而另一酵素端係填入 2 μL 的限制酶 Hae (1 units, Takara, Japan) 和 3 μL 的酵素反應緩衝液 buffer M (10 \times , Takara, Japan) 來進行切位。此外 , 在這兩端及末端分別填入 10 μL 及 15 μL 的硼酸鈉緩衝溶液 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) (10 mM, pH=9.2) 以利於進行電滲透流操作。而該切位反應完成的產物 , 係以晶片毛細管電泳來進行測試 , 其架設示意圖如圖 3.14 所示 , 此測試平台係在一前述之螢光顯微鏡下進行 , 並透過一光電倍增管 (R928, Hamamatsu, Tokyo, Japan) 來偵測螢光訊號 , 並傳送至一搭載商售之類比轉換介面 (Model 9524, SISC, Taipei, Taiwan) 的電腦來記錄資料。

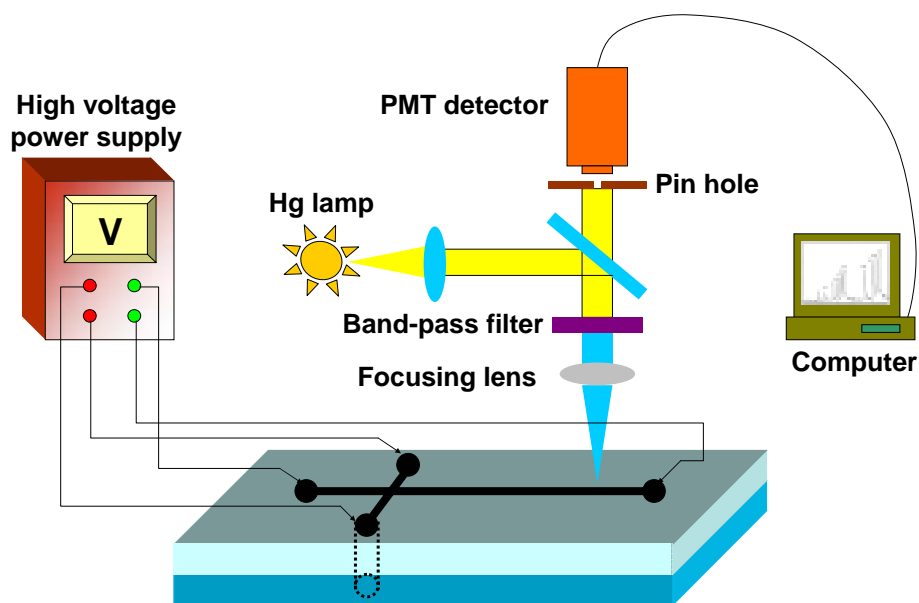


圖 3.14 晶片毛細管電泳偵測之實驗架設示意圖。

3.5.3 光鉗操控之細胞分類系統

此實驗操作主要是結合雷射光鉗與微流體系統的特性來對微尺度中之細胞/粒子作操控，以達成光鉗系統之連續操作。其簡單之實驗架設示意圖，如圖 3.15 所示。

研究中利用一可程式之高壓電源供應器 (MP-3500, Major Science, Taiwan) 來產生電滲透流(electro-osmotic flow, EOF)，其所使用的緩衝液為 1 mM 的硼酸鈉溶液 ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) (pH = 9.2, Showa, Japan)。此驅動力不但可驅使微管道中之粒子流動，更透過特殊之微管道的設計，將樣品流聚焦至僅有單一粒子之直徑，以利雷射光鉗準確地作動於標的物上。而在本研究中所使用之微粒子為 PS (Polystyrene, PS) 材質之高分子小球 (Duke Scientific, CA, USA)，其直徑大小分別為 5 μm , 10 μm 及 12 μm ，而

折射率是 1.58，且其密度為 1.05 g/cm^3 與細胞相當，所以極適合用來取代生物樣品作測試。

而該雷射光鉗系統乃自行開發、組裝而成，其系統架設如圖 3.16 所示。該系統可分為上、下兩部分，下半部主要是輸入操控粒子之雷射光路徑，該雷射光源為 CW(Continuous Wave)輸出之半導體雷射(SDL-2364-L2, JDS Uniphase, USA)，其中心波長為 830 nm、最大輸出功率為 1 W，該光源最後經由一倍數為 100 倍、NA 值 0.8 的物鏡輸出。另外，在上半部主要是用來擷取影像用的，其係由一實體顯微鏡所構成 (SZX9, Olympus, Japan)，並利用一搭配高速影像擷取卡 (DVD PKB, V-gear, Taiwan) 之彩色 CCD (DXC-190, Sony, Japan) 以捕捉其微管道中之影像。

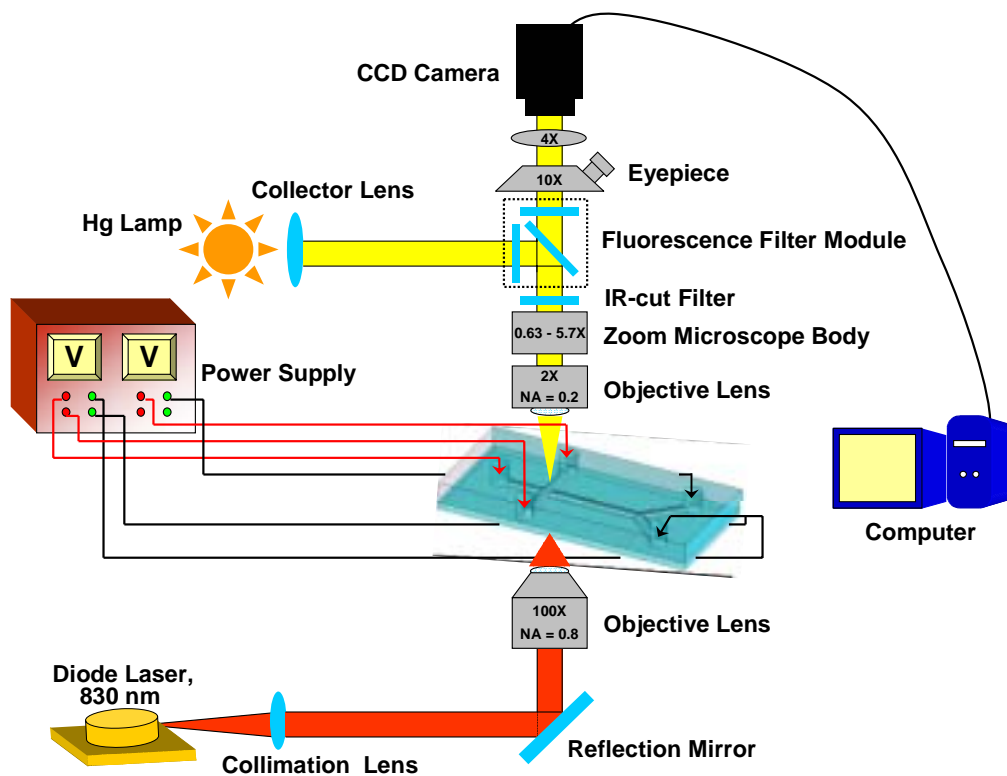


圖 3.15 運用雷射光鉗系統操縱微粒子之實驗架設示意圖。

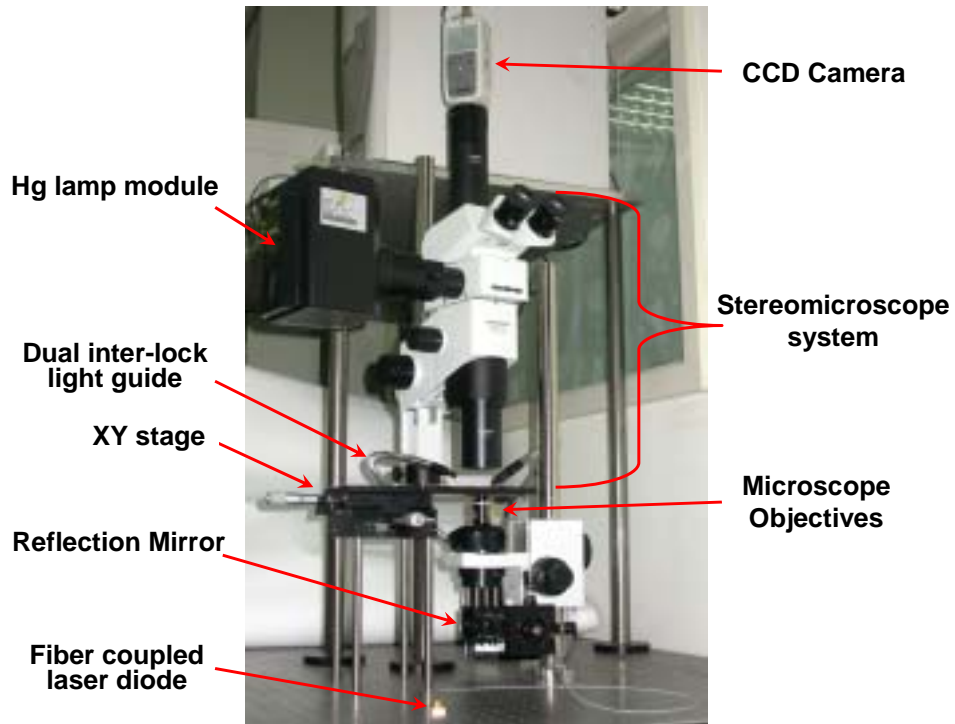


圖 3.16 光鉗顯微鏡系統圖。

第四章 結果與討論

4.1 T 型微流體混合器之混合情形

4.1.1 直接切換模式之混合結果

如圖 4.1 所示,為該混合器在驅動電壓 90 V/cm 於穩態流體注射時的實驗及數值模擬結果。而圖 4.1 (a) (b) 所示,分別為 T 型交界面之正規化電場強度及對應的流體流線。圖 4.1 (c) 則表示兩樣本液於微流道內之濃度分佈的模擬結果,儘管在樣本液之間的自然擴散會產生界面間的混合現象,但其混合的性能是相當有限的。圖 4.1 (d) 為此穩態情形下之實驗拍攝圖形,由實驗所得的層流圖形觀察,其與模擬所得的結果相當一致。根據此結果可清楚得知, T 型管道僅能提供相當有限的混合效能。

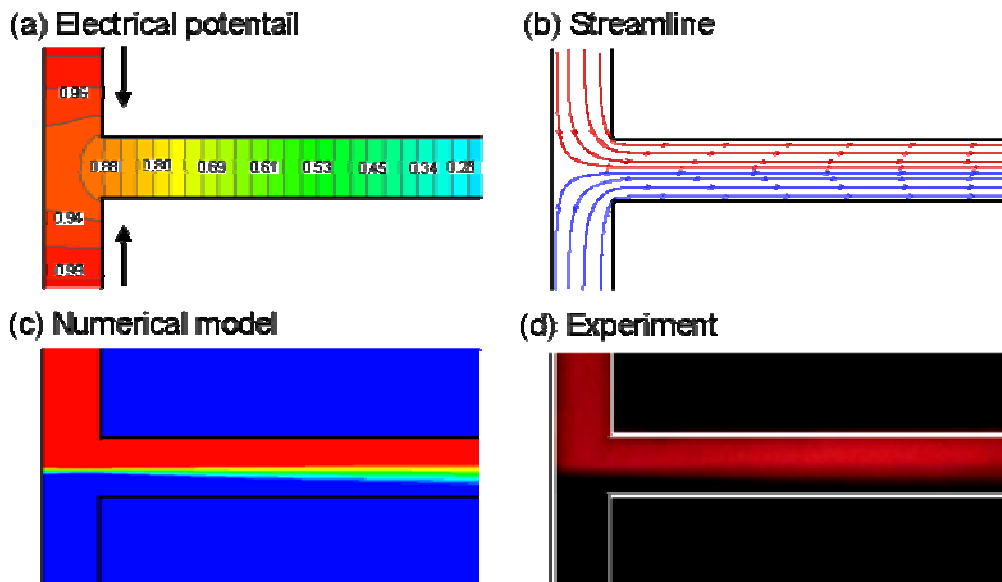


圖 4.1 T 型微流體混合器, 在穩態注射下之模擬及實驗結果, (A) 電場強度分佈, (B) 流線圖, (C) 模擬之濃度影像圖, (D) 實驗之濃度影像圖。

在一般切換模式之下，驅動電壓於兩儲存槽交替式地施加。更重要地，當驅動電壓施加於一端時，另一端必須維持開路。如圖4.2所示，為該混合器於操作時，其兩階段切換所對應的電場強度分佈及流線。在圖4.2(a)中，一浮動電位被建立於開路的入口端約為所施加電壓的0.83倍。而從其流線圖可看出，此浮動電位有助於避免流體流入開路的入口端。因此，在一般切換的模式之下，流體從兩進樣管道交替式地被注入至混合管道。藉此來提升流體的不穩定性和增加兩流體間的接觸面積。相對地，擴散現象在此兩液體間也被增強了。

圖4.3所示，係該混合器於一般切換模式下，施加一固定驅動電場90 V/cm及切換頻率為1 Hz至10 Hz之濃度分佈影像圖。在此模擬結果的綠色區塊部分，其係用來呈現流體混合的區域。就該圖來看，在低切換頻率時(1-4 Hz)，其會週期性地注射樣本寬帶於混合管道來產生一波浪流體，將其與先前所述的層流相比，此波浪狀的圖形可增加兩樣本間的接觸面積，同時加速其擴散效應。一般來說，在大驅動電壓之下可得到較大的接觸面積，這是因為其波形較短的緣故。然而，由圖4.3(d)(e)的圖形來看，其波浪的振幅大小隨著頻率的上升而變小，因此混合效能被降低了。

圖4.4所示為該混合器在一般切換模式下，其不同切換頻率之混合效率圖。此實驗資料的量測係取在沿著T型交界面下方300~1200 μm 處的值。在層流的情況之下，其混合效應僅藉由擴散的現象來產生，所以其最大的混

合效率僅有47%。由圖4.4可得知，在一般切換模式下，其最大混合效率皆小於60%。因此，該操作模式很難得到較高之混合效能。歸究其原因，可能是其樣本切換時開入端的浮動電壓導致所產生的擺幅受到了限制。

