



國立臺灣大學電機資訊學院電子工程學研究所

碩士論文

Graduate Institute of Electronics Engineering

College of Electrical Engineering and Computer Science

National Taiwan University

Master Thesis

嵌入式環盤電極微結構進行次微米電化學反應之研究

Recessed Ring-Disk Microstructure for Sub-Micron

Electrochemical Measurement

李大有

Da-Yo Lee

指導教授：林致廷 博士

Advisor : Chih-Ting Lin, Ph.D.

中華民國 111 年 8 月

August, 2022



國立臺灣大學碩士學位論文
口試委員會審定書

嵌入式環盤電極微結構進行次微米電化學反應之研究
Recessed Ring-Disk Microstructure for Sub-Micron
Electrochemical Measurement

本論文係李大有君(r09943133)在國立臺灣大學電子工程學研究所完成之碩士學位論文，於民國111年8月4日承下列考試委員審查通過及口試及格，特此證明

口試委員：

林致廷

張子清 (指導教授)

吳靖宙

系主任、所長

江介志

誌謝



碩士兩年的時光過得相當快，各種在無塵室與實驗室的回憶都歷歷在目，這段在台大的時光讓我成長非常多，也是一段能夠審視自我的旅程。

首先感謝我的指導教授林致廷老師，老師在實驗以及求學路程上都給予了我非常多有用的意見以及鼓勵，儘管我經常因為製程問題影響到自身的心情以及進度，但老師從沒責怪過我，總是鼓勵我以樂觀的態度面對這些挑戰；感謝我的口試委員張子璿老師以及吳靖宙老師對於論文所提供的建議以及相關知識補充，讓我的論文可以更加完整。

在研究過程中我受到了許多同學以及學長的幫助，讓我得以完成此篇論文。感謝秋哲學長總是不厭其煩的和我討論研究，給我很多方向以及有用的建議；感謝煜鑫、柏緯、承育、俊延，在課業上互相幫助前進，也經常關心我。特別感謝 Yuki、亦軒、雅淳，在閒暇之餘陪伴我度過低潮時期，使我在充滿壓力的情況下還是能常保快樂。要感謝的朋友還有好多，謝謝一路上給予我幫助與鼓勵的朋友們，你們都缺一不可也無法替代。

最後我要感謝我的父母，因為你們無條件的付出才得以讓我也能夠無後顧之憂的前進，你們總是不給我壓力，相信我能做得很好也給予相當多的鼓勵，也謝謝我的妹妹常常在發現我失落後關心我，家是最溫暖的避風港，家人們的鼓勵是我最大的力量。

李大有 謹誌

民國一百一十一年八月 於國立臺灣大學

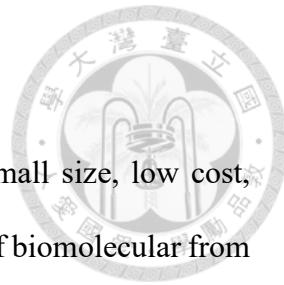


中文摘要

電化學阻抗式生物感測器具有體積小、成本低、操作簡易及訊號放大的優點，透過電學與化學的轉換，可以讓我們掌握生物分子的資訊，應用在生物感測器上。配合著元件製作技術的尺寸微縮，眾多研究指出微電極結構能加快質傳效應、擁有較高的信噪比以及較低的電壓降，透過設計成微米或奈米尺寸電極陣列，每個獨立電極會並行運行從而放大電流，同時也保留著微小電極的良好特性。這些特性促使我們利用無塵室機台，在成本較低的載玻片基板上製作 3D 垂直堆疊的金屬-絕緣體-金屬高密度環盤狀微電極陣列，不僅利用 3D 結構將電極之間的距離縮減到 400 奈米，並且在感應區域內做不同的結構設計來觀察元件性能。在本論文中，我們使用循環伏安法與電化學阻抗分析法來測量這些元件，我們發現出現穩態趨勢的循環伏安法具有電流放大的效應，電流和電荷轉移率隨著赤黃血鹽的濃度上升而上升，電流甚至與赤黃血鹽的濃度呈線性關係。在出現峰值的循環伏安法趨勢下，電流與掃描速率也呈線性正比。而當我們選擇臨界尺寸為奈米等級的環電極作為工作電極時，可以發現即便與本來的工作電極面積相差 100 倍，電流的大小卻僅僅小三倍，代表著奈米尺度的元件也具有不乏的電流放大特性。透過縮小電極尺寸至微米與奈米等級時，可以執行更加快速的電化學與化學反應，這是因為電極表面的反應物在高速的質傳下不會限制到電荷轉移的過程。

關鍵字：電化學、循環伏安法、電化學阻抗分析譜、微電極、環盤狀電極陣列。

ABSTRACT



Electrochemical impedance biosensors have the advantages of small size, low cost, easy operation and signal amplification. We can get the information of biomolecular from the transfer of electricity and chemical. A lot of experiments proved that electrochemical responses at microelectrode structure have special qualities, for example quick mass exchange, have high sign to-commotion proportion, and inconsequential ohmic misfortunes. By designing an array of micrometer- or nanometer-sized electrodes, each individual electrode operates in parallel to amplify the current, while retaining the good properties of tiny electrodes. These properties propel the manufacture of high thickness, horizontally requested varieties of microholes, installing upward stacked metal-cover metal cathode structures and controlled size and thickness of openings. In this thesis, we use cyclic voltammetry(CV) and electrochemical impedance spectroscopy(EIS) to measure the characteristics of these microscale recessed ring-disk electrode (RRDE) arrays with nanoscale interpore spacing. We found that steady-state cyclic voltammetry measurement exhibits current amplification. Current and charge transfer rate increases as the concentration of $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-/-4-}$. Current increasing linearly with scan rates in peak current cyclic voltammetry measurement. As we exchange the ring-disk electrode's connection, although working electrode's critical dimension is nanoscale which is a hundred times smaller than before, the current is only three times smaller than another. It represents that nanoscale electrode can also enhance the current. By decreasing the size of electrode to submicro scale, faster electrochemical and chemical reactions should be possible. It is because of that the mass transport will not limit the electron transfer at high rates of it.

Keywords: electrochemical; cyclic voltammetry; electrochemical impedance

spectroscopy; microelectrode; ring-disk electrode array.



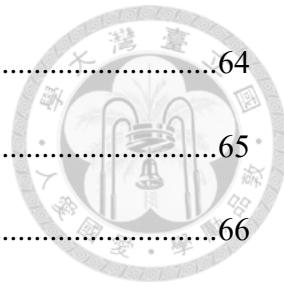
CONTENTS



口試委員會審定書	i
誌謝	ii
中文摘要	iii
ABSTRACT	iv
CONTENTS	vi
LIST OF FIGURES	x
LIST OF TABLES	xv
Chapter 1 Introduction.....	1
1.1 研究背景	1
1.2 生物感測器	3
1.3 生物感測器架構	4
1.3.1 生物受體	4
1.3.2 傳感器	5
1.4 電化學阻抗型生物感測器	7
1.4.1 非法拉第生物感測器	7
1.4.2 法拉第生物感測器	10
1.5 動機	11
1.6 論文架構	12
Chapter 2 導論.....	13
2.1 電化學基本原理	13
2.1.1 法拉第與非法拉第過程	14



2.1.2	電化學反應的過程	17
2.1.3	雙電極與三電極系統	20
2.1.4	電化學半反應	23
2.1.5	伏安法	24
2.1.6	電化學阻抗譜(Electrochemical impedance spectroscopy, EIS)	30
2.1.7	影響阻抗變化之因素	37
2.2	微電極的定義、特性與應用	39
2.2.1	微電極的介紹	39
2.2.2	單電極(single electrode)	40
2.2.3	微電極陣列 (Microelectrode arrays)	45
2.2.4	微電極特性總結	46
Chapter 3	元件的製程與檢驗方式	47
3.1	元件製程步驟	47
3.1.1	清洗基板	47
3.1.2	下電極的製作	48
3.1.3	氧化層與上電極	50
3.1.4	環盤狀電極結構	51
3.2	元件結構的確認	55
3.2.1	F20 單點膜厚測量儀	56
3.2.2	探針式表面分析儀	58
3.3	實驗事前作業與溶液配置	63
3.3.1	元件事前處理	63



3.3.2 溶液的配置	64
3.4 量測方法	65
3.4.1 量測系統的設置	66
Chapter 4 實驗結果分析與討論	67
4.1 等效電路元件	67
4.2 元件特性分析	68
4.2.1 循環伏安法	68
4.2.2 電化學阻抗分析	69
4.3 元件穩定度及可靠性測試	71
4.3.1 循環伏安法	71
4.3.2 電化學阻抗分析	72
4.4 改變氧化還原物質濃度	73
4.4.1 循環伏安法	73
4.4.2 電化學阻抗分析	74
4.5 不同結構下的比較	77
4.5.1 循環伏安法	77
4.5.2 電化學阻抗分析法	78
4.6 不同掃描速率下的 CV	79
4.7 交換工作電極與輔助電極的選擇	80
4.7.1 循環伏安法	80
4.7.2 電化學阻抗分析法	81
Chapter 5 結論與未來展望	83



5.1	結論	83
5.2	未來展望	84
5.2.1	製程優化.....	84
5.2.2	量測部分	85
參考文獻		87

LIST OF FIGURES



圖 1-1 聯合國預估人口隨年齡分布的比例[1]	1
圖 1-2 POCT 與一般傳統醫療檢測的流程比較[3]	2
圖 1-3 生物感測器的基本要件[8]	3
圖 1-4 酸鹼測定計示意圖[42]	7
圖 1-5 電容性生物傳感器示意圖：(a)元件結構和(b)叉指電極	8
圖 2-1 電荷轉移的示意圖：(a)還原反應和(b)氧化反應	14
圖 2-2 電雙層模型與電位對照圖	16
圖 2-3 電化學反應過程示意圖。	17
圖 2-4 簡易的雙電極系統示意圖[55]	21
圖 2-5 簡易的三電極系統示意圖[55]	22
圖 2-6 三電極系統電路圖[56]	23
圖 2-7 線性伏安法輸入電壓(V-t)	24
圖 2-8 鐵離子於水溶液中的 LSV 圖形[57]。	26
圖 2-9 不同掃描速率的 LSV 圖形變化[57]。	27
圖 2-10 循環伏安法的電壓與時間變化圖。	28
圖 2-11 (a)可逆反應在不同掃描速率下的 CV 圖[57]。(b)不同速率常數下得到的 CV 圖[57]。	29
圖 2-12 (a)單一電容電路的電化學阻抗譜和(b)RC 電路的電化學阻抗譜。	31
圖 2-13 典型電化學反應的模型[58]。	31
圖 2-14 電化學反應之等效電路[58]。	32
圖 2-15 法拉第電阻之等效電路元件。	32



圖 2-16 低頻時的 EIS 圖譜[58]。	33
圖 2-17 高頻時的等效電路圖。	33
圖 2-18 高頻時的 EIS 圖譜[58]。	34
圖 2-19 結合高低頻趨勢後的 EIS 圖[58]。	34
圖 2-20 電極介面分子排列示意圖與等效電路圖。	35
圖 2-21 考慮真實情況(CPE)之 Nyquist 示意圖。	37
圖 2-22 修飾電極表面後的 C_{dl}	38
圖 2-23 修飾電極表面後的 R_{ct}	39
圖 2-24 常見的微電極與微電極陣列幾何形狀[5]。(a)盤狀(microdisk)。(b)環狀(microring)。(c)盤狀陣列(microdisk array)。(d)光刻式帶狀陣列(lithographically produced microband array)。(e)帶狀(microband)。(f)圓柱狀(microcylinder)。(g)球狀(microsphere)。(h)半球狀(microhemisphere)。(i)光纖陣列(fiber array)。(j)叉指式陣列(interdigitated array)。	41
圖 2-25 相近的微電極產生的擴散層重疊示意圖[5]。	43
圖 2-26 微電極穩態電流公式與擴散示意圖。(a)半圓形電極。(b)盤狀電極。(c)凹槽式盤狀電極。	45
圖 3-1 超音波震洗機.....	47
圖 3-2 (a)光阻塗佈機(Spin coater)。(b) 電子槍蒸鍍機(E-gun Metal)。	49
圖 3-3 下電極的製作步驟示意圖。(a)進行曝光上光阻(b)蒸鍍下電極(鉻：15 奈米、金：60 奈米)(c)經過掀離製成(去除光阻)後完成下電極。	49
圖 3-4 光學顯微鏡(Optical microscope).....	50
圖 3-5 電漿化學氣相沉積機台(PECVD).....	50

圖 3-6 沉積氧化層與金屬步驟示意圖。(a)沉積第一層氧化層(400 奈米)。(b)蒸鍍上電極(鉻：15 奈米、金：60 奈米)。(c)沉積第二層氧化層(400 奈米)。51
圖 3-7 (a)曝光機(Karl Suss Aligner, MA6)。(b)活性離子乾蝕刻機 Oxford RIE52
圖 3-8 (a)上電極定義形狀之光阻模擬圖。(b)感應區域(sensing area)處光罩示意圖。(c)光學顯微鏡下感應區域的三種尺度 1.2000 個直徑 30 微米的洞 3.4000 個直徑 20 微米的洞 4.18000 個直徑為 10 微米的洞。52
圖 3-9 環盤電極製成步驟模擬圖。(a)塗佈光阻(S1813 500rpm/10s, 3000rpm/40s)(b)曝光顯影後定義上電極形狀(c)以 RIE 蝕刻上層氧化層(d)金、鉻濕蝕刻(e)擦去下針處光阻後（只留 Sensing area 部分光阻）以 RIE 蝏刻下層氧化層(f)以 Acetone 洗去殘留的光阻。53
圖 3-10 (a)過度濕蝕刻導致底切示意圖。54
圖 3-11 光學顯微鏡下 18k 元件部分脫落的感應區域55
圖 3-12 (a)完成的元件實體上視圖和(b)18k 感應區域的 SEM 圖。55
圖 3-13 (a)元件上視示意圖及(b)感應區域內設計圖。(c)單獨一個洞的立體切面圖和(d)元件縱切示意圖。56
圖 3-14 單點膜厚測量儀57
圖 3-15 元件經過 PECVD 5 分鐘 7 秒製程後的結果58
圖 3-16 探針式表面分析儀59
圖 3-17 (a)探針頂端形狀示意圖[69]。(b)探針磨損前後對照示意圖[69]。60
圖 3-18 寬與窄凹槽量測示意圖。60
圖 3-19 (a)光學顯微鏡下的 2000 個直徑 30 微米洞(sensing area 部分)(b)探針式表面分析儀大致按照圖(a)A 到 B 量測的結果(853 奈米).....61



圖 3-20 (a)光學顯微鏡下的 4000 個直徑 20 微米洞(sensing area 部分)(b)探針式表面分析儀大致按照圖(a)A 到 B 量測的結果(742 奈米).....	62
圖 3-21 (a)元件上視示意圖 (圖內洞數與實際不同) 和(b)探針式表面分析儀由 A 到 B 量測的結果.....	63
圖 3-22 (a)框住 sensing area 後之元件實體上視圖和(b) 圓腔式氧電漿機。	64
圖 3-23 親水性示意圖	64
圖 3-24 酸鹼檢測計	65
圖 3-25 Autolab PGSTAT204.....	66
圖 3-26 量測方式配置圖 。	66
圖 4-1 元件與縱切示意圖	67
圖 4-2 元件特性。(a)CV 結果圖和(b)Nyquist 結果圖	70
圖 4-3 不同尺寸的電極 CV 比較圖[71]。(a)線性擴散(Linear diffusion)主導整個擴散作用，因此產生 peak current 的 CV 圖($\delta < w$)。(b)徑向擴散(Radial diffusion)增大產生 limiting current 的 CV 圖($\delta \geq w$)。	70
圖 4-4 單一元件穩定度。(a)掃描 20 個 cycles 的 CV 圖 。	71
圖 4-5 相同結構不同批元件比較。(a)CV 圖疊加。(b)不同元件的峰電流比較。 ..	72
圖 4-6 相同結構不同批元件比較。(a)Nyquist 圖疊加。(b)不同元件的電荷轉移阻抗比較 。	73
圖 4-7 不同氧化還原物質濃度下。(a)CV 結果圖。(b)濃度與電流峰值做圖。	74
圖 4-8 不同氧化還原物質濃度下。(a)Nyquist 結果圖。(b)濃度與電流峰值做圖。	
.....	76
圖 4-9 2k 元件與 4k 元件的比較圖。(a)CV 圖 。(b)Nyquist 圖 。	78



圖 4-10 不同掃描速率下。(a)CV 圖。(b)以掃描速率開根號和對應之峰值電流做圖。

.....80

圖 4-11 交換工作電極與輔助電極。(a)CV 圖疊加結果與(b)Nyquist 疊加結果圖。

.....82

LIST OF TABLES

表 1 超微電極中不同電極幾何構型對應的質量轉移係數[65]。	44
表 2 溶液配置的 baseline	65
表 3 元件感應區域內電極面積	68
表 4 NOVA 軟體 fit 高頻區段 Nyquist 圖的參數。	70
表 5 NOVA 軟體擬合高頻區段 Nyquist 圖的參數。	73
表 6 各濃度電流極值與 NOVA 軟體模擬 Nyquist 圖的參數。	76
表 7 CV 圖電流極值與 NOVA 軟體擬合 Nyquist 圖的 R_{ct} 。	79
表 8 CV 圖電流極值與 NOVA 軟體擬合 Nyquist 圖的 R_{ct} 。	82





Chapter 1 Introduction

1.1 研究背景

世界上超過 65 歲的人口隨年俱增，聯合國指出因世界人口加速老齡化[1]，推論 2050 年時全球人數預估總共會有將近 100 億，而在這一百億裡老年人口的數量將超過 15 億，占了總人口數的百分之 16 (圖 1-1)。隨著醫療科技的進步人類的平均壽命也越來越長，2019 年時全球人口的平均壽命為 72.3 歲，高齡化的社會也存在著許多健康問題，因此發展容易攜帶且隨時隨地可以檢測的健康感測元件誕生，重點醫療檢驗(Point-of-care Test, POCT)[2]慢慢成為必要的趨勢。

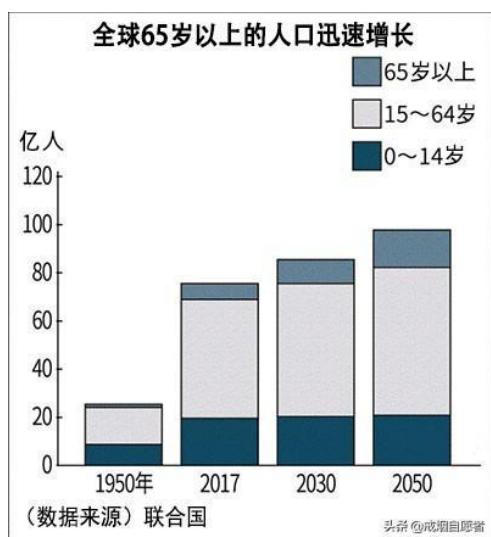


圖 1-1 聯合國預估人口隨年齡分布的比例[1]

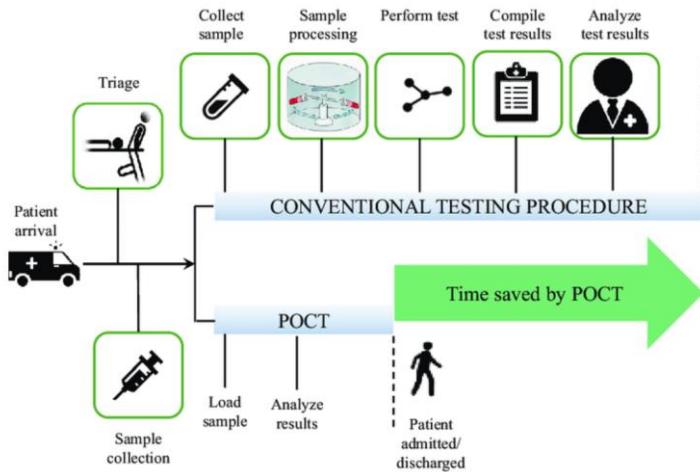


圖 1-2 POCT 與一般傳統醫療檢測的流程比較[3]

2019 年末，疫情在中華人民共和國首次被發現，而這個名為 COVID-19 的病毒也快速的席捲整個世界。在 2020 年初迅速擴散至全世界各地，影響了所有人的生活也逐漸的變成一場全球性大瘟疫。截至此時全球已經累計超過 5.2 億的人口確診並且死亡人數超過 600 萬人[4]。這意味著健康、醫療檢測的重要性開始被人們認真檢視，配合著科技日新月異的進步，小尺寸的元件增加性能的研究也慢慢被發展出來並且運用在各個領域上，結合兩種情況我們決定設計微米尺寸的環盤狀電極結構並且研究元件的特性。

此次研究專注於發展奈米間隙微電極元件，期待未來能將元件使用在抗體、DNA 等等各種反應物的感測上。而我們也希望此元件有較小的尺寸、低成本、輕便可攜帶、穩定性高的優點，而這次利用元件的結構設計，本論文採用電化學方法來檢測元件的特性與行為，配合著元件製作技術的尺寸微縮，微電極結構能加快質傳效應、擁有較高的信噪比以及較低的電壓降[5]，設計成微電極陣列也能提升整體電流信號，因此我們利用無塵室機台將 3D 奈米間隙的環盤狀微電極陣列製作在成本較低的載玻片基板上，不僅利用 3D 結構將電極之間的距離縮減到 400 奈米，並且在感應區域內做不同的結構設計來觀察元件性能，調整參數來觀察對氧化還原反應物



的信號強度與穩定度測試，期望能在往後將此元件結構進行改質並投入各種商業化之生物感測器上。

1.2 生物感測器

生物感測器[6, 7]大致上被分為三個主要部份：生物受體、傳感器和訊號處理元件。如圖 1-3 所示。生物受體用來接收反應物，傳感器則是將生物訊號轉換為可探測的信號，最後將資料傳給訊號處理元件將訊號放大，並由電子元件展示出結果使我們能快速得知資訊。簡而言之，生物感測器由生物辨識元件和可以將生化性訊號轉變為處理即顯示訊號之轉換元件(transducer)組成。生物辨識元件包含了有催化作用的酵素、微生物等，與沒有催化作用的抗體(antibody)、受體(receptor)、核酸等，而轉換元件的原理又包括了電化學、光學、熱等，生物感測器利用了生物辨識元件獨特的高選擇性、敏感性與元件快速訊號的處理特性來檢測生物體中許多如味覺、嗅覺、內分泌系統等包含訊息辨識與傳遞作用的生化現象。

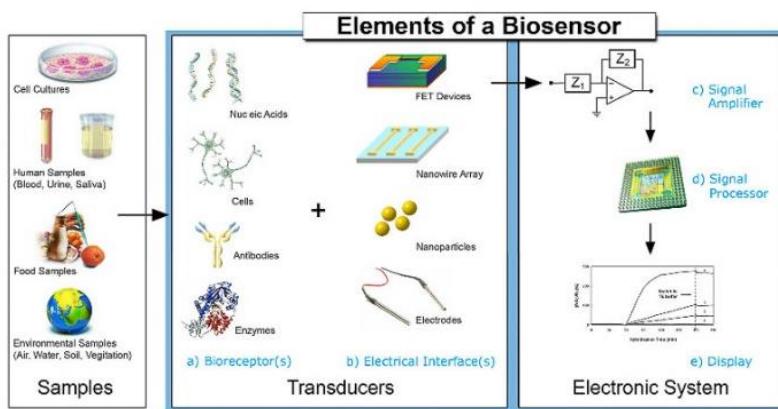


圖 1-3 生物感測器的基本要件[8]

生物感測器的發展距今已經有快 60 年的歷史了[9]。最早的生物感測器在 1962 年為 Clark 與 Lyons 所設計[10]。他們將葡萄糖氧化酶用在感測器的電極上來偵測氧氣的消耗量，葡萄糖濃度也透過此方法被量化。在 1967 年的時候，Updike 和



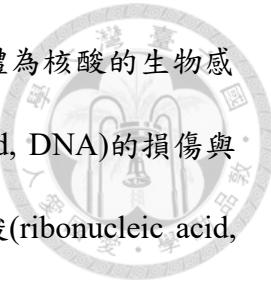
Hicks[11]進一步使用了葡萄糖氧化酶固定在凝膠上用以測量生物溶液、體外組織的葡萄糖濃度，而這個概念被 Yellow Spring Instrument 商業化於 1979 年販售血糖儀[12]，此生物感測器稱為第一代生物感測器。之後為了改善第一代生物感測器的問題與缺點，包括氧化還原物質的干擾與低敏感度，第二代生物感測器在 1980 年代被發展出來。透過電子媒介體(electrode mediator)可以降低過去較高的工作電位。除此之外，第二代生物感測器使用了抗體或是蛋白質受體作為生物辨識元素，傳感器也因此變得更多樣化。最成功的商業化第二代生物感測器莫過於 1991 年由 Pharmacia Biosenser AB 發布的 Biacore 與 Bialite 產品[13]，此類的產品利用表面等離子共振(Surface plasmon resonance, SPR)來偵測生物分子與感測器表面之間的交互作用。第二代生物感測器有許多優點，包括非標記(Label-free)、即時偵測等。然而第二代生物感測器運行方式並沒有那麼簡單，因此也僅限至於研究用途。而 1990 年代開始，第三代生物感測器在此時被發明了，至今也有許多學者在致力於發展此類應用。相較於第二代擁有相對更即時、可攜帶、自動化、敏感度提高等優點[14]。現在微機電系統 (microelectromechanical systems, MEMS) 與奈米機電系統 (nanoelectromechanical systems, NEMS) 的技術也廣泛的應用在生物感測器的製程上，生物感測器的發展將會隨著尺寸縮小、追求效能的社會更加邁進。

1.3 生物感測器架構

生物感測器可以依據不同的生物受體或是傳感器被分類為許多種。

1.3.1 生物受體

典型的生物受體[7]又包括酵素、核酸、抗體等。其中在這些生物受體中，最為常見的類型為酵素，也稱為酶，經常用於葡萄糖偵測[9]上，但這類型的生物感測器有



個缺點就是必須添加酵素與待分析的反應物進行反應。生物受體為核酸的生物感測器可以用於檢測遺傳疾病、脫氧核糖核酸(deoxyribonucleic acid, DNA)的損傷與相互作用，工作原理為使用一個單鏈脫氧核糖核酸或是核糖核酸(ribonucleic acid, RNA)去與互補的脫氧核糖核酸或核糖核酸做結合，這種生物受體的優點為相對簡單的架構、可逆性雜交與低成本[15]。1980 年代末期[16]，抗體被發展為生物受體，抗體與抗原上的一個特定的表位有互補位，因此抗體對於與反應物的特定鍵結擁有較高的親和力，也因為這個特性使得抗體被視為有潛力的生物受體[17]。

1.3.2 傳感器

傳感器[7]在生物感測器裡扮演相當重要的位置。它可以將生物識別事件轉換為可量測的信號，常見的傳感器又分為以下三種：光學[18-22]、機械[23-28]、電化學（例如場效電晶體）[29-34]。”光學生物感測器有兩個主要類型：標籤檢測與無標籤檢測”。基於標籤檢測的光學生物感測器會使用螢光劑(fluorescent)或吸收劑(absorbent)的標記來幫忙偵測。無標籤檢測的生物感測器則是檢測分析物的天然特性，性質相較於前者來說比較好，因為它不需要額外的標記時間，可以降低負面標籤所帶來的影響也不需要多餘的標記時間[35]，並且可以節省實驗成本。無標籤類型的光學生物感測器常見的有折射率偵測、光的吸收檢測和拉曼光譜[36]。由於擁有所即時檢測與敏感度偵測的優點，表面電漿共振(surface plasmon resonance, SPR)為最常見的光學生物感測器，但此類型的感測器不適用於大分子的檢測[18]。機械生物傳感器有石英晶體微天平(quartz crystal microbalance, QCM)、原子力顯微鏡 atomic force microscope, AFM)、表面聲波(surface acoustic wave, SAW)等類型，這些生物傳感器會將分析物的物理質量訊號轉換為較好分析的電信號[23]。石英晶體微天平的發展開始於 1960 年代初期，它是一種相當靈敏的質量檢測儀器，測量精



度可以達到奈克等級，比靈敏度在微克等級的電子微天平高 1000 倍，QCM 使用諧振水晶進行檢測，當分析物鍵結到感測器表面會造成質量的改變，進而導致振盪器的諧振頻率發生變化[37]。表面聲波會藉由彈性材料進行表面傳播，產生隨著深度而隨之改變的振幅，表面聲波生物感測器經常被用來偵測生物分子和化學實體，當反應物鍵結到感測器表面時，表面諧振波的振幅、波速都會改變，改變的幅度與分析物濃度相關。原子力顯微鏡是透過針尖與樣品間直接接觸的原子作用力使感測器的振幅產生細微的改變，以測得樣品的表面，藉而可以得知整個樣品表面上的形狀以及相對厚度，懸臂的變化會與分析物的濃度相關[27]。電化學生物感測器是最發展最久且最常使用的，此類型生物感測器因為有著低成本、小尺寸和快速地響應時間等優點[38]，已經在臨床、工業和環境領域商業化了。電化學生物感測器又可以分為電流型(amperometric)、電位型(potentiometric)和阻抗型(impedimetric)[39]，電流型生物感測器會將固定的電壓偏壓於兩個電極，接著觀察由電活性物質氧化、還原反應產生的電流來獲得資訊。此類型的生物感測器有極好的敏感度與快速地響應時間，但因為相對較高的驅動電壓會使得其他的氧化還原物質也發生反應，導致特定專一性不高。電壓型生物感測器則是給電極固定的電流來量測對應的電壓值，電壓型生物感測器被用來偵測不同的分析物，最為著名的例子為酸鹼度測定計(PH meter)[40]，它是由兩個電極所組成的，顧名思義是用來感測溶液酸鹼值的儀器，將電極浸泡在溶液中我們可以觀察到電位會隨著濃度或是其餘離子反應因素而改變，藉而對應出所代表的酸鹼度(如圖 1-4)。電壓型生物感測器有許多優點，包括較高的選擇性、較寬的動態範圍、非破壞性、低成本與可攜帶性，但反應較慢且敏感度不高。阻抗型生物感測器會將小訊號正弦電壓施加於工作電極，並且測量在電極與電解質介面電阻與電容的變化。阻抗型生物感測器可偵測大至小的分子



