

# 創新電雙層式電化學感測元件架構及應用

## Innovative Electric Double Layer Electrochemical Sensing Architecture and Applications

王虹翔、謝秋哲、薛孝廷、林致廷

Hung-Hsiang Wang, Qiuzhe Xie, Hsiao-Ting Hsueh, Chih-Ting Lin

在生醫感測領域中，固液介面之電化學特性扮演著關鍵角色。雖然電雙層 (electric double layer) 電容變化可作為無標記檢測之物理基礎，但傳統技術往往受限於德拜屏蔽效應 (debye screening effect) 與溶液離子雜訊，難以在生理環境下精準捕捉微量生物分子訊號，導致在生物分子檢測應用上，還是以電化學阻抗圖譜 (electrochemical impedance spectroscopy) 為主要應用技術。為突破此物理極限，本文將聚焦於「奈米間隙」結構之發展，透過奈微米製程技術將電極間距縮小至亞微米尺度，迫使電訊號路徑由傳統水體路徑 (bulk water) 轉移至受表面電位主導之「近表面路徑」(solid-liquid surface)，有效克服離子屏蔽干擾。在工程實現上，為解決平面奈微米製程之量產瓶頸，具備垂直堆疊結構之「微井陣列 (microwell array, MWA)」應運而生。該架構利用半導體薄膜沉積技術定義奈米間隙，並藉由微井幾何產生之不對稱邊緣效應，將檢測極限可提升至數百飛摩爾 (fM) 等級。此外，針對介面長期穩定性難題，本文亦探討了氨基矽烷修飾層之失效機制，指出「去質子化」引發之自我催化水解為訊號漂移主因，並介紹「後固化質子化策略」作為解決方案。此系列技術整合了物理機制驗證、製程結構創新與表面化學工程，為發展下一代低成本、高可靠度之定點照護檢測 (point-of-care technologies, POCT) 系統提供了完整之技術路徑。

The solid-liquid interface plays an important role in electro-chemical responses, especially in the biomedical sensing applications. Although the capacitance change of electrical double layer (EDL) can be a good indication of label-free biomolecular reaction on the surface, capacitive measurements have limitations of debye screening effects at solid-liquid interface and ionic noise in solutions. It can not perform a good sensing performance at low-concentration biomolecular targets. Therefore, electrochemical impedance spectroscopy (EIS) has been a major technique in biomolecular sensing applications. However, the complicated interface-circuit design and device fabrication still hurdle implementations in point-of-care technologies (POCT). Utilizing the nano-micro fabrication technologies, in this work, we focus at the development of nano-gap device structure to overcome the above constrains. Based on the nano-gap dielectric structure, the sensing

signal path is transferred from bulk-water path to near-surface path, i.e., at the solid-liquid surface to conquer the the debye screen effects. At the same time, vertical-stack microwell array (VSMWA) design is introduced to overcome the cost issue in nano-scale lithography for mass productions. Based on the design, the asymmetric edge effect within the VSMWA promotes the limit of detection to few hundreds of fM. Different from traditional electrode-surface modification, in addition, this work also investigates the stability issue of aminosilane modification. To overcome the problem of deprotonation-induced hydrolysis, the post-curing protonation strategy is introduced. In summary, this work introduces physical-model validation, device-design innovation, and surface-modification improvement to next-generation low-cost and high-reliability POCT applications.

## 一、前言

在生醫檢測與臨床診斷領域，如何實現對生物分子 (如蛋白質、核酸) 的無標記 (label-free)、高靈敏度即時偵測，一直是感測技術發展的核心挑戰<sup>(1)</sup>。而相關感測技術重要的是如何將生物分子的反應轉換為可以讀取的光電訊號，傳統的螢光標記方法雖然提供了極佳的解方，但是在以病人為中心的醫療照護上有其限制，而以電化學機制為主之方法配合近年蓬勃發展的行動化平台架構則有極佳的潛力應用於相關醫療照護產業之中，而相關電化學機制主要的研發重點即在於電雙層 (electric double layer, EDL) 的影響。電雙層為在固液介面處，不同相之間的電位差建立了一個基本的介面特徵，而圍繞在此物理基本特性上有不少相關的工程應用研發，例如電滲 (electroosmosis) 和電泳 (electrophoresis)。進一步的說明，電雙層是由液相中的離子重新分佈所產生，這種離子重新分佈會在電學上屏蔽固體表面電荷，使介面呈現中性<sup>(2)</sup>。而在電化學感測方法上，電化學阻抗譜 (electrochemical impedance spectroscopy, EIS) 技術是廣為使用的方法之一，其即是透過量測固液介面的電雙層電容 (electric double layer capacitance, EDLC) 變化，能直接反映目標分子的結合事件，無需額外的化學標記。其中，電雙層與表面電位高度相關，且在電化學模式中可被建模為電容器，藉由此特性可以透過外部電位場或表面修飾來控制電雙層，進而開發各種應用<sup>(3)</sup>。然而，傳統電化學電極面臨著「屏蔽效應」的物理限制，在生理鹽水濃度下，電雙層極薄，導致溶液中的背景離子訊號往往掩蓋了表面的微小變化，此外，傳統電化學模型對於電極表面塗層的基本假設為均勻且均質之特性，這亦面臨表面改質及生物分子塗不均勻化的挑戰。為了突破相關限制，本文的研究聚焦於電極結構的奈米幾何構型與表面化學性質的精準控制，透過縮小電極間距至奈米尺度，可使電流訊號路徑從體溶液 (bulk solution) 轉移至受表面電位主導的「近表面路徑 (near-surface path)」<sup>(4)</sup>，這樣即可以使相關量測訊號精準地僅針對電雙層電容的變化進行量測。

## 二、共平面奈米間隙結構驗證與應用

### 2.1 量測系統架構與實務操作流程

為精確捕捉奈米間隙中微弱的表面電位變化，本研究在量測系統與儀器工程上整合具備高解析度的商用電化學分析儀，BioLOGIC 公司的 SP-150 恆電位儀。在電極架構上，本研究捨棄了傳統電化學常用的「三電極系統 (包含工作、參考與輔助電極)」，改採「雙電