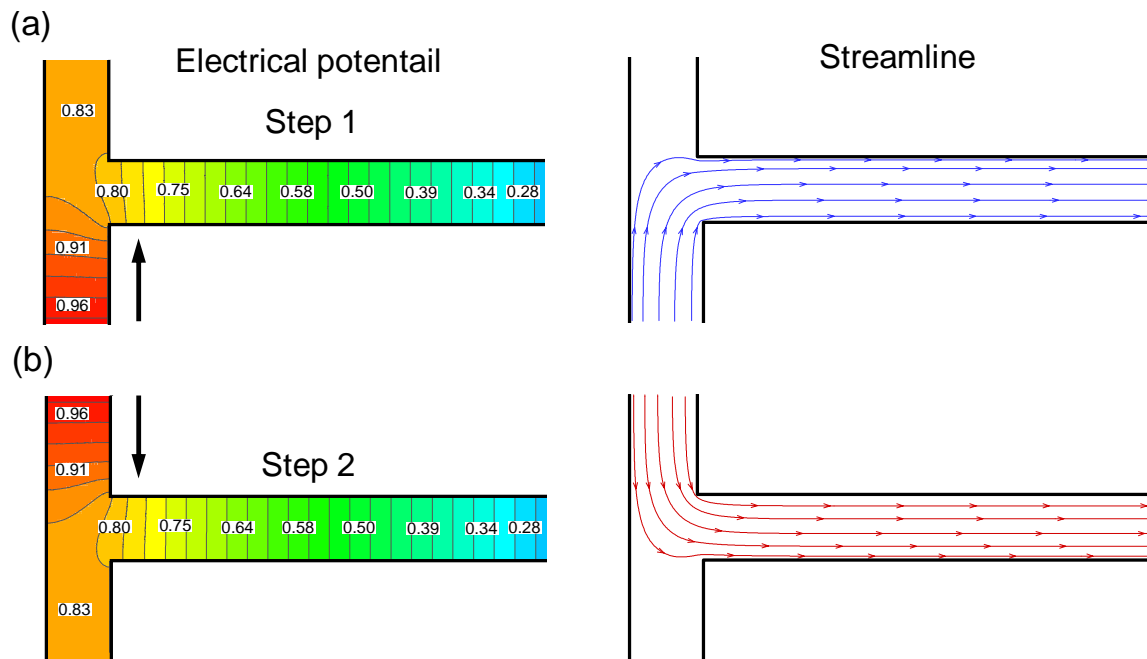


圖 4.2 T 型微流體混合器，在一般切換模式於兩段切換下之電場強度分佈及流線圖。

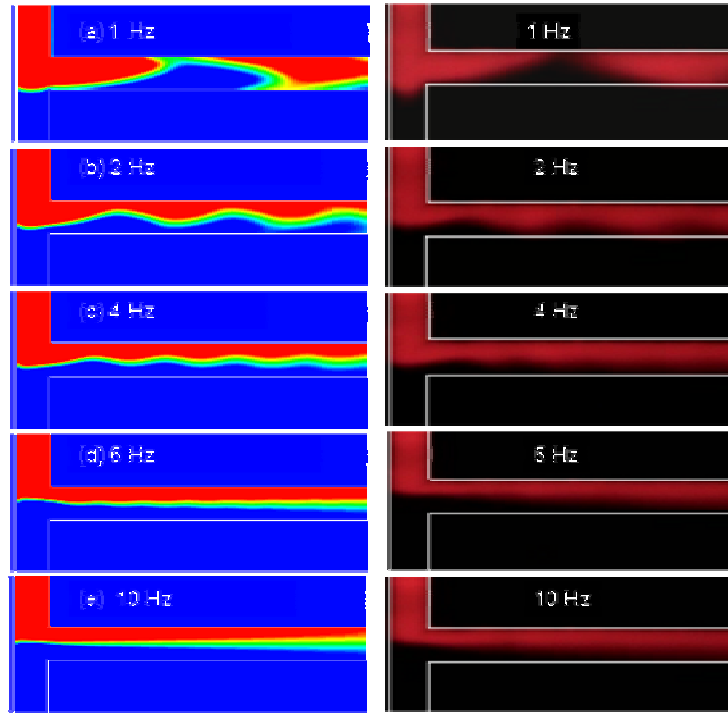


圖 4.3 T 型微流體混合器於一般切換模式下，藉由數值模擬及實驗測試其於固定驅動電場強度 90 V/cm 及各種切換頻率下之濃度分佈影像圖。

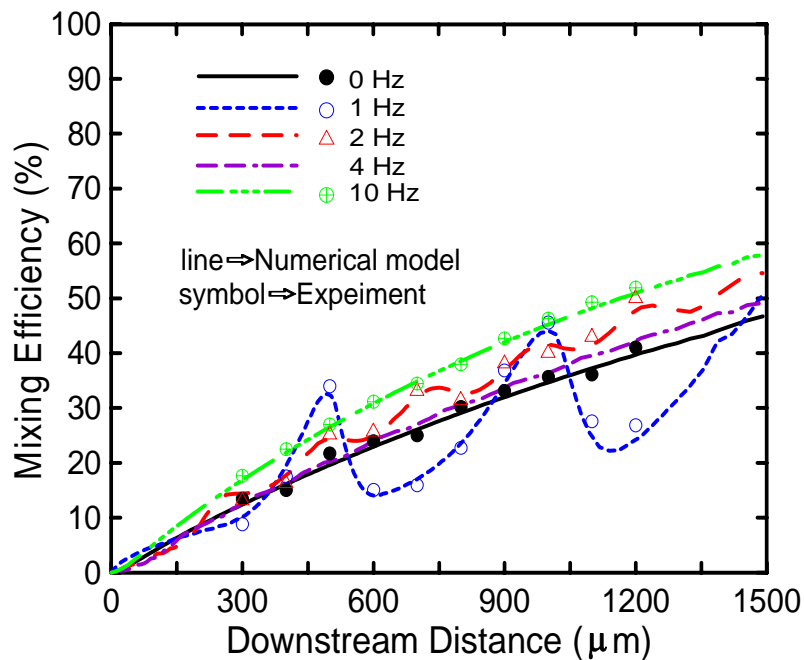


圖 4.4 T 型微流體混合器於一般切換模式下，在不同切換頻率於 T 型端下方 1000 μm 處之管道橫斷面的正規化濃度亮度值。

4.1.2 箝位切換模式之混合結果

為提升 T 型微流體混合器之混合效率，發展出一簡單的技術，在其儲存槽與接地端串聯一高阻值電阻，以使開路入口端之浮動電位降低，如圖 1.20 (B) 所示。一較低之箝位電壓推動樣本流進入開路入口端，藉此來增加切換時所產生的振幅。如圖 4.5 所示，係利用 200 M Ω 的電阻來架構之箝位切換模式的電場強度分佈及所對應的流線。由流線圖可知，流體從進樣端被送入，其不僅會傳送至混合管道，且一部份會送至開路入口端。然而，當驅動電場切換至反方向時，先前被推至開路入口端的流體立刻會被推出去。因此，藉此循環式的切換會在混合管道連續產生大振幅之波浪狀流體。

圖 4.6 所示，係該混合器在搭載 200 M Ω 電阻之箝位切換模式下，利用數值模擬及實驗測試於 90 V/cm 之驅動電場，在各切換頻率下之濃度分佈影像圖。因為液體樣本部分進入開路端再被推回，所以其產生的波浪之波長較一般切換模式下要短、且其振幅較大。因此，箝位切換模式可有效提升混合效能。圖 4.6 (c) 所示，兩不同樣本於 4 Hz 切換頻率下幾乎可達到完全混合，然而，當切換頻率增加、波浪的振幅會變小，所以導致混合效率降低。原因是液體的慣性效應，會使得波浪的振幅變小，因此僅藉由提高切換頻率，其並不能絕對地就可改善混合之性能。此外，在本實驗中亦針對各種電阻值 (50, 100, 150, 200 M Ω) 作測試，可發現其對混合效能之影響相當的微渺。

圖 4.7 所示，為箝位切換操作模式之微流體混合器的混合效率。在 1 Hz 和 2 Hz 低切換頻率之下的混合效率呈現波浪狀，其表示有週期性的螢光樣本流入混合管道。當切換頻率提升到 4 Hz 時，於 T 型交界面下方 1 mm 處，可獲得高達 97% 之混合效率。在切換頻率為 5 Hz 和 6 Hz 時，其混合效率也分別有 87% 和 80%。因此，本研究所提出之箝位切換模式很明顯地可以提升為混合器之混合性能。

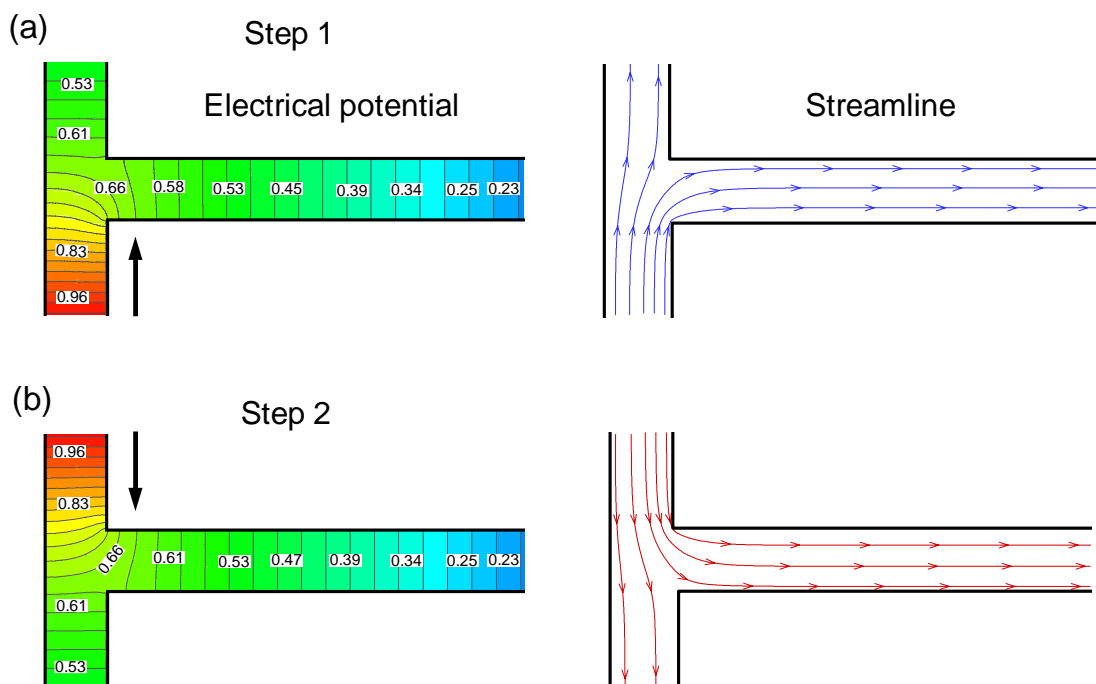


圖 4.5 T 型微流體混合器於箝位切換模式，其兩段切換下之電場強度分佈及流線圖。

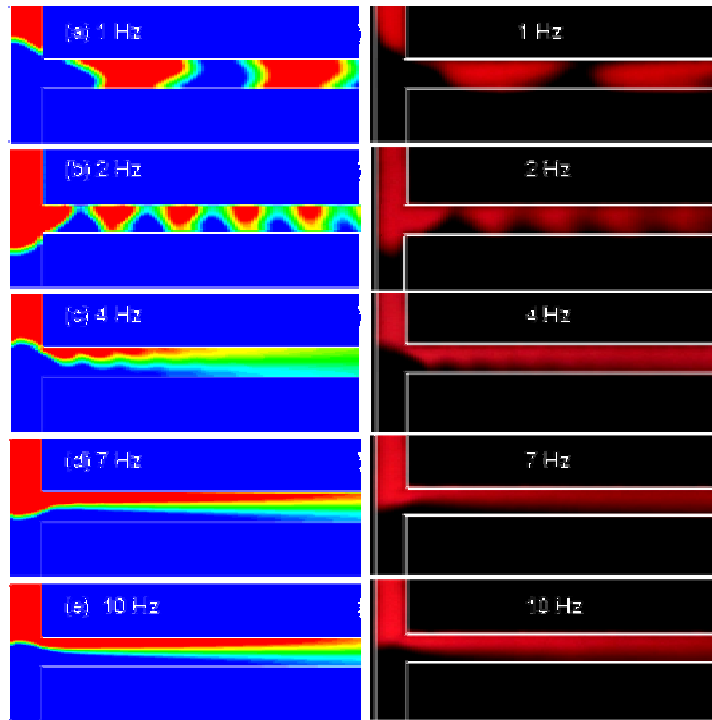


圖 4.6 T 型微流體混合器於箝位切換模式下，藉由數值模擬及實驗測試其於固定驅動電場強度 90 V/cm 及各種切換頻率下之濃度分佈影像圖。

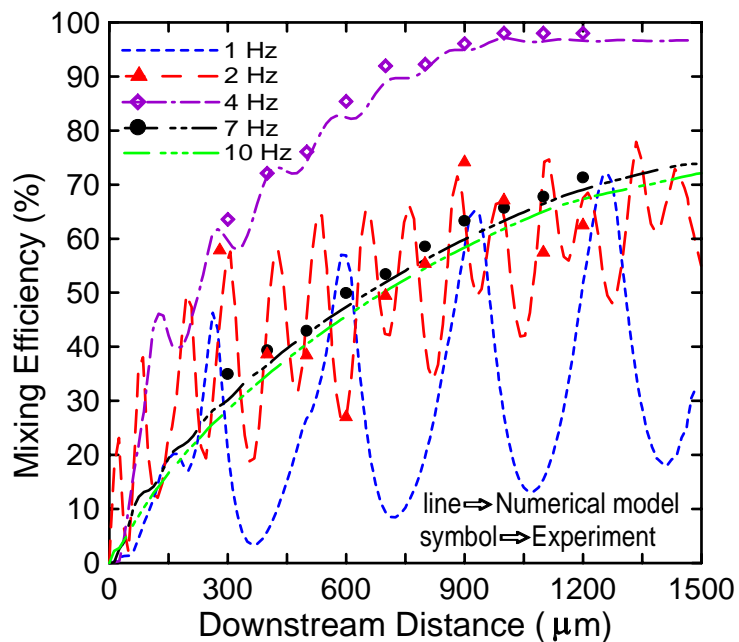


圖 4.7 T 型微流體混合器於箝位切換模式下，在不同切換頻率下之混合效率。

4.1.3 混合效率最佳化之操作參數

根據先前所述，切換頻率對於混合之性能有其明顯的差別。然而，其混合性能也會受到樣本液的驅動電壓大小而有所影響。在電動驅動的情況下，當施加較高的驅動電壓時，其樣本液於微管道內的流速會隨之加快。雖然高驅動電壓可提升流體流動的不穩定性，但由於流速較快其也會降低兩樣本間於特定距離內的接觸時間。因此，驅動電壓、切換頻率和混合性能之間的關係，有必要進行詳細的探討。在此，使用 60 V/cm、90 V/cm、120 V/cm 和 180 V/cm 之驅動電壓以及用以建立箝位切換模式之 200 M Ω 電阻於樣本液槽，藉由數值模擬及實驗在不同切換頻率之下，來求其混合效率，所對應的結果如圖 4.8 所示。與先前一樣，該混合性能係於 T 型端下方 1 mm 處所量測的。就目前結果來看，其在驅動電壓為 60 V/cm、切換頻率 2 Hz，於 T 型端下方 1 mm 處可量得其高達 97% 之最大混合效率。儘管混合性能可滿足大部分實際應用的需求，但在特定的應用時，一高產出能力之微混合器仍是必須的。在電動驅動液體樣本時，其樣本的流速是與其所施加的電場強度成正比。目前的微混合器其在不同驅動電壓的最佳化操作情況也被整理出來，如圖 4.8 所示。在所有的測試條件之下，其最佳化的混合效率皆可高達 90%，足以驗證此混合器之可行性。

圖 4.9 所示，係分別在高、低驅動電壓之最佳化操作情況下的流體濃度分佈影像圖。在 60 V/cm 低驅動電壓方面，其在 2 Hz 的切換頻率之下可

獲得 97% 之最大混合效率。同時，在 180 V/cm 高驅動電壓方面，其在 8 Hz 的切換頻率之下，於兩秒內可到達 90% 之最大混合效率。儘管在高驅動電場的情況下，仍可透過提高切換頻率來混合樣本，但受限於本研究之電源供應器僅能提供 10 Hz 之切換頻率，故未再進一步測試。而且，當低驅動電壓及低切換頻率即可提供可以接受之混合性能，因此不需採用複雜度較高之高頻切換，以求取相同之混合效率。

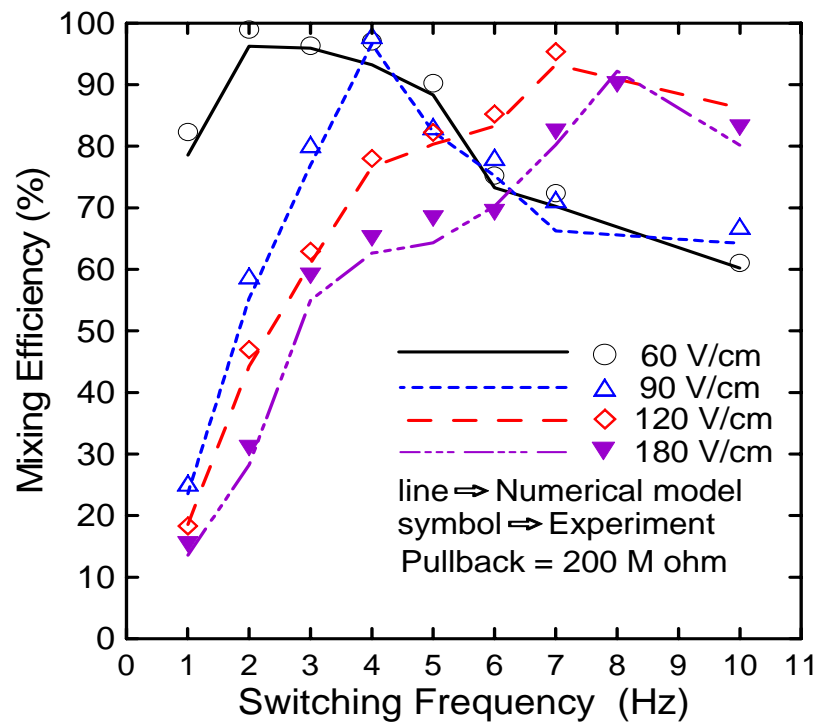


圖 4.8 T 型微流體混合器，其利用數值模擬及實驗評估在不同切換頻率及驅動電壓下於 T 型端下方 1000 μm 處之混合效率比較圖。

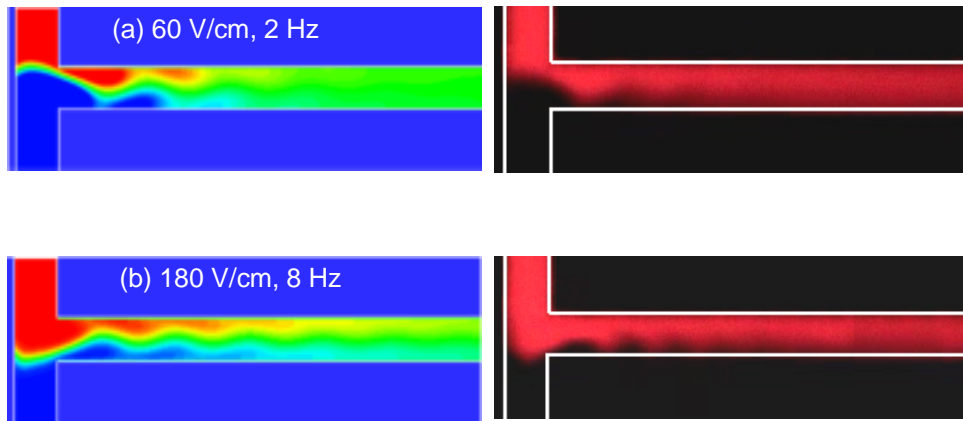


圖 4.9 T 型微流體混合器於箝位切換模式下，藉由數值模擬及實驗測試其於低驅動電壓及高驅動電壓時，該混合效率最佳化之濃度分佈影像圖。

4.2 雙 T 型微流體混合器之混合情形

4.2.1 增加進樣側管之混合結果

在此雙 T 型微流體混合器的混合特性分析，首先考慮藉由增加樣本液的接觸面積數在混合效能上的影響。圖 4.10 所示，係利用數值模擬在施加 100 V/cm 之電場下的電場強度分佈圖及兩種平行注射之流線。而圖 4.10 (b) (c)，分別表示該注射模式之同邊注射模式 (cis-injection) 及交錯注射模式 (trans-injection) 的流線圖形。

圖 4.11 所示，係在施加電場強度 100 V/cm 的條件下，利用數值模擬及實驗測試之樣本液濃度分佈圖。由圖 4.11 (a) 可清楚得知，該種平行流無法提供有效地樣本混合效能，擴散係其所能仰賴的混合機制，且該圖之混合效能與一般 T 型微混合器之結果相似。而混合效率如圖 4.12 所示，同邊注射模式之平行流的混合效率，在長度為 2500 μm 之混合管道上僅有 41%。

圖 4.11 (b) 所示，為交錯注射式之樣本濃度分佈圖，其一樣本是從儲存槽 1、4 注入，而另一樣本是從儲存槽 2、3 注入，由此可看出該種注射模式可將混合管道上平行流之數目從兩條變成四條，因此導致兩樣本液間的接觸面積增加。而由圖 4.12 所示，此種注射模式之混合效能於 2500 μm 之混合管道上，可達到 65% 之混合效率。