並且不需要電活性物質，然而還是有許多需要克服的地方，包括再生性、非特定性的結合、偵測的限制[41]。阻抗型生物感測器根據操作原理又分為非法拉第系統與法拉第系統，接著會詳細介紹這兩種類型的感測器。

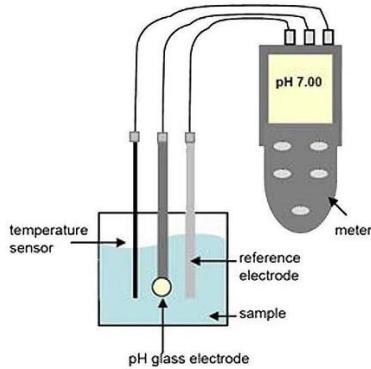


圖 1-4 酸鹼測定計示意圖[42]

1.4 電化學阻抗型生物感測器

1.4.1 非法拉第生物感測器

非法拉第生物感測器顧名思義就是會透過不是法拉第反應產生的電流來偵測阻抗。當給予的電壓不足夠發生法拉第反應時，我們仍然可以從中獲得電流。非法拉第生物感測器又稱為電容式生物感測器，電容的非法拉第電流會受到介電常數、電荷分布、生物分子的形狀和元件結構等因素影響，透過量測電容非法拉第電流的變化來偵測生物分子之間的作用。過去的研究主要著力於平行金屬板組成的電容，此電容值可以表示成常見的式子如下：

$$C = \frac{\varepsilon_r \varepsilon_0 A}{d} \quad (1.1)$$

ε_r 為相對介電常數， ε_0 為介電常數，A 為面積而 d 為兩片金屬片的距離。第一種電容式生物感測器是用直接層積絕緣層以作為電容介質，第一個以電容型式做的



親和生物感測器在 1986 年由 Newman 等人[43]設計出來，與其他需要酵素與催化劑來輔助測量的生物感測器不同的是此類傳感器可以不需要添加任何催化劑就可以直接量測抗體與抗原之間的作用，他沉積了銅金屬在基板上當作兩個電極，銅金屬之間的距離為 50 微米（如圖 1-5(a)）並且上層沉積了 1um 的聚對二甲苯聚合物 (parylene polymer)來屏蔽法拉第電流，接著再沉積一層二氧化矽在聚對二甲苯上用以提供固定生物識別的官能基，抗體的介電係數（約 2~5）遠小於水（約 80），因此當抗體被固定到元件表面時，介電係數的特性會隨之改變進而影響整體的電容值。為了提高感測器的效能需要更大的感測面積，而此時就可透過結構設計來達到我們想要的結果，叉指電極也因此被設計出來（如圖 1-5(b)）。

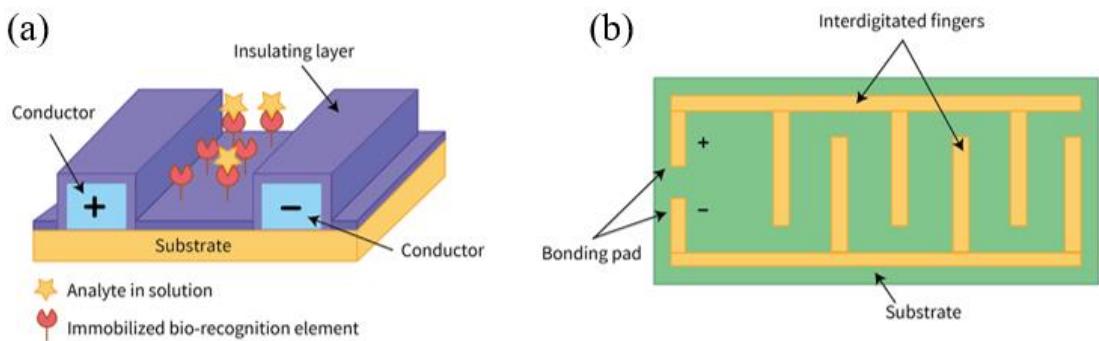


圖 1-5 電容性生物傳感器示意圖：(a)元件結構和(b)叉指電極

叉指電極的設計所帶來的好處相當多，不僅更加一步地展現了元件結構對於信號的影響，也讓我們能夠控制以及掌握不同的實驗變因。經常被提到的叉指電極結構有四個參數：叉指電極的對數、每一個叉指的寬度、相鄰叉指之間的間隙距離，甚至是設計成 3D 形式的叉指電極厚度。四個參數都會使得感測器的效能造成很大的影響，叉指電極長與寬的比例、叉指電極對的密度越大會使得元件的靈敏度跟反應速度提升，而當我們將叉指電極的尺寸縮小到次微米等級時，更微弱的電阻變化可以被偵測到，進一步提升整體的靈敏度。科學家將叉指電極周圍產生的電場進行



分析，結果顯示電極厚度也會影響電場的強度，隨著電極厚度上升，電場強度會跟著下降。由上述所提，我們可以得知透過改變叉指電極的結構，我們可以選擇較適合的元件結構來對應想量測的反應物及訊號。透過改變元件結構而產生性能指標改變的想法也開始普遍應用在感測器上。

1988 年 Talor 等人設計第一個可以偵測小分子（如乙酰膽鹼(acetylcholine)）的阻抗型感測器[45]，幾年後他們進一步檢測到抗體 hIgG(human Ummunoglobulin G)並且檢測極限可以達到 50 ng/ml。另一種常見的非法拉第生物感測器的原理是利用固定化的方式，接上交聯劑(crosslinker)形成分子自組裝單層(self-assembly monolayer, SAM)。當我們將浸泡在緩衝液的電極偏壓時，由於我們的緩衝液中具有可移動的離子，與分子自組裝單層表面帶同性電的離子會被排斥遠離表面，與分子自組裝單層表面帶異性電的離子會被吸引到表面附近，因此會再分子自組裝單層表面形成電雙層的結構。此類型的非法拉第生物感測器的量測會利用生物分子的絕緣性能，這一類電容感測器會在電極表面形成兩層絕緣層，一層為分子自組裝單層，另一層則來自電雙層。當生物分子鍵結到電極表面後，電極表面的電容會因此改變從而可以得知生物分子的濃度。然而電極改質後的缺陷會導致本來應該均勻分布的絕緣層不完整，這些缺陷間接產生漏電流並且影響到傳感器的靈敏度，而非法拉第電流本身就相對較小受到漏電流的影響幾乎是不能忽略的，因此此生物感測器不適用於小分子檢測。由於此類的電容感測器較容易製作，因此大多數的電容性感測器都在這種架構下設計與發展的。近年不斷有研究團隊發表利用不同的交聯劑來量測不同種的抗原來作為生物分子感測器的應用，也有探討不同長度的交聯劑與不同固定化時間對分子自組裝單層作為絕緣層的品質好壞。



1.4.2 法拉第生物感測器

與上述提到的非法拉第生物感測器不一樣的是法拉第生物感測器需要發生法拉第反應。氧化還原物種透過氧化還原反應產生的電流稱為法拉第電流，在法拉第生物感測器中常見的氧化還原對有鐵氰化物/亞鐵氰化物(ferricyanide/ferrocyanide, $\text{Fe}(\text{CN})^{3-/4-}$)和六氮合釤離子(hexaammineruthenium ions, $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6^{3+/2+}$)，可以使工作電極與電解質表面產生電荷轉移。而有兩個主要因素會影響法拉第電流，分別為空間位阻(steric hindrance)和靜電吸引力/排斥力(electrostatic attractive/repulsive force)[46]。當生物分子與電極表面鍵結後，生物分子的絕緣特性會阻礙電荷轉移的路徑進一步降低電荷遷移率。此外生物分子的電荷也會影響電荷遷移率，過程遵守同性相斥、異性相吸的定理，當生物分子的電荷與氧化還原物質相同時會使得電荷遷移率下降，換句話說，當兩者的電性相反時會使得電荷遷移率上升。因為上述所說的特性，法拉第阻抗生物感測器可以用來檢測大分子(例如：病原體(pathogens)) [47]與小分子(去氧核醣核酸(DNA)) [48]。

1999 年時，Jie 等人使用法拉第生物感測器檢測與人類乳房腫瘤(human mammary tumor)相關的醣蛋白(glycoprotein)[49]。單克隆抗體透過自發吸附方式固定在金電極表面上，之後加入特定的抗原可以觀察到電荷轉移阻抗(R_{et})發生了變化。Yang 等人使用了叉指式陣列(interdigitated array(IDA))設計電極[50]，為了固定用來檢測 O157 型大腸桿菌(*E. coli* O157:H7)的抗體，上層會塗佈銦錫氧化物(indium-tin oxide(ITO))，他們所設計的生物感測器的偵測上限為 $10^6 \text{ cfu}/\text{m}$ ，偵測的動態範圍從 4.36×10^5 到 $4.36 \times 10^8 \text{ cfu}/\text{ml}$ 。Maalouf 團隊使用硫醇基($\text{HSCH}_2(\text{CH}_2)_9\text{CH}_2\text{NHCO-biotin}$)和間隔硫醇基(6-mercaptop-1-hexanol, $\text{HSCH}_2(\text{CH}_2)_4\text{CH}_2\text{OH}$)的混合溶液在金



電極表面建立自組裝單層(SAM)，接著加入去醣卵白素(NeutralAvidin)與硫醇基鍵結，隨後加入生物素化的多克隆大腸桿菌抗體(pyclonal anti-E. coli)。多克隆大腸桿菌抗體會因為生物素與去醣卵白素(biotin-neutralavidin)之間的作用而與自組裝單層結合。做完種種實驗後，Maalouf 等人比較了電化學量測方法跟光學表面等離子共振法(Surface Plasmon Resonance, SPR)後，發現了此種電化學量測法(10^3 cfu/ml)在偵測最小極限方面遠遠優於光學表面等離子共振法(10^7 cfu/ml)。生物分子是相當難直接與生物感測器基板(例如：金)進行鍵結的，因此經常使用硫醇基(thiol)作為交聯劑幫忙固定生物辨識元素。

我們也可以由法拉第方程式中得知法拉第反應所產生的電流與電極參與反應的面積息息相關，改變元件結構以增加反應表面積，使得電流訊號提升也成了生物感測器元件發展的其中一個方向。隨著科技進步，微米甚至是奈米等級的元件都有辦法製作，製程尺寸的微縮使得超微電極(Ultramicroelectrode)的應用快速發展[51]，而縮短電極間隙會帶來的優缺點也被人們重視，透過縮短電極間隙以及結構特別的設計(例：Ring-disk electrode[52])，可以提升電極之間分子的捕獲效率，進而使元件的效能變得更好。

1.5 動機

根據上述所提，電化學阻抗型生物感測器有著低成本、小尺寸等優點，相當適合應用在 POCT 上。我們可以得知法拉第生物感測器不管大小分子均可以偵測，然而這些生物感測器也存在著再現性低、非特異性結合、檢測濃度極限值低等限制，均會影響成為 POCT 元件的發展。常見的商業型電極尺寸較大、成本高、難以運作，因此難以用於 POCT 的元件上。



隨著科技發展，尺寸微縮對於特性的優化被人們發現，電極結構的設計會使得元件有不一樣的特性，微電極結構能加快質傳效應、擁有較高的信噪比以及較低的電壓降[51]，設計成微電極陣列也能增加參與反應的總表面積，提升整體電流信號，為了能提升生物感測器之元件訊號與信噪比，我們利用無塵室機台將 3D 奈米間隙的環盤狀微電極陣列製作在成本較低的載玻片基板上，量測在發生法拉第反應的狀況下，元件的電流與阻抗響應，期望未來能將元件的設計結構應用在生物感測器上。

1.6 論文架構

- 第一章為介紹論文研究背景、動機與架構，並且提及生物感測器相關文獻。
- 第二章中，我們將會介紹電化學概念與相關的公式，伏安法與電化學阻抗分析法將是論文主要使用的量測法，微電極的條件與特性也會在此論文中提到。
- 第三章我們將會介紹元件的製程步驟以及方法，所有使用到的參數以及製程將遇到的問題與處理方式會在此提到，我們也會介紹作為元件結構確認的探針式表面分析儀以及單點膜厚測量儀。實驗事前步驟與溶液配置也在此提及。
- 第四章為實驗的結果分析，我們將使用循環伏安法以及電化學阻抗分析法分別觀察元件在不同條件下的變化，以及失敗元件的探討。
- 第五章為結論與未來展望，提及元件未來設計的調整方向以及問題的解決方式。



Chapter 2 導論

本章節將提到論文中所使用到的一些電化學定義與原理，以及電化學反應的過程。其次會闡述電化學量測的主要方式以及本篇論文主要採用的兩種方法，分別為循環伏安法以及電化學阻抗分析的原理。最後會討論在微電極尺度下可能發生的量測結果以及所產生的優缺點。

2.1 電化學基本原理

電化學，顧名思義是一門研究電能與化學能轉換的學科，他被定義為做為化學的一個分支，利用電類與化學類知識的轉換可以讓我們獲得更多想知道的資訊。電化學包括了因電流通過介質產生化學變化以及因化學變化導致電能的產生。上述提及的兩種方式發生在兩個不同的地方，一個是依靠離子運動來傳導電的電解質，另一個則是依靠電子運動來傳導電的電極。電化學著重於發生在電極與電解質表面的電荷轉移，電極上的電子能量可以通過調整電位勢來促進電荷轉移，當驅動電極的電位從正電位轉為負電位的時候，會使電極上的電子能量上升，如果電子能量高於最低未佔用分子軌域(Lowest unoccupied molecular orbital)，電子將有足夠的能量越過電極與電解質界面並且被反應物接收，該反應過程稱為還原反應。換句話說，當驅動電極的電位從負電位轉為正電位的時候，會使得電極上的電子能量下降。而當電子能量低於最高佔用分子軌域(Highest occupied molecular orbital)，反應物之電子會有足夠能量越過電極與電解質界面傳導到電極，該反應過程稱為氧化反應。圖2-1顯示還原與氧化反應的電荷轉移的過程的示意圖。

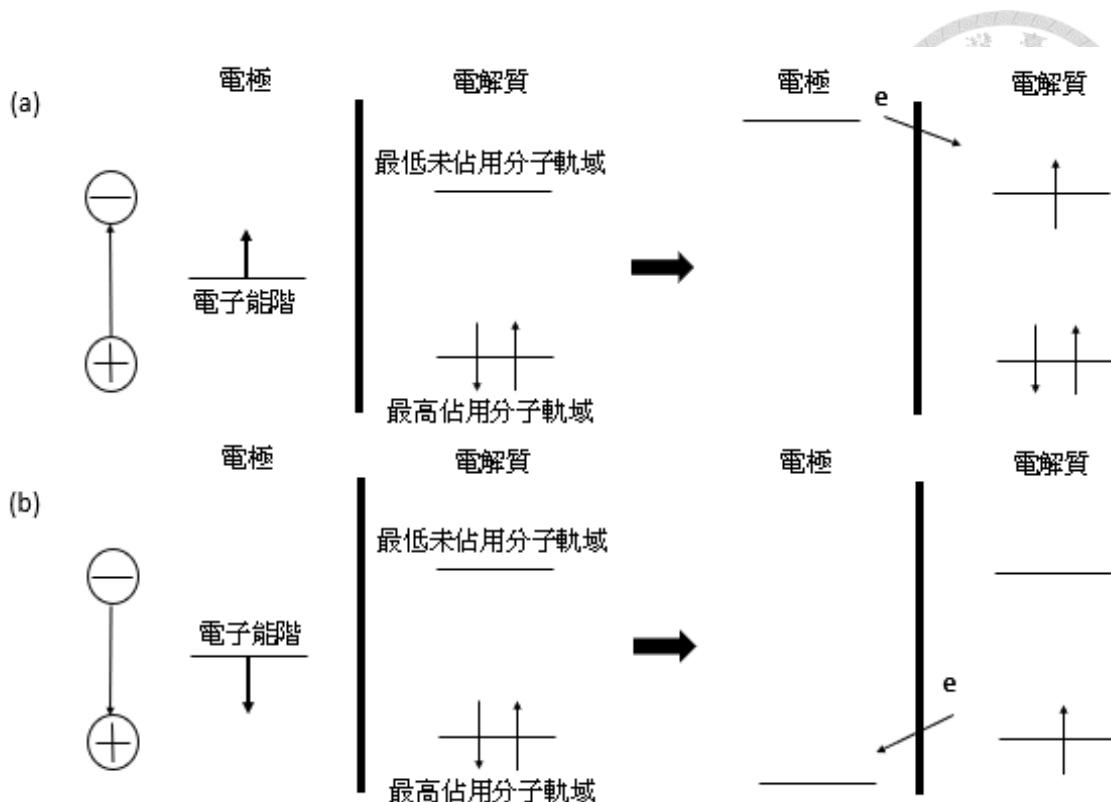


圖 2-1 電荷轉移的示意圖：(a)還原反應和(b)氧化反應

2.1.1 法拉第與非法拉第過程

兩種反應方式都發生在電極處，其中一種是電荷必須通過電極與電解質介面促使發生氧化還原反應，此類反應遵循法拉第定律，因此稱為法拉第過程。相反地，如果電位不夠高導致電化學反應無法發生（電極上所發生的反應均無通過電極與電解質介面，如吸附或脫附的過程），稱為非法拉第過程。然而，在非法拉第過程中還是有電流在外在電路上流通。這是因為當電極電位產生變化後，離子或分子將會因為電性重新排列，產生庫侖靜電力在電極與電解質表面產生吸附與脫附的行為。

法拉第第一定律顯示出，在電解反應發生的時候，反應物在電極產生的質量會與整個電極所通過的電量(C)成正比。換句話說，在固定的電流下，電解的時間越長在電極生成的物質越多，而第二定律則說明，在電解反應發生時，兩個不同物質分別在電極間生成的物質質量會與他們本身的莫耳數與參與反應的電子數的比值(化



學當量)成正比。我們以銅離子的電解反應當作例子，一價的 Cu^+ 與二價的銅離子 Cu^{2+} 同樣都是一樣的莫爾數 63.5，但由於參與反應的電子數不同，所以生成銅金屬的化學當量相差兩倍，一價的銅離子經過反應產生的銅為二價銅離子的兩倍。我們結合法拉第第一定律與第二定律可以將公式總結如下：

$$m = \frac{Q}{nF} \times M.W. \quad (2.1)$$

其中 Q 為電量、 n 為電子轉移數量、 F 為法拉第常數 (96500 庫侖)、 $M.W.$ (g/mol) 為產物的莫耳重量， $m(g)$ 為產物的質量。

因為電量為電流對時間的積分，因此：

$$Q = \int I dt \quad (2.2)$$

將 2.2 帶入 2.1 的方程式即可得到：

$$r = \frac{dm}{dt} = \frac{I}{nF} \times M.W. = \frac{i}{nF} \times A \times M.W. \quad (2.3)$$

其中 $r(\text{g}/(\text{sec} \cdot \text{m}^2))$ 為產物的生產率、 $I(\text{ampere})$ 為電流、 $i(\text{ampere}/\text{m}^2)$ 為電流密度而 A 為電極面積。方程式(2.3)證實了產物的生產率正比於法拉第電流。

非法拉第的過程則類似電容的充電與放電。而這個行為會在電極與電解質介面產生電雙層電容，電雙層理論研究的是電極與電解質介面結構。本質上為介面化學。電雙層的模型大致上有三種，隨著時間發展，從 Helmholtz 模型(1853-1879)→ Gouy-Chapman[53]模型(1910-1913)→ Gouy-Chapman-Stern 模型(1924)，一步步地反覆測試數據改良至完善。最終認為電雙層模型如下圖 2-2。

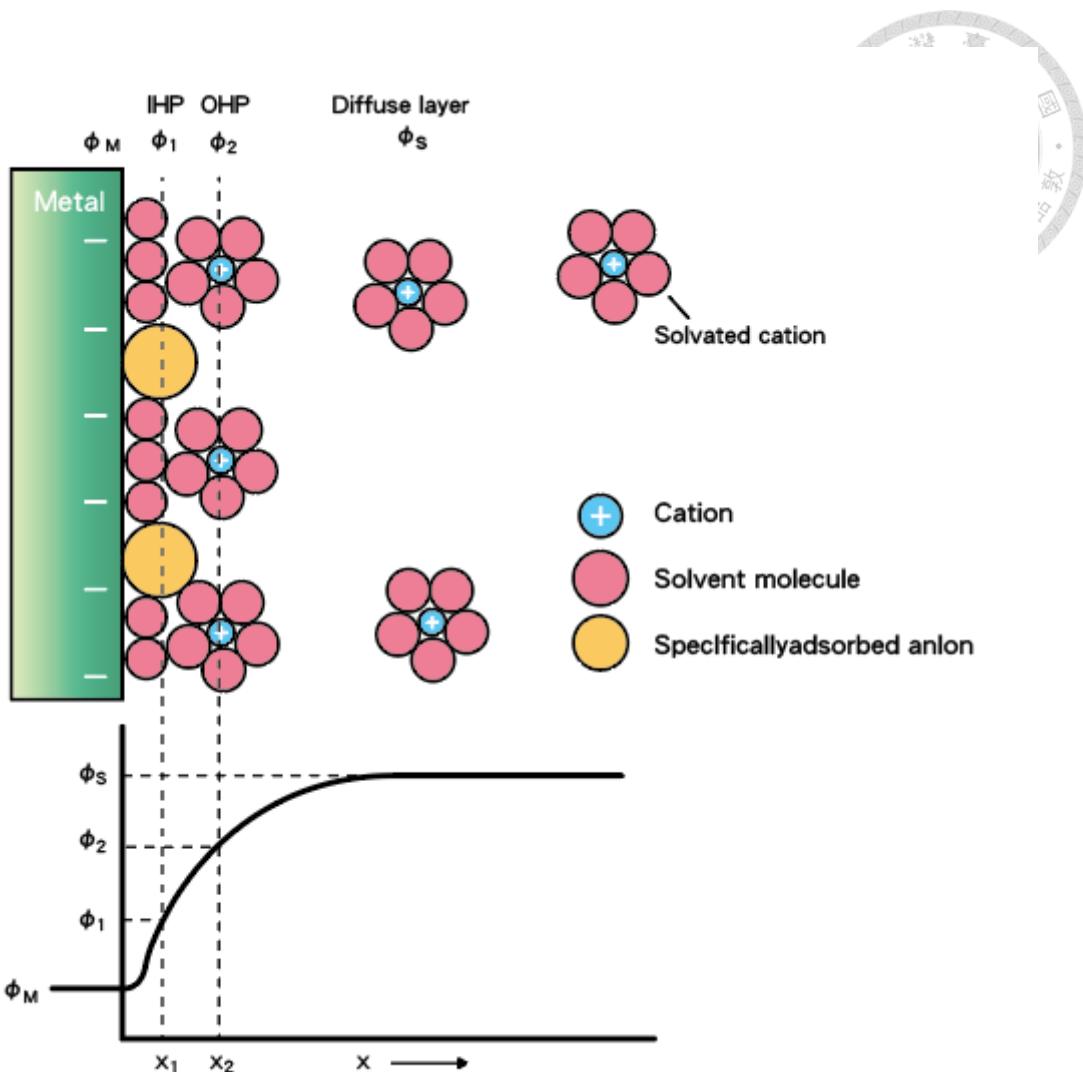


圖 2-2 電雙層模型與電位對照圖

而從圖 2-2 中可得知電雙層模型主要包括三個部分。

- 1) Inner Helmholtz plane(IHP)：如圖 2-2，厚度大致上為 x_1 (電極表面到吸附離子的中心)，此層包括溶劑分子與吸附的離子。在上圖中，儘管吸附離子為陰極和帶負電的電極相斥，但由於吸附力大於靜電力，所以依舊能夠穩定存在，此吸附離子的存在可由實驗所證明，也因此層最為靠近電極表面，感受較顯著的電場，結構上較為規律且緻密。

- 2) Outer Helmholtz plane(OHP)：如圖 2-2，厚度大致上為 x_2 (電極表面到最近的



溶劑化陽離子的中心)，這一層是溶劑化離子和反應物與電極最近的地方。電極氧化還原反應在這個地方發生。因此層不會接觸到電極表面，他們的交互作用與溶劑化離子的化學性質無關。因此也稱為非特定吸附陽離子。

3) Diffuse layer：由於熱擾動，這些非特定吸附陽離子分散在 OHP 外的區域稱為擴散層。由於靜電相斥和熱力學擴散原因，離子會形成一層濃度從左到右依次降低的擴散層。擴散層厚度和電勢及電解質濃度有關，一般在幾個到幾百個埃之間。電勢越高，電解質濃度越高，擴散層越薄。

在圖 2-2 中， $\phi_M, \phi_1, \phi_2, \phi_s$ 分別代表電極、IHP、OHP 與本體溶液的電位，而驅動電化學反應的電位大致上會被認為是 $\phi_M - \phi_s$ ，然而電雙層的存在會減少實際上所用到驅動的電位差，實際上應該為 $\phi_2 - \phi_s$ ，這是因為反應物在溶液中只能接觸到 OHP 而使得跨壓降不同。

2.1.2 電化學反應的過程

電化學反應的過程如下圖 2-3。

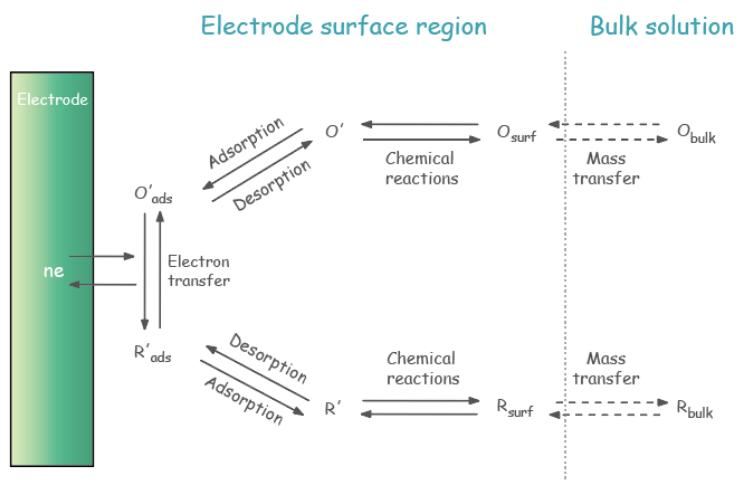
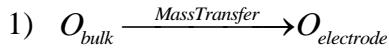


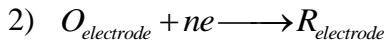
圖 2-3 電化學反應過程示意圖。

如圖 2-3，可得知反應物在溶液中到電極表面發生的過程以及運動方式。而電化

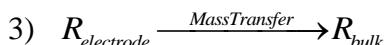
學反應常常會經過一系列完整的過程，這些過程將會主導著電化學反應速率。



在本體溶液部分的反應物(氧化物種 O)，會透過質傳導至電極表面，在這過程中他也可能會經過一些化學反應。



當反應物吸附在電極表面之後，會在電極與電解質介面上發生電荷轉移的行為。此處由電極得到電子後將反應物給還原。



經過還原後的反應物會產生質傳，傳導至本體溶液中，過程也可能發生化學反應。

4) Absorption and desorption

在反應物靠近電極表面的時候，可能會因為一些電荷的作用產生吸附與脫附的行為。

而整個電化學過程的每段的反應速率都不同，電荷轉移(化學反應速率)的速度遠比質量轉移的速度還要快，因此我們可以說是質量傳導主導著總反應速率，而我們所說的質傳，也就是質量傳導又可以分為三種方式：

1. 擴散(Diffusion)：這是物種隨著濃度梯度的方向前進的動作
2. 對流(Convection)：對流又分為兩種。第一種為自然對流，是由於密度梯度(density gradient)，密度梯度是一個區域內的空間變化，用來描述物質的不同密度。第二種為強迫對流，是由於外在的力量擾動產生。
3. 遷移(Migration)：電荷隨電場梯度而移動之行為。



質傳的過程由 Nernst-Planck 方程式主導，Nernst-Planck 方程的時間相關形式遵守質量守恆，用於描述帶電化學物質在流體介質中的運動。它擴展了 Fick 的擴散定律，適用於擴散粒子也通過靜電力相對於流體移動的情況，它以 Walther Nernst 和 Max Planck 命名。

它描述了離子濃度梯度和電場的影響下的離子通量

$$\frac{\partial c}{\partial t} = -\nabla \cdot J \quad | \quad J = -\left[D\nabla c - uc + \frac{Dze}{k_B T} c \left(\nabla \phi + \frac{\partial \mathbf{A}}{\partial t} \right) \right] \quad (2.4)$$