極 (two-electrode) 量測組態」。在傳統三電極設定中，本體溶液的電位會被參考電極固定，導致主要的電壓降發生在電極頂部的德拜層 (Debye layer)，進而使本體溶液路徑主導電化學反應，削弱了近表面路徑的效應。採用雙電極系統 (一端為工作電極，另一端為對電極)，系統能直接測量跨越工作電極至電解液，再至對電極的電壓降，從而有效分離並探究由間隙表面電位所調控的元件特性。此外，為了避免環境中的電磁干擾 (electromagnetic interference, EMI) 淹沒奈米級距的電流，所有的晶片探測與量測儀器皆嚴格配置於法拉第籠 (Faraday cage) 內進行。量測時，頻率掃描範圍設定為 0.1 Hz 至 10 kHz，並施加 10 mV 的正弦波振幅。為了精確讀取極微小的訊號，該儀器配備了低電流模組，其電流解析度高達 76 飛安培 (femtoampere)，並透過 EC-Lab 軟體進行數據擷取與圖表繪製。

## 2.2 核心原理：重塑電流路徑的幾何效應

為了滿足檢測微小表面電位變化的需求，研究首先挑戰了傳統電極的幾何極限。傳統的指叉電極 (interdigitated electrodes) 的間距尺寸通常大於 10 微米，其電化學訊號主要流經阻抗較低的本體溶液 (bulk solution path)，這導致表面電位的微弱變化極易被背景訊號干擾<sup>(5)</sup>。若是將電極尺寸進一步地微縮至約 200 奈米，此時，有別於傳統指叉電極的訊號途徑 (single path)，此時電化學訊號將因為電場分布而主要經過於近表面路徑，達到僅量測電雙層變化的目的，由於近表面電路徑與表面特性狀態高度相關，因此可以利用元件設計來增加近表面電路徑相對於本體溶液路徑的貢獻，進而提高量測訊號的靈敏度。相關設計與製作之元件，如圖 1(a)，顯示了製造的奈米間隙元件的光學影像。兩個電極之間的間隙寬度為 200 奈米、電極高度約為 20 奈米，相關電極高度尺寸的設計主要與抗體的長度相關，因此，所提出的電雙層電容測量的基本概念即是基於設計電極間隙的奈米尺寸和電極高度。為了透過實驗證明基本的電化學特性，研究使用標準電化學阻抗頻譜方法來驗證所製造的共平面奈米間隙元件，並以雙電極設置進行電化學測量，包括阻抗和隨後的循環伏安法 (cyclic voltammetry, CV) 測量。

電化學阻抗頻譜結果，如圖 1(b) 所示，電雙層電容的貢獻主要出現在低頻 (<100~Hz)，而溶液電阻主要出現在高頻 (> 100 Hz)。為了進一步驗證所提出的奈米間隙共平面電極中近表面貢獻的概念，圖 1(c) 展示了電容與電阻變化在不同間隙寬度之下的實驗關係。電容與電阻變化是由不同的表面官能基引起的，即從醛基 (中性) 變為羧基 (帶負電)。隨著間隙距離減小，測得的醛基連接表面與羧基連接表面之間的電容變化率增加。另一方面，電阻變化率顯示出相反的趨勢。針對所製作的元件提出一等效電路模型，其中包括傳統電化學路徑和提出的近表面電路徑，如圖 1(d) 上半部電路路徑所示。進一步地說明，在傳統電化學路徑中，遵循 Randles 模型，且該路徑取決於電極表面電位而非間隙表面電位。另一方面，對於提出的近表面電路徑 (圖 1(d) 下半部電路路徑)，其靠近由奈米間隙之介電層表面電位所產生的電雙層。此一介電層表面電位的變化會引起奈米間隙表面上方電雙層內的離子重新分佈。因此，與本體溶液路徑相比，近表面路徑具有由奈米間隙表面電位誘導的不同離子濃度分佈的訊號。這導致近表面電阻和由電極側壁的德拜長度 (Debye length) 產生的有效電容隨著奈米間隙表面電位的變化而變化。因此，隨著間隙寬度的減小，這種近表面德拜模型的效應在實驗電容/電阻變化結果中變得明顯<sup>(6)</sup>。針對奈米間隙之 EIS 分析，建議實務操作時將訊號擷取頻段鎖定於 100 Hz 以下之低頻區間，藉此最大化電雙層電容之訊號佔比。

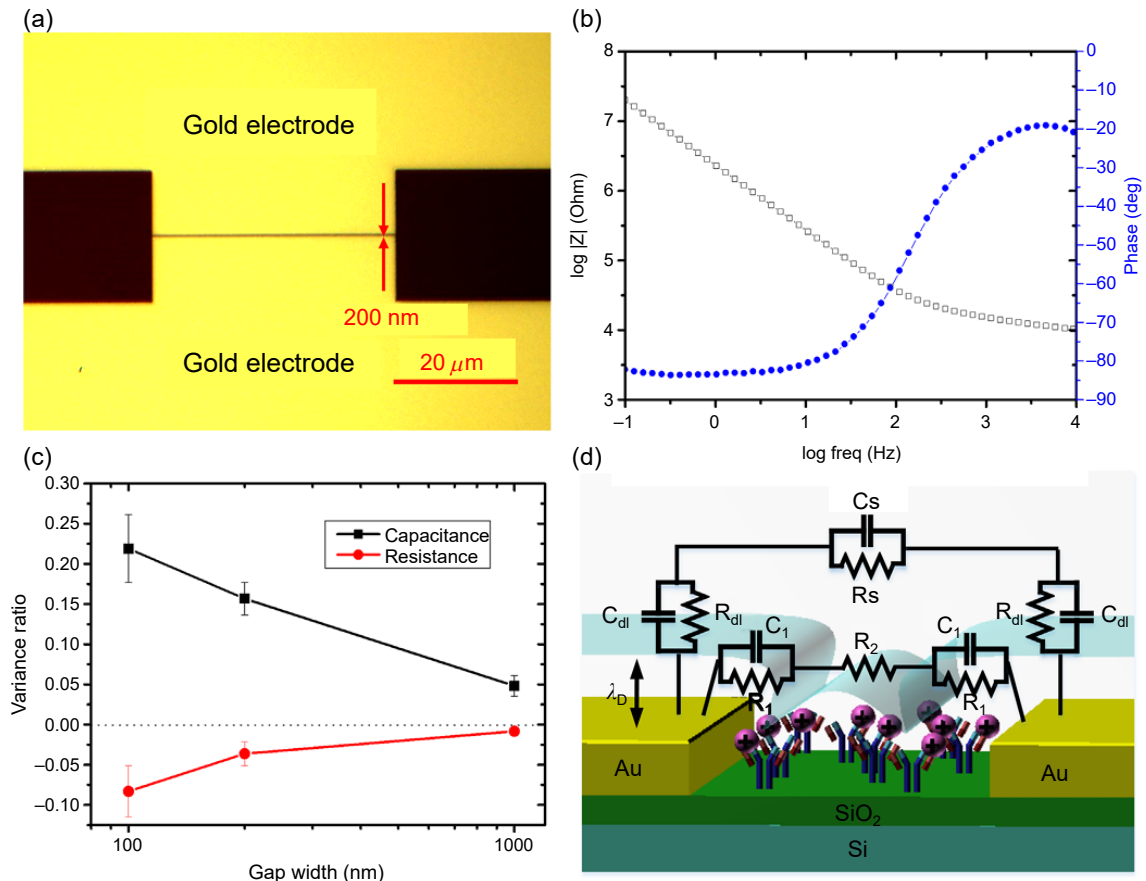


圖 1. 平面奈米間隙元件之 (a) 金電極結構光學影像。(b) 阻抗頻譜分析之波德圖。(c) 間隙尺寸效應驗證。(d) 等效電路模型。<sup>(6)</sup>

