

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl<sup>6</sup>

G01N 27/30  
G01N 33/50



# [12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 96102583.2

[43]公开日 1997年3月26日

[11] 公开号 CN 1146016A

[22]申请日 96.2.28

[30]优先权

[32]95.2.28 [33]JP[31]40157/95

[32]95.3.30 [33]JP[31]72585/95

[71]申请人 松下电器产业株式会社

地址 日本大阪

[72]发明人 吉冈俊彦 池田信 南海史朗

[74]专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

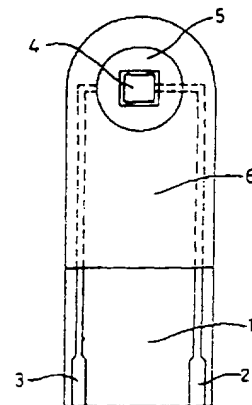
代理人 程 伟

权利要求书 3 页 说明书 17 页 附图页数 4 页

[54]发明名称 生物传感器

[57]摘要

本发明的生物传感器包含一个电绝缘的基板；一个形成在该基板上并含有一个工作电极和一个反电极的电极系统；以及一个形成在该基板上或者形成在该基板上并与其之间有一个间隙的反应层。该反应层含有一种氧化吡喃糖的酶。



(BJ)第 1456 号

## 权 利 要 求 书

---

1、一种生物传感器，它包括：

一个电绝缘的基板；

一个形成在该基板上并包括一个工作电极和一个反电极的电极系统；以及

一个形成在该基板上或者形成在该基板上并与其基板之间有一间隙的反应层，

其中的反应层含有一种氧化吡喃糖的酶。

2、根据权利要求1的生物传感器，其中的氧化吡喃糖的酶是吡喃糖氧化酶（E C 1 . 1 . 3 . 1 0 ）。

3、根据权利要求1的生物传感器，其中的反应层还含有葡萄糖氧化酶（E C 1 . 1 . 3 . 4 ）。

4、根据权利要求1的生物传感器，其中的反应层还含有一种电子受体。

5、根据权利要求3的生物传感器，其中的反应层还含有一种电子受体。

6、根据权利要求4的生物传感器，其中的电子受体是一种氰铁酸根离子。

7、根据权利要求5的生物传感器，其中的电子受体是一种氰铁酸根离子。

8、根据权利要求1的生物传感器，其中的反应层还含有一种多糖水解酶。

9、根据权利要求8的生物传感器，其中的多糖水解酶选自由蔗糖水解酶、麦芽糖水解酶、和乳糖水解酶所组成组。

10、根据权利要求1的生物传感器，其中氧化吡喃糖的酶的含量为每平方厘米的反应层中1 至约2 0 0

个单位。

1 1、根据权利要求3的生物传感器，其中氧化吡喃糖的酶的含量为每平方厘米的反应层中约0.1至约200个单位。

1 2、根据权利要求6的生物传感器，其中氧化吡喃糖的酶和氰铁酸根离子的含量分别为每平方厘米的反应层中1至约200个单位和约0.21 mg至约3.30 mg。

1 3、根据权利要求7的生物传感器，其中氧化吡喃糖的酶、葡萄糖氧化酶、和氰铁酸根离子的含量分别为每平方厘米的反应层中约0.1至约200个单位、1至约200个单位、和约0.21 mg至约3.30 mg。

1 4、根据权利要求1的生物传感器，其中的生物传感器用来测量血葡萄糖水平。

1 5、一种用来定量测定含在样品液体中底物的生物传感器，它通过还原由底物的酶反应所产生的电子受体，并利用电化学技术测量处于还原形态的电子受体的量来测定底物，该生物传感器包括：

一个电绝缘的基板；

一个形成在该基板上并且含有一个工作电极和一个反电极的电极系统；以及

一个形成在该底物上或者形成在该基板的上方并与该基板之间有一个间隙的反应层，

其中的反应层含有一种氧化吡喃糖的酶和电子受体。

1 6、根据权利要求15的生物传感器，其中的反应层还含有葡萄糖氧化酶 (EC 1.1.3.4)。

1 7、根据权利要求15的生物传感器，其中的生

物传感器是一种葡萄糖传感器。

1 8 、根据权利要求1 5 的生物传感器，其中的生物传感器用于测量血葡萄糖水平。

# 说 明 书

---

## 生物传感器

本发明涉及一种生物传感器，它能够精确、快速和容易地定量测定含在例如全血液、血浆、血清、尿液、果汁之类的样品液体中的底物（特定成分）。较具体地说，本发明涉及一种葡萄糖传感器，它通过使葡萄糖与一种能够和葡萄糖起特异反应的氧化还原酶作用而用电化学技术测量含在样品液体中的葡萄糖浓度。