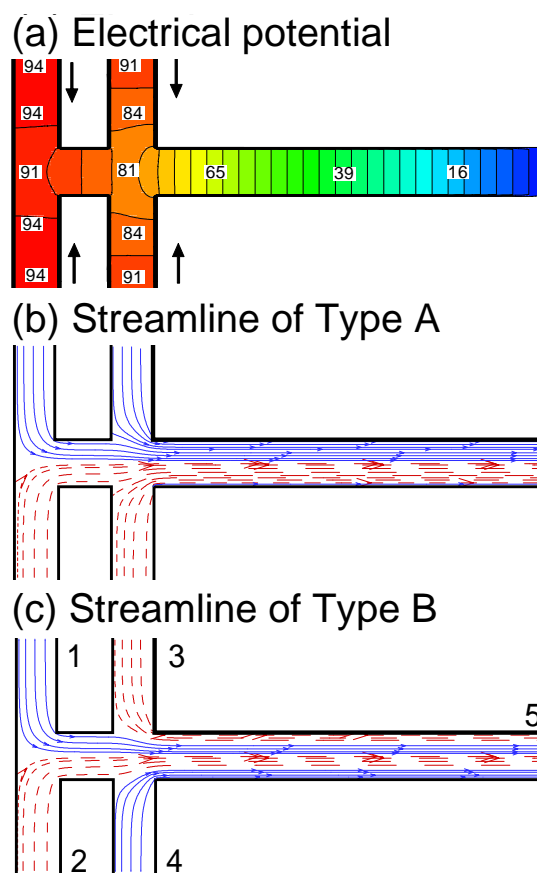


圖 4.10 雙 T 型微流體混合器，以數值模擬在施加 100 V/cm 之電場下的電場強度分佈圖 (a) 及兩種平行注射模式之流線，分別表示同邊注射模式 (b) 及交錯注射模式 (c)。

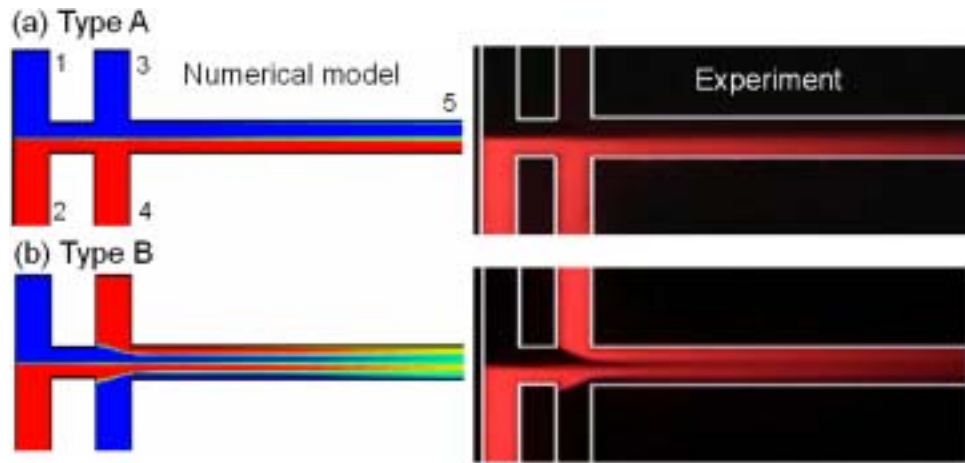


圖 4.11 雙 T 型微流體混合器，在平行流注射下之數值模擬及實驗所得之濃度分佈影像圖。

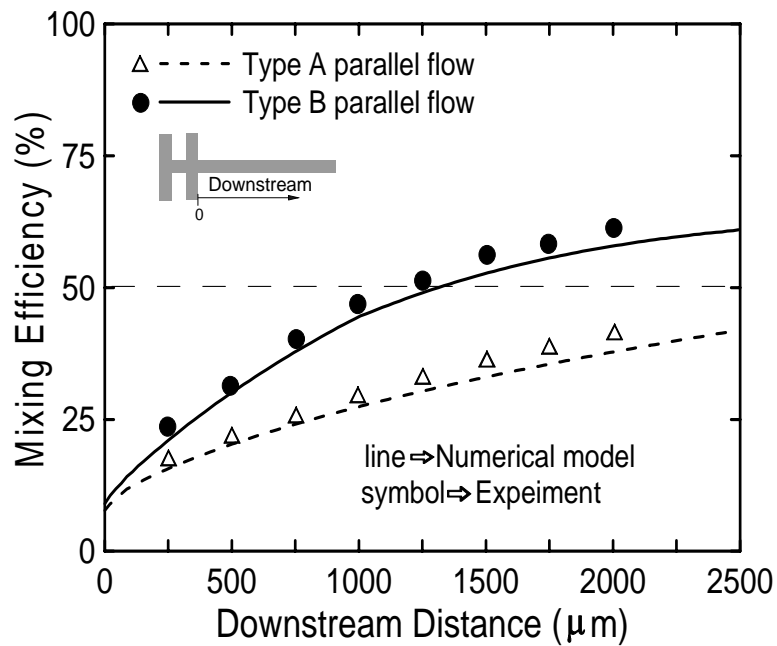


圖 4.12 雙 T 型微流體混合器，於平行流注射模式在次 T 型下方 2500 μm 長之路徑上的混合效率變化圖。

4.2.2 直接切換模式之混合結果

如圖 4.13 所示，為該混合器於操作時，其兩階段切換所對應的電場強

度分佈及流線。在圖 4.13 (a) (Step 1) 中，施加一 100 V/cm 之電壓於儲存槽 1、2 和 4，而儲存槽 3 維持一開路的狀態，因此於管道 3 中並無驅動力，其流體為靜止的狀態，所以此時該管道中的流線並不存在。而在 Step 2 (圖 4.13 (b)) 的操作模式下，儲存槽 4 的驅動電壓被切換到儲存槽 3，此時儲存槽 1、2 和 3 會產生一相同之驅動力，因此流體於管道 4 中呈現不動的狀態。由圖 4.13 可看出，驅動電壓於儲存槽 3、4 之間週期性切換時，會產生流體的不穩定性來增加兩樣本間的接觸面積，以達到混合的目的。

圖 4.14 所示，係該混合器於切換模式下，施加一固定驅動電場 100 V/cm 及切換頻率為 1 Hz 至 8 Hz 之濃度分佈影像圖。在此圖中，樣本 1、2 分別注入管道 2、1 中，形成一平行對流於雙 T 型界面間，同時施加一切換的驅動電壓於管道 3、4 中來使樣本 1、2 交替注入，以此來產生流體的不穩定性，並增加兩樣本的接觸面積，以提高混合之性能。圖 4.14 (a) 所示，係樣本於切換頻率 1 Hz 時被注入，其產生一波浪狀之濃度分佈。從圖 4.14 (a) 可知，由於其切換頻率為 1 Hz 時，所引起的樣本注入量過多之現象，所以導致兩樣本於混合區內無法產生較好的接觸。而圖 4.14 (b) 所示，當切換頻率增加到 2 Hz 時，其兩樣本於混合管道中的接觸面積隨之提高，可得到較佳之混合效果。但是，當切換頻率超過 2 Hz 時，兩樣本間於混合管道中的接觸面逐漸地衰減。當切換頻率增加到 8 Hz 時 (圖 4.14 (c))，發現其樣本液的擺動已微乎其微，而使得混合效率變差。

圖 4.15 所示為施加驅動電壓 100 V/cm 及切換頻率 0 至 8 Hz 時，沿著次 T 型交界面下方量測其混合效率的變化值 ($L_{\text{mix}} = 1200 \mu\text{m}$)。在切換頻率為 0 Hz 時，其混合效應僅藉由擴散的現象來產生，所以其最大的混合效率僅有 47.2%。而在 1 Hz 時，其混合效率已有明顯的提升，但其會產生波浪狀的起伏。當切換頻率為 2 Hz 時，於次 T 型交界面下方 $1000 \mu\text{m}$ 處，其混合效率可高達 95.3%，由此可知本研究所提倡之週期性切換模式於特定的切換值可得到有效且快速之混合效果。而切換頻率提高為 4 Hz 及 8 Hz 時，其混合效率於 $1200 \mu\text{m}$ 處分別為 79.8% 及 73.5%，就先前所述，由於切換頻率增加導致兩樣本液於混合管道的接觸面積減少且接觸的時間降低，因此其混合的效率較為縮減。

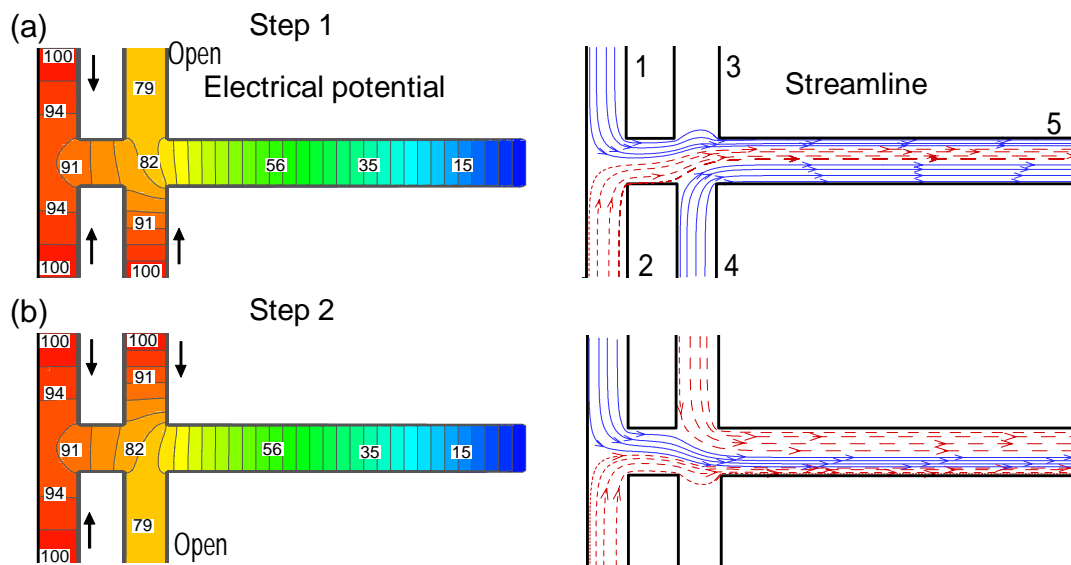


圖 4.13 雙 T 型微流體混合器，兩段切換模式之電場強度分佈及流線圖。

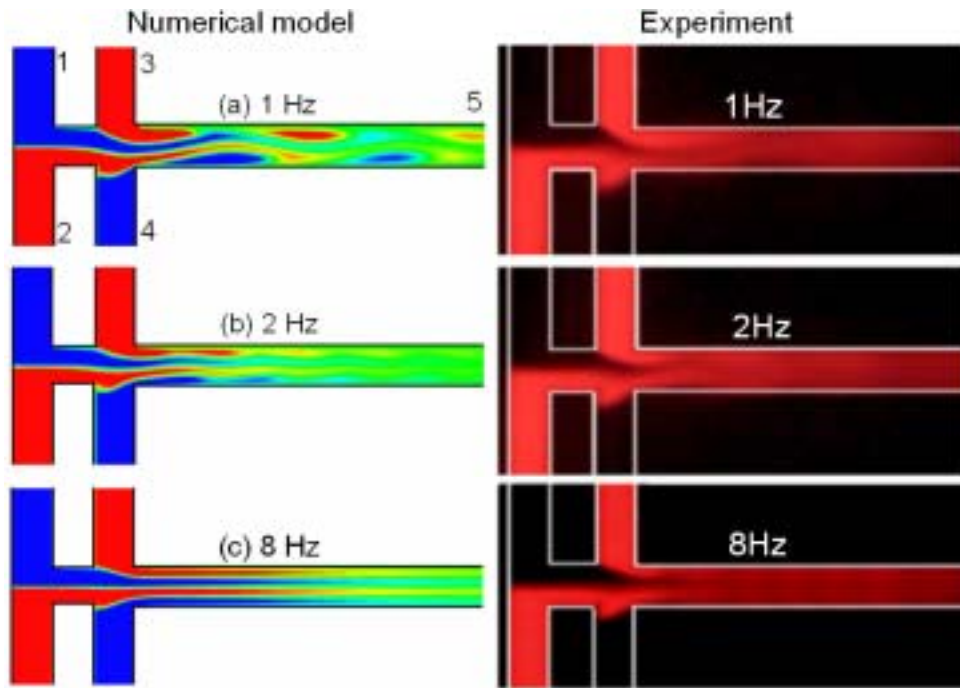


圖 4.14 雙 T 型微流體混合器，在藉由數值模擬及實驗測試其於固定驅動電場強度 100 V/cm 及各種切換頻率下之濃度分佈影像圖。

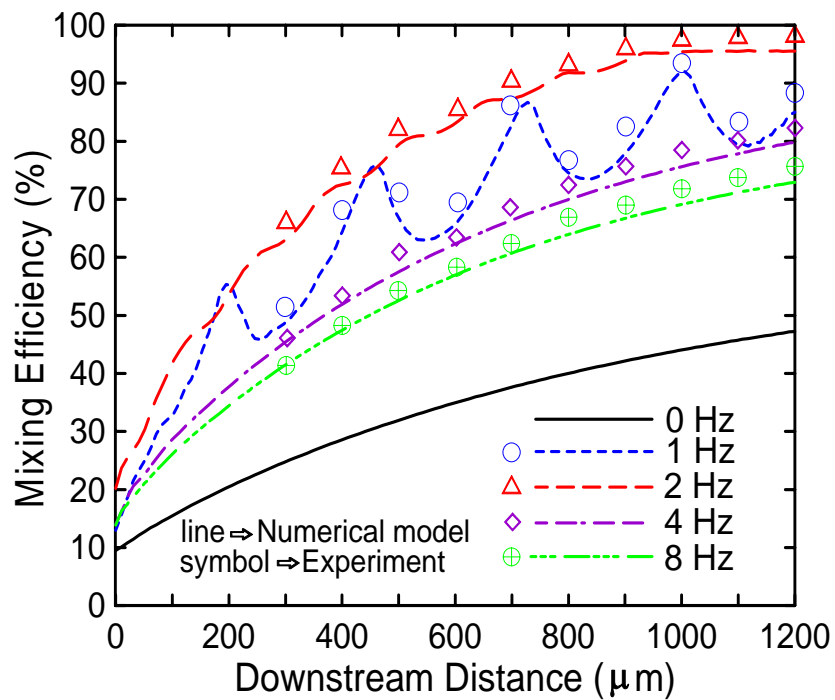


圖 4.15 雙 T 型微流體混合器，其在不同切換頻率下之混合效率。

4.2.3 混合效率最佳化之操作參數

根據先前所述，切換頻率對於混合之性能有其明顯的差別。然而，其樣本液的驅動電壓值對於混合效率亦有相當之影響。由於驅動電壓升高時，其樣本液的流速會隨之提高，相對地其樣本液間相互接觸的時間即會減少，因此混合的效能就會較為降低。如圖 4.16 所示，為此雙 T 型微流體混合器在不同驅動電壓及切換頻率之下，於次 T 型端下方 $1200\ \mu\text{m}$ 處之混合效率的比較。藉由各種操作條件的量測分析，可清楚的看出該混合器之較佳操作條件，當驅動電壓在 $100\ \text{V/cm}$ 以下時，其混合效率皆可輕易地到達 90% 以上，因此說明其可在較低驅動電壓及低切換頻率下即可獲得高混合效率，此結果對於微尺度的混合問題帶來相當大的助益。

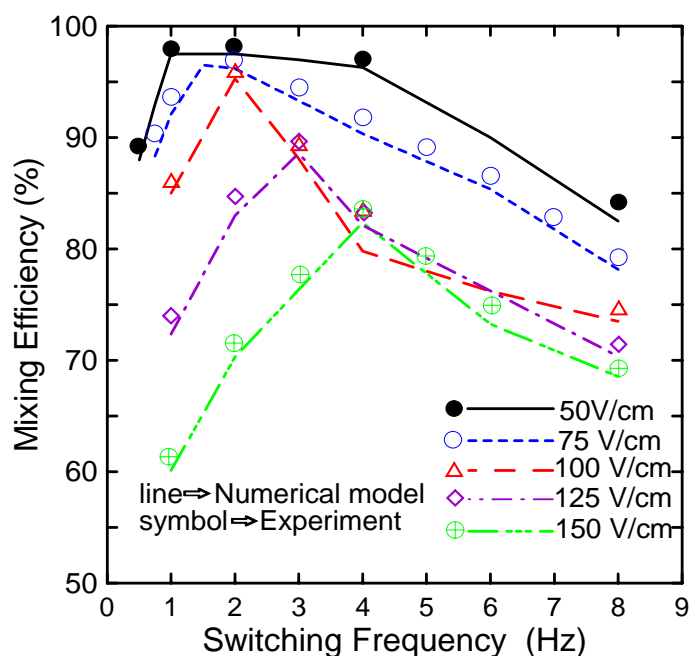


圖 4.16 雙 T 型微流體混合器，其利用數值模擬及實驗評估在不同切換頻率及驅動電壓下於次 T 型端下方 $1200\ \mu\text{m}$ 處之混合效率比較圖。

4.3 微混合器於 DNA-酵素反應及萃取的應用

4.3.1 DNA 於微管道中被電滲透流帶動之流率分析

此研究主要是要用來測試 DNA 在微管道中被電滲透流帶動時，其所移動的速度大小。本研究利用一 T 型管道來進行測試，初始時上游端（T 型之兩進樣槽）DNA 濃度約為 $250 \text{ ng}/\mu\text{L}$ ，而下游接收端則並無 DNA 存在。當施加電壓於進樣槽時，電滲透流隨即產生來帶動 DNA 往後傳輸。由圖 4.17 所示，可以知道接收端的 DNA 濃度變化大約和時間成正比。因此，知道了濃度隨時間的變量以及已知的微管道寬度和深度後，便可以依此計算出 DNA 的流動速度。然而，在本試驗中發現其影響 DNA 濃度的因素並不僅只有電滲透流帶動 DNA 而改變濃度這一項而已。實際上，電解和蒸發所造成局部濃度的提升也是相當可觀的。於是，在以每分鐘濃度變量換算成相對應的體積變量後扣除推估的電解、蒸發液體量後再除去微管道的截面積後即是 DNA 在管道中的運動速度。在本研究中，藉由推估出 DNA 的行進速度約為每分鐘 1.2-1.5 cm 左右。