經整理後又可以寫為

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \nabla \cdot \left[D\nabla c - uc + \frac{Dze}{k_B T} c \left(\nabla \phi + \frac{\partial \mathbf{A}}{\partial t} \right) \right] \quad (2.5)$$

其中 J 是擴散通量， t 是時間， D 是化學物質的擴散率， c 是物質的濃度， z 是離子物質的化合價， e 是基本電荷， k_B 是玻爾茲曼常數， T 是溫度， μ 是流體的速度， ϕ 是電勢， \mathbf{A} 是磁矢量勢。

將時間導數設為零，並且將流體速度設置為零(僅離子移動種類)：

$$J = -\left[D\nabla c + \frac{Dze}{k_B T} c \left(\nabla \phi + \frac{\partial \mathbf{A}}{\partial t} \right) \right] \quad (2.6)$$

在靜態電磁條件下，可以得到穩態的 Nernst-Planck 方程式：

$$J = -\left[D\nabla c + \frac{Dze}{k_B T} c (\nabla \phi) \right] \quad (2.7)$$

最後，以 $\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 和氣體常數 R 為單位，可以得到更熟悉的形式(F 為法拉第常數)：



$$J = -D \left[\nabla c + \frac{zF}{RT} c(\nabla \phi) \right] \quad (2.8)$$

可由上述條件看出整個 Nernst-Planck 方程式代表了擴散、對流、遷移的行為。

2.1.3 雙電極與三電極系統

電化學系統包含兩個重要的元素，分別為電極與電解質，而電極系統又可以分為雙電極系統和三電極系統，而每種電極均有不同的運作方式以及需具備的條件，以下將提到常見的三種電極[54](工作電極、輔助電極和參考電極)各自的功能以及適合的材料選擇：

1) 工作電極：

顧名思義為我們主要研究的電極，通常會在介面上發生主要反應，工作電極必須要能夠導電不影響反應進行，可以是固/液體，能導電的材料均能使用，必須符合以下條件：一、自身不會發生特殊反應來影響想觀測的電化學反應，能夠承受較大的電壓變化。二、使用的材料不會在溶液中發生反應。

三、選擇的面積不能太大並且要有較為理想的電極表面(平滑、無孔隙等)。而工作電極為我們實驗的主要觀察對象，因此選擇較好清潔的電極材料也是我們的篩選條件，而隨著量測的要求不同，我們可以選擇符合以上條件後最適當的材料與結構作為工作電極。

2) 輔助電極

又稱為對電極，輔助電極會與主要反應的工作電極構成一個極化迴路，兩者均會通過極化電流組成主要的電流路徑，當工作電極發生反應後，輔助電極將會發生相對應的反應來確保溶液的組成成分不變與整體溶液的電中性，也就是說在工作電極產生的電流大小也會在輔助電極上觀測到，所以一般來說

輔助電極的面積要為工作電極的 3 倍以上，一方面為了減少在二電極系統時的極化(增加表面積以降低電流密度)，另一方面為了不限流完整整個電子迴路。而一般來說輔助電極所發生的反應不應該影響工作電極上的反應，為了減少對於工作電極的干擾也可以使用離子交換膜與多孔陶瓷…等來將兩種電極區域進行隔離。

3) 參考電極

又稱參比電極，其功效如同為工作電極的地，因此做為相對電位，必須選擇穩定不與電解液產生反應並且有著已知電極電勢的電極，選擇穩定且不亦受環境因素影響的電極會使得實驗結果相對可靠。而在三電極系統中，參考電極僅會通過微小的測量電流，不會通過極化電流。

➤ 雙電極系統[55]：

雙電極系統包含工作電極 (working electrode(WE)) 及輔助電極 (counter/reference electrode (CE/RE))，用來量測電勢以及電流，經常使用於化學量測系統上，工作電極連接在第一個電極上，輔助電極與參考電極會一起接在第二個電極上，也因此會使得參考電極通過極化電流產生電極極化等不理想因素所影響。如圖 2-4 所示。

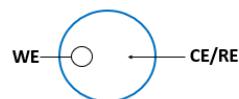


圖 2-4 簡易的雙電極系統示意圖[55]

➤ 三電極系統[55]：

三電極系統為電分析化學領域中最常使用的，與雙電極系統差在多了一

個獨立的參考電極，多此電極的功用為去除電極極化的影響，可以讓整體電位更加穩定，換句話說也就是提供整體系統一個穩定的接地。如圖 2-5 所示。

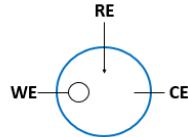


圖 2-5 簡易的三電極系統示意圖[55]

圖 2-6 為三電極體系電路圖[56]，W 為工作電極是主要的電極研究與操作對象，R 為參比電極是整體系統的電位基準，C 為輔助電極是用來通過電流完成輔助電極與工作電極的極化。P 為極化電源是整個系統的電訊號來源，mA 與 V 代表安培計與電壓計可以量測系統的電流與電壓。如圖可以觀察三電極系統將三個電極分開，左側極化電流迴路由工作電極、輔助電極、安培計與電源供應器所組成，工作電極與輔助電極通過電位的調整發生反應而產生極化電流，為主要反應發生區域，右側迴路則由工作電極、參考電極與電壓計所組成，作為電位基準的參考電極會通過電流值極小的測量電流以除去極化的影響，這個測量電流幾乎不會影響工作電極上的反應，因此我們可以發現三電極系統不僅可以使工作電極運作正常，也可以使作為基準的參比電極穩定，這也是為什麼三電極系統比雙電極系統還常為研究使用。

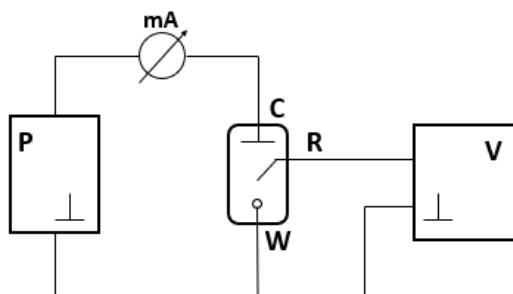


圖 2-6 三電極系統電路圖[56]



2.1.4 電化學半反應

如上述所提，我們可得知完整的電化學反應是由兩個獨立的半反應組成。在一般的電化學系統中，半反應可表示為：



這裡 O 和 R 分別代表氧化與還原物，n 為參與電荷轉移的電子數，而 Gibbs 定義了自由擴散分子的自由能，從高濃度到低濃度可透過擴散的自然現象，而此相關的公式為：

$$G = G^0 + RT \ln C \quad (2.10)$$

其中 G^0 為在標準狀態下的自由能(1 bar, 300K, 1M)、R 為理想氣體常數(8.314 J/mol·K)、T 為絕對溫度(K)而 C 為分子的濃度。所以透過式(2.10)我們可以得知氧化與還原自由能的差(ΔG)可表示為：

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT(\ln[R] - \ln[O]) = \Delta G^0 + RT \ln \frac{[R]}{[O]} \quad (2.11)$$

又因為在我們常見的電化學反應裡，電池會做的功為電功，而電功的最大值為電池產生反應後 Gibbs 能的減少量。若是有 n 莫耳的電子從他的正極移動到負極，而我們電池本身的電動勢為 E。則會獲得的非體積功為 $W' = -nFE$ ，F 是法拉第常數，倘若整個電池反應的過程是可逆的，我們就可以得知電化學 Gibbs 能的方程式為 $\Delta G = -nFE$ ，將此式與式(2.11)合併後，最後我們可以得到：

$$E = -\frac{\Delta G^0}{nF} - \frac{RT}{nF} \ln \frac{[R]}{[O]} = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[O]}{[R]} \quad (2.12)$$

E^0 為氧化還原反應的形式電位，與電解質的組成與離子強度有關。方程式(2.12)又



稱為 Nernst 方程式，我們可以發現在形式電位時，氧化與還原物質的濃度會相等，整個氧化與還原的反應也會達到平衡。

2.1.5 伏安法

伏安法[57]是電化學上常用的一種檢測方法，顧名思義就是透過給予電極電位產生電流並且觀測他們的數值。利用給予不同電壓記錄極化電流的變化，透過將電流與電壓值記錄在 X 軸為電壓，Y 軸為電流的圖形上，進而迅速的得到可分析的圖形。伏安法能快速地得到我們想要看到的結果，能有效掌握法拉第以及非法拉第反應的電流。而較常見的伏安法又分為線性伏安法以及循環伏安法。

- 線性伏安法(Linear Sweep Voltammetry)[57]

簡單來說就是以單一方向的電壓改變速度做掃描（由 V_1 掃描至 V_2 ），如下圖 2-7 所示：

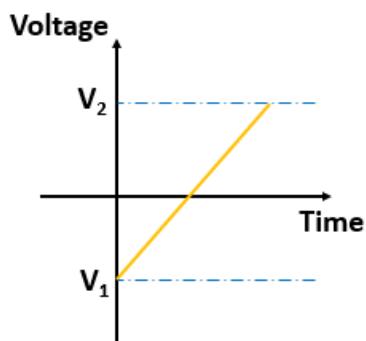


圖 2-7 線性伏安法輸入電壓(V-t)

而給予此輸入電壓後，可觀察待測物的電流變化，因此最後會顯示出 I-V 圖。在可逆的電化學系統中，峰值電流(i_p)可以由 Randles-Sevcik 方程式定義：

$$i_p = 0.4463 \left(\frac{n^3 F^3}{RT} \right)^{1/2} A.C (D.v)^{1/2} = (2.687 \times 10^5) n^{3/2} A.C (D.v)^{1/2} \quad (2.13)$$



i_p = 峰值電流 (A)

n = 在氧化還原反應中轉移的電荷數量

F = 法拉第常數 (96485.339 C/mol)

R = 理想氣體常數 ($8.31447 \text{ J}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$)

T = 絶對溫度 (K)

A = 工作電極的表面積 (cm^2)

C = 氧化還原物種的莫耳濃度 (mol/cm^3)

D = 擴散係數 (cm^2/s)

v = 掃描速率 (V/s)

因此我們可以知道線性伏安法所得到的圖形會依據以上條件的調整而有所改變 (掃描速度、使用的電活性物質反應物特性、電極的面積大小…等)。我們以氧化鐵為例， Fe^{3+} 會因為電極電位降低而還原為 Fe^{2+} ，下圖 2-8 為鐵離子在水溶液中的 LSV 圖形，必須提到的是此處使用的量測儀器座標軸較為不同，初始電壓由左邊開始往右掃(由正電掃到負電)，從一開始沒有任何電流產生，繼續調低電位掃描後，電極提供了足夠的能量產生電荷轉移，因產生了法拉第電流而使得總電流開始迅速上升，接著在電壓為 E_p^c 時電流出現了極大值，這時候必須考量鐵離子反應的速度，此時 Fe^{3+} 還原為 Fe^{2+} 的反應過程在電極處達成動態平衡。

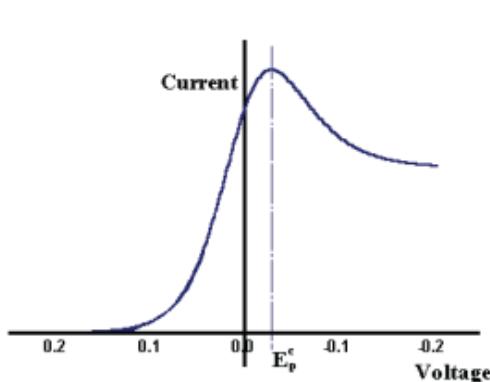


圖 2-8 鐵離子於水溶液中的 LSV 圖形[57]。

根據能斯特方程式：

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{[Fe^{3+}]}{[Fe^{2+}]} \quad (2.14)$$

我們可以由上式看出氧化還原物種的濃度與電極電位的關係，也可由此方程式推導出 LSV 圖的趨勢，當電流最大值發生時，由上式所提，兩種反應的濃度會相差越來越多，電極表面反應物離子濃度(Fe^{3+})會越來越少，因此要維持住一樣地反應速率必須有足夠的擴散速度來補充反應物的濃度，而當擴散層重新建立的速度沒電壓變化速率(掃描速度)快時，整個系統無法提供足夠的反應速率就會導致電流開始下降，這也是伏安法中峰值電流趨勢產生的原因。

接著可以探討在不同掃描速率下的 LSV 圖形變化，如圖 2-9：

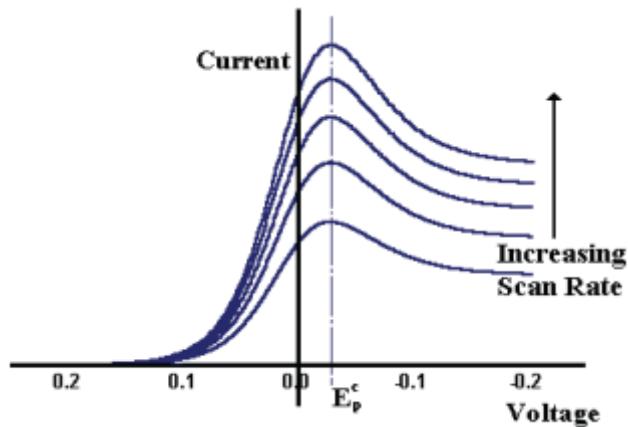


圖 2-9 不同掃描速率的 LSV 圖形變化[57]。

從圖 2-9 中我們可以看出隨著提升掃描速率，我們的峰值發生位置 E_p^c 並沒有太大的改變，主要的圖形趨勢也沒有甚麼大變化，這代表著使用相同電活性物質的情況下，會傾向於在這個電位時產生更快的反應速率，而這邊必須提到的是此特性必須在電活性物質有較好的可逆性才能觀察出來。接著觀察到電流會隨著掃描速率的提升而跟著增加，這是因為瞬間的電荷傳輸量會影響電流峰值大小，當我們提升掃描速率的時候每秒會給予的電位變化量提升，進而使得電流峰值跟著上升，這也可以由式(2.13)中得知，在可逆性高且發生峰值電流趨勢的反應中，掃描速率的平方根會與電流峰值呈線性正比關係。

● 循環伏安法(Cyclic Voltammetry)

循環伏安法與線性伏安法相當類似，只是他給予的電壓掃描不只從 V_1 掃到 V_2 ，還反向掃描從 V_2 掃到 V_1 ，也就是以雙向的相同電壓改變速度進行完整掃描，可以觀察到更多電化學資訊，例如可逆性等，循環伏安法的輸入電壓與時間的關係圖如下圖 2-10 所示。

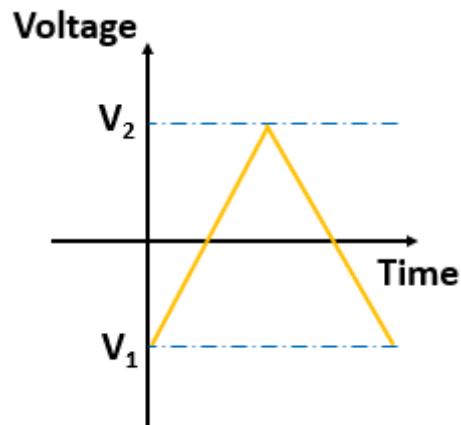


圖 2-10 循環伏安法的電壓與時間變化圖。

我們可以發現由正電位掃到負電位的圖形就與線性掃描伏安法一樣，而由負電位掃到正電位時整個反應就如同是反向進行，也就是提升電極的電位值時會促使反應物發生氧化反應產生陽極電流，調低電極電位後會促使反應物發生還原反應而產生陰極電流。而一個可逆性好的電化學反應系統的循環伏安法圖形通常會有下列特徵：

- 1) 發生氧化還原峰值電流時的電壓差

$$\Delta E = E_p^a - E_p^c = \frac{59}{n} mV \quad (2.15)$$

其中 n 為反應過程中的得失電子數。

- 2) 發生峰值電流的位置不會隨著掃描速率改變。
- 3) 兩個峰值電流的比例等於一（可逆性越高越接近一）

$$\left| \frac{i_p^a}{i_p^c} \right| = 1 \quad (2.16)$$

- 4) 峰值電流大小會正比於掃描速率的平方根

$$i_p^a \propto \sqrt{\nu}; i_p^c \propto \sqrt{\nu} \quad (2.17)$$



圖 2-11 為鐵離子在溶液中的 CV 圖，由圖 2-11(a)為可逆性的電化學反應情況，我們可以清楚看出改變掃描速率與峰值電流的關係，隨著掃描速率的提升，峰值電流會遵守式(2.13)與其成正比，使用不同的掃描速率會影響瞬間產生的電流大小，不管是正向還是反向掃描，發生峰值電流(E_p^c, E_p^a)時的電壓都不會受掃描速率影響，原因與上章節在線性掃描伏安法裡提到的相同。圖 2-11(b)為半可逆或不可逆的電化學系統中常見的 CV 圖，我們觀察在降低反應效率常數後，氧化還原峰電位的值會往兩側遠離，而在這種情況下，我們可以清楚地發現峰值(E_p^c, E_p^a)的位置不再固定，會被掃描速率所影響，整個圖形的趨勢變得不穩定，且電流峰值與掃描速率的關係不再遵守方程式(2.13)，而是不規則的改變，因此從 CV 圖的趨勢中我們可以快速分辨此電化學系統是否具有可逆性。

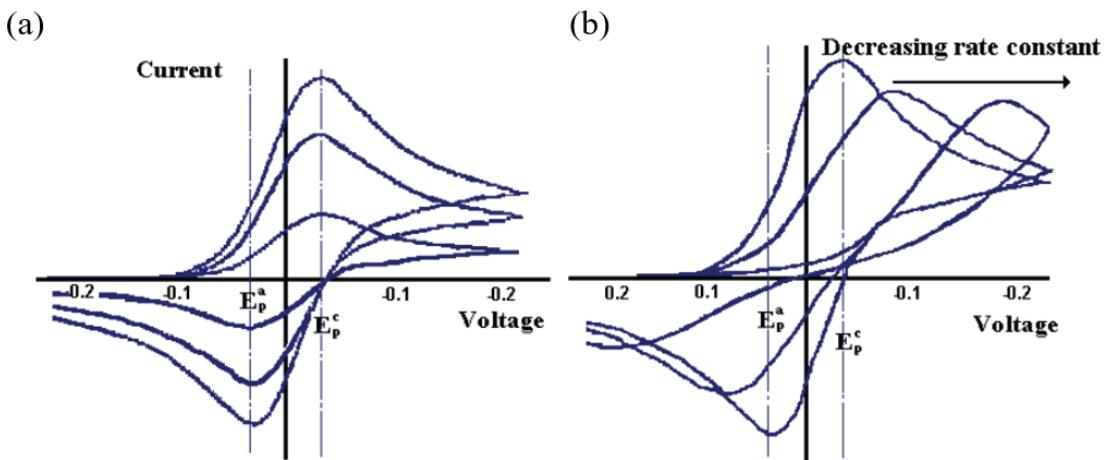


圖 2-11 (a)可逆反應在不同掃描速率下的 CV 圖[57]。(b)不同速率常數下得到的 CV 圖[57]。

電化學直流量測方法（例如：伏安法）分別具有它的優缺點。優點部分為：(1)可提供一個電化學界面的完整概述和(2)可以立即辨識得到的資訊。缺點部分為：(1)系統通常是偏離平衡的。(2)得到的電流響應是整體反應貢獻的總和。(3)無法確定

有關反應速率的信息。(4)無法獲得系統的內部動態資訊。因此採用電化學交流量測法得到部分未確定的資訊，電化學阻抗分析法的詳細介紹如下章所描述。

2.1.6 電化學阻抗譜(Electrochemical impedance spectroscopy, EIS)

電化學阻抗譜[58]是常見的界面特性分析法，電化學反應與電路的共通點在於只要你外加電壓信號就會產生一個電流信號。兩者都具備輸入與輸出的關係，在直流電訊號中電流除以電壓值即為電阻。我們將此概念延伸到交流電中則可稱為阻抗。阻抗、電壓、電流的關係形式上就是歐姆定律。而在交流電信號中還會受頻率這個參數所影響，導致阻抗具有實部與虛部，阻抗也因此不再是純電容。

$$\dot{E} = \dot{I}Z \quad (2.18)$$

因此我們可以知道整個電化學反應可以表示為一個阻抗，這也是 EIS 技術的核心。輸入細微擾動，輸出不同頻率下的阻抗信號以得到我們想知道的資訊。在 EIS 的測試中，我們會給予小幅度正弦的交流信號進而觀察系統的整體阻抗。

阻抗因為存在頻率的信息而不再是純實數，通常分為實部 Z_{Re} 與虛部 Z_{Im} ，將實部做為 X 軸、虛部做為 Y 軸來表示即為我們常見的 Nyquist 圖形。

$$Z(\omega) = Z_{\text{Re}} - jZ_{\text{Im}} \quad (2.19)$$

我們可以簡單舉兩個例子，單一個電路中只有一個電容時，經過 EIS 測量後他的圖譜會如圖 2-12(a)是一條垂直 x 軸的直線。而我們測量常見的 RC 串聯電路時，也能得到 Z_{Re} 的數值，因此會在 EIS 圖上出現一條垂直於 X 軸且交點為 R 的實線。

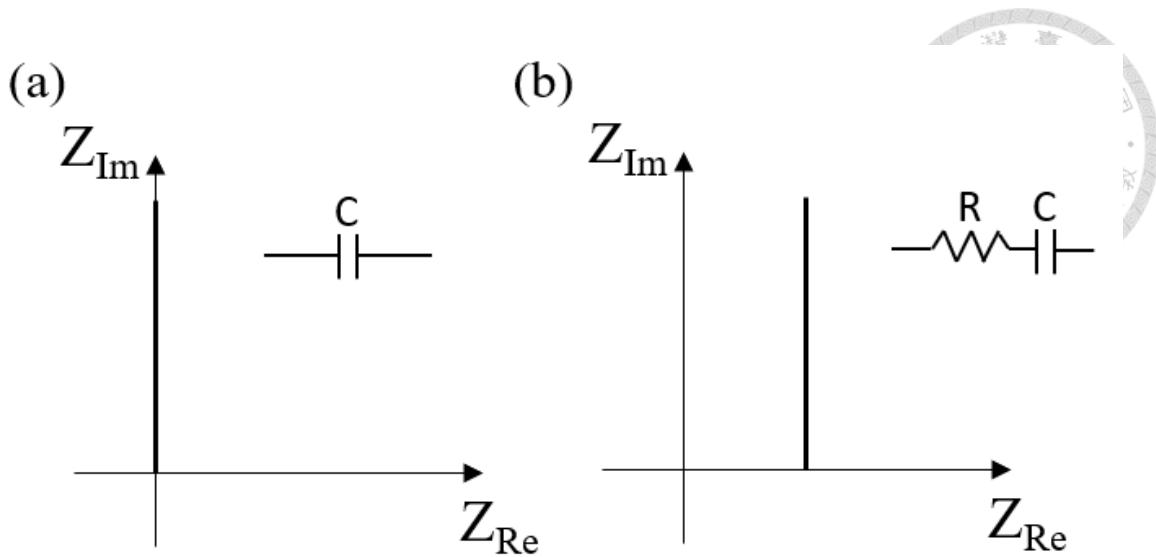


圖 2-12 (a)單一電容電路的電化學阻抗譜和(b)RC 電路的電化學阻抗譜。

認識簡單的 EIS 圖譜後，我們開始探討在典型的電化學過程能得到的 EIS 圖譜，典型的電化學包括一些基本構造（圖 2-13），該過程所對應的三種阻抗可以分別視為三種電學元件：一、內阻(R_Ω)：電解液與電極的內阻。二、電雙層電容(C_d)：電解液中隨著電極電位而改變電荷分布，成為類似電容的元件。三、法拉第阻抗(Z_f)：電解液中會參與反應的活性離子，為控制物質轉移或是電荷轉移反應的等效電路元件。我們又可以將以上三個電學元件依位置等效為一個電路圖（圖 2-14）。

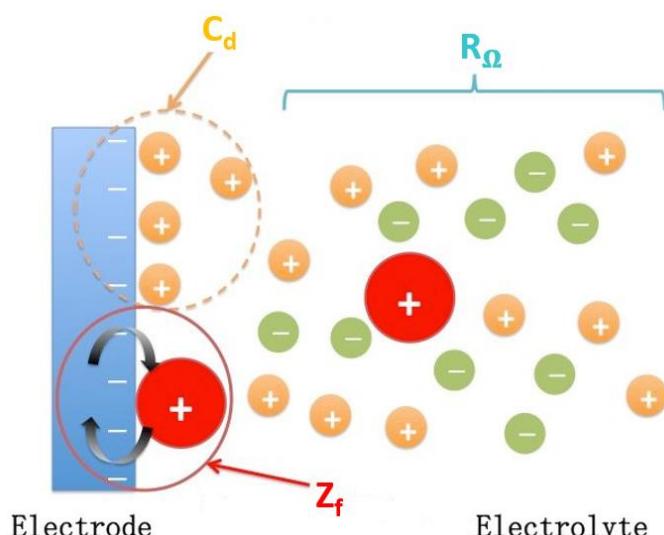


圖 2-13 典型電化學反應的模型[58]。

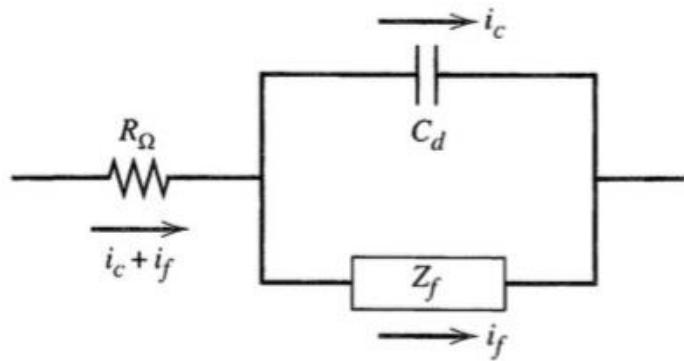


圖 2-14 電化學反應之等效電路[58]。

我們先前提過，法拉第過程可以分為電荷轉移與物質轉移這兩個過程。因此我們可將 Z_f 又拆為兩個電學元件，分別為電荷轉移電阻(R_{ct})和 Warburg 阻抗(Z_w)（圖 2-15）。

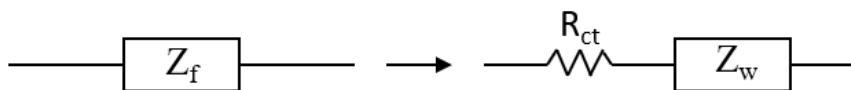


圖 2-15 法拉第電阻之等效電路元件。

此時透過計算，圖 2-14 這個電路所對應的實部與虛部阻抗可表示為：

$$Z_{\text{Re}} = R_\Omega + \frac{R_{ct} + \sigma\omega^{-1/2}}{(C_d\sigma\omega^{1/2} + 1)^2 + \omega^2 C_d^2 (R_{ct} + \sigma\omega^{-1/2})^2} \quad (2.20)$$

$$Z_{\text{Im}} = \frac{\omega C_d (R_{ct} + \sigma\omega^{-1/2})^2 + \sigma\omega^{-1/2} (\omega^{1/2} C_d \sigma + 1)}{(C_d\sigma\omega^{1/2} + 1)^2 + \omega^2 C_d^2 (R_{ct} + \sigma\omega^{-1/2})^2} \quad (2.21)$$

其中 σ 是與物質轉移有關的係數，而我們可以發現上面兩個式子要拆解相當麻煩，因此做下列兩種假設：

- 1) 當低頻($\omega \approx 0$)時，我們可以將阻抗的實部與虛部關係簡化成：

$$Z_{\text{Im}} = Z_{\text{Re}} - R_\Omega - R_{ct} + 2\sigma^2 C_d \quad (2.22)$$

我們將此 Z_{Re} 和 Z_{Im} 的關係作圖，即可得到 EIS 圖譜，會是一條斜率為 1 且交 X 軸



於 $R_\Omega + R_{ct} - 2\sigma^2 C_d$ (圖 2-16)。

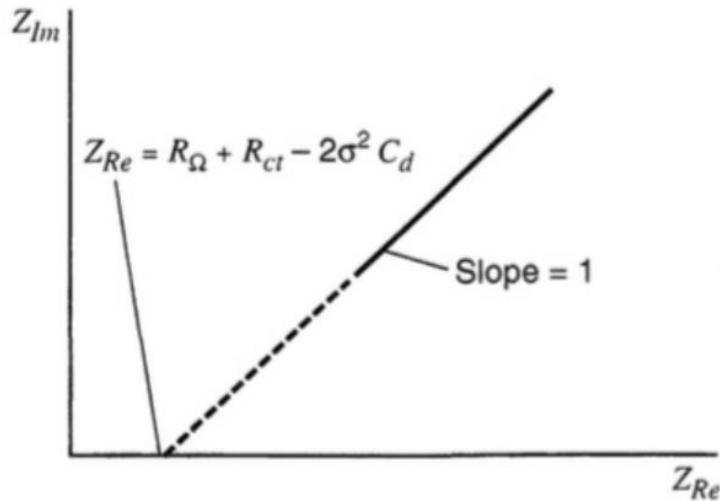
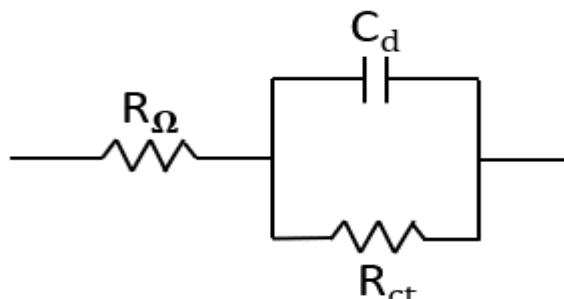