作为定量分析糖类（例如蔗糖和葡萄糖）的手段，已经开发了各种方法，例如旋光法、比色法、还原滴定法（*r e d u c t i m e t r y*）以及其他利用各种色谱分析的方法等。然而，这些方法中没有一个具有足够高的精度，这是因为它们对糖类的特异性不是很高。在这些方法中，旋光法可以容易地实现，但已知它受到工作温度的很大影响。

近来，开发了各种类型的生物传感器，它们不需要稀释和搅拌样品液体就能够容易地定量测定含在例如生物样品和食品等样品液体中的特定成分（底物）。

例如，日本专利公开NO. 3 - 2 0 2 7 4 6 公开了一种生物传感器，它包括一个用网板印刷之类方法形成在一个绝缘基板上的电极系统和一个形成在该电极系统上的反应层，该反应层含有一种亲水聚合物，一种氧化还原酶、和一种电子受体。用这种生物传感器测量样品液体中的底物浓度是如下进行的。首先，把样品液体滴在生物传感器的反应层上，使反应层溶解。这使得在样品液体中的底物和反应层中的氧化还原酶之间发生酶

反应，然后反应层中的电子受体被还原。酶反应完成之后，用电化学技术使还原的电子受体氧化，由此根据该氧化过程中所得到的氧化电流来测量样品液体中的底物浓度。

美国专利NO. 5, 192, 415公开了一种生物传感器，它包括一个氢离子浓度控制层，这个层不需要预先调整样品液体的pH值就能够按照含在反应层中的氧化还原酶的种类来优化样品液体的pH值。

美国专利NO. 5, 264, 103公开了一种生物传感器，它包括一个形成在一个电绝缘基板上的主电极系统，该电极系统含有一个工作电极和一个反电极；一个含有一种氧化还原酶的反应层；以及一个亚电极层，该亚电极层离开主电极系统有一个间隔，并含有一个工作电极和一个反电极。

这些生物传感器有很广的应用范围，例如，通过适当地选择含在反应层中的氧化还原酶，可以用作葡萄糖传感器、乙醇传感器、胆固醇传感器、或者氨基酸传感器。

在这些生物传感器中，众所周知葡萄糖传感器含有葡萄糖氧化酶作为氧化还原酶。不过，这种葡萄糖传感器有下述问题。在葡萄糖的各种同分异构体中，葡萄糖氧化酶只和 $\beta$ -葡萄糖起反应，而在平衡状态下后者所占的比例为63%。因此，这种葡萄糖传感器所获得的响应电流值（也就是检测灵敏度）太小，使得例如在定量测定极小量的葡萄糖时测量误差太大。

此外，当用这种葡萄糖传感器来定量测定多糖时，由水解酶(hydrolyase)所产生的大多数葡萄糖是 $\alpha$ -葡萄糖，因此在定量测定之前，需要一个额外

的步骤，用一种变旋酶 (mutarotase) 把经水解产生的  $\alpha$ -葡萄糖转化为其同分异构体  $\beta$ -葡萄糖。

日本专利申请NO. 6-291401 (尚未公布) 涉及到一种既含有变旋酶又含有葡萄糖氧化酶的生物传感器。不过，在该生物传感器中，当这些酶的总量小的时候探测灵敏度不能得到足够的改善，而当这些酶的总量大的时候生产成本将增大。还有，当样品液体中的底物浓度比较大时，这种既含有变旋酶又含有葡萄糖氧化酶的生物传感器的探测灵敏度要低于没有变旋酶的生物传感器。

本发明的生物传感器包括：一个电绝缘的基板；一个形成在基板上并含有一个工作电极和一个反电极 (counter electrode) 的电极系统；以及一个形成在基板上或形成在基板上方并与基板之间有一个间隙的反应层。该反应层包含有一种氧化吡喃糖的酶。

在一个实施方案中，该氧化吡喃糖的酶 (pyranose-oxidizing enzyme) 是吡喃糖氧化酶 (pyranose oxidase) (EC 1.1.3.10)。