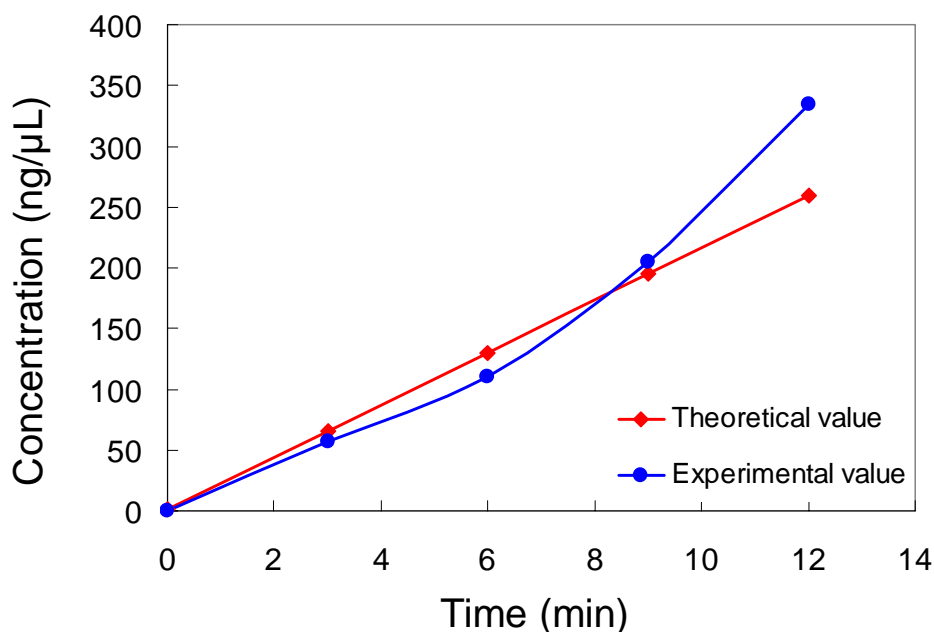


圖 4.17 微流道中 DNA 的濃度隨時間變化圖。

4.3.2 DNA 切位反應之膠電泳結果

圖 4.18 所示,係將 λ -DNA 於傳統大系統及微晶片裝置切位反應之膠電泳比較圖,該反應是在 37 °C 下所進行的切位結果。其中, M1 係以 λ -DNA 與 Hind III 切位之標準 DNA marker,其具有 7 個 band 分別為 23130 bp, 9416 bp, 6557 bp, 4361 bp, 2322 bp, 2027 bp 及 564 bp,而 M2 則為 100 base-pair 的 ladder marker。而紅色框內的是在大系統的試管中所進行的酵素切位反應(左半部),藍色框內的則為微管道中的切位反應(右半部)。就一個完整的 λ -DNA/EcoRI 切位反應而言,其切位結果會造成 λ -DNA 形成六個約 21.4 kb, 7.4 kb, 5.8 kb, 5.6 kb, 4.9 kb 及 3.5 kb 的 DNA 片段。

若進行紅框和藍框內的 DNA 切位實驗之結果比對,可以發現藍框中微管道中的 DNA 切位中間產物 (DNA band 拖尾部分以及 21.4 kb 和 7.4 kb

間的數個未完全反應 DNA) 大約到了 18 分鐘時就已經幾乎消失了。此結果表示在微管道中的 EcoRI 酵素切位反應，在 18 分後已完成全部 DNA 切位之反應。然而，在試管中的反應卻得等到約 40 分鐘時才有相同的效果。由此實驗可以發現，在微流體系統內酵素反應的速度被加快了一倍，且亦驗證了所提出之微晶片裝置在酵素切位反應的可行性。

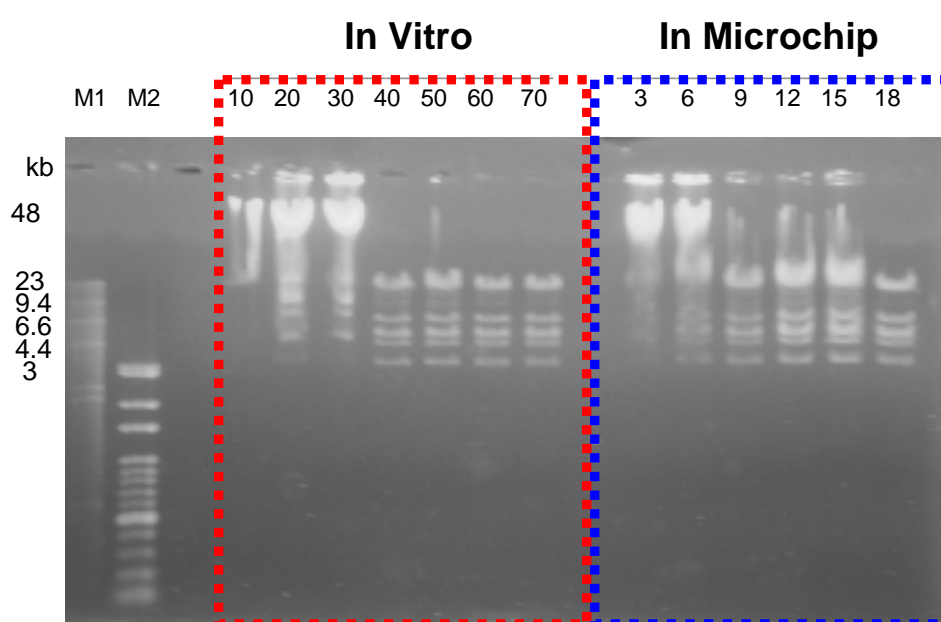


圖 4.18 λ -DNA 於傳統大系統及微晶片裝置切位反應之膠電泳比較圖。

4.3.3 DNA 切位反應之毛細管電泳結果

為實現晶片實驗室的理想，此研究也將 DNA 與酵素切位完畢之產物，藉由晶片毛細管電泳系統來作 DNA 片段的分離、檢測。圖 4.19 為 ϕ X-174 DNA 與 Hae 切位酵素持續進行切位反應時，於不同時間進行 DNA 分離之產物，其反應時間分別為：6 分鐘 (圖 4.19 (a))、12 分鐘 (圖 4.19 (b))

及 18 分鐘 (圖 4.19 (c))。該反應是在 37 °C 之工作溫度下所進行的，其所使用的緩衝液 HPMC 是由 0.5x 的 TBE 將其稀釋成 1%，並在其內加入 1% 的 Yo-PRO 螢光染料。而所施加的樣本注射和分離的操作參數分別為，樣本注射 60 秒、樣本分離 300 秒，其施加電壓皆為 200 V/cm。由結果可知，DNA 與酵素在晶片中反應時，其在不同時間的所產生的切位情況。而圖 4.20 為該 ϕ X-174 DNA 與 Hae III 酵素進行切位反應 25 分鐘所得的結果，其將 ϕ X-174 DNA 的 11 個 DNA 片段 (72 bp、118 bp、194 bp、224 bp、271 bp、281 bp、310 bp、603 bp、872 bp、1078 bp 及 1353 bp)，皆完成切位且分離出來。此一結果有助於將來各生醫微元件的整合，使晶片實驗室的理念早日被實現。

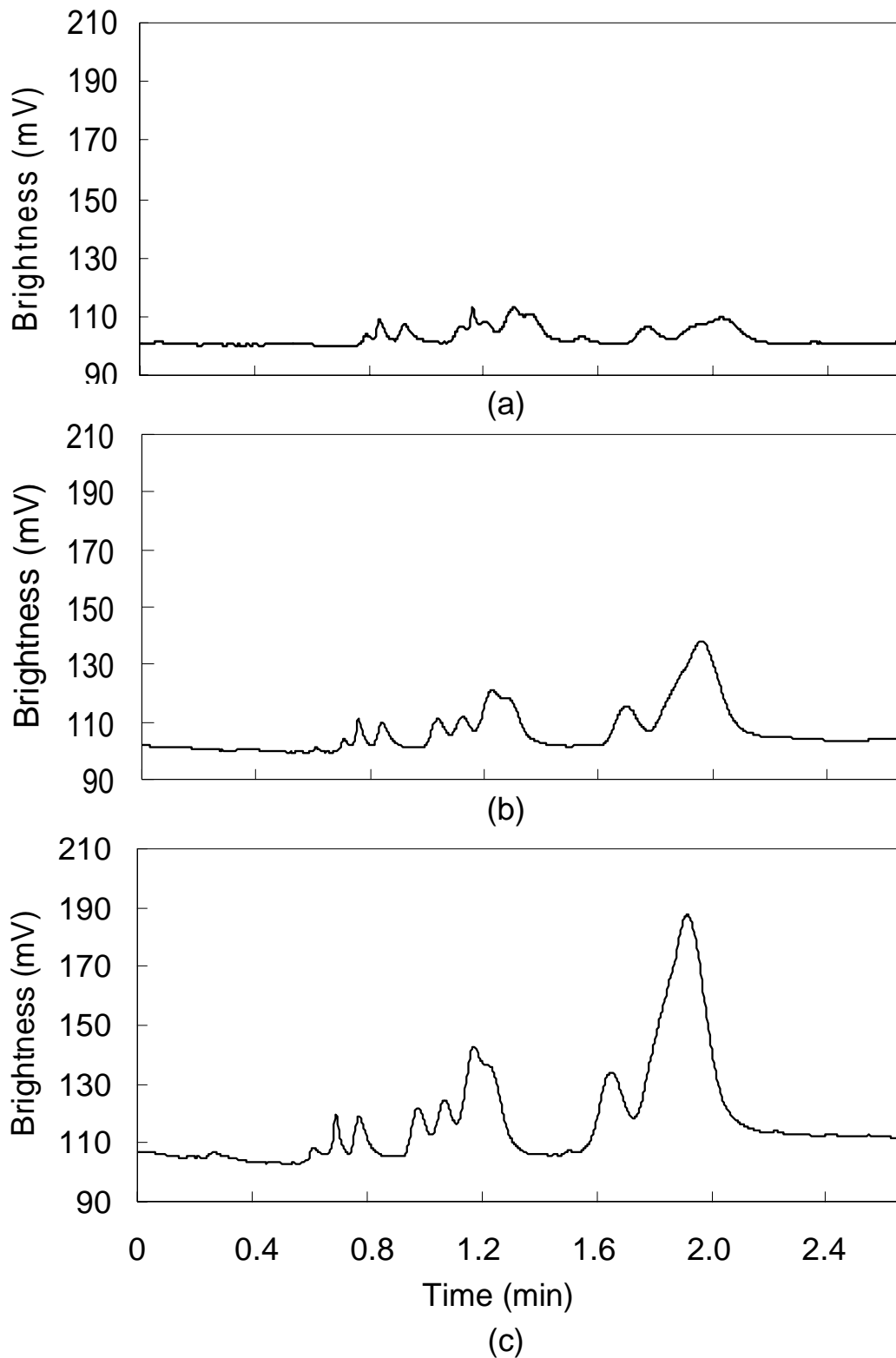


圖 4.19 ϕ X-174 DNA 與 Hae 切位酵素持續進行切位反應時，於不同時間進行 DNA 分離之產物，分別為：(A) 6 min、(B) 12 min 及 (C) 18 min。

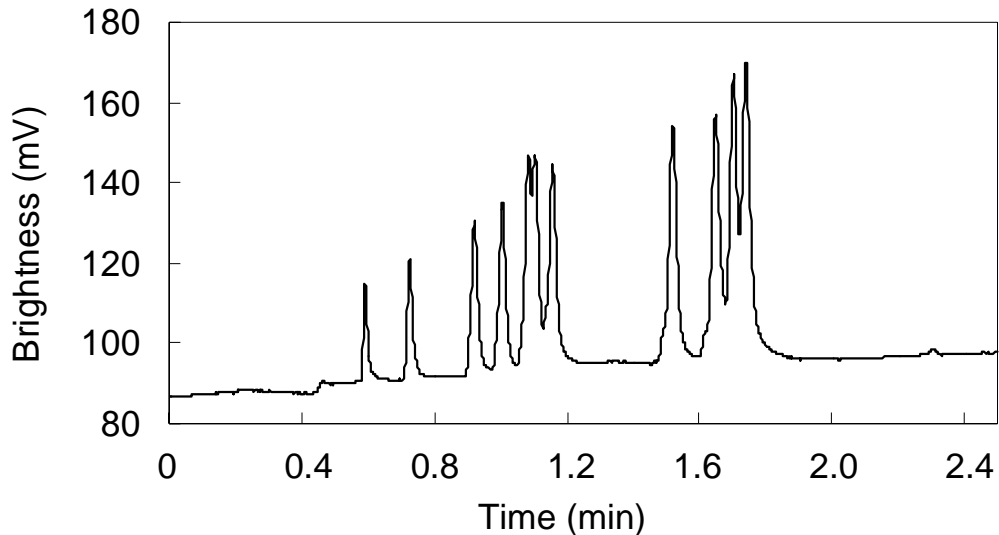


圖 4.20 ϕ X-174 DNA 與 Hae 酵素進行切位反應 25 分鐘所得的結果。

4.4 光鉗於微流道中粒子分類的應用

4.4.1 樣本流聚焦情形

圖 4.21 (a) ~ (f) 所示，為該微流體晶片內部之不同聚焦寬度的流體影像圖，其寬度依序為 90、75、60、45、30、15 μm 。實驗時係將兩側之邊鞘流通入 1 mM 的硼酸鈉溶液 (pH = 9.2)，中間樣品流則通入帶有濃度 10^{-3} M 之 Rhodamine B 染料之硼酸鈉溶液。其利用兩側邊鞘流，可將中央樣品流壓縮至單一細胞之寬度，細胞便可於微流體中依序排列流動前進，而不至發生同時有兩個以上之細胞通過影像辨識區，造成光鉗操控錯誤的情形發生。圖 4.22 所示，則是在施加各種電壓的情形下，所得到的聚焦寬度值，根據實驗結果顯示該聚焦之最小寬度值為 12 μm 。

此外，本研究亦針對樣品流聚焦後中心偏移之實驗測試，圖 4.23 (b) ~ (f) 所示，分別為中心下偏 45 μm 、30 μm 、15 μm 、正中央及上偏 15

μm 。而其施加電壓的方式，如圖 4.23 (a) 所示，係於入口端 1 及 2 施加 120 V/cm 的電壓，並於出口端 4 接地來構成迴路，另在入口端 3 先後施加 180 V/cm、160 V/cm、140 V/cm、120 V/cm 及 100 V/cm 的電壓，並於出口端 5 進行接地，由此圖可清楚的得知，該樣品流的中心行走路徑可藉由施加電壓的改變來輕易的作操控。

實驗中亦實際將 10 μm 之 PS 小球放入微管道中作測試，如圖 4.24 所示，其在下側邊鞘流及中央之樣品流施加 60 V/cm 的電壓，並在上側邊鞘流施加 70 V/cm 的電壓，使其樣品流中心下偏 15 μm 。根據此結果可看出其塑膠小球確實可穩定地在聚焦後之樣品流中流動，並將粒子傳送之末端進行收集的工作。

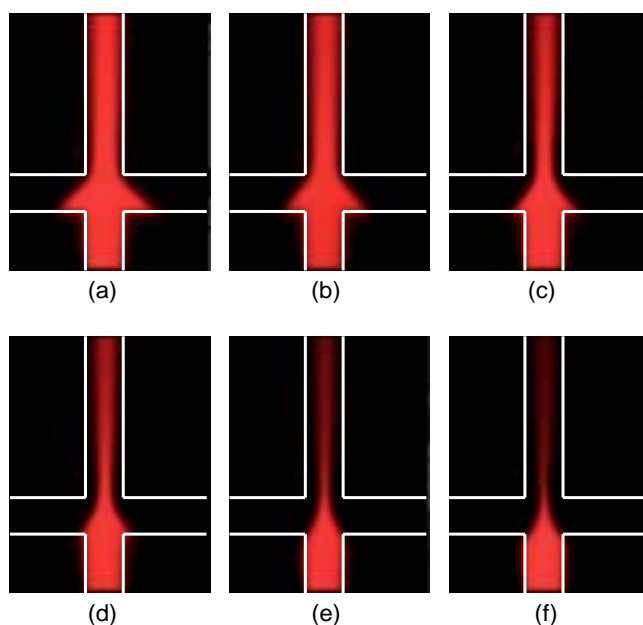


圖 4.21 不同聚焦寬度之流體影像圖，(a) 90 μm ，(b) 75 μm ，(c) 60 μm ，(d) 45 μm ，(e) 30 μm ，(f) 15 μm 。