圖 2-16 低頻時的 EIS 圖譜[58]。

- 2) 當高頻($\omega \approx \infty$)時，變化的時間周期太短(詳情可看 2.1.2)導致物質轉移來不及發生，也就是等效電路圖中的 Warburg 阻抗(Z_w)消失，電路圖 2-14 可再簡化



為圖 2-17：

圖 2-17 高頻時的等效電路圖。 Z_{Re} 和 Z_{Im} 的關係為：

$$(Z_{Re} - R_\Omega - \frac{R_{ct}}{2})^2 + Z_{Im}^2 = (\frac{R_{ct}}{2})^2 \quad (2.23)$$

以此公式作圖，我們可得到圖 2-18 的半圓，圓心為 $R_\Omega + \frac{R_{ct}}{2}$ ，半徑為 $\frac{R_{ct}}{2}$ 。

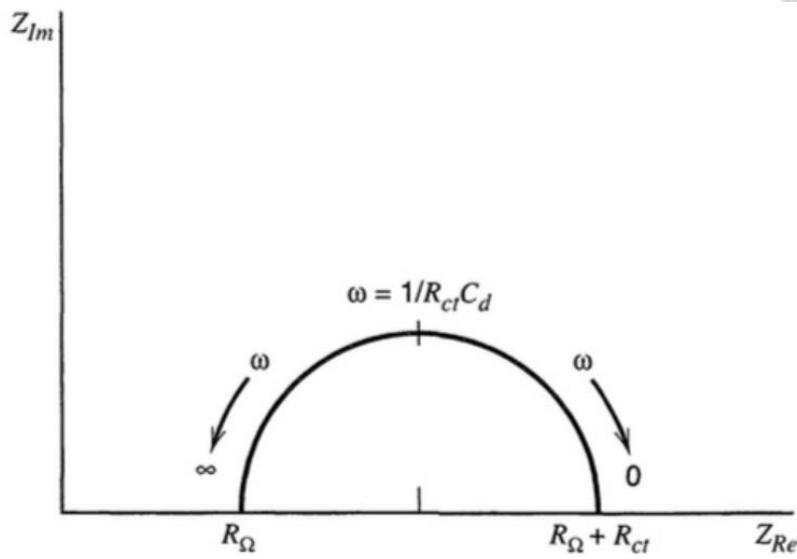


圖 2-18 高頻時的 EIS 圖譜[58]。

基於以上兩種極端狀況的趨勢，我們將低頻與高頻區段的 Nyquist 圖做疊圖，可以得到在固液界面經常出現的 Nyquist 圖形(圖 2-19)，圖形右側低頻區主要為物質轉移反應所主導，左側高頻區則為電荷轉移(Charge-transfer)反應主導。而高低頻的定義沒有統一數值，一般會劃分高頻為 $10^3\sim 10^4$ 赫茲，中低頻範圍則為 $10^{-3}\sim 10^3$ 赫茲。結合兩區域後所得到的圖正是我們常見的電化學阻抗譜，我們可由 EIS 圖得知 R_{ct} 與 C_{dl} 的數值。

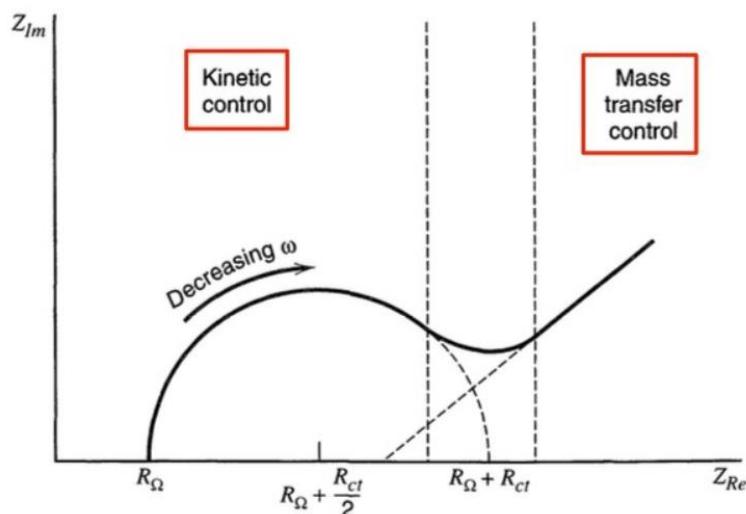


圖 2-19 結合高低頻趨勢後的 EIS 圖[58]。

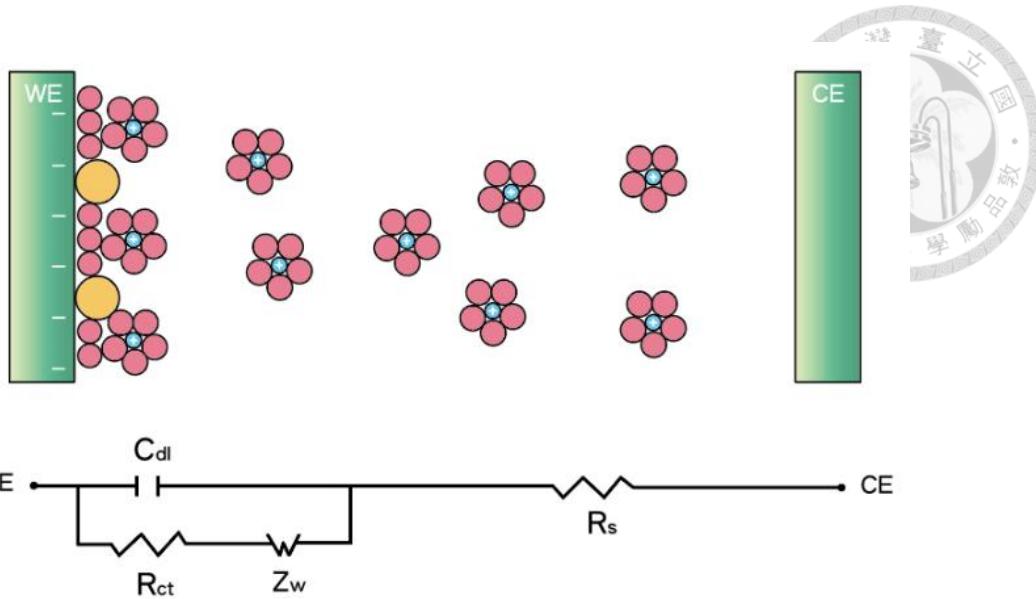


圖 2-20 電極界面分子排列示意圖與等效電路圖。

➤ 溶液電阻(R_s)

溶液電阻顧名思義與我們電解質溶液有關，受到溶液中離子濃度、離子種類、溫度、電流通過區域的幾何形狀所影響，為一種純電阻，大多數電化學元件在一定的電解質區域中沒有均勻的電流分布，因此要計算溶液電阻的主要問題涉及電流流動路徑與承載電流電解質的幾何形狀，而要根據離子電導(ionic conductance)計算出實際電阻的方法相當複雜，幸運的是我們通常不會根據離子電導計算溶液電阻，因為我們可以在 Nyquist 圖上數據擬合時得到。

➤ 電雙層電容(Double layer capacitance, C_{dl})

電極與電解質界面上存在電雙層。當溶液中的離子吸附到電極表面上時就會形成這種所謂的電雙層電容[59]，帶電電極通過一個絕緣空間與帶電的離子隔開，通常厚度為埃米數量級，由絕緣體隔開的電荷形成電容，此電容值取決於許多變量包括電極電位、溫度、離子濃度、離子種類、電極粗糙度、雜質吸附等都是影響的因素。



➤ 恒相位角元件(CPE)

恒相位角元件 (Constant Phase Element, CPE) [60] 是應用於真實系統中的非線性電路元件，在理想的固液界面 Nyquist 圖中，電荷轉移控制的半圓圓心應該位於 x 軸上，而此時的電容值就可以用等效電容(C_{dl})來描述，但在我們真實固液界面中，半圓圓心往往不在 x 軸上，即是所謂彌散效應，當此現象發生的時候，我們就會用恒相位元件來進行模擬，恒相位角的阻抗定義如下：

$$Z_{CPE} = \frac{1}{(j\omega)^n Y_0}, \quad 0 < n < 1 \quad (2.24)$$

由此式我們可以看出 CPE 裡有 n (無因次群) 及 $Y_0(\left[\frac{1}{\Omega \cdot cm^2 \cdot s^n}\right])$ 兩個參數，而這也分別是上面提到的 CPE.N 與 CPE.Y₀，其中 CPE.N 的值介於 0 到 1。

當 n=1 時， $Z_{CPE} = \frac{1}{(j\omega)^1 Y_0} = Z_C = \frac{1}{j\omega C}, Y_0 = C$ ，CPE 可視為純電容。

當 n=0 時， $Z_{CPE} = \frac{1}{(j\omega)^0 Y_0} = Z_R = R$ ，CPE 還原為電阻。

而我們將 CPE 與電阻並聯，依照元件的定義將阻抗表示成 Nyquist 圖(圖 2-20)，圖中 CPE 表示為 Y₀，而一般來說，真實的 Nyquist 圖與座標軸呈現一個角度，其半圓交於實數軸做切線的角度為常數 n×90°，圓心與實數軸的夾角為(1-n)×90°。由此我們可以得知 n 的數值會決定偏差的多寡，它的值越接近 1 代表元件越接近理想，CPE 可以將有誤差與雜訊的的實驗數據模擬的很好，但目前卻尚未有完整的理論可以解釋，而依然還是有相對應的實驗結果顯示，CPE 元件通常實驗上都認為會受到電極表面狀況或者是發生在電極上的電壓與電流之間關係不穩定等因素所影響。舉例來說，粗糙電極是常見的非理想電極狀態，電極表面越平滑的話，n



越接近 1。因為對於一個粗糙的表面來說，每一點所“看”到的溶液電阻並不相等而導致。因此 CPE.N 可以判斷元件離理想圖形的差距，由 E. Bidóia, L. Bulhoes and R. Rocha-Filho[61]的研究也指出，電極表面越粗糙會使 CPE.N 的值越小，也提到了電解質濃度如果過度稀釋（濃度太低），導致發生頻率分散的現象時才會影響到 CPE.N 的值。

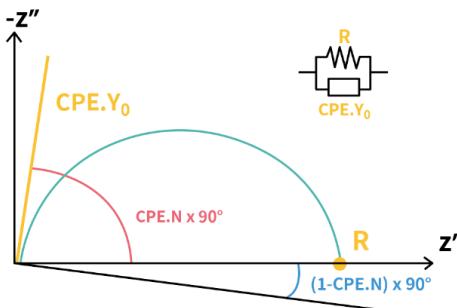


圖 2-21 考慮真實情況(CPE)之 Nyquist 示意圖。

電雙層通常表現得像 CPE 而不是純電容器。雖然已經提出了幾種理論來解釋電雙層的非理想行為[62-64]（表面粗糙度、漏電電容器、非均勻電流分佈等），但我們依舊把 CPE.N 視為經驗常數，沒有真實的物理基礎理念。

➤ 電荷轉移阻抗(R_{ct})

電荷轉移阻抗為控制電荷轉移速率的元件，透過電荷轉移阻抗的大小可以判斷固液界面之間的電荷轉移情況，因此只要有能影響電荷轉移的條件都會使得它的值受變化，章節 2.1.7 所提到的方式也會影響，而 R_{ct} 的數值可以由 Nyquist 圖中的數據擬合分析得到（半圓直徑）。

2.1.7 影響阻抗變化之因素

我們可以由阻抗的變化來推斷元件表面或溶液內部發生了甚麼反應，常見的阻

抗變化跟分析物的特性息息相關，例如：分子量、電荷狀態、介電系數…等。對於非法拉第生物感測器來說，電極表面的改質會導致 Randles 等效電路中的電容值 (C_{dl}) 產生變化。在一般的生物檢測中， C_{dl} 又可以視為交聯劑電容 ($C_{dl(linker)}$) 與分析物電容 ($C_{dl(analyte)}$) 的串聯（圖 2-21）。

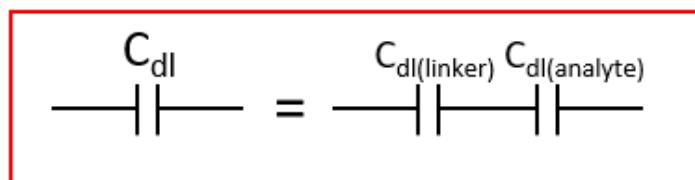


圖 2-22 修飾電極表面後的 C_{dl}

從圖 2-20 可以得到：

$$\frac{1}{C_{dl}} = \frac{1}{C_{dl(linker)}} + \frac{1}{C_{dl(analyte)}} \quad (2.25)$$

顧名思義， $C_{dl(linker)}$ 為交聯劑產生的電容而 $C_{dl(analyte)}$ 為分析物產生的電容。由式 (2.27) 我們可以看出較小的電容將會主導整體電容的表現。通常分析物的厚度都會比交聯劑還要厚，因此由式(1.1)可以推斷 $C_{dl(analyte)}$ 的值會比 $C_{dl(linker)}$ 還要小，這樣就可以忽略交聯劑所造成的影響。但如果今天分析物的尺寸太小就會扭轉情況，這也是非法拉第生物感測器不適合用來偵測小尺寸分子的原因。

對於法拉第生物感測器來說，Randles 等效電路中的 R_{ct} 是我們觀察的主要對象，一般生物感測下， R_{ct} 又可以被視為是 $R_{ct(electrode)}$ 、 $R_{ct(linker)}$ 和 $R_{ct(analyte)}$ 三種電阻的串聯（圖 2-22）。

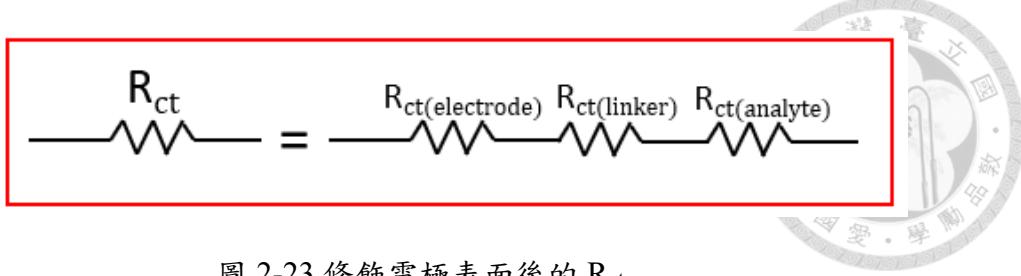


圖 2-23 修飾電極表面後的 R_{ct}

有兩個主要因素會影響 R_{ct} 的數值，分別是靜電吸引/排斥力和空間位阻(圖 2-22)。

空間位阻的定義為當生物分子與電極表面結合後，生物分子本身的絕緣特性會阻斷電荷轉移路徑，因此會降低電荷遷移率。而靜電吸引/排斥力的定義為如果生物分子本身帶電的話也會因為電性同性相斥、異性相吸的原理使得電荷遷移率受到影響，舉例來說，當生物分子帶的電性與氧化還原物質相同時，兩者會因為同性相斥導致電荷遷移率下降，同樣的，如果生物分子帶的電性與氧化還原物質相反時，兩者會因為異性相吸的原理增加電荷遷移率。

2.2 微電極的定義、特性與應用

2.2.1 微電極的介紹

隨著生物感測器的發展，為了使其特性更加突破，元件的結構與尺寸也成了我們所研究的目標，不同的結構設計會對於感測器有不一樣的功用。因此篇論文使用到之電極屬於微小電極的範疇，使用到了微米尺寸的製程。此處探討當伏安工作電極尺寸變得相當的小，電極的行為與一般大小的電極的差異，此時一般大小的電極即可視為無限大的尺寸。微電極[5]所產生的差異在於改變了從溶液本體到電極表面間的質傳作用，以下有幾個重要且實用的影響，其中包括降低歐姆電位差(IR)、快速建立穩態(Steady-state)的訊號、增強電極邊緣的質傳作用導致電流上升、增加信噪比(signal-to-noise ratio)等。這些微小電極所產生的優點可應用在許多電化學分析領域上。因微小電子科技開始發展，使得我們能可靠地測量出更小的電流且建造更



小的電極。而隨著分析化學(高性能分離檢測或電化學傳感器中對微電極的需求)和生物化學(對生物體進行電分析測量)的發展，小尺寸電極的需求量也跟著增加。

小尺寸的電極又稱為微電極(microelectrode)，範圍包括了幾十微米到次微米的微度，人們普遍認為超微電極(Ultramicroelectrode)指的是電極的臨界維度(critical dimension)小於實驗中產生的擴散層，而這個臨界維度指的是圓盤電極的半徑、帶狀電極寬度、環狀電極寬度等，臨界大小一般認定為 25 微米，而廣義來說會使得實驗結果與一般尺寸電極不同的反應都可能進到微電極的討論。各種幾何形狀的微電極已經可用機械或光刻技術製作，除了單一電極外，電極陣列也已經被大量製作且使用。以下要探討的都是工作電極為微電極的狀況，參比電極均會維持一般尺寸下做討論（與此篇論文所使用之狀況較接近）。

2.2.2 單電極(single electrode)

常見的微電極類型如圖 2-22 所示。

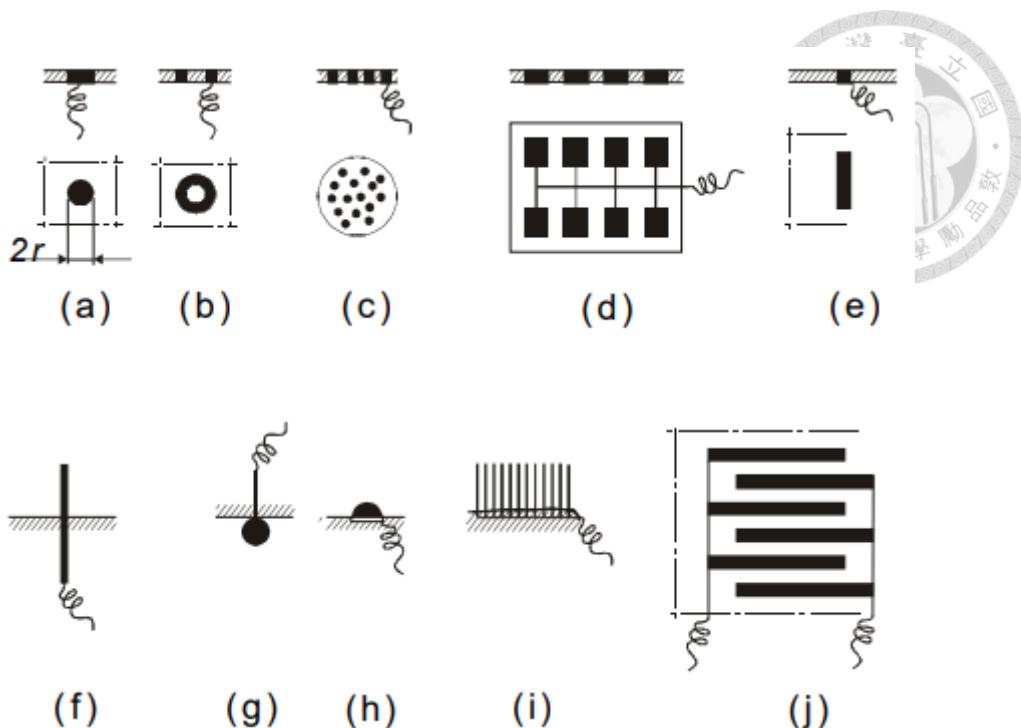


圖 2-24 常見的微電極與微電極陣列幾何形狀[5]。(a)盤狀(microdisk)。(b)環狀(microring)。(c)盤狀陣列(microdisk array)。(d)光刻式帶狀陣列(lithographically produced microband array)。(e)帶狀(microband)。(f)圓柱狀(microcylinder)。(g)球狀(microsphere)。(h)半球狀(microhemisphere)。(i)光纖陣列(fiber array)。(f)叉指式陣列(interdigitated array)。

如前面所說，決定電極行為最重要的因素為靠近電極的溶液質傳作用。當我們考慮一個簡單的電荷轉移反應時，根據 Fick 的第一定律，電流訊號將會正比於往溶液-電極介面的電化學物質通量，其中 J 為電化學物質通量、 D 為擴散係數、 $\frac{\partial \phi}{\partial x}$ 為濃度梯度。

$$J = -D \frac{\partial \phi}{\partial x} \quad (2.26)$$

而 Fick 的第二定律描述了擴散會如何使濃度隨時間改變：



$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = D \frac{\partial^2 \phi}{\partial x^2} \quad (2.27)$$

當我們使用伏安法從不會發生任何氧化還原反應的電位開始掃，掃到電極發生反應產生最大電流值後，可發現在電極表面的電化學物質濃度降低到零，產生了一個特定距離的濃度梯度（此距離隨電解時間增加而增加），而物質擴散通量所包含的範圍稱為擴散層(diffusion layer)。平面半無限空間擴散電極的擴散層可定義如下：

$$\delta = \sqrt{\pi Dt} \quad (2.28)$$

其中 δ 為擴散層厚度、 t 為掃描速率(scan rate)的倒數。這個公式主要用在球形電極和包圍在絕緣體的平面圓盤電極，因與其他幾何形狀的電極在一開始的假設就不同，因此僅適用於此。

現在我們把一般大小的電極尺寸都視為無限大，可以發現物質通量均勻且垂直整個電極表面。然而我們可以發現因邊緣效應(edge effect)，物質通量不會是完全均勻地分布在平面上。因此我們考慮以下兩種極端情況來分析邊緣效應的影響，分別為 $\delta \ll r$ 和 $\delta \gg r$ ，其中 r 為圓盤電極的半徑(代表電極尺寸)。如圖 2-24 所示。

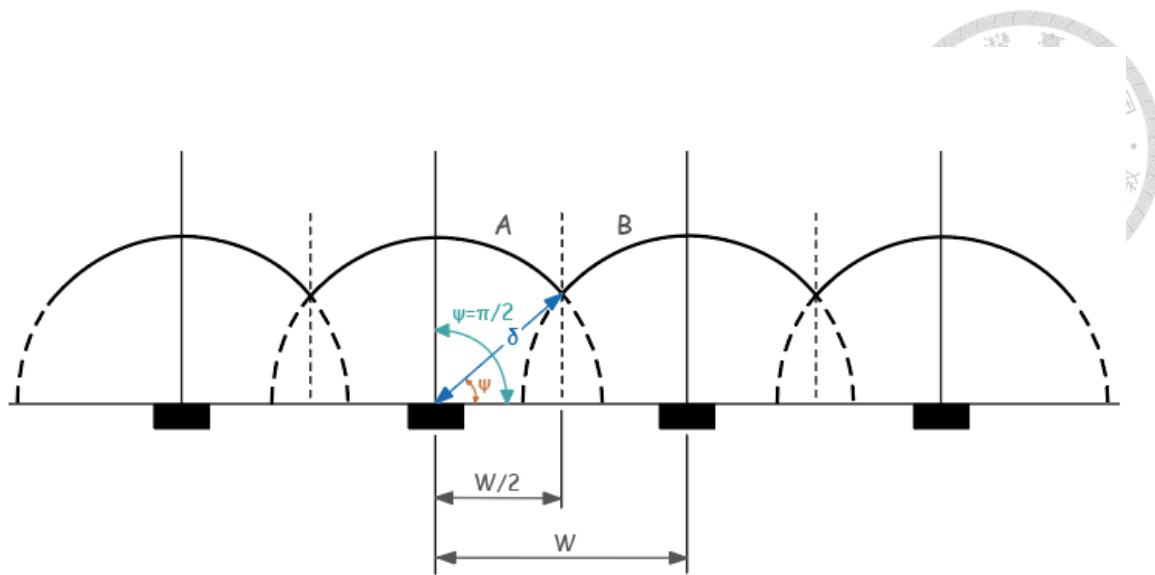


圖 2-25 相近的微電極產生的擴散層重疊示意圖[5]。

- $\delta \ll r$ ：邊緣效應所造成的影響只有一小部分，整個電極的行為還是可以看作無限大的電極模型。 $\delta \gg r$ ：此時代表著擴散層厚度遠大於電極尺寸，也就表示邊緣效應的影響變得較嚴重，此時物質擴散通量隨著時間保持常數但不均勻的分佈在電極表面。它隨著與電極邊緣的距離減少而增加。電活性物質的濃度在此時達到極限值（對應於 2.29 裡二階微分項為零），因此 CV 圖中，不會產生峰值電流而是穩態電流的圖。

統整以上所說，我們可以發現擴散層厚度 δ 與時間相關，因此上列兩種情況討論也都與時間相關。也就是說不管我的電極尺寸有多小，只要給予足夠小的電解時間，任何電極行為都會表現地像無限大的平面電極($\delta \ll r$)。換句話說，只要時間夠長能滿足 $\delta \gg r$ ，不管多大的尺寸也可以使行為表現得像微電極。所以我們不單單只能從電極的尺寸來定義電極的行為，而是可以透過 $\frac{\delta}{r}$ 這個參數來做判斷。

經過充足的時間後，穩態在特定幾何形狀的電極(球形、平面)已建立完成，然而像無限長的圓柱狀電極就無法達到穩態。這是因為球形電極(或圓盤電極)表現



出一個特別的簡單通量模式：濃度梯度會等於本體物質濃度乘以 δ, r 的倒數相加，如方程式(2.31)，第一項對應暫態而第二項則對應穩態。

$$\left(\frac{\partial c(x,t)}{\partial x} \right)_{x=r} = c^0 \left[\frac{1}{\sqrt{\pi D t}} + \frac{1}{r} \right] = c^0 \left[\frac{1}{\delta} + \frac{1}{r} \right] \quad (2.29)$$

我們可以發現第一項會在時間較短時主導整個式子 ($\delta \ll r$)，而第二項則在足夠長時間時主導方程式 ($\delta \gg r$)。

而當我們的超微電極進入穩態區域的時候，電流的最大穩態值[65]會遵守下列通式：

$$i_{ss} = nF A m_0 C_0^* \quad (2.30)$$

其中 m_0 是質量轉移係數， C_0 是氧化還原物質濃度， A 為電極的半徑， n 為參與電荷轉移的電子數， F 為法拉第常數。

我們可以看出穩態電流與濃度、質量轉移係數以及面積相關，而質量轉移係數又和電極幾何構型相關。

表 1 超微電極中不同電極幾何構型對應的質量轉移係數[65]。

Band ^a	Cylinder ^a	Disk	Hemisphere	Sphere	Recessed disc
$\frac{2\pi D_0}{w \ln(64D_0 t / w^2)}$	$\frac{2D_0}{r_0 \ln \tau}$	$\frac{4D_0}{\pi r_0}$	$\frac{D_0}{r_0}$	$\frac{D_0}{r_0}$	$\frac{4D_0}{4L + \pi r_0}$

結合表 1 與式 2.32 我們可以得知，凹式圓盤狀微電極(Recesses disc electrode)的穩態電流公式為：

$$i_{ss} = \left(\frac{4D_0}{4L + \pi r_0} \right) \times (nF A m_0 C_0^*) = \frac{4\pi n F C_0^* D_0 r^2}{4L + \pi r_0} \quad (2.31)$$

其中 D_0 是擴散係數， C_0 是濃度， r_0 是圓盤半徑。

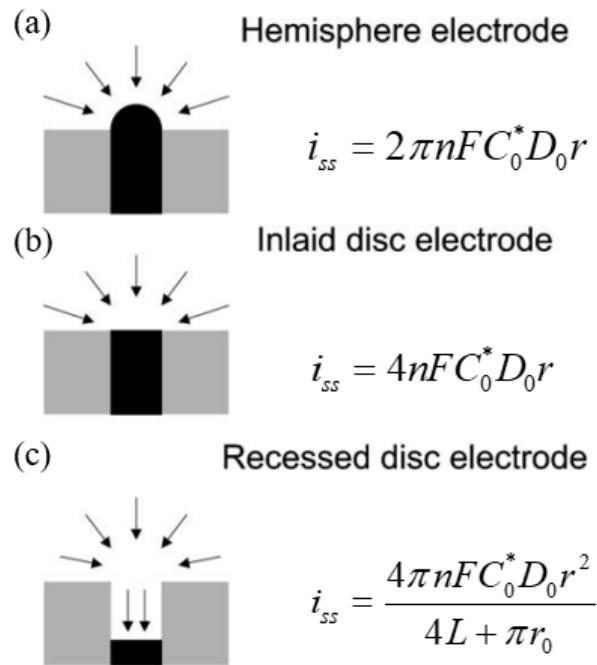


圖 2-26 微電極穩態電流公式與擴散示意圖。(a)半圓形電極。(b)盤狀電極。(c)凹槽式盤狀電極。

2.2.3 微電極陣列 (Microelectrode arrays)

討論到微電極陣列[5]裡的擴散通量，我們通常會考慮以下三種情況：

- 1) 兩個相鄰電極的距離遠大於擴散層厚度(δ)，因此每個電極的擴散層都不會重疊。此種狀態下 $\delta < W/2$ ， $W = W_e + W_g$ ，其中 W_e 是電極的寬度也等於 $2r$ 、 W_g 為相鄰電極的距離，相鄰的電極不會互相影響且總測量電流為每個獨立的電極電流相加。
- 2) 當 $\delta > W/2$ ，如圖 2-24 所示，相鄰電極的擴散層(A,B)會有部分重疊，角度 ψ 代表著重疊的程度。此時我們可以發現總電流小於每個獨立電極產生的電流總和。
- 3) 當 $\psi = \pi/2$ (也就是當 $\delta \gg W/2$)時，擴散層會完全重疊。此時我們可以把整個