### 2.3 表面電位調控機制與心肌肌鈣蛋白 T 檢測應用

進一步利用本研究所開發的平面奈米間隙元件，可透過監測表面電荷的變化來分析生化反應。為了驗證此一量測機制，奈米間隙中的介電層表面化學修飾程序為將間隙表面的官能基從帶正電的胺基 (aminopropyltrimethylmethoxysilane, APDMMS)，轉變為中性的醛基 (glutaraldehyde)，最後轉變為帶負電的羧基 (3-aminobenzoic acid)。實驗結果顯示無論表面修飾呈現正電或負電，相較於中性表面，所測得的電容值均呈現上升趨勢。此結果證實，在奈米間隙的近表面空間中，電雙層電容的變化主要由表面電荷的數量驅動，而非其極性，此一結果確立該元件可以作為帶電生物分子檢測平台的物理基礎。

在實際應用層面，進一步地使用所設計的共平面奈米間隙元件成功實現了對心肌梗塞關鍵生物標記中的心肌肌鈣蛋白 T 的檢測 (cardiac troponin T, cTnT)。針對心肌肌鈣蛋白 T 濃度的動態監測，本研究使用 Agilent B1500A 元件參數分析儀進行雙電極循環伏安法量測。操作時，電壓掃描範圍限制在  $-0.1\text{ V}$  至  $0.1\text{ V}$  的微小區間，掃描速率設定為  $400\text{ mV/min}$ ，步階電壓為  $2\text{ mV}$ 。此微小電壓範圍的設定能將電極表面非預期的氧化還原反應降至最低，避免干擾真正的表面電位變化。在數據處理上，等效電容值是透過將循環伏安法量測到的「平均電流」除以「掃描速率」計算得出。隨後，利用公式  $R(\%) = (C' - C_0)/C_0$  計算出處理前後

的電容變異率 (capacitance variance ratio)，以此作為圖表的標準化的縱座標。如圖 2 所示，在低離子強度的稀釋磷酸鹽緩衝液 ( $0.01 \times \text{PBS}$ ) 環境下，該感測器展現了良好的靈敏度，其中對於抗前腦利鈉肽抗體 (proBNP) 的實驗亦驗證相關量測訊號確實與 Ab-cTnT 和 cTnT 的結合所產生，其檢測極限可低於  $100 \text{ pg/ml}$ ，且在  $100 \text{ pg/ml}$  至  $1 \text{ ug/ml}$  的濃度範圍內具備良好的動態響應<sup>(6)</sup>。

在進行無標記之表面電荷檢測時，循環伏安法掃描應將操作電壓限制於正負  $0.1 \text{ V}$  之非氧化還原範圍內。透過上述之「電流－電容」轉換演算法，可穩定萃取出微量生物標記濃度，此方法具備直接寫入微型化讀取電路之潛力。

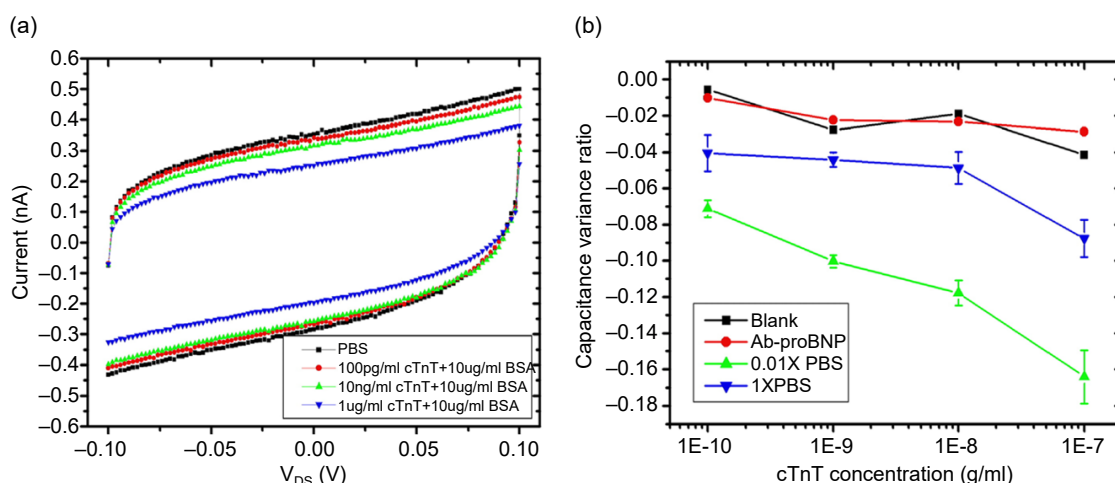


圖 2. (a) 不同 cTnT 濃度下的循環伏安響應曲線。(b) 電容變化率與 cTnT 濃度在不同背景溶液下的線性關係。<sup>(6)</sup>

## 2.4 突破傳統電化學限制之實務優勢

本研究提出的平面奈米間隙增量雙層電容技術，相較於傳統電化學阻抗或電容分析方法，在系統架構、精準度與實用性上展現出顯著的改善幅度與實務價值。首先，在量測精準度與訊噪比 (signal-to-noise ratio, SNR) 的提升上，傳統電化學感測器多將目標分子塗覆於電極正上方作為絕緣層，容易因分子分佈不均而導致感測訊號劣化。本技術則將生物探針固定於奈米間隙的介電層表面，由於量測的電學參數是表面電荷的整體積分，從根本上緩解了塗層均勻性的限制，能更精準地反映真實的表面電位變化。其次，在系統架構與微縮潛力方面，傳統三電極系統高度仰賴體積龐大且需定期補充溶液維護的標準參考電極 (如  $\text{Ag}/\text{AgCl}$  氯化銀電極)，限制了感測器晶片化的可能性。本研究所採用之雙電極奈米架構成功免除了參考電極的需求，為未來整合至可攜式診斷儀器或微流體晶片系統 (lab-on-a-chip) 提供體積優勢。最後，過去欲量測固液介面的表面電位，往往需依賴昂貴且操作繁瑣的凱爾文探針力顯微鏡 (Kelvin probe force microscope, KPFM) 或複雜的電滲遷移率設備，難以進行原位 (*In-situ*) 即時監測。本技術透過簡單的平面電極設計搭配基礎的循環伏安法量測，成功提出一種具備即時、低成本且易於操作特性的表面電位監測新穎途徑，提升其作為新型生醫量測技術的工程實用性。