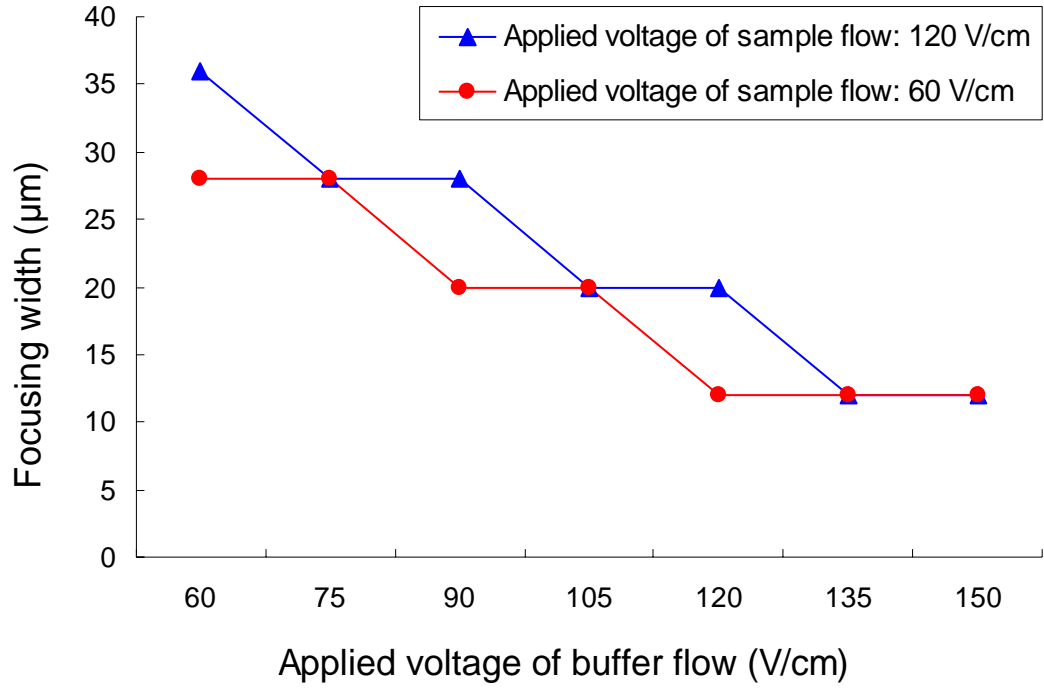


圖 4.22 在施加不同電壓下之聚焦寬度統計結果。

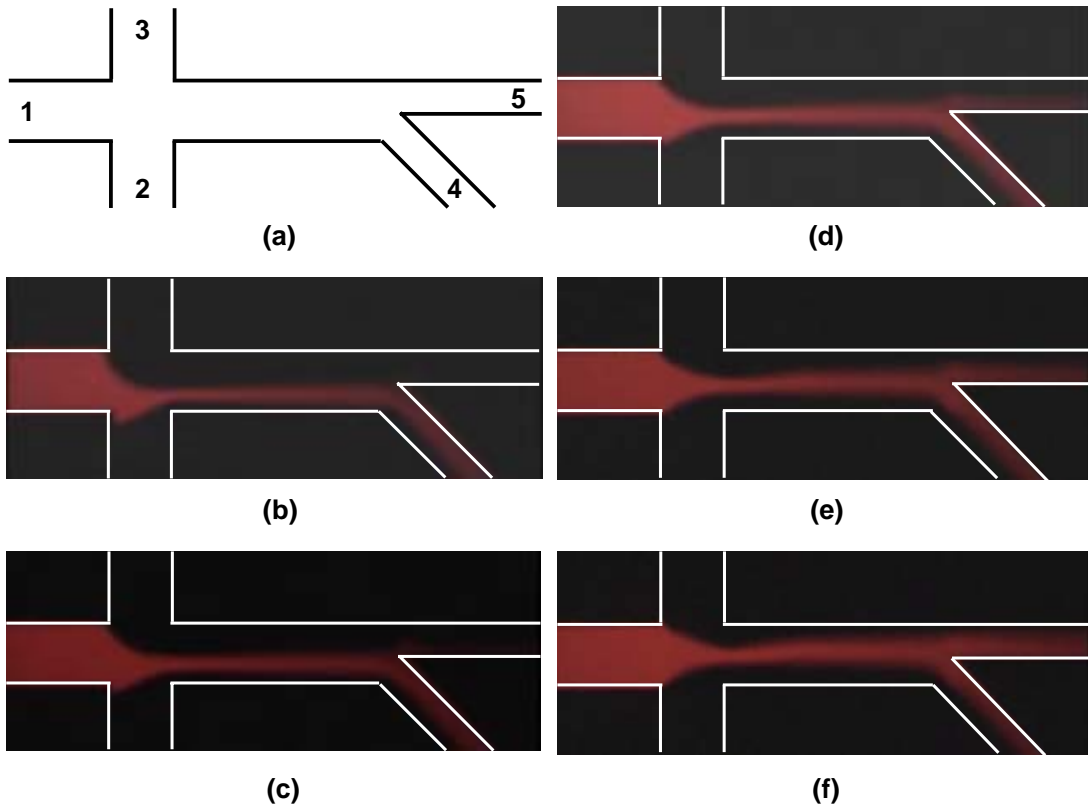


圖 4.23 樣品流中心偏移之影像圖，(a) 示意圖，(b) 下偏 $45\ \mu\text{m}$ ，(c) 下偏 $30\ \mu\text{m}$ ，(d) 下偏 $15\ \mu\text{m}$ ，(e) 正中央，(f) 上偏 $15\ \mu\text{m}$ 。

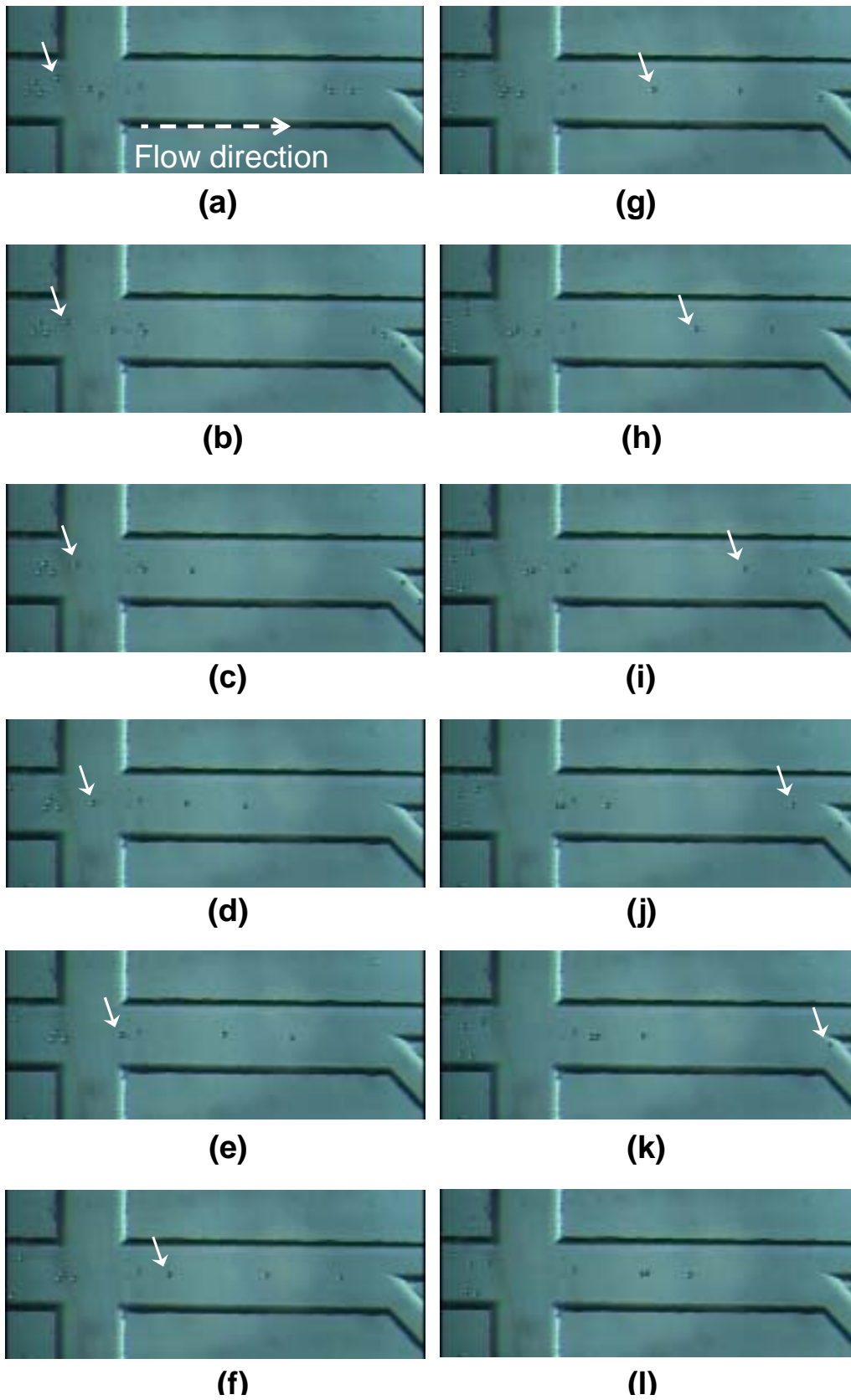


圖 4.24 微流體聚焦之粒子流動連續影像圖。

4.4.2 雷射光鉗搬運微尺度粒子之結果

圖 4.25 所示，為本實驗所架設之光鉗系統於顯微鏡載玻片上搬運靜態之粒子（ $10\ \mu\text{m}$ ）的連續影像圖，該雷射光束之輸出功率為 $160\ \text{mW}$ ，圖中箭頭所指之粒子為光鉗作動之中心點，亦即捕捉力最強之作動區。由圖 4.25 (d)~(f) 可看出該雷射光鉗可同時搬運高達六顆粒子，但隨著側向搬運速度的增加，其周圍粒子將因而脫離該捕捉力之範圍內(圖 4.25(g)~(l))，並留下光鉗焦點之單一粒子，最後該粒子亦將脫離光鉗的操控。由此實驗可驗證出，光鉗的捕捉力係為一梯度分佈。

圖 4.26 所示，為該雷射光鉗實際於微管道內在 $50\ \mu\text{m}/\text{sec}$ 之逆向流場的環境下，所進行粒子（ $10\ \mu\text{m}$ ）搬運之連續影像圖，此時該雷射光束之輸出功率為 $250\ \text{mW}$ ，粒子搬運的速度平均約為 $90\ \mu\text{m}/\text{sec}$ 。而圖中箭頭所指係為該粒子欲搬運之位移路徑，其移動方向包括管道之軸向及徑向。由此圖說明了光鉗在微管道內操控微粒的可行性，亦驗證了此玻璃晶片於蝕刻製程之後，仍保有良好之光學品質。

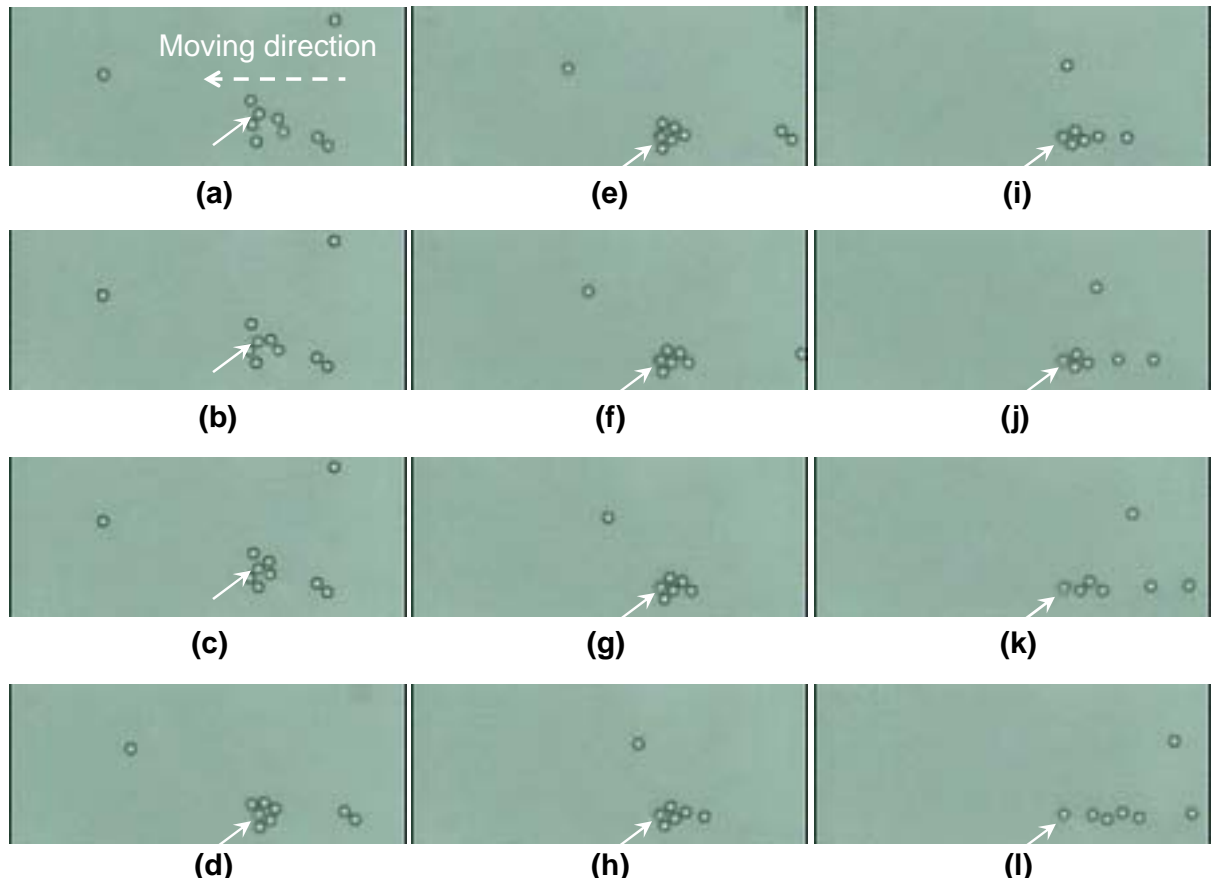


圖 4.25 微粒子於顯微鏡載玻片上靜態搬運之連續影像圖。

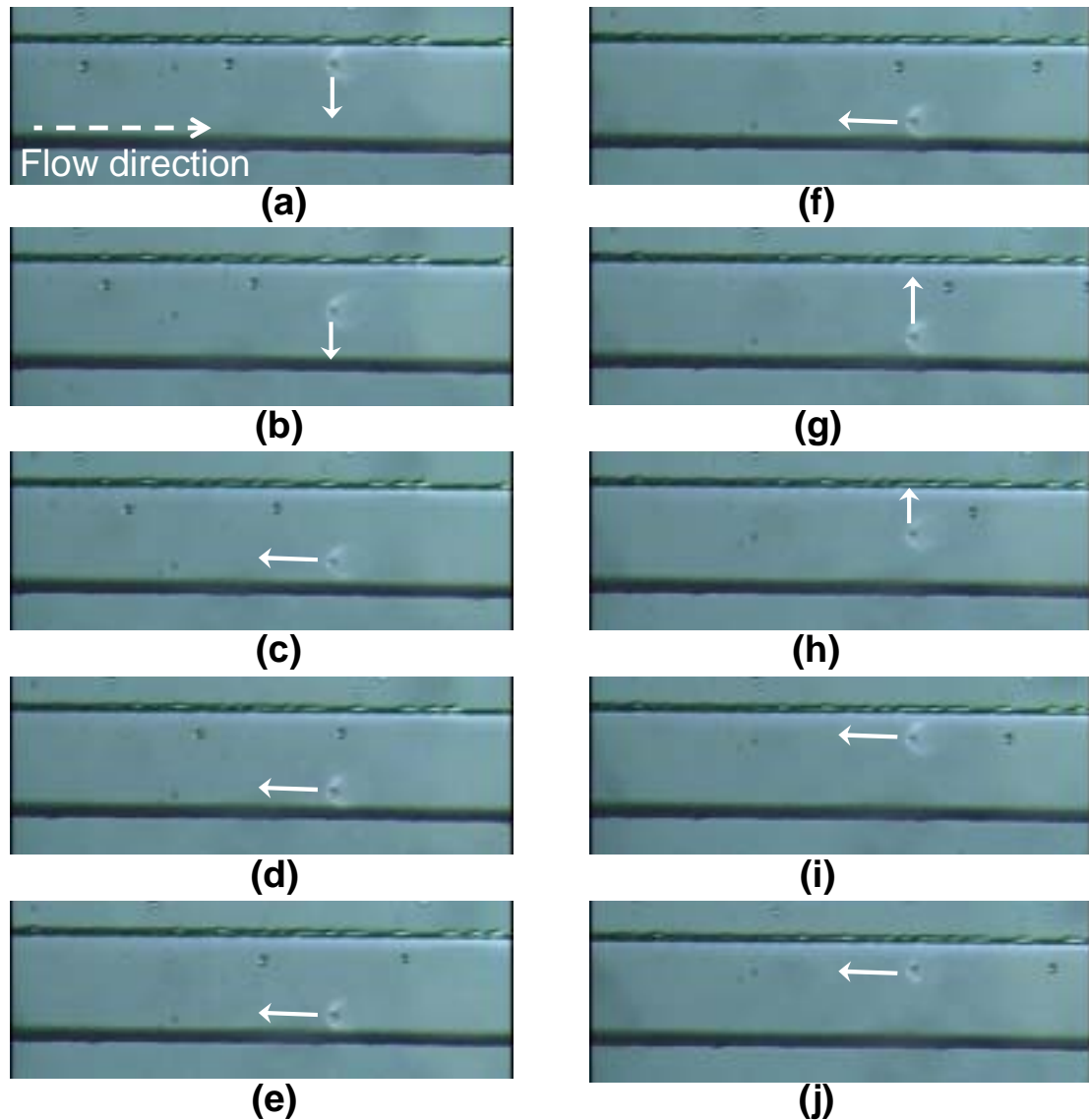


圖 4.26 微粒子於微流道內搬運之連續影像圖。

4.4.3 雷射功率與光鉗捕捉力的關係

圖 4.27 所示，為該雷射光鉗於微管道內捕捉粒子（ $10\ \mu\text{m}$ ）之連續影像圖，此時雷射光束之輸出功率為 $250\ \text{mW}$ ，粒子於微管道中之流速為 $180\ \mu\text{m}/\text{sec}$ 。圖 4.27 (a) 及 (b) 中的紅點表示該雷射光鉗之作動位置，此時其已穩定地捕捉住一顆粒子。當遮擋住雷射光路使其光鉗停止捕捉時（圖 4.27 (c) ~ (h)），該粒子隨即被管道中的電滲透流帶往後方傳送。