陣列視為連續電極，其面積大小為整個陣列的表面積。在此種情況下我們發現訊號值會正比於整個陣列的表面積，但是雜訊的值僅僅正比於電極的表面積。因此會大大的改善信噪比。

擴散層的重疊程度可以表示為一個重疊因子（整體電流與獨立電極的總電流和的比），此重疊因子又取決於電極的幾何形狀與電解的時間。

2.2.4 微電極特性總結

由上述所提，我們可以得知使用微電極後可能會遇到的狀況以及特性：

- 1) 在有發生法拉第反應的實驗中，CV 達到穩態的速度相當的快。
- 2) 因使用的電極尺寸較小使得充電電流(I_C)的值較小，而穩態法拉第電流值(I_F)與特徵維度成正比。因此可有效的改善 I_F/I_C 的值。也因此可以在 CV 實驗中將掃描速度調快。
- 3) 微電極所需的測量電流下降，歐姆電位降 IR (雙電極系統中，參比電極受極化產生的電位勢)也跟著下降。
- 4) 不管是微電極陣列中的擴散層重疊或是單一微電極的穩態電流都大大改善了信噪比。
- 5) 微電極陣列的電流密度也會因為在擴散層中的電活性物質補充而上升。
- 6) 微電極陣列中各個電極之間的相互作用允許電活性物質再生，通過氧化還原循環和底物衍生化也可獲得所需性能的產物。
- 7) 小尺寸的電極也可以使我們使用的液體量大幅下降，減少使用成本。

最後我們應該知道的是先前提過的：微電極的定義不是單純只是尺寸，而是與擴散層厚度相對比較出來的，與電壓掃描速率也息息相關。



Chapter 3 元件的製程與檢驗方式

此章節我們會首先介紹整個元件的製程步驟與過程中可能遇到的問題。接著說明實驗系統的架設、量測方式以及量測時會使用到的機台與機台基本量測原理。

3.1 元件製程步驟

此篇論文製作的元件為微米等級的 Recessed ring-disk array electrode，是將元件做在玻璃基板載玻片上。

3.1.1 清洗基板

一開始我們會將玻璃基板泡入丙酮(Acetone)在超音波震洗機(圖 3-1)震洗 10 分鐘，接著以鐵夾夾出元件用異丙醇(IPA)進行沖洗，再將基板泡入異丙醇以超音波震洗機震洗十分鐘，用來清除多餘的丙酮，接著泡入 DI water 一樣以超音波震洗機震洗 10 分鐘清除多餘的異丙醇，再以鐵夾取出基板用高壓氮氣槍去除玻璃表面的水氣(必須在取出基板後幾秒內吹去水氣)。做完以上步驟完成玻璃基板的清潔，做完清潔後必要時候也需要使用光學顯微鏡來確認元件表面的清潔程度。



圖 3-1 超音波震洗機



3.1.2 下電極的製作

接著使用光阻塗佈機(Spin coater)（圖 3-2(a)）將基板表面覆蓋一層 S1813 正光阻，以大約 500rpm 轉 10 秒使光阻能完整覆蓋玻璃基板的面積，最終以 3000rpm 的轉速轉 40 秒控制膜厚在大約 1.5um，膜厚與轉速的平方根倒數成正比，因此必須精準控制馬達轉速。接著用加熱器將塗佈好 S1813 的基板置於 105°C 下 90 秒，此步驟稱為軟烤，通過高溫的處理，使光阻中的溶劑能夠透過揮發而消失，也可以降低灰塵的沾汙(厚度也因此減薄大約 10%-20%左右)，同時也可以提升光阻的附著力。完成軟烤步驟後，我們使用曝光機(Karl Suss Aligner, MA6)進行 16 秒的曝光，定義出下電極的形狀，曝光是將一種讓我們將設計的形狀定義在樣品上的技術，圖佈好光阻的玻璃基板會以我們設計好的光罩遮擋，透過曝光機照射相對應波長的光，會使光阻中的化學成分受影響，使得在顯影時會被溶解於特定顯影液中。我們使用的光阻為正光阻 S1813，並且曝光後選擇泡入 2.38% 的 TMAH 顯影液 20 秒，再以去離子水(Deionized water)清洗後用高壓氮氣槍吹乾，得到擁有下電極形狀的光阻。接著使用電子槍蒸鍍機(E-gun Metal)（圖 3-2(b)）鍍上 15 奈米的鉻和 60 奈米的金，利用掀離製成(Lift-off)將元件以丙酮沖洗，去除光阻完成下電極的製作（圖 3-3）。

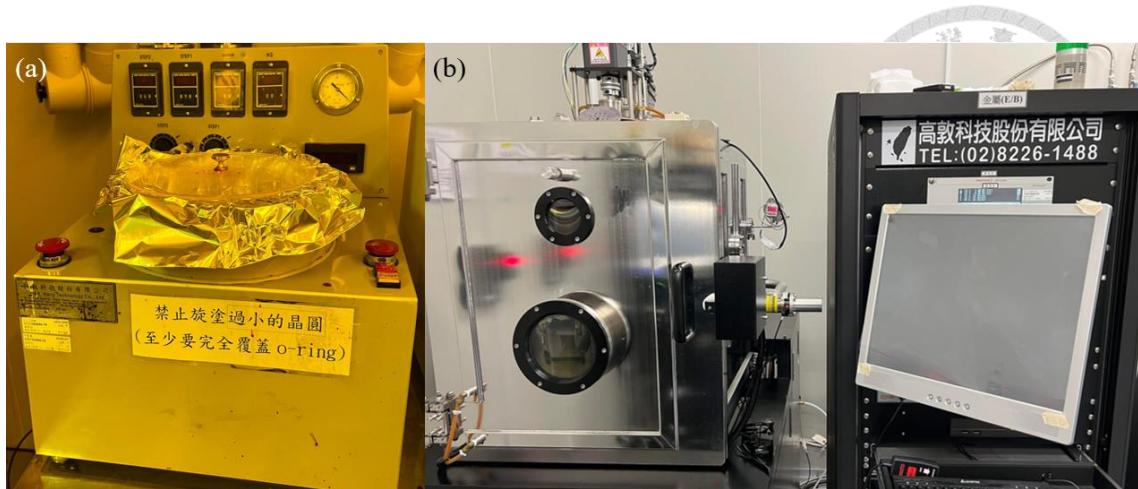


圖 3-2 (a)光阻塗佈機(Spin coater)。(b) 電子槍蒸鍍機(E-gun Metal)。

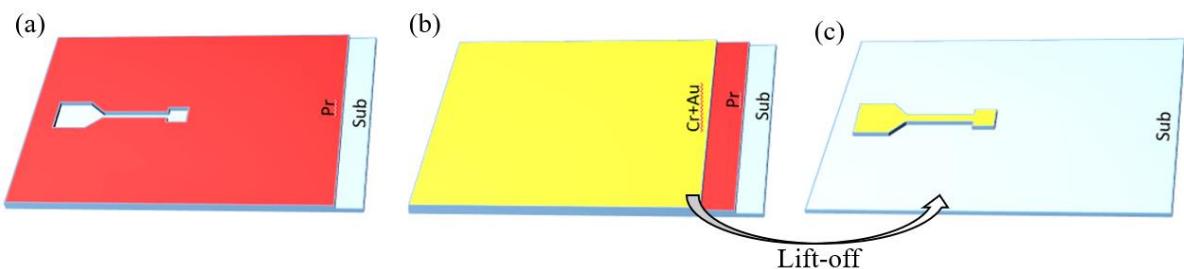


圖 3-3 下電極的製作步驟示意圖。(a)進行曝光上光阻(b)蒸鍍下電極(鉻：15 奈米、金：60 奈米)(c)經過掀離製成(去除光阻)後完成下電極。

在此步驟時涉及曝光顯影過程，必須隨時掌握機台汞燈功率以調整曝光及顯影參數。完成下電極光阻定義後必須先自行用光學顯微鏡(Optical microscope)（圖 3-4）檢查光阻形狀來確認此次曝光參數的可行度。蒸鍍金、鉻的過程中，要注意 E-gun 腔體的溫度不能太高（避免影響光阻性質）。在掀離製成(lift-off)時，正光阻因曝光的方式，讓他的光阻接近光源處面積變得較小且窄，遠離光源處的面積則變得較大且寬，導致正光阻比負光阻還不適合使用掀離製程。所以我們在掀離製程的過程中，不使用超音波震洗機而是用丙酮以沖洗的方式仔細去除光阻，以免金屬顆粒附著在元件表面上，結束後必須盡快以異丙醇和去離子水清洗元件避免丙酮揮發在元件表面而造成無法預測的結構損壞。



圖 3-4 光學顯微鏡(Optical microscope)

3.1.3 氧化層與上電極

完成下電極的製作後，我們會使用電漿化學氣相沉積法(Plasma Enhanced Chemical Vapor Deposition, PECVD)（圖 3-5）沉積 400 奈米的二氧化矽用以當絕緣體隔開上下電極。以電子槍蒸鍍(E-gun Metal)鍍上 15 奈米的鉻和 60 奈米的金完成上電極的布置，再以電漿化學氣相沉積法(PECVD)沉積 400 奈米的二氧化矽來用以覆蓋上電極表面積。步驟如圖 3-6。



圖 3-5 電漿化學氣相沉積機台(PECVD)

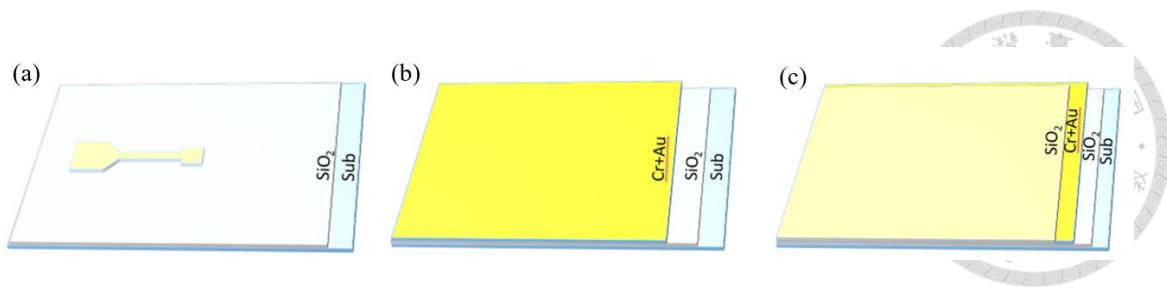


圖 3-6 沉積氧化層與金屬步驟示意圖。(a)沉積第一層氧化層(400 奈米)。(b)蒸鍍上電極(鉻：15 奈米、金：60 奈米)。(c)沉積第二層氧化層(400 奈米)。

第二層氧化層的有無將會影響上電極(輔助電極)的外露表面積，而作為第一層功用為絕緣遮擋層的氧化層絕緣特性必須相對良好(可使用光學顯微鏡觀察氧化層表面)，否則將造成元件導通影響量測結果。

3.1.4 環盤狀電極結構

沉積完金-氧-金-氧的結構後，我們使用曝光機(Karl Suss Aligner, MA6)(圖 3-7(a))進行距離 16 秒的曝光時間，在感應區域定義光阻形狀，分別有四種不同密度以及尺寸的光罩結構(圖 3-8)來進行曝光，曝光完成後一樣使用 TMAH 進行 20 秒的顯影留下光罩的形狀。顯影後以氮氣槍吹乾，接著用活性離子乾蝕刻機(Oxford RIE) (圖 3-7(b))使元件通過反應離子刻蝕(reaction ion etch, RIE) 蝕刻 400 奈米的二氧化矽完成第一層的挖洞(recessed hole)，再使用濕蝕刻方式依序以金、鉻蝕刻液蝕刻掉金、鉻，完成第二層的挖洞，蝕刻掉金屬後我們先使用棉花棒沾丙酮將上電極 Pad 處的光阻去除(目的是為了將上電極下探針處的氧化層蝕刻掉，好讓上電極金屬能外露來做為與外部電路的連接)，最後再次使用反應離子刻蝕(RIE) 蝕刻第一次沉積的氧化層完成第三層的挖洞。完成元件結構製作後以丙酮清洗元件上殘餘的光阻，再以去離子水沖洗並用高壓氮氣槍吹乾。步驟如圖 3-9。



圖 3-7 (a)曝光機(Karl Suss Aligner, MA6)。(b)活性離子乾蝕刻機 Oxford RIE

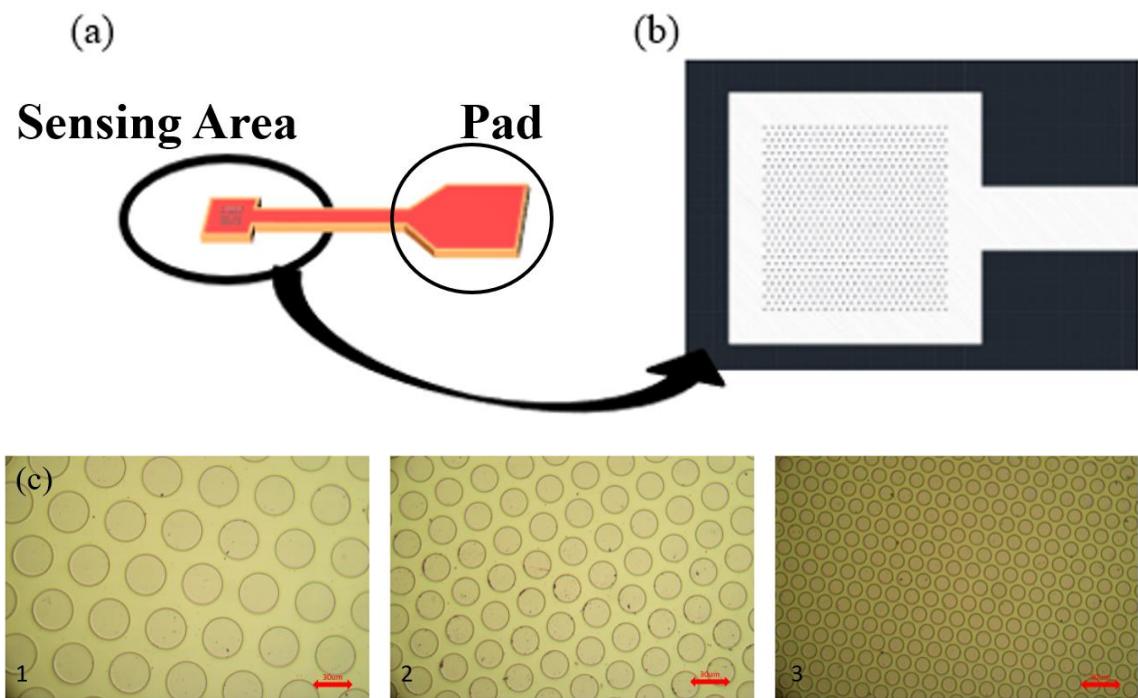


圖 3-8 (a)上電極定義形狀之光阻模擬圖。(b)感應區域(sensing area)處光罩示意圖。
(c)光學顯微鏡下感應區域的三種尺度 1. 2000 個直徑 30 微米的洞 3. 4000 個直徑
20 微米的洞 4. 18000 個直徑為 10 微米的洞。

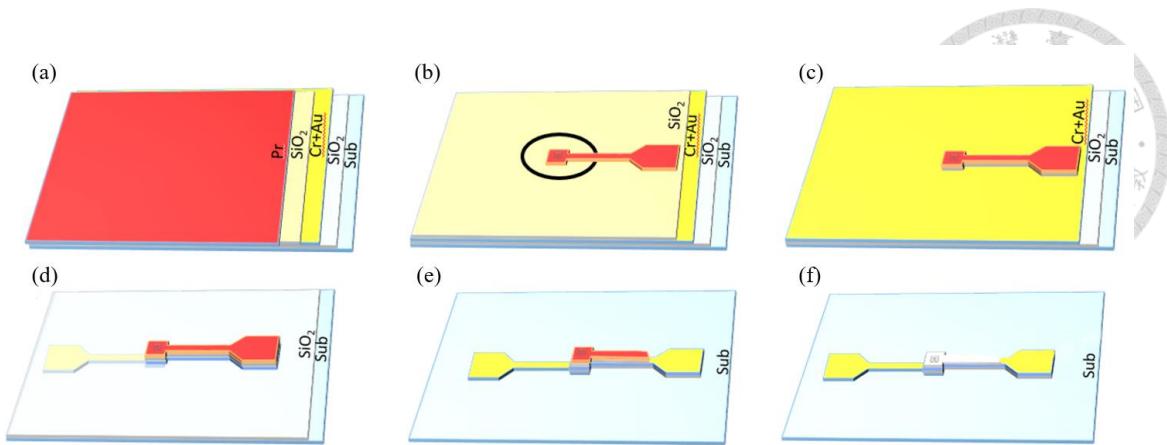


圖 3-9 環盤電極製成步驟模擬圖。(a)塗佈光阻(S1813 500rpm/10s, 3000rpm/40s)(b)曝光顯影後定義上電極形狀(c)以 RIE 蝕刻上層氧化層(d)金、鉻濕蝕刻(e)擦去下針處光阻後（只留 Sensing area 部分光阻）以 RIE 蝏刻下層氧化層(f)以 Acetone 洗去殘留的光阻。

環盤狀電極製成的程序較為複雜，過程中也會發生一些較難處理的製程缺陷。首先是上電極光阻的定義，此時光罩尺寸為微米等級，相較於下電極的大尺寸曝光更需要注意光阻顯影後的精確度，無論是過曝、過顯，都可能造成光阻邊緣粗糙化，甚至影響所定義的形狀。而經過實驗發現沒有硬烤過的光阻在 Oxford RIE 反應離子刻蝕 (reaction ion etch, RIE) 時無法完整地做好阻擋層的工作（因為 RIE 的選擇性(selectivity)較差），因此之後我們會在顯影後先將光阻硬烤 120 度 2 分鐘，目的是提高光阻層的抗蝕刻性與硬度[67]，讓光阻能夠在後續的反應離子刻蝕 (reaction ion etch, RIE) 製程中有更高的阻擋能力。接著在金、鉻濕蝕刻時必須精確掌握泡在蝕刻液的時間，因濕蝕刻雖具有相當高地選擇性，但屬於一種等向性蝕刻(isotropic etching)，意味著蝕刻的方式不但會進行縱向蝕刻，也會將材料往不理想的方向進行蝕刻，進而導致所謂底切(undercut)的現象發生(圖 3-10(a))，使得元件結構改變甚至被破壞，而此時我們的金屬厚度均為奈米等級，所以必須選擇稀釋後的

蝕刻液來使人工作業的誤差最小化，在實驗時也如我們所預測，在尺度較小的 18000 個洞的 Sensing area 處會更容易因為金、鉻過度等向性濕蝕刻使得結構崩塌（圖 3-11）。濕蝕刻還可能產生了另一個問題，在感應區域部分因表面張力的原因而使得蝕刻不完全（圖 3-10(b)），解決方式為搖晃蝕刻液使液體成功滲入進行蝕刻，接下來要確認感應區域（洞內）部分之金、鉻是否完全蝕刻，若是只從上下電極 pad 部分判斷金屬顏色是不足以確定內部有無蝕刻完全，必須透過探針式表面分析儀來做測量。

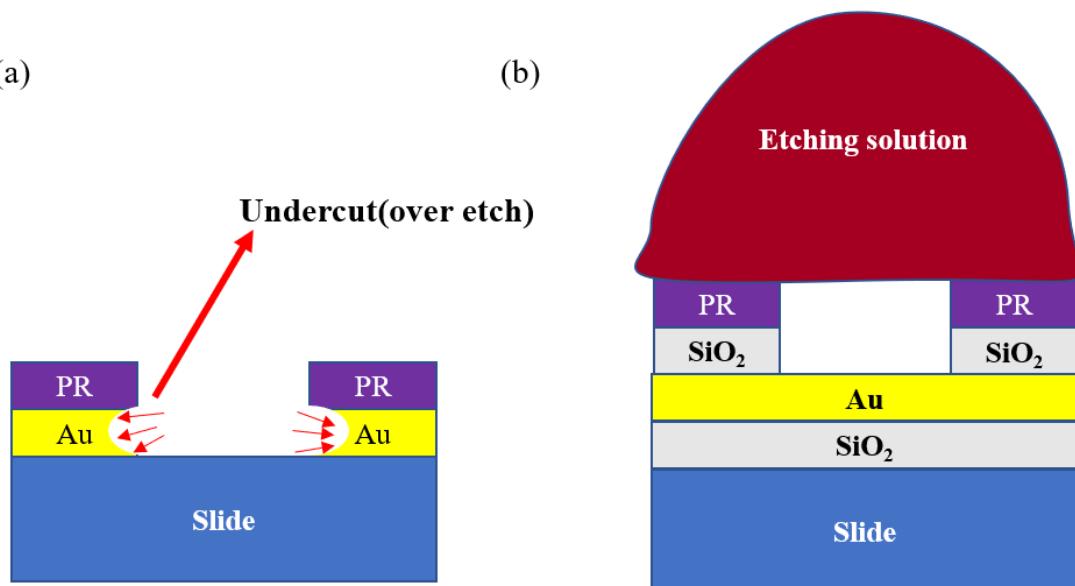


圖 3-10 (a)過度濕蝕刻導致底切示意圖。

(b)因表面張力使得感應區域濕蝕刻液體無法蝕刻完全示意圖。

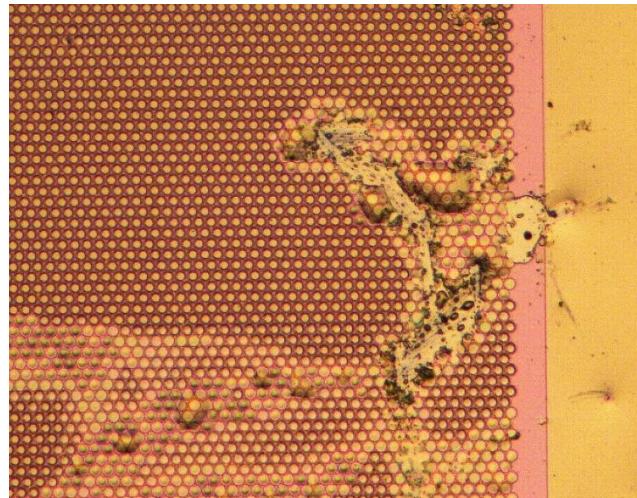


圖 3-11 光學顯微鏡下 18k 元件部分脫落的感應區域

完成我們的元件製程後，接著必須確認製作出來的元件是否如我們所設計的一樣，因此接下來會使用到厚度測量儀器來確定元件內部結構。

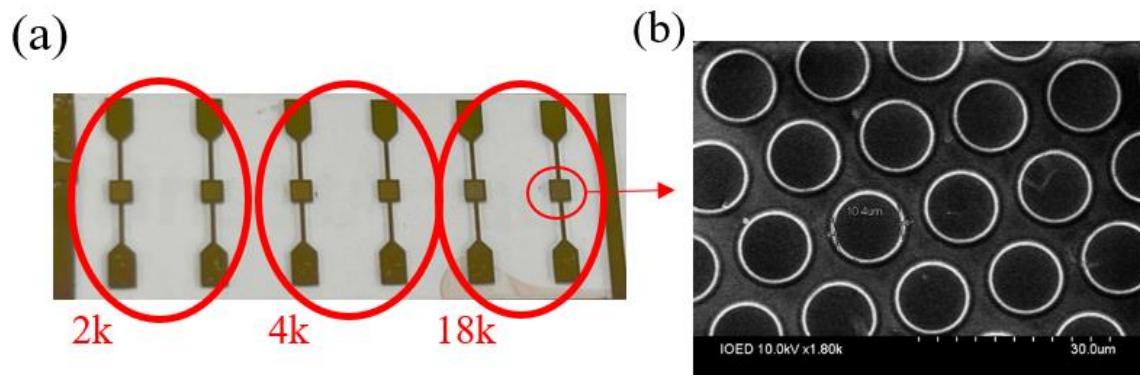


圖 3-12 (a)完成的元件實體上視圖和(b)18k 感應區域的 SEM 圖。

3.2 元件結構的確認

此次元件是由經由多層沉積與蝕刻製作而成（圖 3-13）且有在感應區域內設計不同的結構尺寸，因此在進入量測前我們必須使用儀器來確認元件結構是否符合我們所設計的以及調整製程參數。以下介紹兩種較常所使用到的厚度測量儀。

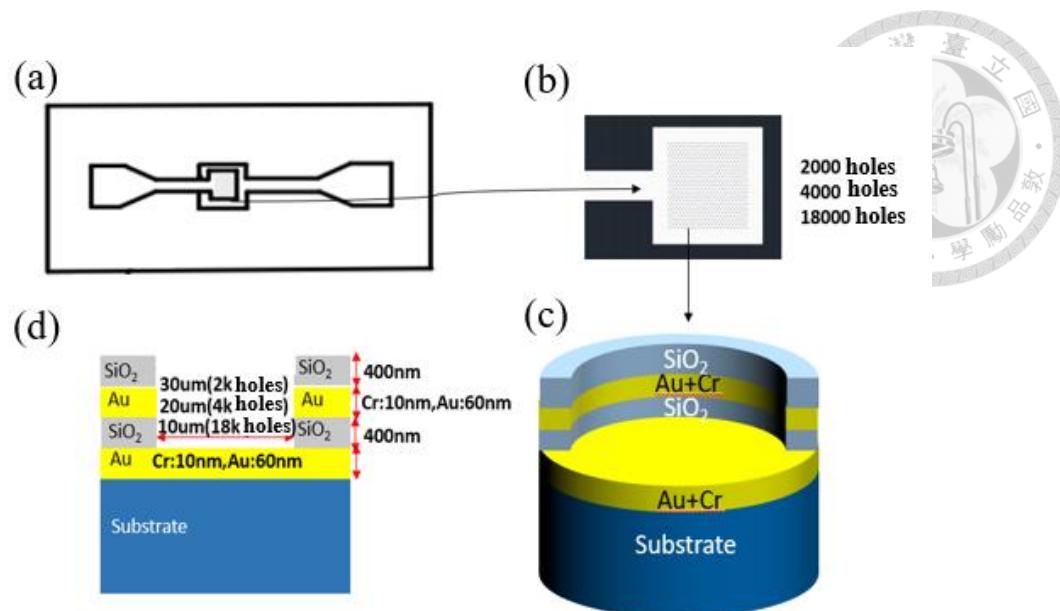


圖 3-13 (a)元件上視示意圖及(b)感應區域內設計圖。(c)單獨一個洞的立體切面圖和(d)元件縱切示意圖。

3.2.1 F20 單點膜厚測量儀

型號F20是通用的薄膜厚度測量儀器[68](如圖3-11)。在世界各地都有很多應用，此儀器相當方便，厚度與折射率可以在僅僅不到一秒的時間就測量出來。此儀器利用光譜反射技術實現薄膜厚度的精確量測，從奈米到毫米維度均可以做量測。可量測的材料相當多，包括光阻、氧化物、半導體膜、有機薄膜、導電透明膜等，被廣泛的應用在半導體、微電子、生醫等領域。



圖 3-14 單點膜厚測量儀

F20 單點膜厚測量儀是利用光譜反射來分析反射光的特性，其中又有光譜橢圓偏振儀和光譜反射儀兩種。兩者均是利用分析反射光來確定薄膜的厚度與折射率，主要差別在於橢圓偏振儀測量的光為小角度由薄膜反射出來的光，而光譜反射儀忽略了偏振效應測量從薄膜垂直反射出的光，也使得橢偏儀能量測的厚度較小較精確。

橢偏儀是利用分析通過偏振片後反射到偵檢器的反射光之 S 波與 P 波，進而透過數據運算及模擬分析來得知薄膜的厚度等資訊。此種利用光譜來分析薄膜厚度的方式雖然非常快速且準確，但在量測前必須要知道自己每層材料分別是甚麼才能加快擬合速度，否則得到的結果會與實際上差非常多。光譜反射儀的優點也在於不用與樣本有直接接觸，因此不會有傷害樣本的疑慮或是因探針所造成的誤差（下章節 Alpha step 將提到），而如同章節名稱所示，此儀器僅僅能量測某個點的瞬間厚度，所以若是要更精確的量測通常會選擇同一平面上附近的五~十個點來做多次數的量測，進而累積數據來找出平均值，而此儀器對於觀察有凹洞或是非平整平面



的厚度將會相當困難且不可行。

我們在過程中使用 F20 單點膜厚測量儀來反覆確認 Oxford PlasmaPro system100(PECVD)沉積二氧化矽的鍍率，使用測試片(SiO₂ on Si wafer)進行 5 分鐘 7 秒的氧化層沉積後(圖 3-12)，740 奈米為最終二氧化矽的厚度，減去測試片本身的 315 奈米，剩餘的可藉此推估 PECVD 鍍率，得知沉積率大概為每秒 14 埃米，而每隔一個月做一次元件製程我們就會重新量測一次以校正參數。