### 三、垂直微井陣列結構的研發與應用

#### 3.1 結構轉型：從二維微影到三維堆疊

儘管平面奈米間隙結構在物理機制上成功驗證了近表面路徑的靈敏度優勢，然而，在奈米尺度實現精確的電極成形和對準對於低成本和量產製造仍然是一個重大挑戰。為突破此瓶頸，本研究後續提出了一種「微井陣列 (microwell array, MWA)」架構，將電極設計從二維平面轉向三維垂直堆疊。如圖 3 所示，該結構由上電極 (top electrode, TE)、下電極 (bottom electrode, BE) 以及位於中間的二氧化矽介電層組成。此設計的核心創新在於將「奈米間隙」的定義權從微影技術的解析度轉移至薄膜沉積製程的厚度控制。利用電漿輔助化學氣相沉積 (plasma-enhanced chemical vapor deposition, PECVD) 技術，可以精準控制介電層厚度，從而實現了奈米尺度間隙的低成本與量產製造<sup>(7)</sup>。同時，在垂直微孔結構中，無論介電層 (即電極間距) 縮得多薄，都不會影響溶液進入直徑約 3 微米的微孔的能力，解決奈米間隙的流體滲透限制，確保處理微小樣品體積時的可靠性。

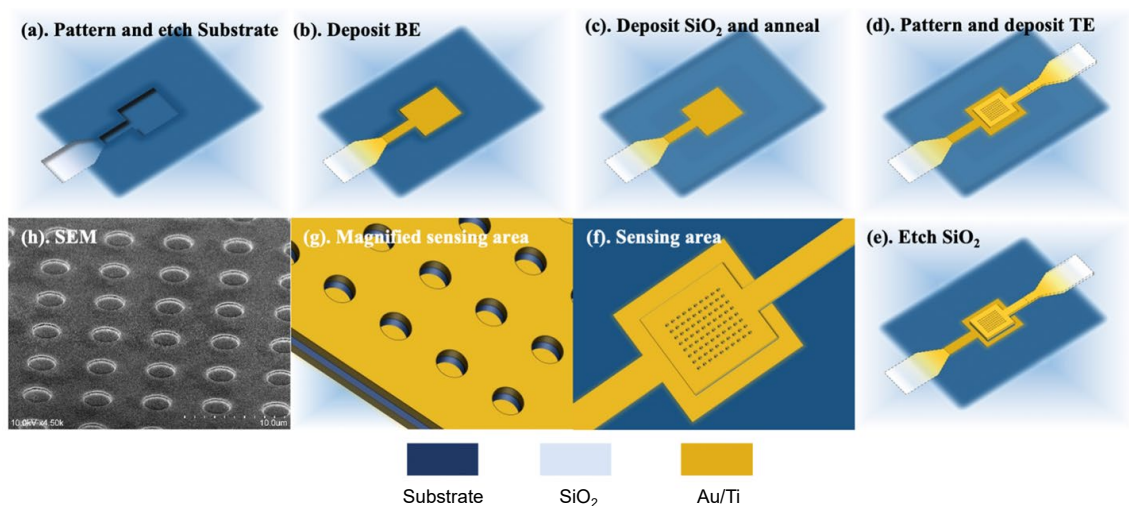


圖 3. 元件之製程流程示意圖與掃描式電子顯微鏡 (SEM) 影像。<sup>(7)</sup>

#### 3.2 關鍵製程優化：基板蝕刻與快速熱退火

在金屬-絕緣體-金屬 (metal-insulator-metal, MIM) 結構中，當介電層厚度縮減至奈米尺度時，電極表面的微小粗糙度極易導致漏電流增加甚至短路，嚴重影響元件良率<sup>(8)</sup>。為了提升元件的可靠度，本研究導入了兩項關鍵製程技術。首先是「基板蝕刻 (substrate etching)」，如圖 3 製程示意圖所示，在沉積下電極前，先利用電感耦合電漿 (inductively coupled plasma, ICP) 蝕刻矽基板，形成凹槽以嵌入下電極，使其表面與基板齊平。此平坦化步驟消除了電極邊緣的突起，確保後續沉積的超薄二氧化矽層均勻覆蓋。實驗統計顯示，經過基板蝕刻處理後，240 奈米厚度元件的可靠度顯著提升。其次，針對電漿輔助化學氣相沉積所造成的薄膜緻密性不足問題，引入了 350 °C 的快速熱退火 (rapid thermal annealing, RTA) 處理。電性測量結果證實，快速熱退火處理有效修補了氧化層內部的缺陷，使元件電容值的一致性提升了 379 倍，變異係數從 2.75E-2 降至 2.12E-3。相對變異性的降低表明快速熱退火改善了介電性能，而不影響薄膜的均勻性。通過應用這些製造策略，可以實現奈米薄介電層的可靠性。

### 3.3 物理機制改善：不對稱邊緣效應

垂直堆疊結構不僅解決了製造難題，更在物理機制上帶來了額外的訊號增強優勢。為了探討其電場分佈特性，本研究利用有限元素分析 (finite element analysis, FEA) 建立了微井陣列平面電極的截面模型 (如圖 4(a) 與圖 4(b) 所示)，並系統性地對比了兩者在不同電極間距下的電流密度分佈。模擬結果顯示，當電極間距設定為 500 奈米時，微井陣列結構展現出獨特的「不對稱邊緣效應 (asymmetric edge effect)」，如電流密度熱圖，圖 4(c) 所示，因為微井陣列上下電極在垂直方向上的幾何不對稱性，電場被強烈束縛並聚焦在微井內部的介電層轉角區域，形成顯著的高電流密度區。相對地，平面電極 (圖 4(d)) 的電場分佈則較為發散。進一步的量化分析如圖 4(e) 所示，該圖展示最大電流密度隨電極間距變化的趨勢。結果顯示，在相同的 50 奈米間距下，微井陣列的最大電流密度約為平面電極的兩倍。這意味著微井陣列結構能更有效地將電場集中於生物分子結合的感測表面，從而顯著提升感測靈敏度。實驗結果亦證實了此模擬預測：隨著介電層厚度從 240 奈米減薄至 60 奈米，由表面修飾引起的電容變化率從 9.84% 大幅提升至超過 50%(7)。模擬與實驗皆證實，微井陣列在任何給定的間距下，其近表面電流密度都顯著高於傳統平面電極，展現出「邊緣場效應 (fringing field effect)」。