本研究也透過黏滯拉力法來分析光鉗於微管道中捕捉粒子之橫向捕捉力，其量測示意圖如圖 4.28 所示。首先，本實驗利用光鉗於微流道中先捕捉住一粒子，再將施加於微流道的電壓緩慢升高，由式 (2-1) 可得，當所施加於微流道的電壓升高時，其電滲透流的流速也會同時隨著增加。因此，當粒子的運動速率增加到一定的極限時，光鉗再也無法捕捉住粒子，此時的速度即為所測量的“最大流速”。如圖 4.29 所示，本研究已分別對尺寸為 $5\ \mu\text{m}$ 、 $10\ \mu\text{m}$ 及 $12\ \mu\text{m}$ 之粒子求出其最大流速，並將此數值帶入式 (2-9)，即可求得該粒子的橫向捕捉力，如圖 4.30 所示。經由上述的分析，可看出當流速加快時，僅需增加雷射的功率即可提升光鉗的捕捉能力，且粒子的尺寸愈大，所能獲得的箝制力也愈大。

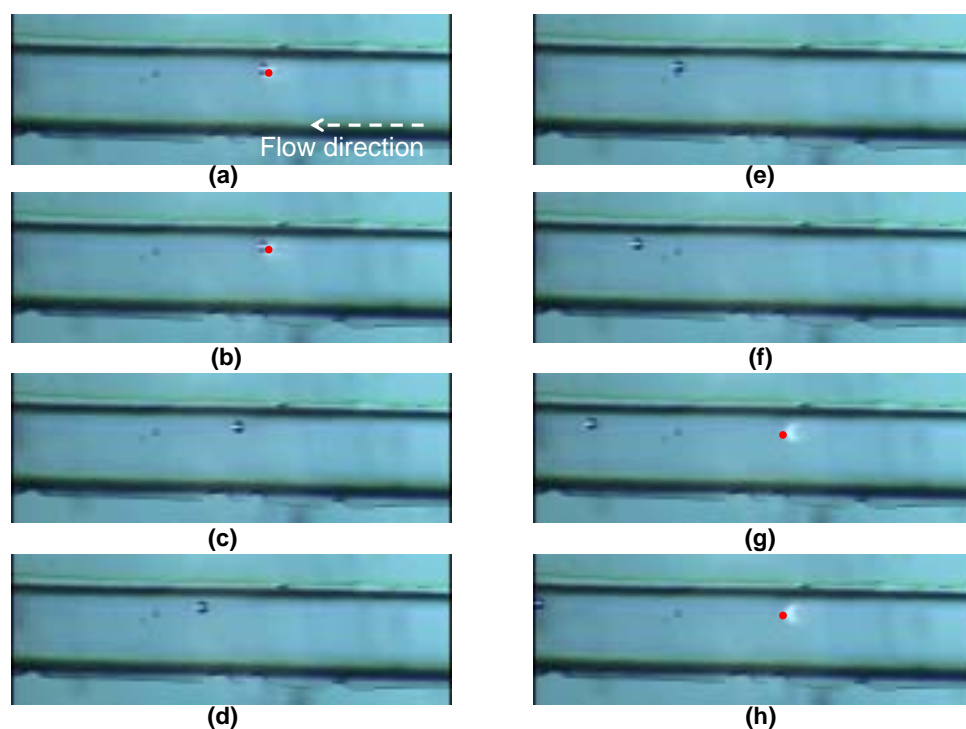


圖 4.27 微流道中流動粒子捕捉之連續影像圖。

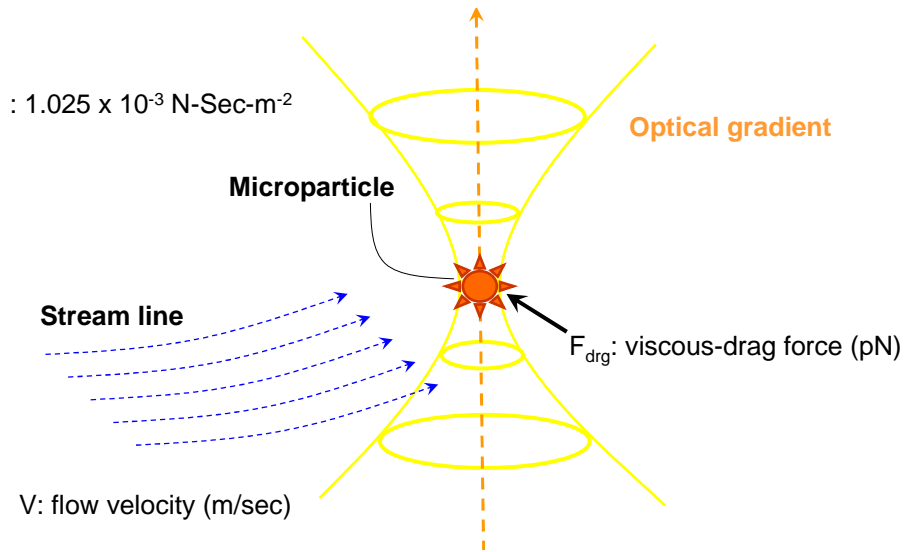


圖 4.28 光鉗捕捉力之黏滯拉力法測試示意圖。

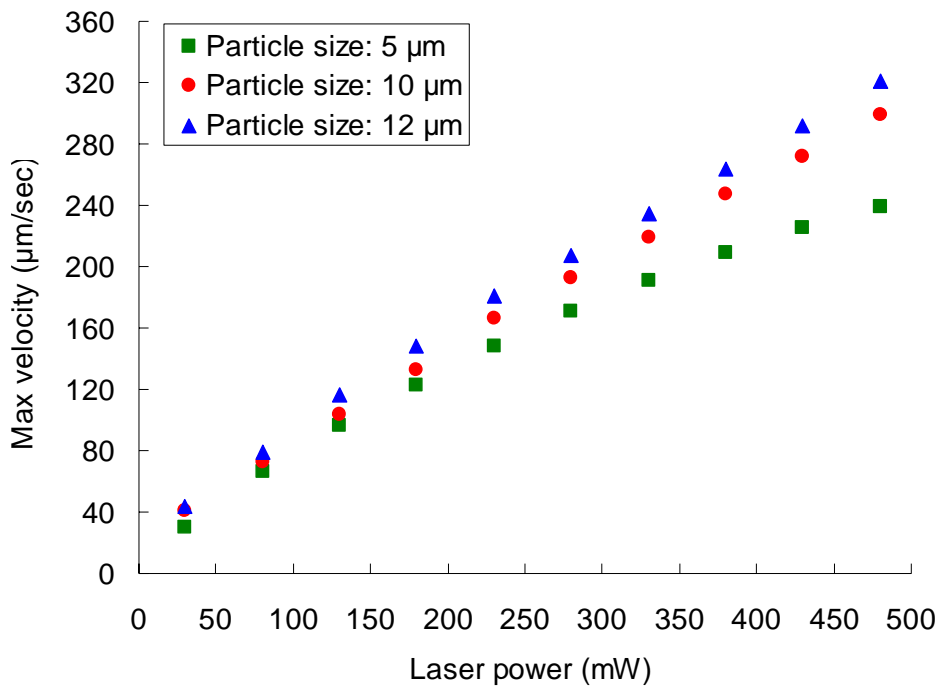


圖 4.29 流體流速與捕捉粒子所需之雷射輸出功率關係圖。

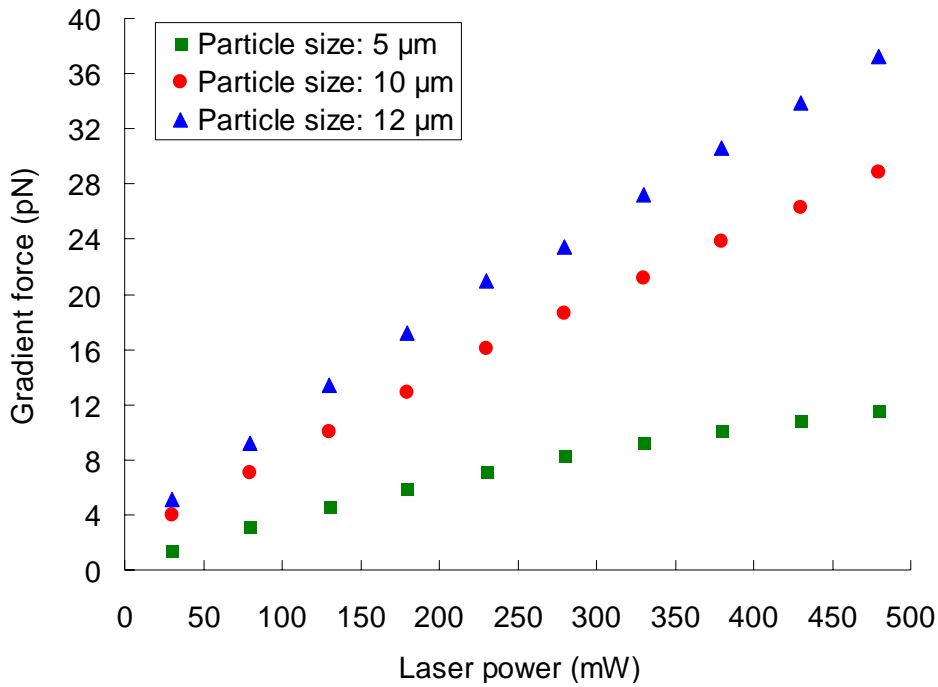


圖 4.30 雷射輸出功率與橫向捕捉力之關係圖。

4.4.4 光鉗於微流道粒子分類之結果

如圖 4.31 (a) 所示，共有三顆微粒子 (10 μm) 於左側微流道中央以 90 $\mu\text{m}/\text{sec}$ 等速直線前進，白色箭頭為該管道內流場的流動方向、紅點為光鉗作動位置，當粒子接近雷射光束時 (120 mW)，隨即被光梯度力所吸引，分別由圖 4.31 (b) \ (c) 和圖 4.31 (j) \ (k) 可清楚得知，其流速遠大於該雷射輸出功率所能賦予之橫向捕捉力，故其立刻又被電滲透流帶往後方。但比較圖中粒子於光鉗作動後的行走路徑，可清楚看出該粒子之流動路徑已被往下偏移約 20 μm 的距離。若是欲讓粒子偏移的路徑更大，需將光點之位置往下偏移並提高雷射之輸出功率即可，此一特性可被運用於微流體細胞分類的研究。

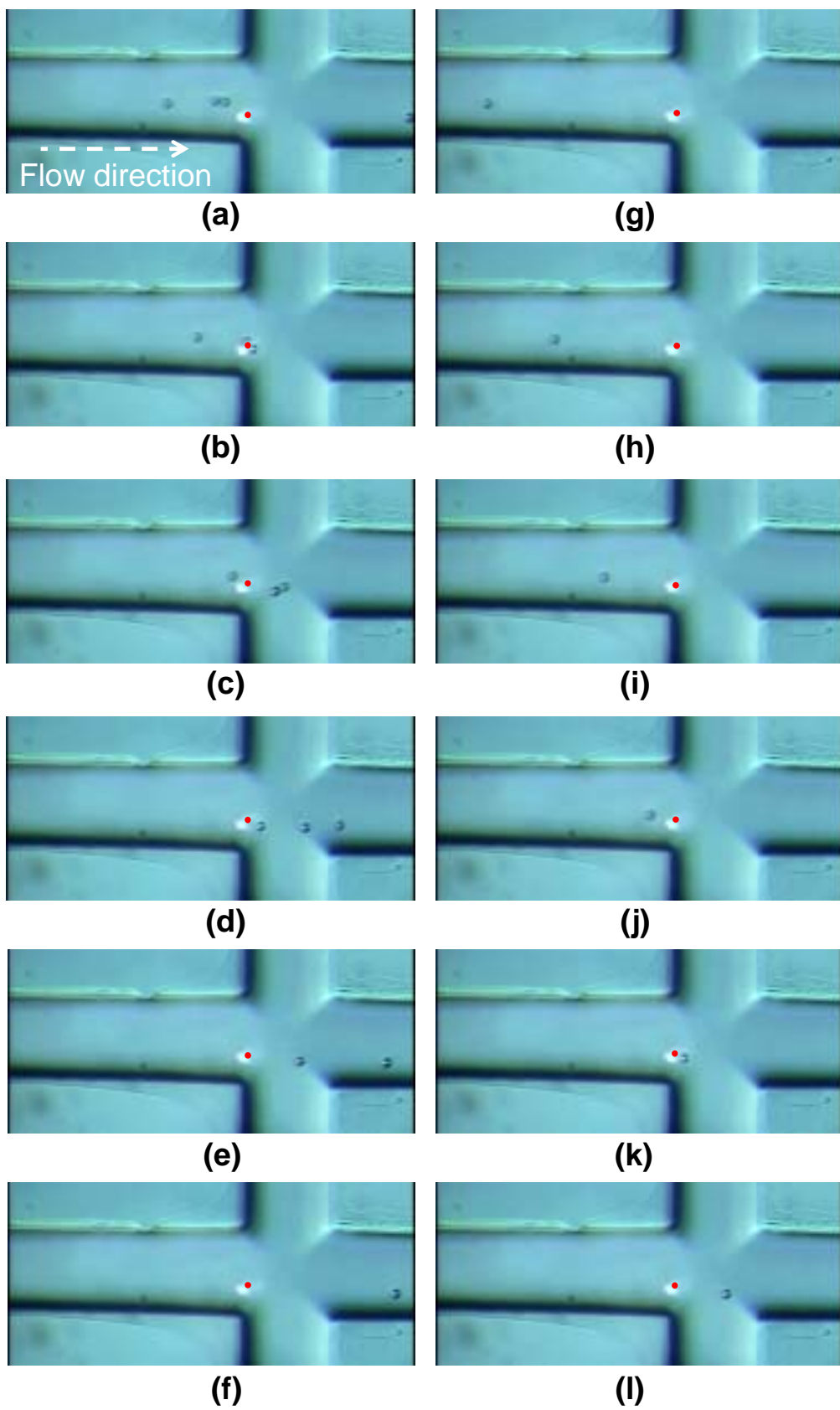


圖 4.31 微粒子於微流道中受到光鉗橫向吸引之路徑變化連續影像圖。

圖 4.32 所示為 $10\ \mu\text{m}$ 微粒子於微流道中進行分類之連續影像圖，該粒子於聚焦後之流速係以 $180\ \mu\text{m}/\text{sec}$ 等速直線前進，白色箭頭為該管道內流場的流動方向、紅點為光鉗作動位置。如圖 4.32 (a) 及 (b) 所示，當 1 號粒子接近雷射光束時 ($220\ \text{mW}$)，隨即被光梯度力所吸引而往上偏移行走路徑，但其流速遠大於該雷射輸出功率所能賦予之橫向捕捉力，故其立刻又被電滲透流帶往後方，並傳送至末端的上方出口端進行分類收集的動作 (圖 4.32 (c) ~ (e))。而沒有受到光鉗作動的 2 號微粒子 (圖 4.32 (f) ~ (i))，其將以原先聚焦後之樣品流的行走路徑運行，等速地被帶往末端之下方出口端進行收集的工作。

圖 4.33 所示為 $5\ \mu\text{m}$ 微粒子於微流道中進行分類之連續影像圖，該粒子於聚焦後之流速係以 $220\ \mu\text{m}/\text{sec}$ 等速直線前進，白色箭頭為該管道內流場的流動方向、紅點為光鉗作動位置。如圖 4.33 (a) 及 (b) 所示，沒有受到光鉗作動的 1 號粒子，其以原先聚焦後之樣品流的行走路徑運行，等速地被帶往末端之下方出口端進行收集的工作。而受到光鉗作動之 2 號粒子接近雷射光束時 ($380\ \text{mW}$) (圖 (c) ~ (h))，隨即被光梯度力所吸引而往上偏移行走路徑，但其流速遠大於該雷射輸出功率所能賦予之橫向捕捉力，故其立刻又被電滲透流帶往後方，並傳送至末端的上方出口端進行分類收集的動作。而 3 號粒子因為沒有受到光鉗作動，所以其仍以原先之行走路徑而往下方出口端進行收集。