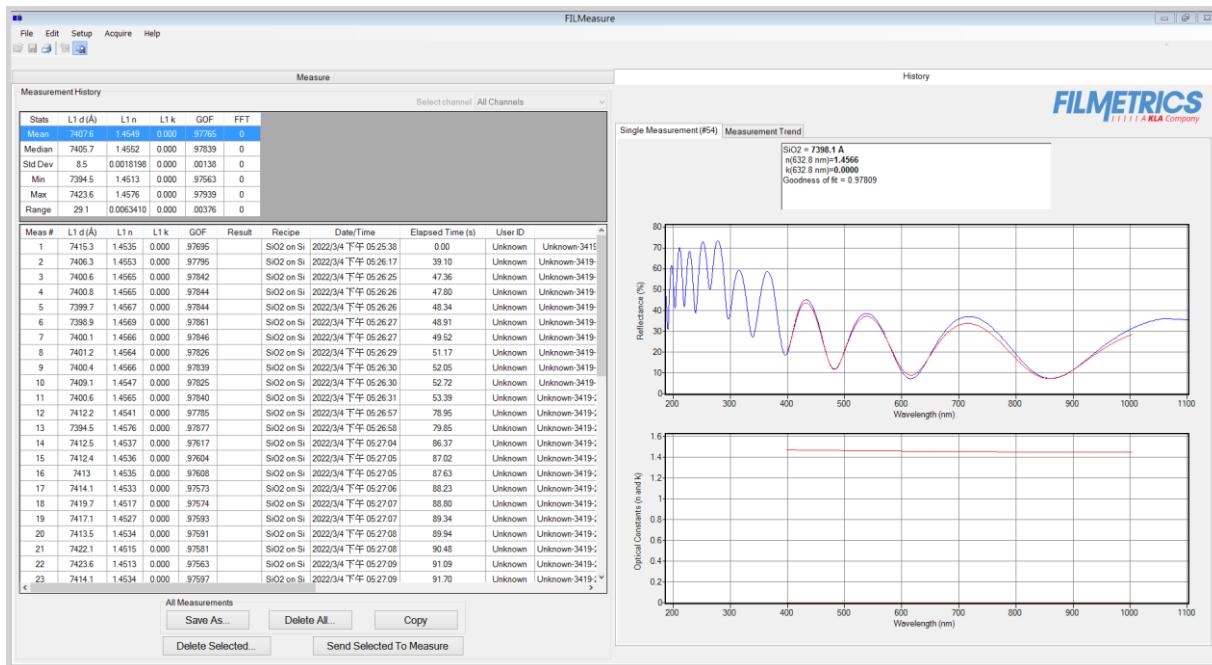


圖 3-15 元件經過 PECVD 5 分鐘 7 秒製程後的結果

3.2.2 探針式表面分析儀在此篇論文我們使用到接觸式探針表面分析儀[69]

的一種，隨著奈米科技的到來，使得從事做奈米製程的我們必須要知道「奈米尺度」下的物體是否有照著我們理想的結構成長。目前此儀器廣為使用在奈米至微米尺度的表面量測儀。在使用此儀器時，探針的尖端會直接地接觸樣本表面。探針式表面分析儀(Probe-Type Surface Analyser)(圖 3-16)可用來量測薄膜之厚度與表面輪廓粗糙度。如圖 3-17 所示，我們可以知道

探針通常會安裝在檢測器的前端，並且對樣本的表面進行追蹤，探針接觸待測物後會產生一個壓力，回饋壓力計算後，整個系統為了維持住固定的壓力會產生一個回饋計算。計算後便可以得知我們表面輪廓的樣貌。



圖 3-16 探針式表面分析儀

怕探針太過尖銳而過度傷害樣本本身但又追求量測的精細程度，因此探針的理想形狀會是頂端為球形的圓錐體（如圖 3-17(a)），要利用此儀器來精確量測細微的形狀跟粗糙度需要非常小的接觸壓力，探針頂端的半徑也要越小越好，探針通常會以藍寶石或是鑽石製成。除非有特別規定，否則一般的量測儀器理想圓錐角為 60° 。探針式表面分析儀可取得清晰的波形形狀也能進行長距離的樣品量測，可以方便地調整探針接觸壓力、掃描的距離與量測起點，因為直接接觸樣本而資訊相當可靠。但直接接觸也會有許多讓人困擾的缺點如下：

- 探針會經過長時間的磨損造成不同的量測結果，使結果失真。如圖 3-14(b)。

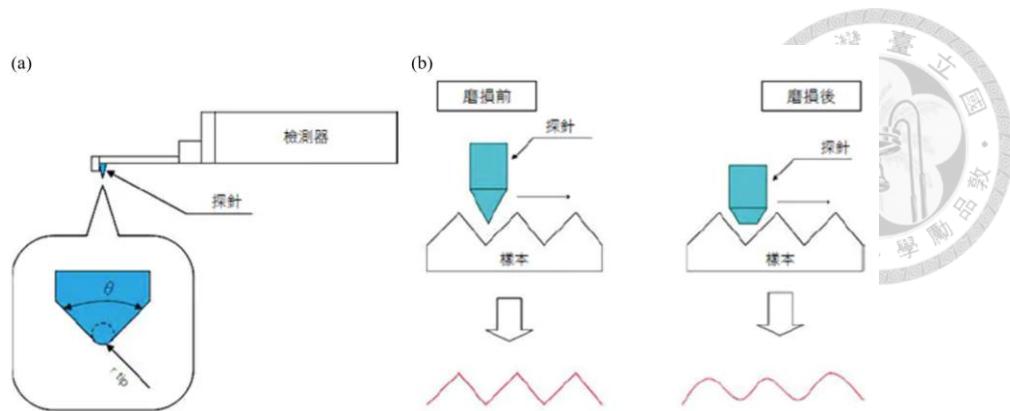


圖 3-17 (a)探針頂端形狀示意圖[69]。(b)探針磨損前後對照示意圖[69]。

- 量測的壓力若是太大大到超過樣本最上層能承受的程度的話，會使得樣本表面刮傷，甚至破壞樣本。不能對有黏性的樣本進行量測
- 不能量測小於探針頂端半徑的凹槽，因為如果凹槽太小，會使得探針無法接觸到最底部導致結果跟實際上的完全不一樣而產生嚴重的誤差（圖 3-18）。

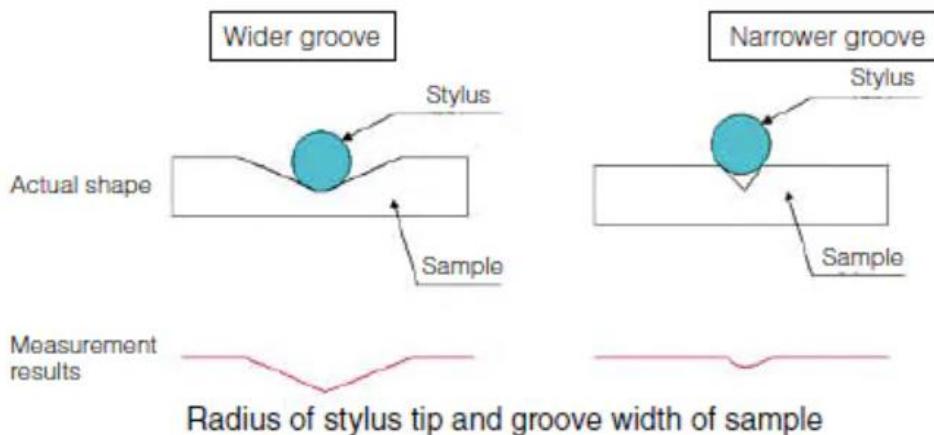


圖 3-18 寬與窄凹槽量測示意圖。

- 樣本為了要直接被探針接觸到，必須切割處理後再進行量測，避免影響到探針接觸樣本的過程受到影響。因探針是由高硬度的硬質材料製成，在重複進行量測的過程容易刮傷樣本。

探針式表面分析儀在結構量測中相當重要，能夠確認元件的結構才能夠掌握元

件狀況進而進行下一步的數據量測與分析。我們使用探針式表面分析儀分別量測了元件上電極(top electrode pad)、下電極(bottom electrode pad)、反應發生處(sensing area)部分的結構來確認製程的完整度，因每批製程要進行量測前都會作結構的確認，因此以下會提出某幾批的製程量測與可能遇見的問題。

首先可由量測上電極與下電極的 pad 厚度來確認 pad 處的厚度與蝕刻(圖 3-8)，得知元件厚度有如我們所設計的在誤差 $\pm 10\%$ 的範圍內才繼續進行感應區域的量測。

圖 3-19 這個量測為感應區域內 2000 個直徑 30 微米洞的元件，我們可以清楚看到感應區域之洞內蝕刻狀況，因機台使用上的誤差較難精準畫出量測範圍，所以洞的直徑也必須作反覆的量測來確認，最後探針式表面分析儀量測下的洞口直徑最大值為 30 微米並且厚度為 853 奈米（理想為氧-金-氧結構，400 奈米-75 奈米-400 奈米）兩者均符合我們所設計的尺寸。

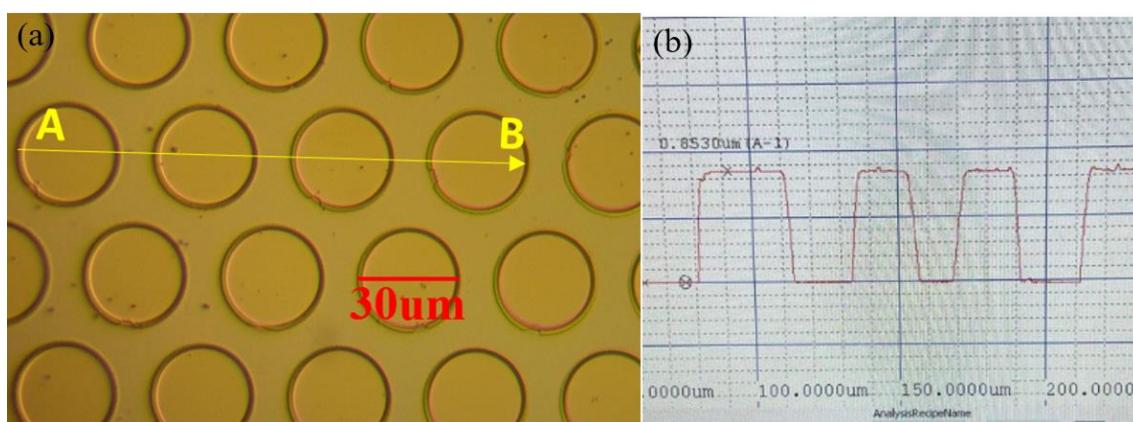


圖 3-19 (a)光學顯微鏡下的 2000 個直徑 30 微米洞(sensing area 部分) (b)探針式表面分析儀大致按照圖(a)A 到 B 量測的結果(853 奈米)

而使用反應離子刻蝕 (reaction ion etch, RIE) 時，我們發現某幾批元件製作時使用的機台會將 S1813 光阻遮擋層一併蝕刻掉，導致光阻遮擋層無法完整的抵擋電

漿蝕刻，讓最上層的氧化層厚度不如預期的小於 400 奈米，這裡必須提到的是我們元件的最上層氧化層的功用僅僅是用來遮擋上層電極的表面積（如果元件之後進行改質，最終期望改質在下層電極上），因此只要能確認上層氧化層依然還在且至少有一定的厚度，便可保證元件是可進行下一步量測的，如圖 3-10 為感應區域內 4000 個直徑 20 微米洞的元件，探針式表面分析儀量測下的洞口直徑最大值為 20 微米並且厚度為 742 奈米，雖然沒有如我們所設計的 875 奈米的厚度，但我們由對照光阻去除前後的對比可以發現厚度並沒有改變，代表光阻早已被蝕刻完畢，因此我們可以知道洞內氧-金-氧結構的厚度大致為 400 奈米-75 奈米-250 奈米，此結構並不會影響我們之後量測的結果，因此是可以接受的。

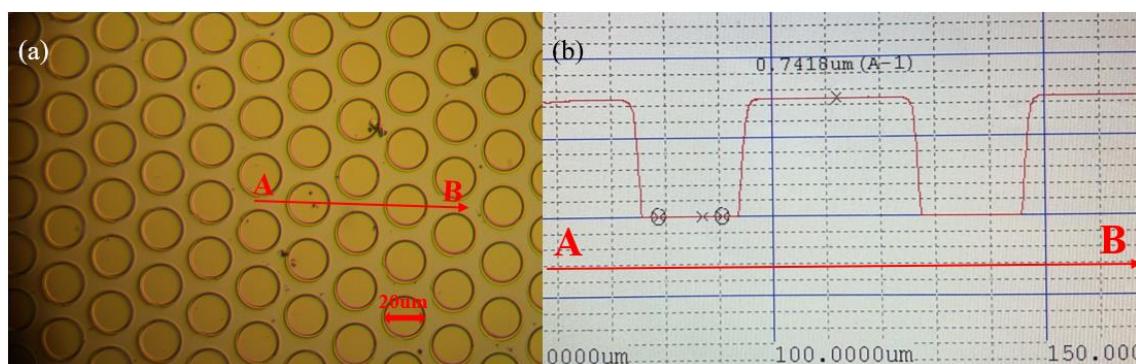


圖 3-20 (a)光學顯微鏡下的 4000 個直徑 20 微米洞(sensing area 部分) (b)探針式表面分析儀大致按照圖(a)A 到 B 量測的結果(742 奈米)

而在元件製程中常見的問題可由探針式表面分析儀發現，先前製程部分提過濕蝕刻會因為元件感應區域內尺寸過小，導致表面張力讓蝕刻液沒辦法滲入洞內進行蝕刻，如圖 3-11 所示，此圖為感應區域 2000 個 30 微米洞元件的結構圖（洞內結構由下往上理應為氧(200 奈米)-鉻金(15 奈米+60 奈米)-氧(400 奈米))，在探針表面式分析儀量測的結果中我們發現 A 跟 B 區域的厚度不同，從厚度差 200 奈米這點我們可以知道的是，B 區域內的第二次反應離子刻蝕並沒有成功蝕刻掉二氧化



矽，代表著 B 區域內本該被濕蝕刻掉的金屬還存在，從這點我們可以推斷濕蝕刻在小尺寸的維度下會受到表面張力的影響，解決方式則為先前所提到濕蝕刻時加入一些擾動確保蝕刻液能成功的完成他的工作。

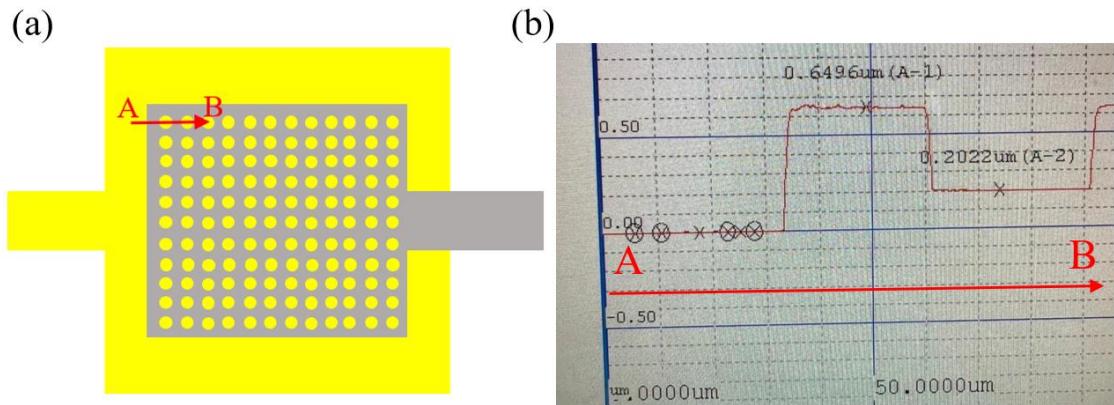


圖 3-21 (a)元件上視示意圖（圖內洞數與實際不同）和(b)探針式表面分析儀由 A 到 B 量測的結果

3.3 實驗事前作業與溶液配置

在完成我們的元件製作與確定結構後，我們接著會做元件的實驗事前處理以及調配實驗所需的緩衝液與電活性物質。

3.3.1 元件事前處理

因我們的電化學反應主要行為全部發生在元件中間 sensing area 打洞處，因此在實驗前我們會將 Tips 剪去圓頭部分用作環形塑膠（直徑約 1 公分）將反應部分圍住（如圖 3-12(a))），並且使用黑膠將其固定，我們會先以少量黑膠固定 tips 放進恆溫箱加熱至 120°C 大約 10 分鐘，拿出後再繼續使用黑膠使其更加固定密合後放入恆溫箱再加熱至 120°C 放置 1 小時就完成了 sensing area 的限制。

完成黑膠的固定後，我們會將部分元件放入圓腔式氧電漿機[70]（如圖 3-12(b))）

做氧電漿的處理，電漿是四大物質狀態中的其中一種，特性與固態、液態與氣態完全不同，通常會將氣體放置在高溫或是高磁場的環境中作用，透過外在的能量讓電子可以加速撞擊另一個電子，持續不斷的撞擊會讓氣體產生崩潰效應，而成為電漿型態。電漿已經很廣泛的應用在半導體製造上（沉積、蝕刻、離子佈植…等），而此處提到的氧電漿功能通常用來清潔元件的表面或是改變材料的表面來達成特殊功能，因此我們使用氧電漿清潔上下金電極的表面，並且增加材料表面的親水性（圖 3-13），以利溶液能直接與電極表面接觸。

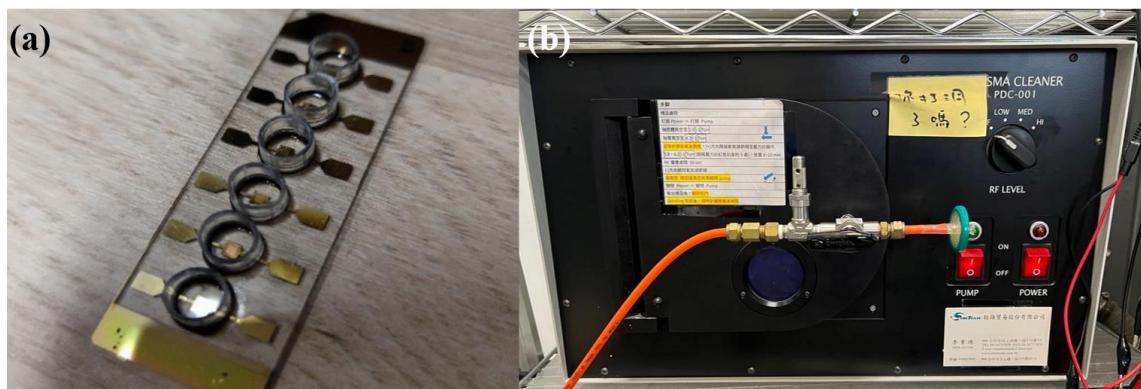


圖 3-22 (a)框住 sensing area 後之元件實體上視圖和(b) 圓腔式氧電漿機。

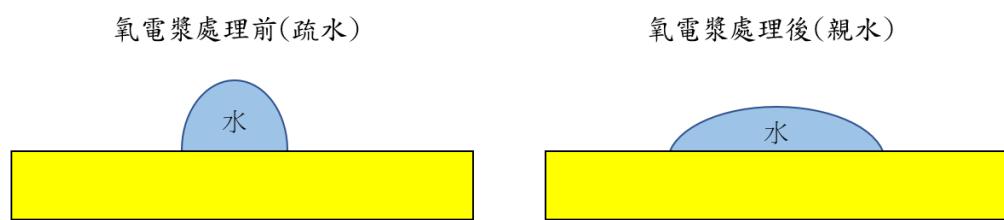


圖 3-23 親水性示意圖

3.3.2 溶液的配置

緩衝液的部分我們均使用濃度為 0.1M 的 PBS(chloride free)作為溶劑，並且選擇

赤血鹽(Potassium ferricyanide)與黃血鹽(Potassium ferrocyanide)作為電活性物質以利氧化還原反應的進行(溶液的配置參數如表 2)。使用濃度部分會隨實驗需求以表 2 進行調整，溶液會在實驗前才開始配置，並且均使用當天配置的溶液進行量測。

表 2 溶液配置的 baseline

	MW	Concentration	Solute	Solvent
PBS(chloride free)	-	0.1M	1.34g 磷酸二氫鈉 0.68995g 磷酸氫二鈉	DI Water(50ml)
赤血鹽 (Potassium ferricyanide)	329.24	2mM	0.0165g	PBS(Cl- free)(25ml)
黃血鹽 (Potassium ferrocyanide)	368.35	2mM	0.0184g	PBS(Cl- free)(25ml)

每次配置完 PBS 溶劑後我們會使用酸鹼檢測計(圖 3-14)來觀察 PBS 的酸鹼度，確認 PH 值大致為 7 就不做多餘調整。



圖 3-24 酸鹼檢測計

3.4 量測方法

本研究室利用 Autolab PGSTAT204 (圖 3-15) 進行量測獲得循環伏安法(Cyclic Voltammetry, CV)與電化學阻抗圖譜(Electrochemical impedance spectroscopy, EIS)的



數據以及使用內建 NOVA 2.1.4 的軟體來做數據擬合，其餘實驗參數將在第四章節提及。



圖 3-25 Autolab PGSTAT204

3.4.1 量測系統的設置

我們此次實驗均使用三電極系統，通常我們使用鱸魚夾將工作電極夾在下電極（盤狀電極），輔助電極夾在上電極（環狀電極），接著會將溶液加入限制的塑膠圈內而後夾住鉑金絲作為參比電極一併泡入溶液中，實驗配置如下圖 3-26。

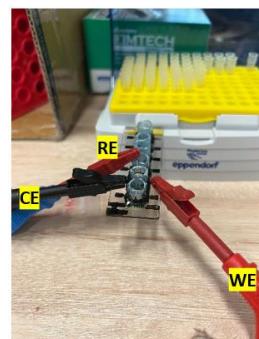


圖 3-26 量測方式配置圖。



Chapter 4 實驗結果分析與討論

本研究著重觀察循環伏安法與 Nyquist 圖的資訊，以下量測均是使用三電極系統，工作電極為下電極(disk electrode)，輔助電極為上電極(ring electrode)，參比電極為 0.3mm 鉑金絲。

4.1 等效電路元件

實驗前我們將元件做固-液界面分析，並且使用 Randles 等效電路來進行擬合(圖 4-1)。CV 圖部分著重於峰值大小、圖形趨勢，Nyquist 圖主要觀察影響電荷轉移(高頻區段)的電荷轉移阻抗(R_{ct})。2k 元件與 4k 元件對應的電極面積如表 4。

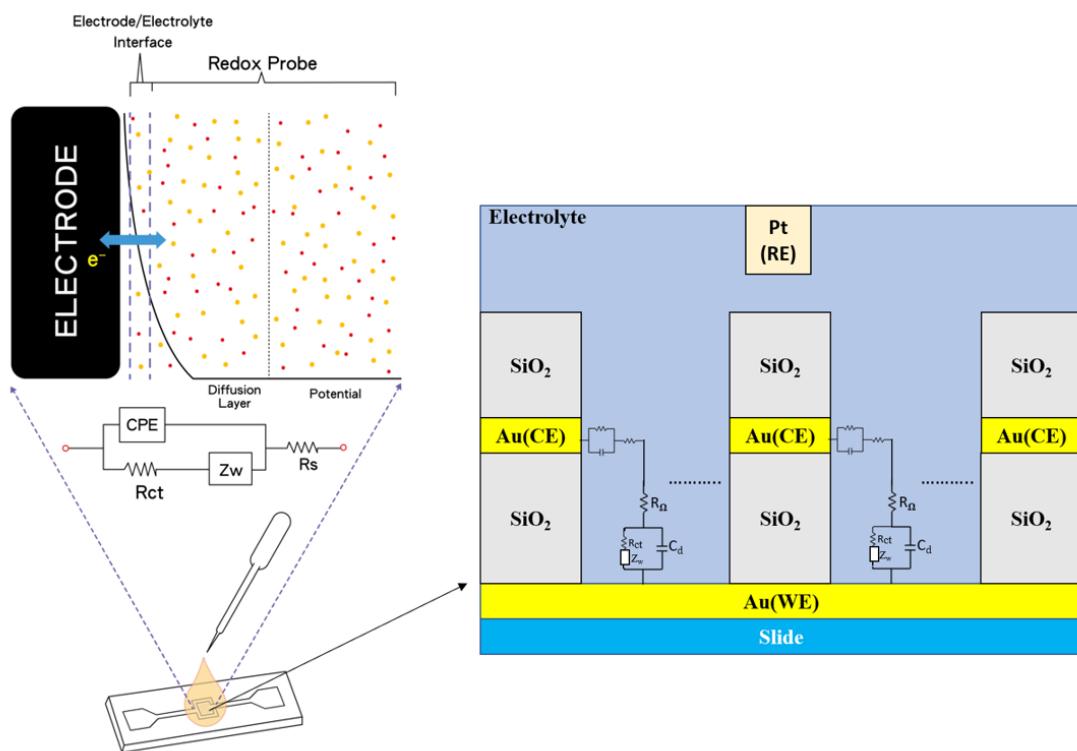


圖 4-1 元件與縱切示意圖

表 3 元件感應區域內電極面積

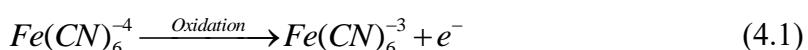
	Disk electrode's Area(mm ²)	Ring electrode's Area(mm ²)
2k Device	1.413	0.011304
4k Device	1.256	0.015072

4.2 元件特性分析

我們所製作的元件在感應區域下之縱切面如圖 4-1 所示，具有常見的電解質與電極介面，因此行為會類似常見的 Randles 等效電路模型，我們同樣也會有溶液電阻 (R_s)、電雙層電容 (C_{dl})、電荷轉移阻抗 (R_{ct}) 與 Warburg 阻抗(Z_w)，而我們在電化學阻抗分析法中，著重於觀察高頻區段($Z_w=0$)。其餘三種數值在先前有提到，並且可由電化學阻抗圖譜(EIS)得知，由於我們使用氧化還原物質(赤黃血鹽)且循環伏安法選擇的電壓足夠讓氧化還原反應發生，因此可以推斷 CV 圖會產生電流峰值。

4.2.1 循環伏安法

我們首先以 0.1M 的緩衝液 PBS(chloride free)作為溶劑，加入 12mM 的赤血鹽 ($K_3Fe(CN)_6$)與 12mM 的黃血鹽($K_4Fe(CN)_6$)的混合溶液調配出電解質，並且選用感應區域 4000 個 20 微米洞的元件來做量測，以循環伏安法用 0.03V/s 的掃描速率從電壓值-0.5V 掃到+0.5V 量出的結果如圖 4-2(a)，我們可以看出峰值電流的產生，這也可以證明氧化還原反應確實發生，在陽極/陰極電流到最高點時電流值達到穩定狀態，反應式如下：





在此結構下，儘管電流出現了最大值，但是 CV 圖的趨勢為微電極會出現的穩態電流圖形(limiting current)，而不是一般常見的峰值電流圖形(peak current)，代表在 0.03V/s 掃描速率下的擴散層厚度(δ)大於我們單一工作電極 disk 的直徑，在此條件下 radial diffusion 對整體擴散現象的影響變大，因而使 CV 圖出現 limiting current 的圖形（圖 4-3）。觀察 CV 圖我們也可以發現陰極與陽極的穩態電流比值趨近於 1，可以得之氧化還原物質的可逆性相當好。

4.2.2 電化學阻抗分析

接著我們量測同樣條件下(相同元件結構、氧化還原物質濃度)的 Nyquist 圖，給予 0.1V 的 V_{RMS} 正弦交流電壓由 10000 赫茲掃到 100 赫茲可以得到圖 4-2(b)，結果與我們第二章推導出來的 Nyquist 圖的形狀幾乎一樣，都是由一個半圓配上一條斜直線組成，半圓部份的資訊代表高頻區電荷轉移主導電化學反應而斜直線的部分則是物質轉移主導電化學反應，我們將著重於高頻區段之電荷轉移電阻，因此將焦點放在 fit 半圓部份，並且可以由 NOVA 軟體內建的擬合程式得到等效電子元件 R_s 、 R_{ct} 、 $CPE.N$ 與 $CPE.Y_0$ 的數值（表 3），可以觀察到 R_{ct} 的值相當的小，代表著在此條件下工作電極與電解質的電荷轉移率良好。