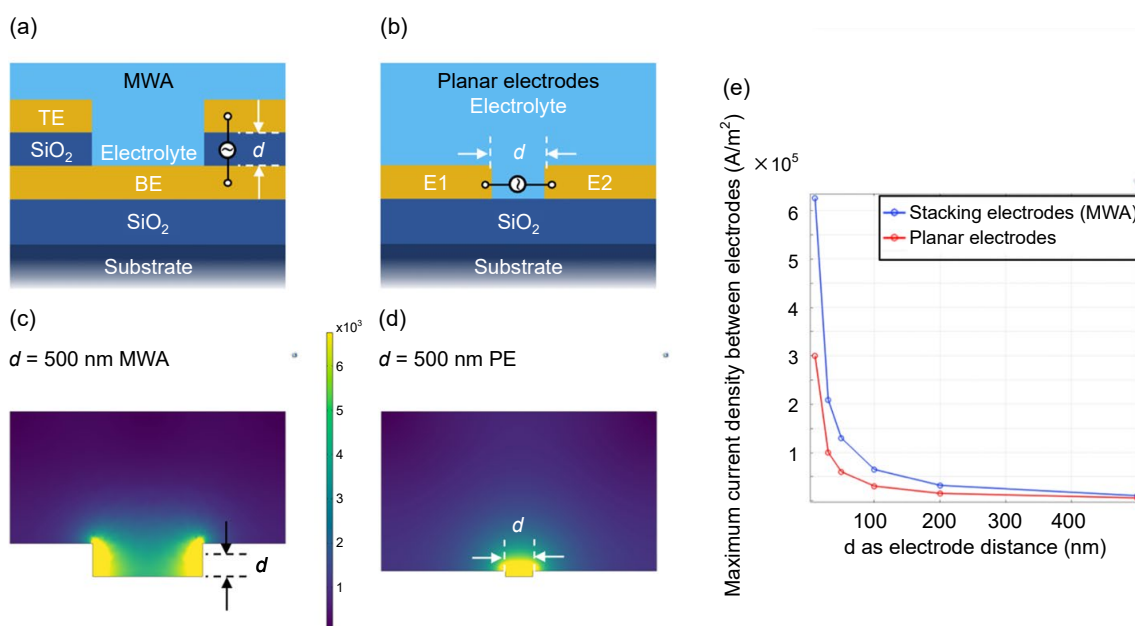


圖 4. 微井陣列與平面電極之模擬比較。(a, b) 截面模型示意圖。(c, d) 間距 500 奈米時之電流密度分佈熱力圖。(e) 最大電流密度與電極間距之關係圖。(7)

### 3.4 系統架構與量測參數最佳化

在微井陣列感測器的實務量測上，整體系統架構相對單純且易於操作。感測區域的核心物理量—電雙層 (EDL) 電容變化，是利用商用之高精度恆電位儀 (CHI614D potentiostat, CH Instruments, Inc.) 進行量測。在系統配置上，有別於傳統需浸泡於大體積溶液的測量方式，操作者僅需將微量待測液滴加於晶片表面，並對微井陣列結構的「上電極」與「下電極」分別施加偏壓 (bias voltages)，即可進行雙電極訊號擷取。此外，為確認介電層側壁之表面修飾狀態，研究中亦搭配商用之克耳文探針力顯微鏡 (Kelvin probe force microscope, KPFM) 進

行表面電位之交叉驗證。

在圖表與數據萃取流程上，延續前章所述之等效電容與變異率計算方法，針對微井陣列特殊之三維垂直結構，本系統在實務操作上進一步導入了七步協議 (seven-step protocol) 以精確界定元件之電化學窗口 (electrochemical window, ECW)。透過此標準化協議，能有效找出最適合該微井陣列之循環伏安法掃描速率，避免非預期的法拉第反應干擾純電雙層之量測。綜上所述，在微井陣列的幾何設計實務上，可兼顧邊緣場效應的訊號放大率以及薄膜沉積之高良率，並在量測前執行電化學窗口之校準協議，以確保微量生醫檢測下訊號讀取之高精度度。

### 3.5 生物分子驗證：Avidin 與 Streptavidin 之偵測極限

為了驗證微井陣列平台在生物分子檢測上的效能，本研究選用了具備高親和力的生物素-抗生物素蛋白 (Biotin-Avidin) 系統進行測試。將微井陣列側壁的介電層表面修飾上 Biotin 後，分別對 Avidin 與 Streptavidin 進行檢測。如圖 5 所示，該感測器展現了相當優秀的線性偵測範圍 (15 fM 至 150 pM) 與突出的檢測極限：Avidin 為 120 fM，Streptavidin 為 1.76 pM。值得注意的是，Avidin (等電點  $pI = 10$ ) 在中性緩衝液中帶強正電，而 Streptavidin ( $pI = 5-6$ ) 則接近中性，這有可能是造成此一奈米間隙元件量測兩者在檢測極限的差別，實驗數據顯示，濃度為 150 pM 時，Avidin 引起的訊號變化率 (約 8%) 顯著高於 Streptavidin (約 3.65%)，即可說明該技術基於表面電荷偵測的物理本質。此外，在抗干擾測試中，即使在高濃度 (150  $\mu\text{M}$ ，約 1%) 的牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 存在下，感測器的背景訊號變化僅為 0.929%，顯示出優異的選擇性<sup>(7)</sup>。總結而言，微井陣列成功克服了傳統平面奈米電極在製程成本、訊號強度與流體操作上的三大物理與工程限制，展現其實務應用價值。