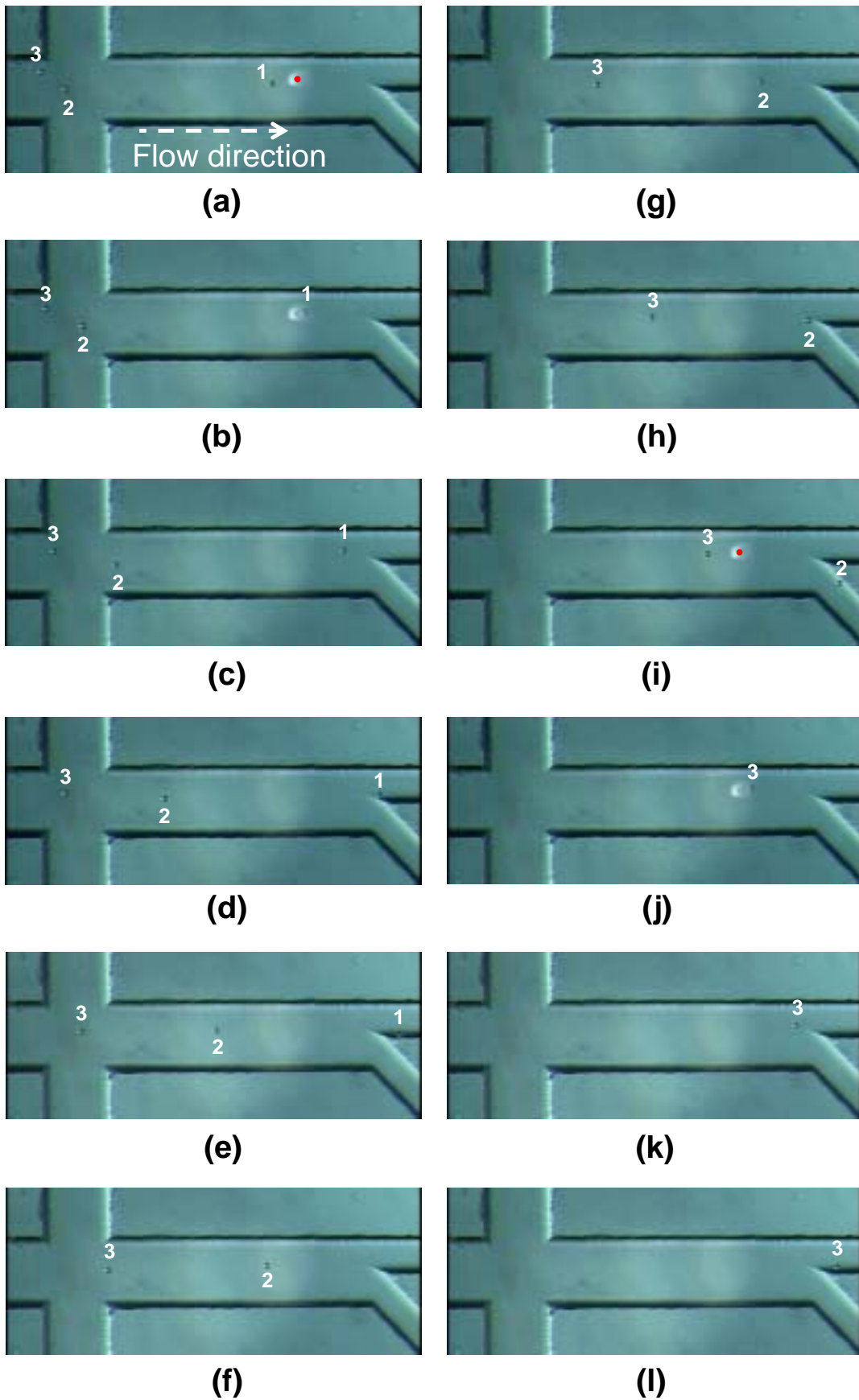


圖 4.32 10 μm 微粒子於微流道中進行分類之連續影像圖。

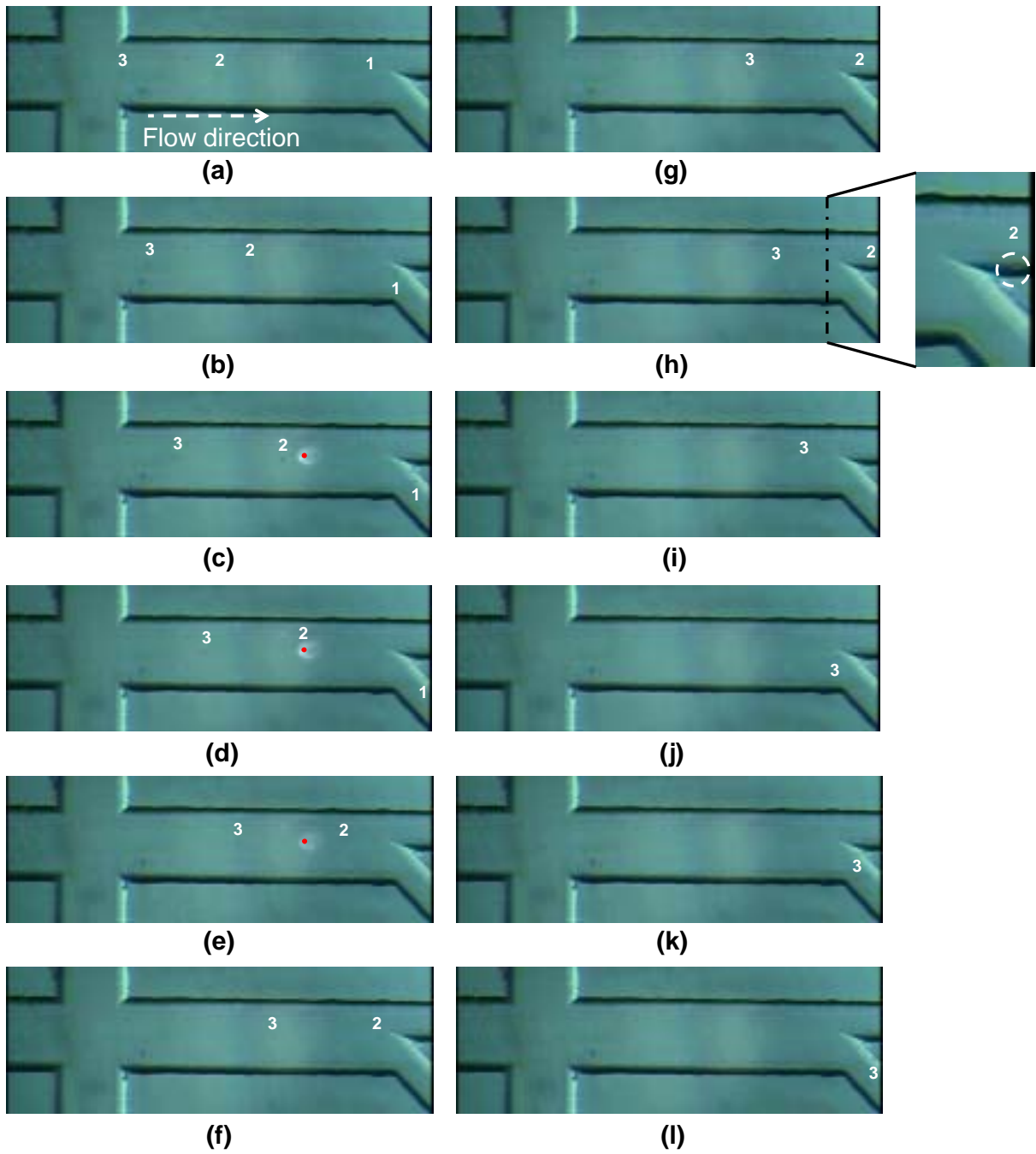


圖 4.33 5 μm 微粒子於微流道中進行分類之連續影像圖。

圖 4.34 所示為 $5\ \mu\text{m}$ 及 $10\ \mu\text{m}$ 微粒子於微流道中進行分類之連續影像圖，該粒子於聚焦後之流速係以 $180\ \mu\text{m}/\text{sec}$ 等速直線前進，白色箭頭為該管道內流場的流動方向、紅點為光鉗作動位置。如圖 4.34 (a)~(c) 所示，當 2 號粒子 ($10\ \mu\text{m}$) 接近雷射光束時 ($220\ \text{mW}$)，隨即被光梯度力所吸引而往上偏移行走路徑，但其流速遠大於該雷射輸出功率所能賦予之橫向捕捉力，故其立刻又被電滲透流帶往後方，並傳送至末端的上方出口端進行分類收集的動作 (圖 4.34 (d)~(j))。而沒有受到光鉗作動的 1 及 3 號微粒子 ($5\ \mu\text{m}$)，其係以原先聚焦後之樣品流的行走路徑運行，等速地被帶往末端之下方出口端進行收集的工作。

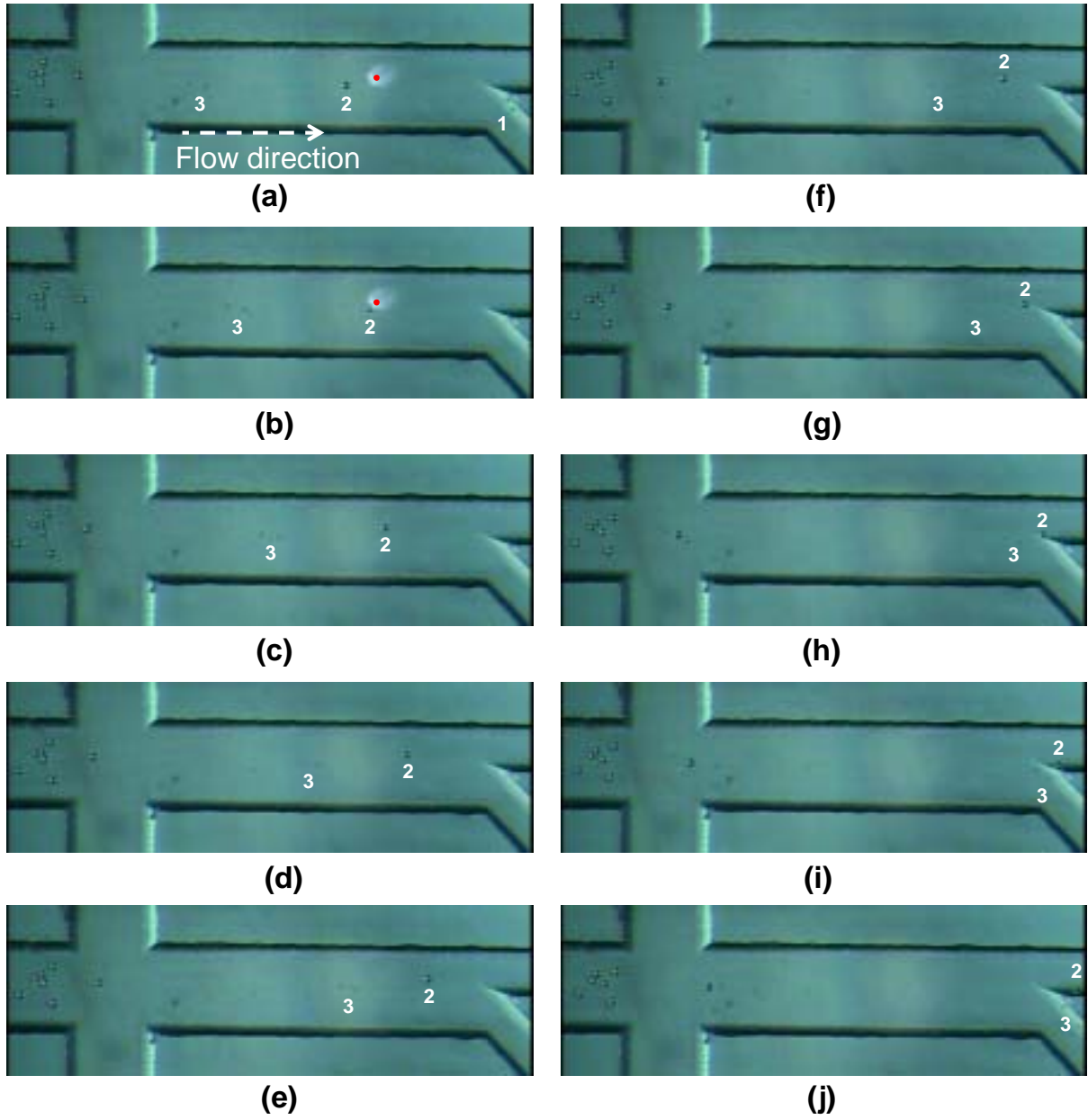


圖 4.34 5 μm 及 10 μm 微粒子於微流道中進行分類之連續影像圖。

第五章 結論與未來展望

5.1 結論

本研究利用微機電製程技術，分別成功地實現了（一）高效能之電驅動式微流體混合器，（二）晶片上之高速 DNA/酵素反應模組及（三）整合光鉗之細胞操控/分類平台。下列將分別敘述其研究成果：

（一）電驅動式微流體混合器

本研究分別提出了 T 型及雙 T 型微流體混合器，其混合的機制係利用交替式電滲透流的特性來達到混合的目的。該混合器僅施加一電動驅動力來驅動樣本液，並同步產生週期性之切換頻率，因此其不需藉由額外的施力及複雜的微結構，即可產生流體的不穩定性來達成混合的目的。此外，T 型微流體混合器方面，其又提出一種新穎之箝位切換模式來混合流體，藉由此方法的實施可使得流體的擺幅變大，而讓不同樣本間的接觸面積增加，有效地提高混合效能。在本研究所提倡之新方法，其利用交錯式的樣本注射、電場強度的控制和週期性地切換技術，即可輕易地增加樣本間的接觸面積和接觸時間，以此來增加混合的性能。經數值模擬及實驗的結果顯示，T 型微流體混合器在箝位切換模式之下，其混合效能在 60 V/cm 的驅動電壓及 2 Hz 的切換頻率條件之下，於 T 型交界處下方行經 1 mm 之距離後，即能獲得高達 97% 之混合效率。而雙 T 型微流體混合器在一般交替式切換模式之下，其可在電場強度 50 V/cm、切換頻率 1 Hz 於混合主管道

700 μm 內，即可獲得高達 97% 的混合效率。而當電場強度提高到時，此兩種混合器亦可藉由提高切換頻率或增加混合管道的長度來得到相當高的混合性能。本研究之混合器的最佳化操作條件，已透過不同的驅動電場強度及相對應的切換頻率值被呈現，此結果對於微全程分析系統的進展具備相當大的貢獻。

(二) 晶片上之高速 DNA/酵素反應模組

本研究成功地實現一整合型之電驅動式微流體晶片，其可在單一晶片上進行 DNA 之預濃縮、DNA 及酵素的混合、DNA 酵素之切位反應及 DNA 切位片段的分離純化試驗。實驗中直接利用電壓驅動樣本流體來進行全部的反應步驟，此作法不僅可簡化控制系統，並可以增加進行反應的方便性和可靠度。在本研究中，分別利用 λ -DNA 與 EcoRI 切位酵素進行晶片效能之測試，並藉由膠電泳來驗證，結果證實該晶片在酵素反應之可行性，且其能在十八鐘內完成 λ -DNA 之切位實驗，其效能比在大環境的試管中得反應四十分鐘才能完成，有著更好的反應效率。另外，本研究也利用 ϕ X-174 DNA 與 Hae III 切位酵素進行晶片反應效能之測試，並利用十字形毛細管電泳晶片來驗證，已可將切位後的 ϕ X-174 DNA 片段成功分離出來。因此，本研究所發展之技術，使得晶片實驗室 (Lab-On-a-Chip, LOC) 之理想的實現更跨進了一大步。

(三) 整合光鉗之細胞操控/分類平台

本研究並成功地將雷射光鉗及微流體晶片作一系統整合，並可精準地利用雷射束來操控微尺度中細胞/粒子之作動。透過與雷射光鉗之結合，可使操控微管道中之細胞、細菌或生物分子為一非接觸式之作動，因此可減少對生化反應所產生的干擾與誤差。且其不需在微管道中製作複雜之微結構或電極即可輕易地操控微生物，因此其晶片成本可大為降低，並可為一拋棄式之晶片，以避免生醫檢測時交互感染的現象發生。此外，在本實驗中分別驗證了微管道中粒子捕捉、搬運、路徑偏移及分類的可行性，並針對不同尺寸之粒子於微管道內之捕捉力作一分析。

5.2 未來展望

現今已有許多關於 DNA、細胞或蛋白質等生物檢體的生物晶片，陸續地被開發出來，如：毛細管電泳晶片、PCR 處理晶片、細胞計數晶片和微電灑質譜晶片等。本研究雖已成功地完成一電驅動式微流體混合器、DNA/酵素反應模組及整合光鉗之細胞操控/分類平台，然而其各模組僅能解決生物反應中的其中一項工作，仍無法真正地從事所謂的疾病檢測或是藥物開發的工作。因此，在未來的研究工作上對於整個模組間的系統整合，以及生醫方面的實際應用將作更深一層的研究。

此外，微小化生醫檢測技術之整合與應用，其係目前生醫工程的重點發展方向之一。由於該研究方向具有技術層次高、製作及操作所需之面積

小，所產生之附加價值較高等許多特性。因此，微全程分析系統（Micro-Total-Analysis-Systems, μ -TAS）的研究在台灣有其大力發展的空間以及產業價值。另外，晶片實驗室系統（Lab-On-a-Chip, LOC）在國外尚在一個起步的階段，國內、外相關的研究競爭也比較少，所以發展此領域的研究實不失為台灣研究轉型的一個好的方向。

參考文獻

1. A. Manz, N. Graber and H. M. Widmer, "Miniaturized total chemical analysis systems: A novel concept for chemical sensing," *Sensors and Actuators B*, Vol. 1, No. 3, pp. 244-248, 1990.
2. S. V. Ermakov, S. C. Jacobson and J. M. Ramsey, "Computer simulations of electrokinetic transport in microfabricated channel structures," *Analytical Chemistry*, Vol. 70, pp. 4494-4504, 1998.
3. S. C. Jacobson and J. M. Ramsey, "Electrokinetic focusing in microfabricated channel structures," *Analytical Chemistry*, Vol. 69, pp. 3212-3217, 1997.
4. G. B. Lee, L. M. Fu, R. J. Yang, Y. J. Pan and C. H. Lin, "M×N micro flow switches using electrokinetic forces," *IEEE Proc. solid-state sensors and actuators workshop*, pp. 1895-1898, 2003.
5. R. P. Feynman, "There's plenty of room at the bottom," *Journal of Microelectromechanical Systems*, vol. 1, No. 1, 1992.
6. P. Gravesen, J. Branebjerg and O. Jensen, "Microfluidics-a review," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, Vol. 3, pp. 168-182, 1993.
7. A. A. Deshmukh, D. Liepmann and A. P. Pisano, "Continuous micromixer with pulsatile micropumps," *IEEE Proc. solid-state sensors and actuator workshop*, pp. 73-76, 2001.
8. L. H. Lu, K. S. Ryu and C. Liu, "A magnetic microstirrer and array for microfluidic mixing," *Journal of Microelectromechanical Systems*, Vol. 11, pp. 462-469, 2002.
9. J. Deval, P. Tabeling and C. M. Ho, "A dielectrophoretic chaotic mixer," *Proc. IEEE MEMS*, pp. 36-39, 1993.
10. G. G. Yaralioglu, I. O. Wygant, T. C. Marentis and B. T. Khuri-Yakub, "Ultrasonic mixing in microfluidic channels using integrated transducers," *Analytical Chemistry*, Vol. 76, pp. 3694-3698, 2004.
11. J. Voldman, M.L. Gray and M.A. Schmidt, "An integrated liquid mixer/valve", *Journal of Microelectromechanical Systems*, Vol. 9, pp. 295-302, 2000.
12. R. H. Liu, M. A. Stremler, K. V. Sharp, M. G. Olsen, J. G. Santiago, R. J. Adrian, H. Aref and D. J. Beebe, "Passive mixing in a three-dimensional serpentine microchannel" *Journal of Microelectromechanical Systems*, Vol. 9, pp. 190-197, 2000.
13. C. Y. Lee, G. B. Lee, L. M. Fu, K. H. Lee and R. J. Yang, "Electrokinetically driven active micro-mixers utilizing zeta potential variation induced by field effect," *Journal of Micromechanics and*