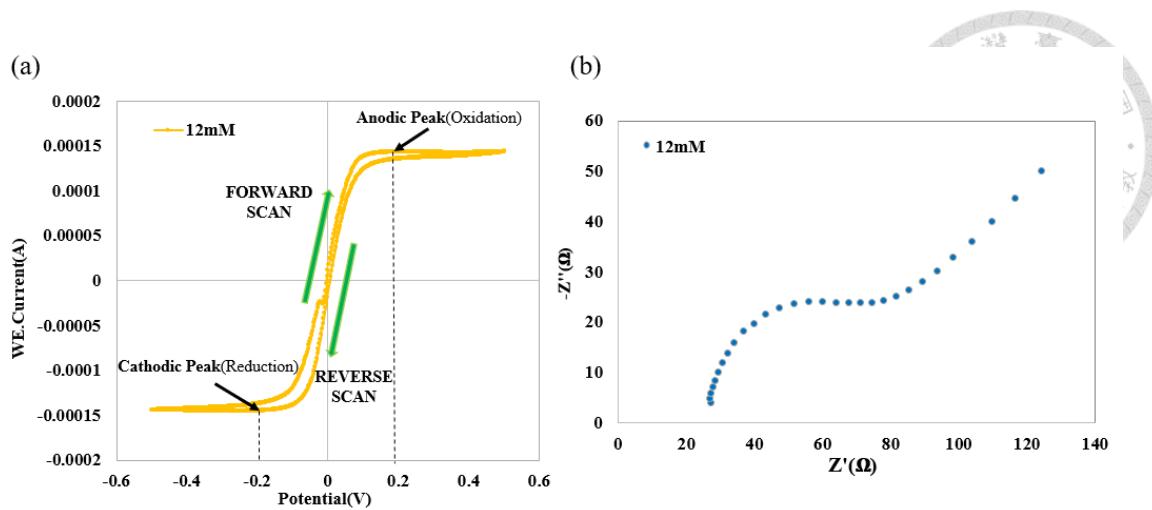


圖 4-2 元件特性。(a)CV 結果圖和(b)Nyquist 結果圖

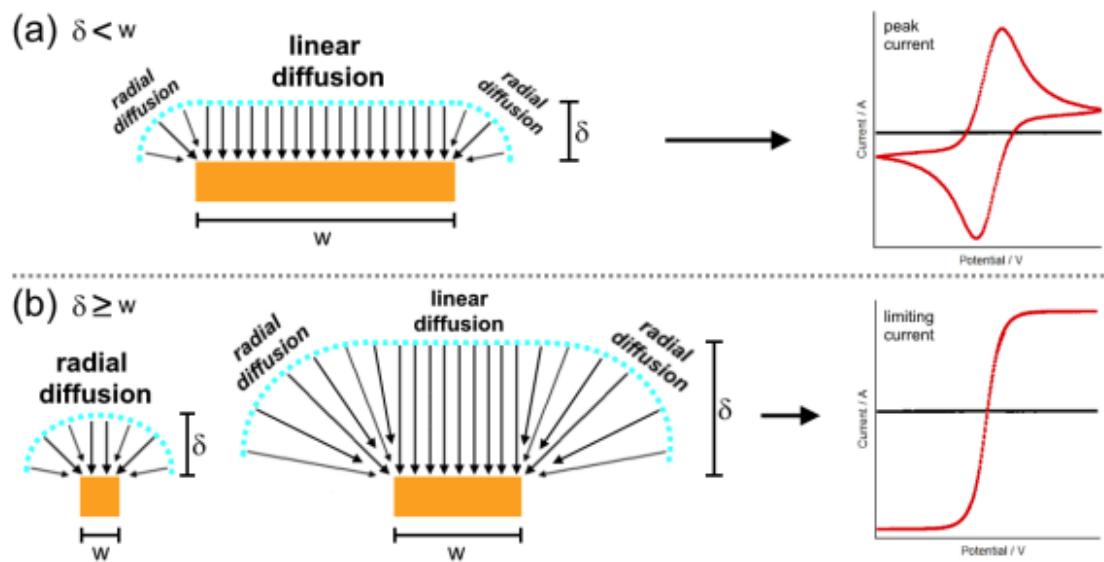


圖 4-3 不同尺寸的電極 CV 比較圖[71]。(a)線性擴散(Linear diffusion)主導整個擴散作用，因此產生 peak current 的 CV 圖($\delta < w$)。(b)徑向擴散(Radial diffusion)增大產生 limiting current 的 CV 圖($\delta \geq w$)。

表 4 NOVA 軟體 fit 高頻區段 Nyquist 圖的參數。

$ i_{ass}/i_{css} $	0.988
$R_s(\Omega)$	25.413
$R_{ct}(\Omega)$	58.097
CPE.N	0.842
CPE.Y ₀ (μF)	0.803



4.3 元件穩定度及可靠性測試

接著我們對 4k 元件分別做了循環伏安法與電化學阻抗分析的穩定度測試，我們選擇 5 組不同批製程的 4k 元件做分析，溶液部分以 0.1M 的緩衝液 PBS(chloride free)作為溶劑，加入 12mM 的赤血鹽($K_3Fe(CN)_6$)與 12mM 的黃血鹽($K_4Fe(CN)_6$)的混合溶液調配出電解質。

4.3.1 循環伏安法

我們首先將同一個 4k 元件以循環伏安法用 0.03V/s 的掃描速率，從 -0.5V 掃到 0.5V，進行 20 個週期的量測，結果如圖 4-4，我們可以發現 CV 圖不管是氧化還原穩態電流值(i_{ass} 、 i_{css})還是圖形趨勢看起來幾乎一模一樣，而我們比較第一個週期與第二十個週期的電流峰值與峰值發生的電壓位置誤差相當的小，可以證明同一元件多次掃描後均維持相同的數據，並沒有因為多次掃描而造成結構上的問題而導致數據不夠穩定。

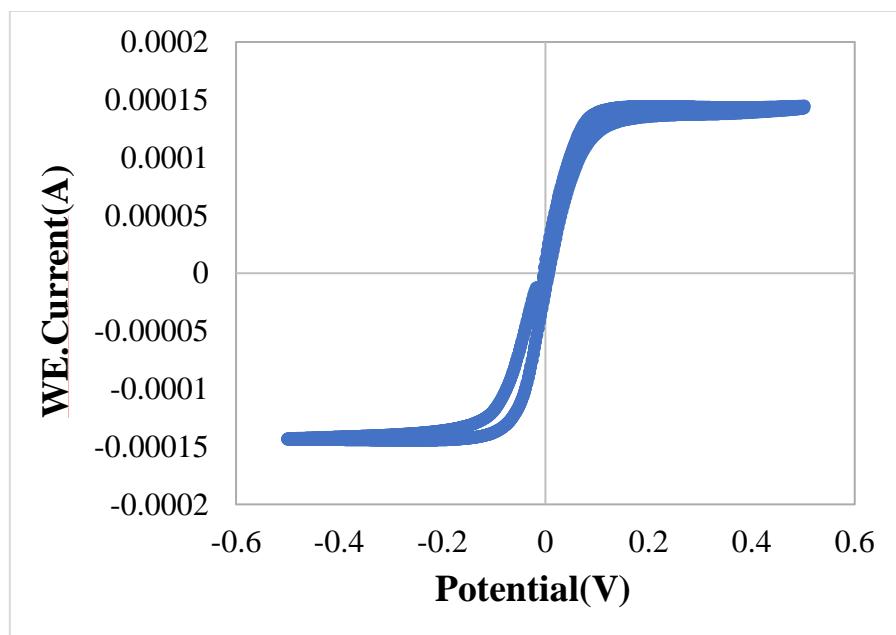


圖 4-4 單一元件穩定度。(a)掃描 20 個 cycles 的 CV 圖。



探討完同一元件的穩定度後，我們接下來觀察五組不同批 4k 元件的循環伏安法比較（溶液配置同上），我們取每一批元件的五個週期掃描的平均來做為比較，疊圖如下圖 4-5(a)，我們可以看出不同批製程元件的 CV 圖也均是 limiting current 的趨勢，而將五組不同元件掃描五個 cycles 後，電流峰值統計如圖 4-5(b)，我們可以發現五組元件各自取平均後，誤差百分比均在 $\pm 2.5\%$ 內，因此可以證明這幾批元件數據具有可靠性。

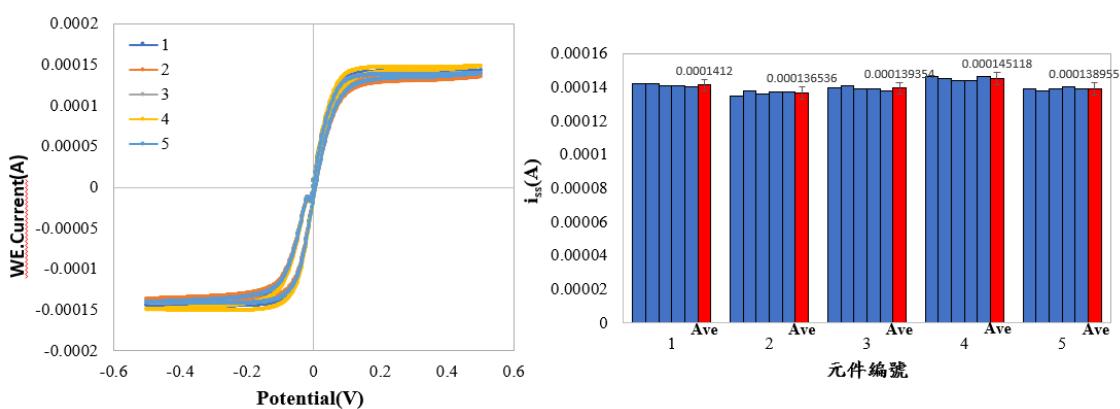


圖 4-5 相同結構不同批元件比較。(a)CV 圖疊加。(b)不同元件的峰電流比較。

4.3.2 電化學阻抗分析

我們接著將五組不同批製程的 4k 元件（溶劑為 0.1MPBS(chloride free) 的 12mM 赤黃血鹽混合溶液）進行 Nyquist 圖的分析，觀察電化學阻抗分析圖譜是否會誤差太多，由 10000Hz 掃到 100Hz，我們可以將圖形疊加得到圖 4-6，接著使用 NOVA 軟體模擬相對應的數值（表 6），而我們將五批元件的 R_{ct} 做圖，可以發現誤差百分比均在 $\pm 2.5\%$ 內，由 Nyquist 圖與上面所提的 CV 圖結果可以看出元件的可靠性與穩定度。

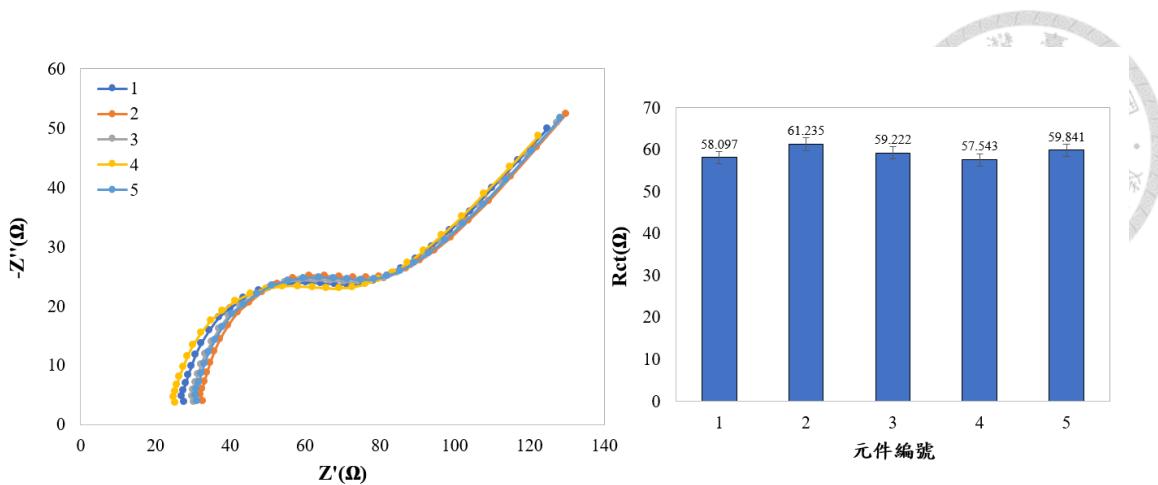


圖 4-6 相同結構不同批元件比較。(a)Nyquist 圖疊加。(b)不同元件的電荷轉移阻抗比較。

表 5 NOVA 軟體擬合高頻區段 Nyquist 圖的參數。

	1	2	3	4	5
$R_s(\Omega)$	25.413	31.251	30.012	24.312	29.512
$R_{ct}(\Omega)$	58.097	61.235	59.222	57.543	59.841
CPE.Y0(μF)	0.803	0.792	0.788	0.801	0.796
CPE.N	0.842	0.861	0.856	0.832	0.846

4.4 改變氧化還原物質濃度

我們接著要在已知的特性下探討不同的氧化還原物質濃度對 CV 與 EIS 的影響，此次量測依舊使用感測區域為 4000 個直徑為 20 微米洞(4k)的元件，我們使用的溶劑一樣使用 0.1M 的緩衝液(PBS(chloride free))，但改變赤血鹽($K_3Fe(CN)_6$)與黃血鹽($K_4Fe(CN)_6$)混合溶液的濃度，分別有 4mM、7mM、12mM、15mM、18mM 與 20mM，藉以觀察電流與 R_{ct} 的變化。

4.4.1 循環伏安法

首先使用循環伏安法以 0.03V/s 的掃描速率，從電壓值 -0.5V 掃到 +0.5V 量出的

結果疊加起來如圖 4-7(a)所示，因為元件的結構與掃描速率均相同，所以會與章節 4.2 的結果一樣 CV 圖都是呈現穩態電流的狀態，並且隨著濃度上升，電流最大值也跟著上升，我們可以從章節 2.2 發現，超微電極的穩態電流大小即便會受到結構的幾何形狀設計影響，但穩態電流值通式(2.31)顯示電流大小會與氧化還原物質濃度成正比，這點我們更可由實驗證明，在我們的 Ring-disk 結構設計下，整理不同濃度的氧化還原物質下之電流峰值後，發現與通式所述一樣，電流峰值正比於氧化還原物質濃度（圖 4-7(b)）。

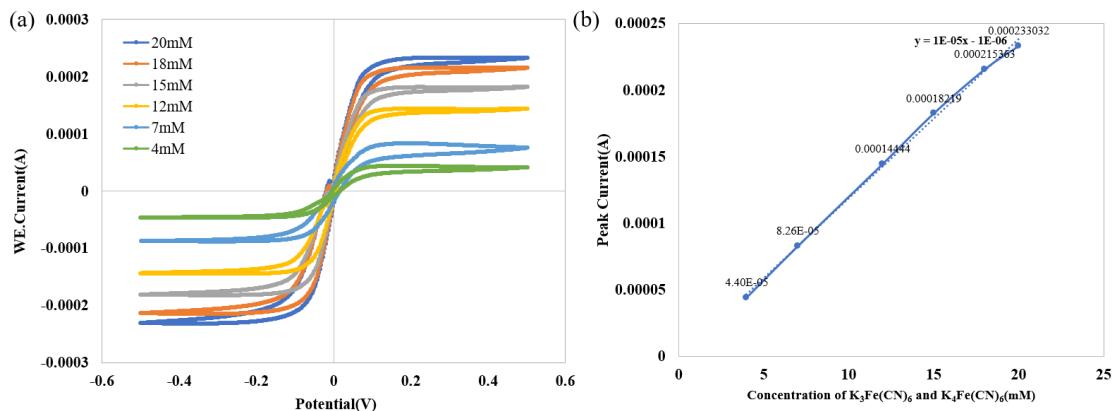


圖 4-7 不同氧化還原物質濃度下。(a)CV 結果圖。(b)濃度與電流峰值做圖。

4.4.2 電化學阻抗分析

接著我們一樣在不同濃度下觀察 Nyquist 圖，給予 0.1V 的 V_{RMS} 正弦交流電壓由 10000Hz 掃到 100Hz 後，將圖疊加起來後可以得到圖 4-8(a)，由 NOVA 軟體所模擬出來的數據如表 4，我們可以觀察到隨著濃度上升，半圓部分的形狀就越加明顯且直徑會越來越小，而這是相當合理的，在發生電荷轉移時，電荷轉移率會與反應物的種類、溫度、反應物的濃度以及電位相關。一般氧化還原電位與電流的關係式如下：



$$i = i_0 \left[\frac{C_O}{C_O^*} e^{\left(\frac{\alpha n F \eta}{RT} \right)} - \frac{C_R}{C_R^*} e^{\left(\frac{-(1-\alpha) n F \eta}{RT} \right)} \right] \quad (4.3)$$

其中 i_0 是交換電流密度， C_O 是氧化劑在電極表面的濃度， C_O^* 是氧化劑在溶液本體的濃度， C_R 是還原劑在電極表面的濃度， C_R^* 是還原劑在溶液本體的濃度， F 是法拉第常數， T 是溫度， R 是理想氣體常數， α 是反應次數， n 是參與反應的電子數， η 是過電位($E-E_0$)，過電位 η 測量極化程度，它是電極電位值減去反應的平衡電位。

當氧化劑與還原劑分別在電極表面與溶液本體的濃度相同時($C_O=C_O^*$ 且 $C_R=C_R^*$)，我們可以將上式(4.3)簡化為：

$$i = i_0 \left[e^{\left(\frac{\alpha n F \eta}{RT} \right)} - e^{\left(\frac{-(1-\alpha) n F \eta}{RT} \right)} \right] \quad (4.4)$$

此方程式又稱為巴特勒-沃爾默方程(Butler-Volmer equation)，它適用於極化現象僅取決於電荷轉移動力學的情況。當在此情況下，過電位的值很小且電化學系統處於平衡狀態時，電荷轉移電阻的表達式為：

$$R_{ct} = \frac{RT}{nF i_0} \quad (4.5)$$

我們可由以上描述得知電荷轉移電阻與氧化還原物質濃度息息相關，濃度上升會提升交換電流密度，進而降低電荷轉移電阻，使得半圓直徑下降，然而當我們將不同濃度下的 R_{ct} 整理後 (圖 4-8(b))，可以發現他們的關係雖然趨勢如我們所說，但是並不是呈線性的分布，隨著濃度從 4mM 到 20mM， R_{ct} 的下降幅度就越來越小，這個也可以由上式(4.5)看出， R_{ct} 即使受到氧化還原物質濃度影響，但不是呈線性的關係，在 4mM 到 12mM 時，氧化還原濃度大大影響整個 R_{ct} 的大小，而在濃度到達 15Mm 後， R_{ct} 的數值就幾乎維持定值，代表著氧化還原濃度所能控制的 R_{ct} 的項目已經到達極限的程度。

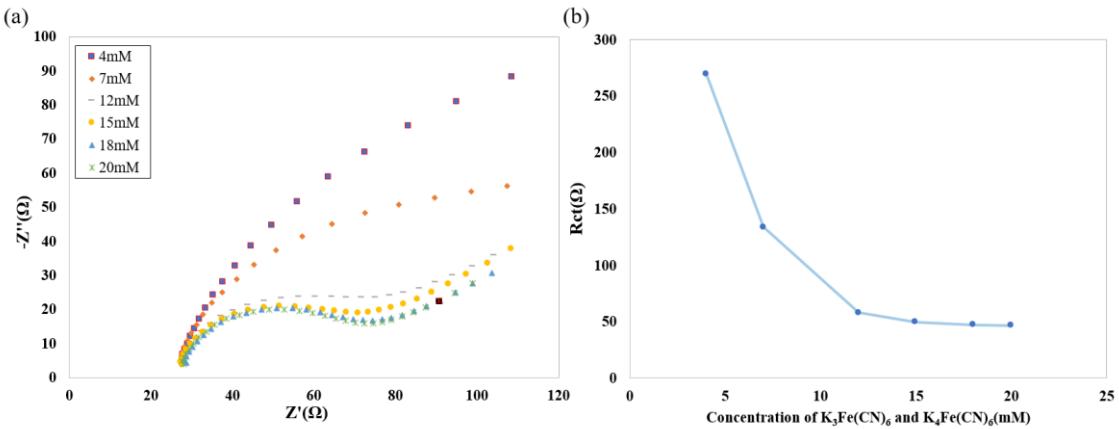


圖 4-8 不同氧化還原物質濃度下。(a)Nyquist 結果圖。(b)濃度與電流峰值做圖。

表 6 各濃度電流極值與 NOVA 軟體模擬 Nyquist 圖的參數。

	$(i_{pa} + i_{pc})/2(\mu A)$	$R_s(\Omega)$	$R_{ct}(\Omega)$	$CPE.Y0(\mu F)$	$CPE.N$
4mM	42.880	24.712	257.56	1.18	0.813
7mM	82.632	25.227	137.76	0.98	0.826
12mM	140.321	25.413	58.097	0.80	0.842
15mM	180.208	25.426	50.848	0.76	0.893
18mM	216.326	25.819	47.640	0.66	0.882
20mM	232.458	25.378	46.130	0.71	0.883

由上述 CV 圖與 Nyquist 圖我們發現，即使 CV 圖的電流峰值大小與氧化還原物質濃度依舊成正比，但 R_{ct} 却漸漸維持定值。電流峰值太大可能會影響到元件的穩定度，甚至破壞元件結構。如果未來使用此元件結構進行電極表面改質的話， R_{ct} 會是我們拿來觀察生物分子鍵結的主要判斷因素，因此可以由此實驗選擇適合我們量測的氧化還原物質濃度，我們同時觀察 CPE.N 的值，其中濃度 4mM 到 12mM 的值都隨著濃度下降而下降，這裡單純是因為濃度太低而使得電荷轉移部分的半圓不理想，導致 CPE.N 的值跑掉，而我們可以發現濃度 15mM 到 20mM 的 CPE.N

的值並未有太大的改變。如同先前章節 2.1.6 所提，CPE.N 的值還尚未有完整的物理理論來解釋，但由 Bidóia 等人[61]的研究，我們可以知道在電解質濃度不至於太低的情況下，CPE.N 的值在相同電極表面下不會產生變動。

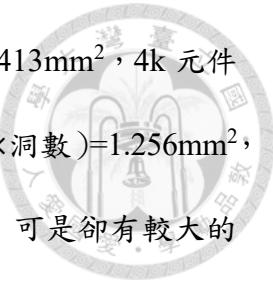


4.5 不同結構下的比較

以上提到的元件特性與不同氧化還原物質濃度下的特性均是使用感應區域 4000 個直徑 20 微米洞的元件，我們這次要比較在同樣電解質濃度與量測配置下，使用不同結構的元件會產生的結果。這次我們選擇使用感應區域內 2000 個直徑 30 微米洞的元件(通稱 2k 元件)與 4000 個直徑 20 微米洞的元件 (4k 元件) 做比較，並且調配以溶劑為 0.1MPBS(chloride free) 的 20mM 赤血鹽($K_3Fe(CN)_6$)與黃血鹽($K_4Fe(CN)_6$)混合溶液作為電解質。

4.5.1 循環伏安法

兩種元件均以循環伏安法用 0.03V/s 的掃描速率，從電壓值-0.5V 掃到+0.5V 量出的結果疊加起來如圖 4-9(a)所示，我們首先觀察兩種元件下的氧化還原峰值電流比值均趨近為一，代表氧化還原物質的可逆性是良好的，再來可以發現兩種元件的 CV 圖趨勢不同，4k 元件如先前所提及 CV 圖呈現穩態電流的趨勢，而 2k 元件的 CV 圖卻出現了一般電極峰值電流的趨勢，這是因為 2k 元件的單一工作電極尺寸大於 4k 元件的單一電極尺寸，而也代表著在 0.03V/s 的掃描速率下，2k 元件的擴散層厚度(δ)比單一電極的直徑 (30 微米) 還小。從 CV 圖的比較中，我們可以發現 4k 元件的電流峰值比 2k 元件的電流峰值還大，而必須提到的是我們使用的量測系統方式，會使得輔助電極面積遠小於工作電極面積，會使得電子迴路功能不完整，可能發生限流現象。若是單純以工作電極的面積來看的話，2k 元件的工作電



極面積為 $15\mu\text{m} \times 15\mu\text{m} \times \pi \times 2000$ (半徑×半徑×圓周率×洞數) = 1.413mm^2 , 4k 元件的工作電極面積則為 $10\mu\text{m} \times 10\mu\text{m} \times \pi \times 4000$ (半徑×半徑×圓周率×洞數) = 1.256mm^2 , 將兩者之 CV 圖相互比較之下，4k 元件的工作電極總面積較小，可是卻有較大的電流峰值，我們認為是因為電流路徑僅流經環盤電極的邊緣，因此實際參與反應的工作電極（盤狀電極）面積僅占邊緣一小部份，因此較多洞的 4k 元件有較高的電流值。4k 元件的電極進入微電極的情況，CV 圖趨勢偏向穩態電流狀態，使得電流值又進一步提升，但一方面也可能是因為 4k 元件的輔助電極(Ring electrode)面積較大，受電子迴路不完整的原因影響較少。

4.5.2 電化學阻抗分析法

接著將兩種元件分別進行了電化學阻抗分析，一樣給予 0.1V 的 V_{RMS} 正弦交流電壓由 10000Hz 掃到 100Hz 後，將圖疊加起來後可以得到圖 4-6(b)，由圖顯示 2k 元件的 R_{ct} 會比 4k 元件的還要大，也就代表 2k 元件的電荷轉移率小於 4k 元件。這可以從兩者的氧化還原電流大小判斷出來，在 CV 結果圖中，電流較大的 4k 元件對應的 R_{ct} 相對來說較小。

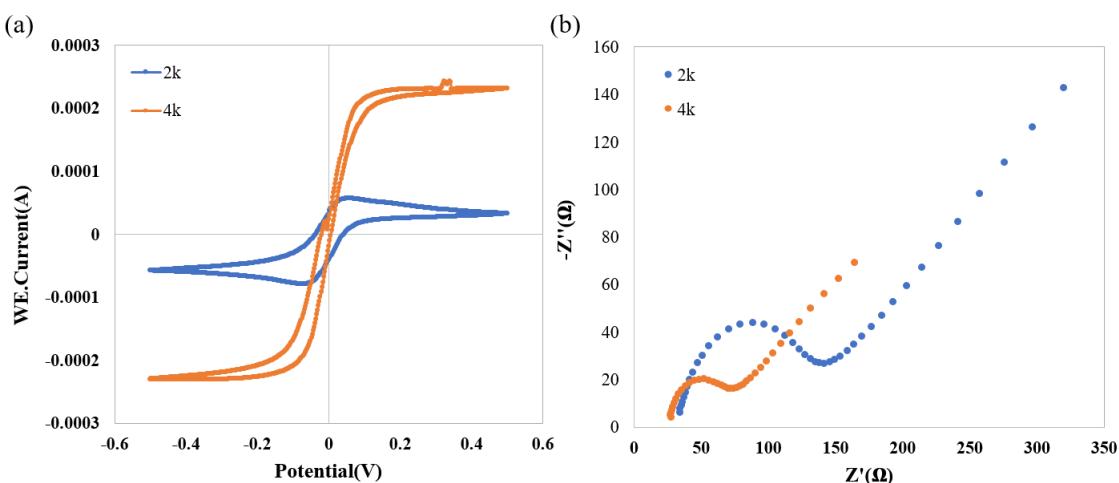


圖 4-9 2k 元件與 4k 元件的比較圖。(a)CV 圖。(b)Nyquist 圖。



表 7 CV 圖電流極值與 NOVA 軟體擬合 Nyquist 圖的 R_{ct} 。

	Peak current(μ A)	$R_s(\Omega)$	$R_{ct}(\Omega)$
4k 元件	232	25.378	46.13
2k 元件	56.4	32.912	110.91

4.6 不同掃描速率下的 CV

接著我們使用 2k 元件調整了 3 種不同的 CV 圖掃描速率來觀察電流的變化。這次我們選擇溶劑為 0.1MPBS(chloride free)，赤黃血鹽混合液濃度為 20mM 的電解質溶液。循環伏安法用四種不同的掃描速率(0.03V/s、0.1V/s、0.4V/s、0.7V/s)，從電壓值-0.5V 掃到+0.5V 量出的結果疊加如圖 4-7(a)，我們比較四種掃描速率下的圖形趨勢，隨著掃描速率提升，圖形趨勢從本來介於穩態電流與峰值電流之間慢慢傾向峰值電流趨勢，電流峰值也會跟著增加，而發生極值的位置幾乎相同。

CV 圖的趨勢慢慢改變是因為掃描速率提升會降低電解的時間，進而減少擴散層厚度(δ)，使特性更趨向一般尺寸電極，而我們的循環伏安法展現出來的圖形可逆性較高，因此氧化還原峰電位和電流相較於掃描速率的關係如章節 2.1.3 所提及，氧化與還原峰值發生位置 E_p^a 、 E_p^c 並沒有太大的改變，這代表著使用相同電活性物質的情況下，會傾向於在這個電位時產生更快的反應速率。接著觀察到電流會隨著掃描速率的提升而跟著增加，這是因為瞬間的電荷傳輸量會影響電流峰值大小，當我們提升掃描速率的時候每秒會給予的電位變化量提升，進而使得電流峰值跟著上升，接著我們將四種掃描速率的電流峰值與掃描速率的平方根做圖(圖 4-10(b))，可以發現如同式(2.22)所表示，掃描速率的平方根與電流峰值呈正比且為近乎線性的關係，代表元件對此範圍內掃描速率改變的響應相當好且穩定。

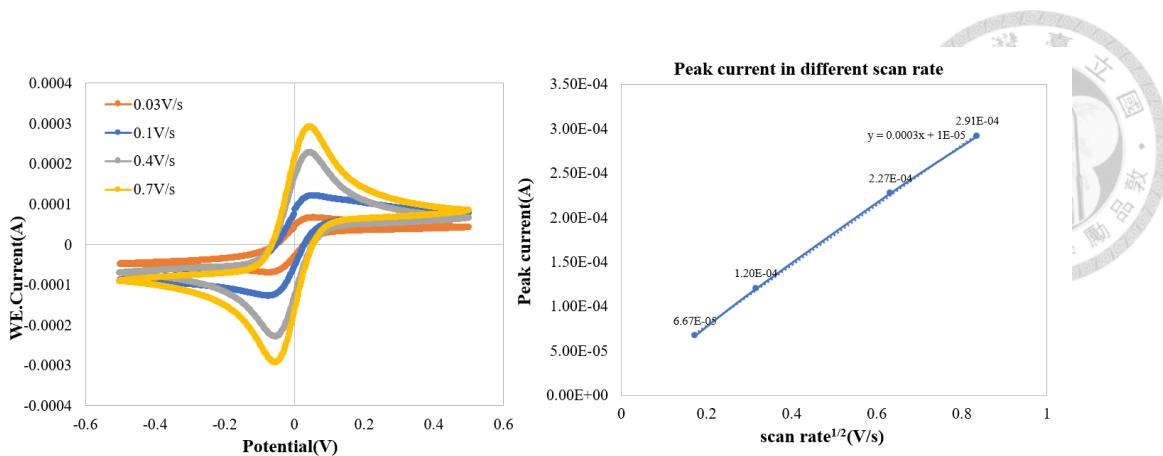


圖 4-10 不同掃描速率下。(a)CV 圖。(b)以掃描速率開根號和對應之峰值電流做圖。

4.7 交換工作電極與輔助電極的選擇

由我們實驗配置的接法可以發現，輔助電極的表面積遠小於工作電極的表面積，以 2k 元件來說，工作電極（下電極(disk electrode)）的總表面積為 $15\mu\text{m} \times 15\mu\text{m} \times \pi \times 2000$ （半徑×半徑×圓周率×洞數）= 1.413mm^2 ，輔助電極（上電極(ring electrode)）的總表面積為 $30\mu\text{m} \times \pi \times 60\text{nm} \times 2000$ （直徑×圓周率×金厚度×洞數）= 0.011304mm^2 ，而如章節 2.1.3 所提，輔助電極的面積如果不夠大會使得電子迴路不完整，因此我們這次將工作電極與輔助電極交換後做量測。