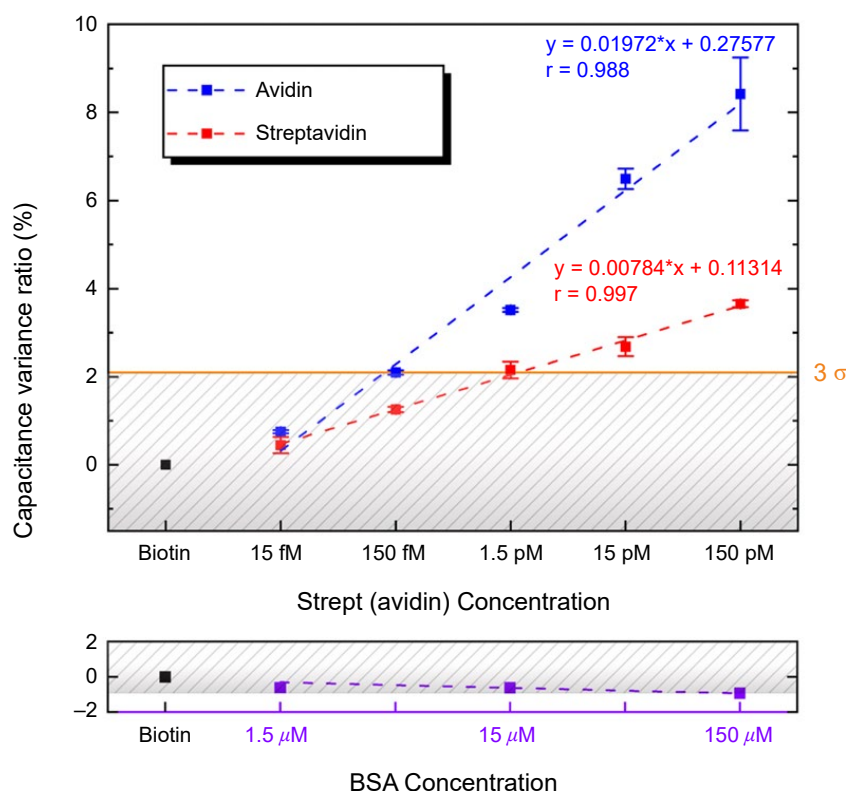


圖 5. Avidin 與 Streptavidin 之檢測校正曲線。<sup>(7)</sup>

## 四、表面改質改善：矽烷化機制與電荷態調控策略

### 4.1 即時監測實驗設計

本階段之核心前端感測元件採用前章節提出的客製化垂直微孔感測器，其主動感測區域包含了約 10,000 個由微影定義的微孔，每個微孔直徑僅約 3 微米、深度為 160 奈米。在量測儀器搭配上，同樣使用商用恆電位儀 (CHI614D potentiostat, CH Instruments, Inc.)。針對不同的監測需求，系統採用了兩種量測模式：首先是循環伏安法 (cyclic voltammetry, CV)，用於監測中長期的表面電荷狀態變化，其操作參數嚴格限制於正負 75 mV 的微小電化學窗口，掃描速率設定為 80 mV/s，並使用  $0.01 \times \text{PBS}$  作為電解質以降低背景離子干擾；其次為時間依賴性阻抗量測，為了即時捕捉水解過程中的瞬態電荷波動，系統在 15 Hz 的固定低頻與 5 mV 的微小激發振幅下，以每 2 秒的高解析度連續記錄阻抗數據。各項實驗擷取原始電容數據後，皆透過電腦端進行常規的正規化運算，以電容變異率作為各類圖表的標準化縱座標。

### 4.2 胺基矽烷之水解不穩定性與訊號漂移機制

在非法拉第電化學感測器的開發中，介面化學穩定性是決定元件長期可靠度的關鍵因素。胺基矽烷 (aminosilane)，如 3-氨基丙基三乙氧基矽烷 (APTES) 與 N-( $\beta$ -氨基乙基)- $\gamma$ -氨基丙基三乙氧基矽烷 (AEAPTES)，因具備連接無機基板與生物分子的雙功能特性，被廣泛應用於表面修飾<sup>(9)</sup>。然而，此類分子在水溶液環境中存在本質上的不穩定性，易發生水解反應導致自組裝單分子層 (self-assembled monolayers, SAMs) 的結構崩解或脫落，進而引發感測器基線訊號的顯著漂移<sup>(10)</sup>。為了釐清此失效機制，本研究利用前述發展之微陣列感測器監測了修飾過程中的表面電荷演變。實驗發現，傳統製程中用於提升膜層緻密度的 100 °C 高溫固化 (curing) 步驟，會促使矽烷末端的質子化胺基 ( $-\text{NH}_3^+$ ) 發生去質子化 (deprotonation)，轉變為電中性的胺基 ( $-\text{NH}_2$ )<sup>(11)</sup>。實驗結果如圖 6 所示，APTES 與 AEAPTES 隨著固化時間增加，由循環伏安法測得的電容變化率 (紅線) 與由克耳文探針力顯微鏡測得的表面電位 (藍線) 均呈現下降趨勢，證實了表面正電荷的流失<sup>(12)</sup>。

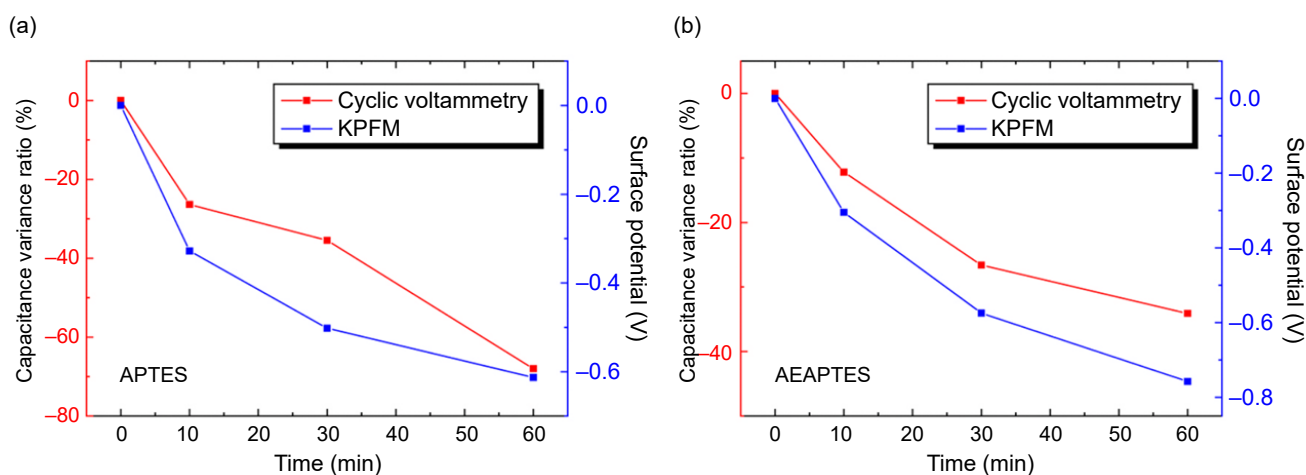


圖 6. (a) APTES 與 (b) AEAPTES 高溫固化過程中胺基矽烷之電荷態演變。<sup>(12)</sup>

進一步經由化學機制的分析可以知道，中性胺基具有親核性 (nucleophilic)，由於分子鏈的柔性，其易反折並對自身分子根部的矽原子形成五圓環過渡態，進而催化矽氧鍵 (Si-O-