- Microengineering, Vol. 14, pp. 1390-1398, 2004.
14. A. Dodge, M. C. Jullien, Y. K. Lee, X. Niu, F. Okkels and P. Tabeling, "An example of a chaotic micromixer: the cross-channel micromixer," *Comptes Rendus Physique*, Vol. 5, pp. 557-563, 2004.
 15. D. S. Kim, S. W. Lee, T. H. Kwon and S. S. Lee, "A barrier embedded chaotic micromixer," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, Vol. 14, pp. 798-805, 2004.
 16. C. C. Hong, J. W. Choi and C. H. Ahn, "A novel in-plane passive microfluidic mixer with modified Tesla structures," *Lab on a Chip*, Vol. 4, pp.109-113, 2004.
 17. C. H. Lin , C. H. Tsai and L. M. Fu, "A rapid three-dimensional vortex micromixer utilizing self-rotation effects under low Reynolds number conditions," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, Vol. 15, pp. 935-943, 2005.
 18. R. Pethig, "Dielectrophoresis: Using inhomogeneous AC electrical fields to separate and manipulate cells," *Critical Review Biotechnology*, Vol. 16, pp.331-348, 1996.
 19. G. M. Dougherty and A. P. Pisano, "Ultrasonic particle manipulation in microchannels using phased co-planar transducers," *IEEE Proc. solid-state sensors and actuators workshop*, Vol. 1, pp. 670-673, 2003.
 20. H. Jagannathan, G. G. Yaralioglu, A. S. Ergun and B. T. Khuri-Yakub, "An implementation of a microfluidic mixer and switch using micromachined acoustic transducers," *Proc. IEEE MEMS*, pp. 104-107, 2003.
 21. R. Rong, J. W. Choi and C. H. Ahn, "A functional magnetic bead-biocell sorter using fully integrated magnetic micro-nano tips," *Proc. IEEE MEMS*, pp. 530-533, 2003.
 22. I. Doh and Y. H. Cho, "A continuous cell separation chip using hydrodynamic dielectrophoresis (DEP) process," *Sensors and Actuators A*, Vol. 121, pp. 59-65, 2005.
 23. P. J. Rodrigo, R. L. Eriksen, V. R. Daria and J. Glückstad, "Interactive light-driven and parallel manipulation of inhomogeneous particles," *Optics Express*, Vol. 10, No. 26, pp. 1550-1556, 2002.
 24. M. Ozkan, M. Wang, C. Ozkan, R. Flynn, A. Birkbeck and S. Esener, "Optical manipulation of objects and biological cells in microfluidic devices," *Biomedical Microdevice*, Vol. 5, pp. 61-67, 2003.
 25. J. Enger, M. Goksör, K. Ramser, P. Hagberg and D. Hanstorp, "Optical tweezers applied to a microfluidic system," *Lab on a Chip*, Vol. 4, pp.196-200, 2004.

26. J. Khandurina, T. E. McKnight, S. C. Jacobson, L. C. Waters, R. S. Foote and J. M. Ramsey, "Integrated system for rapid PCR-based DNA analysis in microfluidic devices," *Analytical Chemistry*, Vol. 72, pp. 2995-3000, 2000.
27. P. Belgrader, S. Young, B. Yuan, M. Primeau, L. A. Christel, F. Pourahmadi and M. A. Northrup, "A battery-powered notebook thermal cycler for rapid multiplex real-time PCR analysis," *Analytical Chemistry*, Vol. 73, pp. 391-391, 2001.
28. E. T. Lagally, I. Medintz and R. A. Mathies, "Single-molecule DNA amplification and analysis in an integrated microfluidic device," *Analytical Chemistry*, Vol. 73, pp. 565-570, 2001.
29. F. Han, Y. Wang, C. E. Sims, M. Bachman, R. Chang, G. P. Li and N. L. Allbritton, "Fast electrical lysis of cells for capillary electrophoresis," *Analytical Chemistry*, Vol. 75, pp. 3688-3696, 2003.
30. G. B. Lee, S. H. Chen, G. R. Huang, W. C. Sung and Y. H. Lin, "Microfabricated plastic chips by hot embossing methods and their applications for DNA separation and detection," *Sensors and Actuators B*, Vol. 75, pp. 142-148, 2001.
31. S. C. Jacobson and J. M. Ramsey, "Integrated microdevice for DNA restriction fragment analysis," *Analytical Chemistry*, Vol. 68, pp. 720-723, 1996.
32. L. C. Waters, S. C. Jacobson, N. Kroutchinina, J. Khandurina, R. S. Foote and J. M. Ramsey, "Microchip device for cell lysis, multiplex PCR amplification, and electrophoretic sizing," *Analytical Chemistry*, Vol. 70, pp. 158-162, 1998.
33. C. G. Koh, W. Tan, M. Q. Zhao, A. J. Ricco and Z. H. Fan, "Integrating polymerase chain reaction, valving, and electrophoresis in a plastic device for bacterial detection," *Analytical Chemistry*, Vol. 75, pp. 4591-4598, 2003.
34. G. B. Lee, C. H. Lin, F. C. Huang, C. S. Liao, C. Y. Lee and S. H. Chen, "Microfluidic chips for DNA amplification, electrophoresis separation and on-line optical detection," *Proc. IEEE MEMS*, pp. 423-426, 2003.
35. C. Y. Lee, G. B. Lee, J. L. Lin, F. C. Huang and C. S. Liao "Integrated microfluidic systems for cell lysis, mixing pumping and DNA amplification," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, Vol. 15, pp. 1215-1223, 2005.
36. <http://www.micronics.net/>
37. T. Katsuragi and Y. Tani, "Review: screening for microorganism with specific characteristics by flow cytometry and single-cell sorting," *Journal*

- of Bioscience and Bioengineering, Vol. 89, No. 3, pp. 217-222, 2000.
38. R. J. Hunter, "Zeta potential in colloid science: principles and applications," Academic Press, New York, 1981.
 39. G. M. Mala, D. Li, C. Werner, H. J. Jacobasch and Y. B. Ning, "Flow characteristics of water through a microchannel between two parallel plates with electrokinetic effects," International Journal of Heat and Fluid Flow, Vol. 18, pp. 489-496, 1997.
 40. C. Yang and D. Li, "Electrokinetic effects on pressure-driven liquid flows in rectangular microchannels," Journal of Colloid and Interface Science, Vol. 194, pp. 95-107, 1997.
 41. R. F. Probstein, "Physicochemical Hydrodynamics: An Introduction," 2nd Edition, Wiley and Sons, New York, 1999.
 42. E. V. Dose and G. Guiochon, "Timescales of transient processes in capillary electrophoresis," Journal of Chromatography A, Vol. 652, pp. 263-275, 1993.
 43. Y. Jin and G. A. Luo, "Numerical calculation of the electroosmotic flow at the cross region in microfluidic chips," Electrophoresis, Vol. 24, pp. 1242-1252, 2003.
 44. D. Erickson, D. Sinton and D. Li, "Joule heating and heat transfer in poly(dimethylsiloxane) microfluidic systems," Lab on a Chip, Vol. 3, pp. 141-149, 2003.
 45. L. M. Fu, R. J. Yang, G. B. Lee and H. H. Liu, "Electrokinetic injection techniques in microfluidic chips," Analytical Chemistry, Vol. 74, pp. 5084-5091, 2002.
 46. L. M. Fu, R. J. Yang and G. B. Lee, "Electrokinetic focusing injection methods on microfluidic devices," Analytical Chemistry, Vol. 75, pp. 1905-1910, 2003.
 47. L. M. Fu and C. H. Lin, "Numerical analysis and experimental estimation of a low-leakage injection technique for capillary electrophoresis," Analytical Chemistry, Vol. 75, pp. 5790-5796, 2003.
 48. L. M. Fu, R. J. Yang and G. B. Lee, "Variable-volume-injection methods using electrokinetic focusing on microfluidic chips," Journal of Separation Science, Vol. 25, pp. 996-1010, 2002.
 49. A. Ashkin, "Acceleration and trapping of particles by radiation pressure," Physical Review Letters, Vol. 24, pp.156-159, 1970.
 50. A. Ashkin and J. M. Dziedzic, "Optical levitation by radiation pressure," Applied Physics Letters, Vol. 19, pp.283-285, 1971.
 51. S. Chu, "The manipulation of neutral particles," Reviews of Modern

- Physics, Vol. 70, pp. 685-706, 1998.
52. A. Ashkin, J. M. Dziedzic, J. E. Bjorkholm and S. Chu, "Observation of a single-beam gradient force optical trap for dielectric particles," *Optics Letters*, Vol. 11, pp. 288–290, 1986.
 53. A. Ashkin, "History of optical trapping and manipulation of small-neutral particle, atoms, and molecules," *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*, Vol. 6, pp. 841–856, 2000.
 54. A. Ashkin and J. M. Dziedzic, "Optical trapping and manipulation of viruses and bacteria," *Science*, Vol. 235, pp. 1517-1520, 1987.
 55. Y. Tadir, W. H. Wright, O. Vafa, L. H. Liaw, R. Asch and M. W. Berns, "Manipulation of gametes using laser microbeams," *Human Reproduction*, Vol. 6, pp. 1011-1016, 1991.
 56. A. Ashkin and J. M. Dziedzic, "Internal cell manipulation using infrared laser trap," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol. 86, pp. 7914-7941, 1989.
 57. S. Seeger, S. Manojembaski, K. J. Hutter, G. Futterman, J. Wolfrum and K. O. Greulich, "Application of laser tweezers in immunology and molecular genetics," *Cytometry*, Vol. 12, pp. 497-504, 1991.
 58. W. Right, G. Sonek and M. Berns, "Parametric study of the forces on microspheres held by optical tweezers," *Applied Optics*, Vol. 33, pp. 1735, 1994.
 59. S. Sato and H. Inaba, "Optical trapping and manipulation of microscopic particles and biological cells by laser beams," *Optical Quantum Electronics*, Vol. 28, pp. 1, 1996.
 60. C. H. Lin, G. B. Lee, Y. H. Lin and G. L. Chang, "A fast prototyping process for fabrication of microfluidic systems on soda-Lime glass," *Journal of Micromechanics and Microengineering*, Vol. 11, No. 6, pp. 726-732, 2001.
 61. G. B. Lee, S. H. Chen, G. R. Huang, W. C. Sung and Y. H. Lin, "Microfabricated plastic chips by hot embossing methods and their applications for DNA separation and detection," *Sensors and Actuators B*, Vol. 75, pp. 142-148, 2001.
 62. C. H. Lin, L. M. Fu, C. H. Tsai, C. H. Chao and C. W. Lan, "Low azeotropic solvent sealing of PMMA microfluidic devices," *IEEE Proc. solid-state sensors and actuators workshop*, pp. 944-947, 2005.
 63. D. Erickson and D. Li, "Influence of Surface Heterogeneity on Electrokinetically Driven Microfluidic Mixing," *Langmuir*, Vol. 18, pp. 1883-1892, 2002.

自 述

簡育生
Chien, Yu-Sheng

生日：1981 7 29

出生地：台灣、台北

E-mail: m923020089@student.nsysu.edu.tw

學歷：

- 2003.9 ~ 2005.6 國立中山大學 機械與機電工程學系 碩士
- 1999.9 ~ 2003.6 國立台灣師範大學 工業教育學系 學士
- 1996.9 ~ 1999.6 國立三重商工 汽車科

發表著作：

國際期刊論文：

1. **Yu-Sheng Chien**, Che-Hsin Lin, Fu-Jen Kao and Cheng-Wen Ko, “A Fully Integrated system for Cell/Particle Sorting in a Microfluidic Device Utilizing an Optical Tweezing and DIP Recognition Approach,” submitted to Material Science Forum, 2005. (accepted) (SCI, Impact Factor =0.498) (MATERIALS SCIENCE, MULTIDISCIPLINARY, 119/177)
2. Lung-Ming Fu, Ruey-Jen Yang, Che-Hsin Lin and **Yu-Sheng Chien**, “A Novel Microfluidic Mixer Utilizing Electrokinetic Driving Forces under Low Switching Frequency,” Electrophoresis, Vol. 5, pp. 1814-1824, 2005. (SCI, Impact Factor =3.743) (CHEMISTRY, ANALYTICAL, 6/70)
3. Che-Hsin Lin, Lung-Ming Fu and **Yu-Sheng Chien**, “Microfluidic T-form Mixer Utilizing Switching Electroosmotic Flow,” Analytical Chemistry, Vol. 76, pp. 5265-5272, 2004. (SCI, Impact Factor =5.450) (CHEMISTRY, ANALYTICAL, 2/70)

國際會議論文：

1. **Yu-Sheng Chien**, Che-Hsin Lin, Fu-Jen Kao and Cheng-Wen Ko, “A Fully Integrated system for Cell/Particle Sorting in a Microfluidic Device Utilizing an Optical Tweezing and DIP Recognition Approach,” 2005 International Conference on Advanced Manufacture (ICAM 2005), Taipei, Taiwan, Nov. 28-Dec. 2, 2005. (submitted)
2. Che-Hsin Lin, **Yu-Sheng Chien**, Fu-Jen Kao and Cheng-Wen Ko, “Cell/Particle Manipulation and Counting Utilizing Optical Tweezer and Digital Image Processing Under Microfluidic Configuration,” The 3rd European Medical and Biological Engineering Conference (EMBEC’05), Prague, Czech Republic, November 20-25, 2005.
3. Che-Hsin Lin, **Yu-Sheng Chien**, Fu-Jen Kao and Cheng-Wen Ko, “Micro-Flow-Cytometer

Integrated with Optical Tweezer and DIP Technique for Cell/Particle Sorting and Manipulation,” The 2005 China International Conference on Nanoscience and Technology (ChinaNANO 2005), Beijing, China, June 9-11, 2005.

4. Che-Hsin Lin, Lung-Ming Fu, Yu-Sheng Chien and Tsung-Yao Chang, “A Novel Pinched-Switching T-form Mixer for Fast DNA Digestion,” The 13th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems (Transducer’05), Seoul, Korea, June 5-9, 2005.
5. Che-Hsin Lin, Lung-Ming Fu and Yu-Sheng Chien, “Electrokinetic Micromixer Utilizing Novel Pinched-Switching Technique,” The eighth International Conference on Miniaturized Chemical and Biochemical Analysis Systems (m-TAS), Malmo, Sweden, Sep. 26-30, 2004.
6. Che-Hsin Lin, Lung-Ming Fu and Yu-Sheng Chien, “Novel Microfluidic T-form Mixer Utilizing Switching Electroosmotic Flow,” The Asia-Pacific Conference of Transducers and Micro-Nano Technology (APCOT MNT 2004), Sapporo, Japan, July 4-7, 2004.

國內會議論文：

1. 簡育生, 高甫仁, 林哲信, “整合光鉗及微流道之非接觸式細胞/粒子操控平台”, 2005 精密機械與製造技術研討會, Pingtung, May 20-22, 2005.
2. 簡育生, 傅龍明, 林哲信, “利用週期性電動力之雙 T 型微流體混合器,” The 2004 Chinese Biomedical Engineering Forum (醫學工程年會), Tainan, Dec. 17-18, 2004.
3. 張宗堯, 簡育生, 傅龍明, 林哲信, “整合型微流體 DNA-酵素反應器及萃取裝置,” The 2004 Chinese Biomedical Engineering Forum (醫學工程年會), Tainan, Dec. 17-18, 2004.
4. 簡育生, 高甫仁, 柯正雯, 林哲信, “結合影像控制光鉗系統及電滲效應於微流體細胞/粒子分類及計數之研究,” The 28th Conference on Theoretical and Applied Mechanics (中華民國力學學會第二十八屆全國力學會會議), Taipei, Dec. 3-4, 2004.
5. 簡育生, 高甫仁, 柯正雯, 林哲信, “整合雷射鑷夾及電滲效應於微流體細胞/粒子操控之研究,” The 21th National Conference on Mechanical Engineering (中國機械工程學會第二十一屆全國學術研討會), Kaohsiung, Nov. 26-27, 2004.
6. Che-Hsin Lin, Lung-Ming Fu and Yu-Sheng Chien, “Electrokinetic Micromixer Utilizing Novel Pinched-Switching Technique,” The 21th National Conference on Mechanical Engineering (中國機械工程學會第二十一屆全國學術研討會), Kaohsiung, Nov. 26-27, 2004.
7. Che-Hsin Lin, Lung-Ming Fu, Yu-Sheng Chien and Tsung-Yao Chang, “Novel Microfluidic T-form Mixer for Fast DNA Digestion,” The 2004 International Symposium on Nano Science and Technology, Tainan, Nov. 20-21, 2004.
8. 林哲信, 傅龍明, 簡育生, “以交替電滲透流驅動之 T 型微流體混合器,” The 2003 Chinese Biomedical Engineering Forum (醫學工程年會), Taipei, Dec. 12-13, 2003.

專利：

1. “即時粒子分類及/或操作系統” patent pending, filed on January 21, 2005, with the filing no. 094101851, 中華民國 ROC IPO,發明人：林哲信, 簡育生, 高甫仁, 柯正雯, 李孝文

2. “一種以電滲透流驅動之微流體混合器” patent pending, filed on April 20, 2004, with the filing no. 093111002, 中華民國 ROC IPO,發明人：林哲信，傅龍明，簡育生

榮譽與獎勵：

1. 九十三年度中華民國生物醫學工程研討會 國科會計畫壁報論文競賽，第一名。2004, 12
論文題目：整合型微流體 DNA-酵素反應器及萃取裝置
2. 第二十八屆中華民國力學會議 學生論文競賽(熱流能源組)，第二名。2004, 12
論文題目：結合影像控制光鉗系統及電滲效應於微流體細胞/粒子分類及計數之研究