4.7.1 循環伏安法

使用的元件為 2k 元件，溶液選擇溶劑為 0.1M PBS(chloride free)，赤黃血鹽混合液濃度為 10mM 的電解質溶液，循環伏安法用掃描速率 0.03V/s，從電壓值-0.4V 掃到+0.4V 量出的結果疊加如圖 4-11，我們可以發現選擇盤狀電極(disk electrode)為工作電極（橘色線）時電流比較大，這是因為盤狀電極表面積比環狀電極(ring electrode)大非常多所導致，而也可以發現 CV 圖在掃描速率為 0.03V/s 時，橘色線呈現峰值電流趨勢，交換電極接法後（藍色線）CV 圖卻為穩態電流趨勢，這是因

為環狀電極的臨界尺寸（環狀寬度）只有 60 奈米而成為超微電極所導致的。

理論上以表面積大小的差距上來說，兩種情況的電流峰值應該相差甚多(100 倍)，但因為以下原因導致兩者實際電流值相差不到四倍：

1. 當工作電極為盤狀電極（橘色線）之輔助電極面積較小，可能導致電子迴路功能不完整，換句話說，當工作電極為環狀電極（藍色線）情況之輔助電極面積能提供較完整的電子迴路。
2. 即便我們將理想結構上的工作電極與輔助電極面積都計算出來，但在電化學反應中實際參與反應的面積還需另外計算，因此不能由接觸電解質的總表面積來當作參與反應的面積。
3. 當工作電極為環狀電極（藍色線）時，會使元件進入微電極的狀況，增加質傳效應增加電流值。

4.7.2 電化學阻抗分析法

接著使用電化學阻抗分析法，給予 0.1Vrms 的交流正弦信號，由 10000Hz 掃到 10Hz，由圖 4-11(b)可以看出當工作電極為環狀電極（藍色線）時，電荷轉移電阻的值比工作電極為盤狀電極（橘色線）還要大。這也是受到交換電流大小所影響，而我們觀察兩者在高頻區段由 Nyquist 圖擬合的數值，可以發現藍色線的 CPE.N 數值比較低(0.698)，這是因為環狀電極因為等向性濕蝕刻，導致表面不平整，偏離理想值較多。

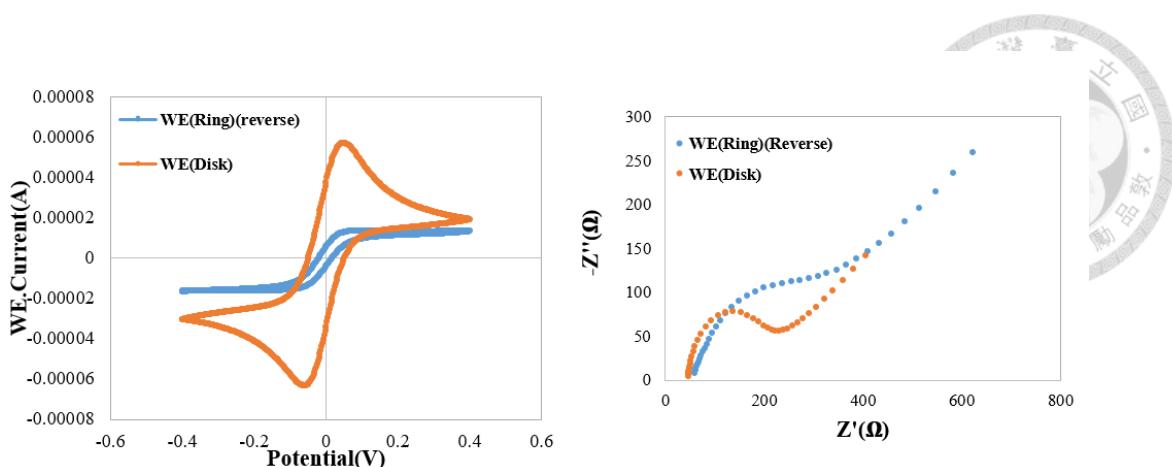


圖 4-11 交換工作電極與輔助電極。(a)CV 圖疊加結果與(b)Nyquist 疊加結果圖。

表 8 CV 圖電流極值與 NOVA 軟體擬合 Nyquist 圖的 R_{ct} 。

	$I_{lim}(\mu A)$	$R_s(\Omega)$	$R_{ct}(\Omega)$	CPE.N
WE(Ring)(reverse)	13.6	54.72	350.47	0.698
WE(Disk)	56.8	45.55	181.79	0.907

在交換工作電極後，環狀電極的臨界尺寸為 60 奈米，我們已經得知微電極結構有增加質傳效應(徑向擴散主宰)、降低充電電流、減少溶液阻抗的影響…等優點，而這些也均適用於奈米尺度電極[72]，透過縮小電極尺寸至微米與奈米等級時，可以執行更加快速的電化學與化學反應，這是因為電極表面的反應物在高速的質傳下不會限制到電荷轉移的過程。另一個好處是增加法拉第電流與充電電流的比值，也是因為增強的質量傳導電流影響法拉第電流。透過設計成微、奈米尺寸電極陣列，每個獨立電極會並行運行從而放大電流，同時也保留著微小電極的良好特性。



Chapter 5 結論與未來展望

5.1 結論

在此論文中，我們成功的製作出 3D 的環狀微電極配合奈米電極間距，並且透過實驗得知元件在不同情況下的特性變化，藉此來得知往後元件結構設計與量測參數的方向。在元件製程時有提到三種不同結構的感應區域，分別是：2000 個直徑為 30 微米的洞 (2k 元件)、4000 個直徑 20 微米 (4k 元件) 以及 18000 個直徑為 10 微米的洞 (18k 元件)。而 18k 元件即使洞口的直徑為 $10\mu\text{m}$ ，但我們可以發現洞與洞之間的距離小於 $2\mu\text{m}$ ，而此線寬可能會因為一些製程上的誤差導致結構的破壞，例如：曝光顯影製程、等向性濕蝕刻所導致的底切現象…等。而儘管元件在結構上是可以接受的，但在量測的過程中會因為鉻金屬與電解液反應而氧化，而鉻的氧化物不穩定會導致金屬掀開，因此無法獲得較穩定的數據，實驗部分僅使用 2k 與 4k 元件做比較。

首先我們用設計的 4k 元件進行循環伏安法，在 0.03V/s 的掃描速率下獲得微電極的 IV 特性(limiting current)，以電化學阻抗分析法得知我們所設計的元件，特性有如常見的電極與電解質界面，不僅可以掌握 CV 圖的電流大小與圖形趨勢，Nyquist 圖也能清楚地看出電荷轉移阻抗(R_{ct})的數值，並且數值相當的低，有利於表面改質後判斷分子鍵結與否。而當我們改變氧化還原物質濃度後，可以發現循環伏安法裡的穩態電流值會隨著濃度提升而提升，並且兩者呈現線性關係，符合穩態電流通式。在電流隨著氧化還原濃度上升而上升的同時，電荷轉移率也會跟著上升 (R_{ct} 的值下降)，但可以發現下降幅度越來越少 (高頻半圓區段趨近穩定)，這表示 R_{ct} 並不是完全受氧化還原物質濃度控制的，因此選擇良好的氧化還原物質濃度，



可以達到理想的 R_{ct} 觀測值也可以控制電流大小，以免造成元件損壞。接著透過使用不同的結構 (2k、4k 元件結構) 我們可以發現，單一電極地尺寸影響整體 CV 圖的特性，尺寸變小的同時不僅改變圖形趨勢也使電流值與電荷轉移率改變，這邊我們推論是因為電流路徑僅流經環盤電極的邊緣，實際參與反應的工作電極(盤狀電極)面積僅占邊緣一小部份，因此較多洞的 4k 元件有較高的電流值與電荷轉移率，而這裡需要日後進行其餘參數的控制才能進一步確定。我們使用 2k 元件在循環伏安法不同掃描速率下觀察 CV 趨勢圖，發現 CV 圖之峰值電流大小正比於掃描速率的平方根，符合 Randles-Sevcik 方程式。交換工作電極與輔助電極的選擇，也可以發現即便是薄至奈米等級的電極表面也能穩定觀測到元件氧化還原特性，並且可以從恆相位角元件(CPE)中看出等向性蝕刻造成環狀電極表面的不光滑。

許多實驗結論都必須要再透過製程的優化、參數的固定以及電極的選擇來做結論，我們將會在未來展望提及。

5.2 未來展望

5.2.1 製程優化

我們可以發現當輔助電極為環電極時，面積與盤狀電極相比過於狹小，使電子迴路受限制，而電化學的電流通過表面積是很難去確定的，因此我們要保證不限流的話要減少工作電極與輔助電極的總面積差距，未來必須要使用奈米球技術(減少單一微孔電極直徑)或增加金屬厚度(增加環狀電極臨界尺寸)，使工作電極與輔助電極的尺寸不致於相差太多。製程也可以進行優化，可將濕蝕刻金屬的部分以感應耦合電漿體(Inductively coupled plasma, ICP RIE)替代，減少等向性蝕刻的發生，增加結構的穩定度，並且將用來協助金與氧化層結合的鉻替換為氧化後緻密度較高

的鉱。期望在未來將此元件製程作改善且透過單一參數結構的改變來觀察元件的響應。



5.2.2 量測部分

- **金屬穩定度**

首先因為免疫傳感器(immunosensor)的很多修飾方法都是在金屬薄膜上面，所以確認金屬的穩定度相當重要，因此日後要在實驗前將使用電子束蒸鍍的金屬試著泡入清水或量測溶液中，進行金屬薄膜的穩定度測量，並且調整金屬厚度來觀察阻抗性變化。

- **氧化還原循環(redox cycling)**

我們將元件設計成環盤狀電極，當工作電極發生氧化反應時，輔助電極會進行還原反應，此現象會產生加成效果，這個加成現象也會來自於可逆的氧化還原循環(redox cycling)，也就是在工作電極的產物增加了輔助電極反應物的濃度，而這也是環盤電極設計的優點，所以在使用循環伏安法後也可以使用掃描電化學顯微鏡(SCEM)進行 RC(redox cycling)模式的量測，進一步得知環盤電極的電流放大增益。

- **電極的選擇**

未來也可以交換參比電極與輔助電極，也就是觀測在輔助電極為鉑金絲(一般尺寸電極)時，改變其餘兩個電極的選擇，進而比較微電極結構設計的影響，不僅可以得到電流與電荷轉移阻抗的響應，也能從中看出微電極陣列的重疊效應(overlapping)對元件的影響。

因實驗部分有許多變數沒有做控制，導致難以給出有說服的結論。在 CV 量測上我們需要比較法拉第電流與非法拉第電流的大小，進而得知不同結構下的信噪比



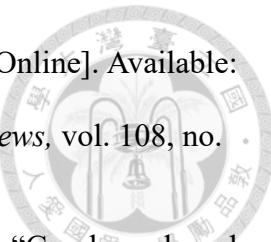
來做比較。實驗要素控制部份，我們先前的實驗使用的結構沒有固定單一參數，日後可將我們元件感應區域部份的四個參數分別控制：單一孔徑大小、洞與洞之間的距離、洞的總數量、上下電極間距（氧化層厚度）。我們可以固定其他三項來單獨觀測一種參數的影響。期望未來做結構與量測方式的調整來獲得更有說服力的結論，進而使元件在縮小尺寸的同時的能掌握各項優缺點。

參考文獻

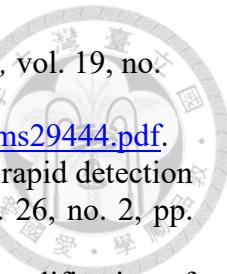


- [1] 大島有美子, “聯合國報告：2050 年老人人口比例將達 1/6,” ed: 日本經濟新聞（中文版：日經中文網）, 2019.[Online]. Available: <https://zh.cn.nikkei.com/politicsaeconomy/politicsasociety/35000-2019-04-03-08-59-28.html>
- [2] P. B. Luppa, C. Müller, A. Schlichtiger, and H. Schlebusch, “Point-of-care testing (POCT): Current techniques and future perspectives,” *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, vol. 30, no. 6, pp. 887-898, 2011. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7125710/pdf/main.pdf>.
- [3] B. Srinivasan and S. Tung, “Development and applications of portable biosensors,” *Journal of laboratory automation*, vol. 20, no. 4, pp. 365-389, 2015.
- [4] 國際中心／游舒婷報導, “不斷更新／全球確診逾5.2億！病歿630萬十
大疫區曝,” , 2022. [Online]. Available: <https://www.setn.com/News.aspx?NewsID=1120714>
- [5] K. Stulík, C. Amatore, K. Holub, V. Marecek, and W. Kutner, “Microelectrodes. Definitions, characterization, and applications (Technical report),” *Pure and Applied Chemistry*, vol. 72, no. 8, pp. 1483-92, 2000.
- [6] F. W. Scheller, U. Wollenberger, A. Warsinke, and F. Lisdat, “Research and development in biosensors,” *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 12, no. 1, pp. 35-40, 2001.
- [7] J. V. Rushworth and N. A. Hirst, “Impedimetric biosensors for medical applications: current progress and challenges,” 2013.
- [8] D. Grieshaber, R. MacKenzie, J. Vörös, and E. Reimhult, “Electrochemical biosensors-sensor principles and architectures,” *Sensors*, vol. 8, no. 3, pp. 1400-1458, 2008. [Online]. Available: https://mdpi-res.com/d_attachment/sensors/sensors-08-01400/article_deploy/sensors-08-01400.pdf?version=1403308044.
- [9] J. H. Luong, K. B. Male, and J. D. Glennon, “Biosensor technology: technology push versus market pull,” *Biotechnology advances*, vol. 26, no. 5, pp. 492-500, 2008.
- [10] L. C. Clark Jr and C. Lyons, “Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery,” *Annals of the New York Academy of sciences*, vol. 102, no. 1, pp. 29-45, 1962.
- [11] S. J. Updike and G. P. Hicks, “The enzyme electrode,” *Nature*, vol. 214, no. 5092, pp. 986-988, 1967. [Online]. Available: <https://www.nature.com/articles/214986a0>.
- [12] M. Keyes, F. Semersky, and D. Gray, “Glucose analysis utilizing immobilized enzymes,” *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 1, no. 2, pp. 91-94, 1979.
- [13] U. Jönsson *et al.*, “Real-time biospecific interaction analysis using surface plasmon resonance and a sensor chip technology,” *Biotechniques*, vol. 11, no. 5, pp. 620-627, 1991.
- [14] W. Zhang and G. Li, “Third-generation biosensors based on the direct electron transfer of proteins,” *Analytical sciences*, vol. 20, no. 4, pp. 603-609, 2004. [Online]. Available: https://www.jstage.jst.go.jp/article/analsci/20/4/20_4_603/_pdf.

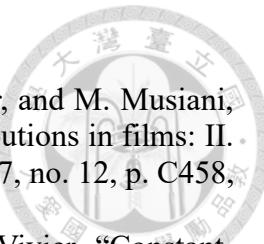
- [15] Y. Krishnan and F. C. Simmel, “Nucleic acid based molecular devices,” *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 50, no. 14, pp. 3124-3156, 2011. [Online]. Available: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/anie.200907223>.
- [16] P. J. Conroy, S. Hearty, P. Leonard, and R. J. O’Kennedy, “Antibody production, design and use for biosensor-based applications,” in *Seminars in cell & developmental biology*, 2009, vol. 20, no. 1: Elsevier, pp. 10-26.
- [17] M. Zourob, S. Elwary, and A. P. Turner, *Principles of bacterial detection: biosensors, recognition receptors and microsystems*. Springer Science & Business Media, 2008.
- [18] J. Homola, S. S. Yee, and G. Gauglitz, “Surface plasmon resonance sensors,” *Sensors and actuators B: Chemical*, vol. 54, no. 1-2, pp. 3-15, 1999.
- [19] J. Homola, “Surface plasmon resonance sensors for detection of chemical and biological species,” *Chemical reviews*, vol. 108, no. 2, pp. 462-493, 2008. [Online]. Available: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cr068107d>.
- [20] E. Hutter and J. H. Fendler, “Exploitation of localized surface plasmon resonance,” *Advanced materials*, vol. 16, no. 19, pp. 1685-1706, 2004.
- [21] K. M. Mayer and J. H. Hafner, “Localized surface plasmon resonance sensors,” *Chemical reviews*, vol. 111, no. 6, pp. 3828-3857, 2011. [Online]. Available: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cr100313v>.
- [22] X. Fan, I. M. White, S. I. Shopova, H. Zhu, J. D. Suter, and Y. Sun, “Sensitive optical biosensors for unlabeled targets: A review,” *analytica chimica acta*, vol. 620, no. 1-2, pp. 8-26, 2008.
- [23] A. Janshoff, H. J. Galla, and C. Steinem, “Piezoelectric mass-sensing devices as biosensors—an alternative to optical biosensors?,” *Angewandte Chemie International Edition*, vol. 39, no. 22, pp. 4004-4032, 2000. [Online]. Available: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1521-3773\(20001117\)39:22%3C4004::AID-ANIE4004%3E3.0.CO;2-2](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/1521-3773(20001117)39:22%3C4004::AID-ANIE4004%3E3.0.CO;2-2).
- [24] K. A. Marx, “Quartz crystal microbalance: a useful tool for studying thin polymer films and complex biomolecular systems at the solution– surface interface,” *Biomacromolecules*, vol. 4, no. 5, pp. 1099-1120, 2003. [Online]. Available: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bm020116i>.
- [25] M. Voinova, M. Jonson, and B. Kasemo, “‘Missing mass’ effect in biosensor’s QCM applications,” *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 17, no. 10, pp. 835-841, 2002.
- [26] R. Raiteri, M. Grattarola, H.-J. Butt, and P. Skládal, “Micromechanical cantilever-based biosensors,” *Sensors and Actuators B: Chemical*, vol. 79, no. 2-3, pp. 115-126, 2001.
- [27] C. Ziegler, “Cantilever-based biosensors,” *Analytical and bioanalytical chemistry*, vol. 379, no. 7, pp. 946-959, 2004.
- [28] P. S. Waggoner and H. G. Craighead, “Micro-and nanomechanical sensors for environmental, chemical, and biological detection,” *Lab on a Chip*, vol. 7, no. 10, pp. 1238-1255, 2007. [Online]. Available: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2007/LC/b707401h>.
- [29] F. Patolsky, G. Zheng, and C. M. Lieber, “Nanowire-based biosensors,” ed: ACS Publications, 2006.
- [30] Y. Cui, Q. Wei, H. Park, and C. M. Lieber, “Nanowire nanosensors for highly sensitive and selective detection of biological and chemical species,” *science*, vol. 293, no. 5533, pp. 1289-1292, 2001.
- [31] T. G. Drummond, M. G. Hill, and J. K. Barton, “Electrochemical DNA sensors,”



- Nature biotechnology*, vol. 21, no. 10, pp. 1192-1199, 2003. [Online]. Available: <https://www.nature.com/articles/nbt873>.
- [32] J. Wang, “Electrochemical glucose biosensors,” *Chemical reviews*, vol. 108, no. 2, pp. 814-825, 2008. [Online]. Available: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/cr068123a>.
- [33] Y. Shao, J. Wang, H. Wu, J. Liu, I. A. Aksay, and Y. Lin, “Graphene based electrochemical sensors and biosensors: a review,” *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, vol. 22, no. 10, pp. 1027-1036, 2010.
- [34] C.-S. Chen, K.-N. Chang, Y.-H. Chen, C.-K. Lee, B. Y.-J. Lee, and A. S.-Y. Lee, “Development of a label-free impedance biosensor for detection of antibody–antigen interactions based on a novel conductive linker,” *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 26, no. 6, pp. 3072-3076, 2011.
- [35] M. A. Cooper, “Optical biosensors in drug discovery,” *Nature reviews Drug discovery*, vol. 1, no. 7, pp. 515-528, 2002. [Online]. Available: <https://www.nature.com/articles/nrd838>.
- [36] G. Gauglitz, “Direct optical detection in bioanalysis: an update,” *Analytical and bioanalytical chemistry*, vol. 398, no. 6, pp. 2363-2372, 2010. [Online]. Available: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00216-010-3904-4>.
- [37] H. Muramatsu, J. M. Dicks, E. Tamiya, and I. Karube, “Piezoelectric crystal biosensor modified with protein A for determination of immunoglobulins,” *Analytical Chemistry*, vol. 59, no. 23, pp. 2760-2763, 1987.
- [38] N. V. Lavrik, M. J. Sepaniak, and P. G. Datskos, “Cantilever transducers as a platform for chemical and biological sensors,” *Review of scientific instruments*, vol. 75, no. 7, pp. 2229-2253, 2004.
- [39] P. Singh, S. K. Pandey, J. Singh, S. Srivastava, S. Sachan, and S. K. Singh, “Biomedical perspective of electrochemical nanobiosensor,” *Nano-micro letters*, vol. 8, no. 3, pp. 193-203, 2016. [Online]. Available: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6223677/pdf/40820_2015_Article_77.pdf.
- [40] M. Gerard, A. Chaubey, and B. Malhotra, “Application of conducting polymers to biosensors,” *Biosensors and bioelectronics*, vol. 17, no. 5, pp. 345-359, 2002.
- [41] C. Berggren, B. Bjarnason, and G. Johansson, “Capacitive biosensors,” *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, vol. 13, no. 3, pp. 173-180, 2001.
- [42] 5417LAB 儀器, “pH 酸鹼度計原理,” 2019. [Online]. Available: <https://lab5417.pixnet.net/blog/post/279480304-ph%E9%85%B8%E9%B9%BC%E5%BA%A6%E8%A8%88%E5%8E%9F%E7%90%86>.
- [43] A. Newman, K. Hunter, and W. Stanbro, “The capacitive affinity sensor: a new biosensor,” in *Proc. 2nd Int. Meeting Chem. Sensors*, 1986, pp. 596-598.
- [44] 百科知識, ed. <https://www.easyatm.com.tw/wiki/%E5%8F%89%E6%8C%87%E9%9B%BB%E6%A5%B5>
- [45] R. F. Taylor, I. G. Marenchic, and E. J. Cook, “An acetylcholine receptor-based biosensor for the detection of cholinergic agents,” *Analytica Chimica Acta*, vol. 213, pp. 131-138, 1988.
- [46] J. S. Daniels and N. Pourmand, “Label-free impedance biosensors: Opportunities and challenges,” *Electroanalysis: An International Journal*



- Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, vol. 19, no. 12, pp. 1239-1257, 2007. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2174792/pdf/nihms29444.pdf>.
- [47] L. Yang and R. Bashir, “Electrical/electrochemical impedance for rapid detection of foodborne pathogenic bacteria,” *Biotechnology advances*, vol. 26, no. 2, pp. 135-150, 2008.
- [48] A. Bardea, F. Patolsky, A. Dagan, and I. Willner, “Sensing and amplification of oligonucleotide-DNA interactions by means of impedance spectroscopy: a route to a Tay–Sachs sensor,” *Chemical Communications*, no. 1, pp. 21-22, 1999.
- [49] M. Jie, C. Y. Ming, D. Jing, L. S. Cheng, F. Jun, and C. Y. Xiang, “An electrochemical impedance immunoanalytical method for detecting immunological interaction of human mammary tumor associated glycoprotein and its monoclonal antibody,” *Electrochemistry communications*, vol. 1, no. 9, pp. 425-428, 1999.
- [50] L. Yang, Y. Li, and G. F. Erf, “Interdigitated array microelectrode-based electrochemical impedance immunosensor for detection of Escherichia coli O157: H7,” *Analytical chemistry*, vol. 76, no. 4, pp. 1107-1113, 2004. [Online]. Available: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac0352575>.
- [51] C. G. Zoski, “Ultramicroelectrodes: design, fabrication, and characterization,” *Electroanalysis: An International Journal Devoted to Fundamental and Practical Aspects of Electroanalysis*, vol. 14, no. 15-16, pp. 1041-1051, 2002.
- [52] K. Fu, D. Han, C. Ma, and P. W. Bohn, “Electrochemistry at single molecule occupancy in nanopore-confined recessed ring-disk electrode arrays,” *Faraday discussions*, vol. 193, pp. 51-64, 2016. [Online]. Available: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2016/FD/C6FD00062B>.
- [53] G. Torrie and J. Valleeau, “Electrical double layers. 4. Limitations of the Gouy-Chapman theory,” *The Journal of Physical Chemistry*, vol. 86, no. 16, pp. 3251-3257, 1982.
- [54] 微文庫-研之成理,“電化學基礎知識分享（四）：電化學中的三電極體系及選擇標準,” 2018. https://www.gushiciku.cn/dc_tw/105943599
- [55] “ZENSOR R&D 1.1 電化學系統,” 2016. <https://www.zensor.com.tw/Article09.html>
- [56] C. Chen, “三电极体系工作原理,” 2021. <https://blog.csdn.net/chenhuanqiangnihao/article/details/115939675>
- [57] 魏淑宜,“以電化學方法研究 Co/Cu(111)薄膜結構與磁特性,” in 物理學系 vol. 碩士, ed. 台北市: 國立臺灣師範大學, 2007, p. 163.
- [58] 想学电化学阻抗谱 (EIS) ? 这篇可能是目前最好的干货, 2018. [Online]. Available: <https://zhuanlan.zhihu.com/p/29092156>.
- [59] G. INSTRUMENTS. “Basics of Electrochemical Impedance Spectroscopy.” <https://www.gamry.com/application-notes/EIS/basics-of-electrochemical-impedance-spectroscopy/> (accessed).
- [60] 吳慧屏,“奈米管染料敏化太陽能電池的製備與鑑識及其交流阻抗圖譜的研究,” in 應用化學研究所 vol. 碩士, ed. 新竹市: 國立交通大學, 2010, p. 38.
- [61] E. Bidóia, L. Bulhoes, and R. Rocha-Filho, “Pt/HClO₄ interface CPE: influence of surface roughness and electrolyte concentration,” *Electrochimica acta*, vol. 39, no. 5, pp. 763-769, 1994.
- [62] U. Rammelt and G. Reinhard, “On the applicability of a constant phase element (CPE) to the estimation of roughness of solid metal electrodes,” *Electrochimica*



- [63] *Acta*, vol. 35, no. 6, pp. 1045-1049, 1990.
- [63] B. Hirschorn, M. E. Orazem, B. Tribollet, V. Vivier, I. Frateur, and M. Musiani, “Constant-phase-element behavior caused by resistivity distributions in films: II. Applications,” *Journal of The Electrochemical Society*, vol. 157, no. 12, p. C458, 2010.
- [64] M. Musiani, M. E. Orazem, N. Pébère, B. Tribollet, and V. Vivier, “Constant-phase-element behavior caused by coupled resistivity and permittivity distributions in films,” *Journal of The Electrochemical Society*, vol. 158, no. 12, p. C424, 2011.
- [65] 超微电极 *Ultramicroelectrode*, 2020. [Online]. Available: <https://zhuanlan.zhihu.com/p/137105428>.
- [66] Polyplastics, “工程樹脂之表面改質技術,” ed, 2012.
- [67] H. H. Tawfik, M. Y. Elsayed, F. Nabki, and M. N. El-Gamal, “Hard-baked photoresist as a sacrificial layer for sub-180 C surface micromachining processes,” *Micromachines*, vol. 9, no. 5, p. 231, 2018.
- [68] SINTI, “F20 单点膜厚测量仪,” 2020. <http://www.shnti.com/index/product/info?id=11>
- [69] KEYENCE, “接觸式表面粗糙度、輪廓測量儀,” 2018. https://www.keyence.com.tw/ss/products/microscope/roughness/equipment/surface_01.jsp
- [70] 電漿表面改質技術, 2018. [Online]. Available: https://foundation.nmns.edu.tw/writing/hotnews2_detail.php?gid=11&id=1371.
- [71] L. M. M. Ferro, A. de Barros, L. O. Z. Falsetti, C. C. Corrêa, L. Merces, and C. C. B. Bufon, “Highly efficient electrochemical energy conversion in a 3D hollow microenvironment: towards on-a-chip sensor applications,” *Journal of Materials Chemistry A*, vol. 8, no. 38, pp. 19855-19865, 2020.
- [72] D. W. Arrigan, “Nanoelectrodes, nanoelectrode arrays and their applications,” *Analyst*, vol. 129, no. 12, pp. 1157-1165, 2004. [Online]. Available: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2004/AN/b415395m>.