Si) 的水解斷裂<sup>(13)</sup>。此「自我催化水解 (self-catalytic hydrolysis)」效應解釋了為何經固化處理的矽烷層在接觸水環境後仍會發生快速降解<sup>(14)</sup>。如圖 7 的即時阻抗監測結果所示，針對固化後的胺基矽烷層 AEAPTES (紅線) 與 APTES (藍線) 在不同水溶液環境下的電荷動態進行了分析。如圖 7(a) 所示，當置於去離子水環境中時，的虛部阻抗變異率呈現正向增加的趨勢。這表明表面正在發生持續性的水解反應 (hydrolysis)，固化過程中去質子化的胺基與矽氧烷鍵結受到水分子的攻擊而降解，導致感測器介面不穩定。值得注意的是，AEAPTES 雖然訊號漂移較快，但能比 APTES 更快達到相對穩定狀態。相對地，如圖 7(b) 所示，當將樣品置於 1×PBS 溶液中時，阻抗訊號呈現顯著的下降趨勢 (負變異率)。這是因為 PBS 提供了緩衝環境，促使表面中性的胺基發生再質子化 (re-protonation)，表面正電荷密度增加導致阻抗降低。其中，AEAPTES 因分子鏈上含有兩個可質子化的胺基，其阻抗下降幅度 (約 30%) 幾乎是 APTES 的兩倍，證實了其具備更高的電荷調控能力。

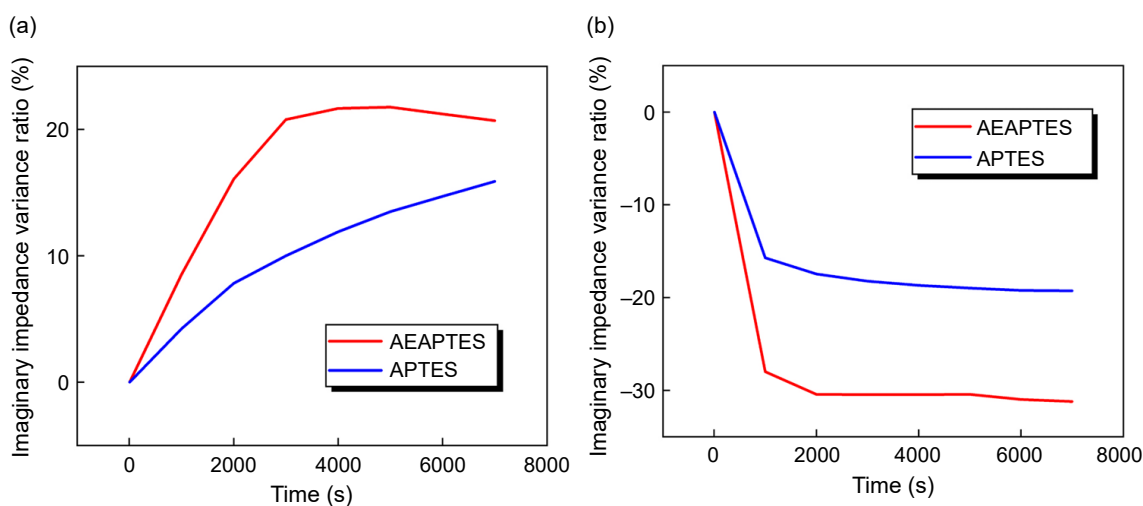


圖 7. 胺基矽烷 AEAPTES (紅線) 與 APTES (藍線) 在 (a) 在去離子水環境中的水解測試與 (b) 在 1×PBS 環境中質子化過程的阻抗變異率隨時間變化。<sup>(12)</sup>

### 4.3 後固化質子化策略與穩定性驗證

針對胺基去質子化引發的不穩定性，研究團隊提出了一種「後固化質子化 (post-curing protonation)」策略。該方法是在固化步驟後，將晶片浸泡於 1×PBS 緩衝液 (pH 7.4) 中。PBS 環境中的質子能使表面中性的胺基 (-NH<sub>2</sub>) 重新轉化為帶正電的銨基 (-NH<sub>3</sub><sup>+</sup>)，質子化後的銨基因帶有正電荷，不再具備親核攻擊能力，且基團間的靜電排斥作用有助於維持分子鏈的伸展構型，從而有效阻斷了自我催化水解的路徑，使結構趨於穩定。為了量化驗證此策略對感測器穩定性的提升，本研究進行了嚴苛的 60 °C 加速老化測試。如圖 8 所示，未經質子化處理的感測器 (黑線) 在 1 小時內電容值劇烈下降了 43.4%，顯示矽烷膜層嚴重崩解。相比之下，經過質子化處理的感測器 (紅線)，其訊號漂移量被控制在 3% 以內，展現出與不含胺基的對照組 (ETES，灰線) 相當的優異化學惰性，證實了此策略能有效抑制水解反應。

除了電學訊號的穩定，表面微觀形貌的完整性亦可經由原子力顯微鏡 (atomic force microscope, AFM) 獲得證實。未處理組在水解後表面粗糙度大幅下降的變化值達 50.41%，顯示矽烷分子大量脫落導致表面平坦化。反觀質子化處理組，在經歷相同的水解條件後，表面粗糙度變化僅為 3.28%，證明分子層結構維持完整。此外，穩定的化學介面也反映在生物

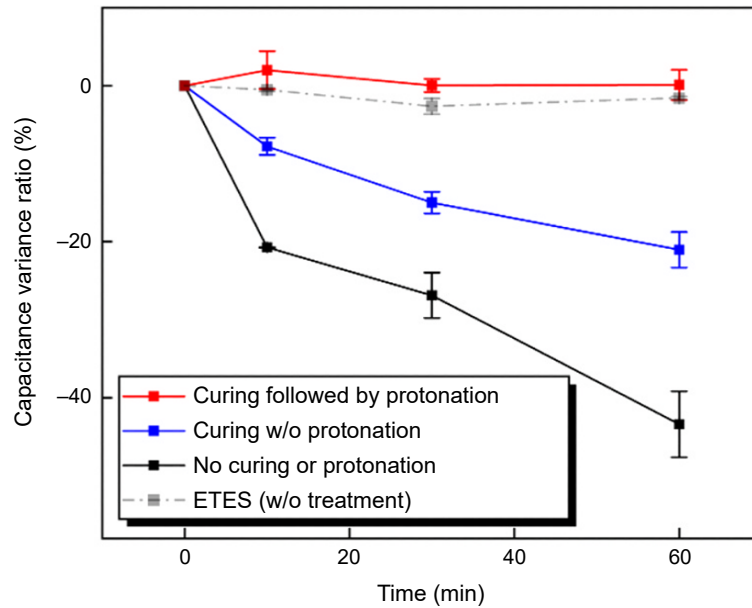


圖 8. 加速老化測試下之電學穩定性比較。<sup>(12)</sup>

功能性上，螢光定量分析結果指出，經過質子化策略修飾的表面，其後續對生物分子的捕捉效率較未處理組提升了 13.87%<sup>(12)</sup>。

#### 4.4 突破傳統介面改質之實務優勢與微縮潛力

結合垂直微孔架構與 PBS 質子化策略，本技術相較於傳統平面電化學感測與表面化學處理方法，在實務工程上展現出顯著的優勢。首先在製程與系統的極致簡化上，傳統產業界為了解決胺基矽烷遇水水解的問題，通常需要仰賴氣相沉積、無水有機溶劑或複雜的化學保護合成步驟，大幅增加了製造成本與環境要求。本技術僅需進行簡單的 PBS 溶液浸泡步驟即可達到其穩定性，為感測器的常規量產提供了極具成本效益的解決方案。其次，在精準度提升與寄生電容抑制方面，傳統平面電極容易受到雜散電容的嚴重干擾，而本研究採用的垂直架構能有效將電場限制於微孔內部，將寄生電容降至最低，使其能夠穩定解析小於 1% 的微小介面電容變化。此外，有別於傳統需要長時間反應的生化檢測，本系統配合時間依賴性阻抗測量模式，能以每 2 秒的高解析度進行動態監測，協助研究人員快速捕捉離子的暫態波動。最後，元件採用直徑 3  $\mu\text{m}$ 、深度 160 nm 的微米級陣列設計，創造了極高的表面積體積比，此種高密度、極微型化的硬體架構，為未來將本技術整合至可攜式診斷裝置或微流體晶片系統奠定硬體基礎的可行性。

## 五、總結與展望

本文針對電化學生物感測器的電化學介面技術進行說明，從物理機制驗證、元件結構創新到表面改質穩定的演進，成功應對了長期限制電化學感測發展的德拜屏蔽效應與量產可靠度兩大難題。在技術發展的初期，研究首要任務是確立奈米間隙在克服離子屏蔽上的關鍵作用，透過平面電極結構的開發，證實了當間隙縮小至亞微米尺度時，電流路徑將由體溶液轉移至受表面電位主導的近表面路徑，從而實現了對生物分子電荷的高靈敏偵測。隨後，為了改善二維微影製程的量產成本，開發出創新的微井陣列架構，利用垂直堆疊與薄膜沉積技

術，不僅將奈米間隙的製造轉化為可低成本量產的微米製程，更利用獨特的截面幾何形狀所產生的不對稱邊緣效應，將感測靈敏度進一步提升。最終，針對感測器訊號漂移的問題，驗證胺基矽烷去質子化引發自我催化水解的失效機制，並提出了簡單高效的後固化質子化策略，從根本上解決了介面不穩定性，確保了元件在複雜生物流體中的長期可靠度。

綜觀上述突破，微井陣列感測平台已有朝向檢測應用技術的潛力，其高度與標準奈微米製程相容的特性，未來有望將感測陣列與後端訊號處理電路整合於單一晶片系統上，將大幅縮減儀器體積與製造成本，使其能輕易整合至手持式裝置或微流道系統中。此外，微井陣列的高密度特性賦予其極佳的擴充性，使其在多重標記檢測與數位醫療領域展現出優勢。透過微點陣列印技術，可在同一晶片的不同區域修飾針對不同疾病標記的生物探針，對於複雜疾病如敗血症或癌症分型的早期診斷具有臨床價值。此外，電化學感測的本質是將生物結合機制轉化為電子訊號，適合與數位醫療生態系接軌。

## 參考文獻

1. F. C. Fernandes, A. Santos, D. C. Martins, M. S. Góes and P. R. Bueno, *Biosens Bioelectron*, **57**, 96 (2014).
2. A. Bard and L. Faulkner, Wiley: N. Y., **3** (2001).
3. L. Bocquet and E. Charlaix, *Chemical Society Reviews*, **39** (3), 1073 (2010).
4. M. Winter and R. J. Brodd, *Chemical Reviews*, **104** (10), 4245 (2004).
5. P. Simon and Y. Gogotsi, *Nature Materials*, **7** (11), 845 (2008).
6. H.-T. Hsueh and C.-T. Lin, *Biosensors and Bioelectronics*, **79**, 636 (2016).
7. Q. Xie, G.-Y. Chen, C.-F. Chu and C.-T. Lin, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **441**, 137993 (2025).
8. Y. Wang, Q. Zhu and C. Huang, *Microelectronics Reliability*, **137**, 114691 (2022).
9. R. A. Williams and H. W. Blanch, *Biosens Bioelectron*, **9** (2), 159 (1994).
10. M. Sypabekova, A. Hagemann, D. Rho and S. Kim, *Biosensors*, **13**, 36 (2023).
11. T. Lazaridis and A. Sepehri., *Journal of Chemical Physics*, **157** (8), 085101 (2022).
12. Q. Z. Xie, G.-Y. Chen, H.-H. Wang and C.-T. Lin, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **450**, 139288 (2026).
13. E. A. Smith and W. Chen, *Langmuir*, **24** (21), 12405 (2008).
14. M. Etienne and A. Walcarus, *Talanta*, **59** (6), 1173 (2003).

## 作者簡介

王虹翔先生現為國立臺灣大學元件材料與異質整合學程碩士生。

Hung-Hsiang Wang is currently a M.S. student in the Program for Semiconductor Devices, Materials, and Hetero-integration at National Taiwan University.

謝秋哲博士為國立臺灣大學電子工程研究所博士，現為浙江大學博士後研究員。

Qiuzhe Xie received his Ph.D. in Graduate Institute of Electronics Engineering from National Taiwan University. He is currently a Postdoc at Zhejiang University.

薛孝亭博士為國立臺灣大學生醫電子及資訊學研究所博士，現為國科會研究員。

Hsiao-Ting Hsueh received his Ph.D. in Graduate Institute of Bioelectronics and Bioinformatics from National Taiwan University. He is currently a Researcher at National Science and Technology Council.

林致廷先生為美國密西根大學電機及資訊學系博士，現為國立臺灣大學電子工程研究所教授。

Chih-Ting Lin received his Ph.D. in Department of Electrical Engineering and Computer Science from University of Michigan - Ann Arbor. He is currently a Professor in the Graduate Institute of Electronics Engineering at National Taiwan University.