在另一个实施方案中，反应层还含有葡萄糖氧化酶 (EC 1.1.3.4)。

在再一个实施方案中，反应层还含有一种电子受体。

在再一个实施方案中，该电子受体是一种氰铁酸根离子。

在再一个实施方案中，反应层还含有多糖水解酶。

在再一个实施方案中，该多糖水解酶选自由蔗糖水解酶、麦芽糖水解酶和乳糖水解酶组成的组。

在一个实施方案中，氧化吡喃糖的酶的含量是每平方厘米的反应层中1 至约2 0 0 个单位。

在再一个实施方案中，氧化吡喃糖的酶的含量是每平方厘米的反应层中约0 . 1 至约2 0 0 个单位。

在再一个实施方案中，氧化吡喃糖的酶和氰铁酸根离子的含量分别是每平方厘米的反应层中1 至约2 0 0 个单位和约0 . 2 1 mg 至约3 . 3 0 mg 。

在再一个实施方案中，氧化吡喃糖的酶、葡萄糖氧化酶、和氰铁酸根离子的含量分别是每平方厘米的反应层中约0 . 1 至约2 0 0 个单位、1 至约2 0 0 个单位、和约0 . 2 1 mg 至约3 . 3 0 mg 。

在一个实施方案中，该生物传感器用来测量血（葡萄）糖水平。

或者，本发明的用来定量测定含在样品液体中的底物的生物传感器的测定原理是，利用一个通过底物的酶反应而产生的电子来还原电子受体，并利用电化学技术来测量处于还原形态的电子受体的数量，该生物传感器包括：一个电绝缘的基板；一个形成在该基板上并含有一个工作电极和一个反电极的电极系统；以及一个形成在基板上或形成在基板上方并与基板之间有一个间隙的反应层。该反应层含有一种氧化吡喃糖的酶和电子受体。

在一个实施方案中，该反应层还含有葡萄糖氧化酶（E C 1 . 1 . 3 . 4 ）。

在另一个实施方案中，该生物传感器是一种葡萄糖传感器。

在再一个实施方案中，该生物传感器用来测量血（葡萄）糖水平。

这样，这里所说明的本发明使下述优点成分可能：



(1) 提供一种能够通过同时探测 $\alpha$ -葡萄糖和 $\beta$ -葡萄糖而精确、快速地测量样品液体中的底物浓度的生物传感器；(2) 提供一种能够容易地测量含有多糖的样品液体中的底物浓度的生物传感器；以及(3) 提供一种能够以低成本制作的生物传感器。

对于熟悉本技术领域的人们来说，当他们阅读并理解了下面参考附图所作的详细说明之后，本发明的这些优点和其他优点将变得明显。

附图的简单说明如下：

图1 是作为本发明的一个例子的生物传感器的原理性平面图，其中略去了反应层；

图2 是作为本发明的一个例子的生物传感器的原理性截面图，其中的反应层直接设置在基板上；

图3 是作为本发明的一个例子的生物传感器的原理性截面图，其中的反应层设置在基板上方，与基板之间有一个间隙。

图4 是示出葡萄糖浓度和由根据本发明的一个例子和其他用作比较的例子的生物传感器所获得的响应电流值之间的关系关系的图；其中，曲线(a) 示出使用同时含有吡喃糖氧化酶(以下写成P y O x)和葡萄糖氧化酶(以下写成G O D)的反应层时所获得的响应电流值的变化，曲线(b) 示出使用仅含有G O D的反应层时所获得的响应电流值的变化，以及曲线(c) 示出使用仅含有P y O x的反应层时所获得的响应电流值的变化；以及

图5 是示出血(葡萄)糖浓度和由根据本发明的一个例子和其他用作比较的例子的葡萄糖传感器所获得的响应电流值之间的关系关系的图；其中，曲线(a) 示出使

用同时含有P y O x 和G O D 的反应层时所获得的响应电流值的变化，曲线 (b ) 示出使用仅把G O D 作为氧化还原酶的反应层时所获得的响应电流值的变化，以及曲线 (c ) 示出使用仅含有P y O x 的反应层时所获得的响应电流值的变化。

本发明的一种生物传感器包括：一个电绝缘的基板；一个形成在该基板上并含有一个工作电极和一个反电极的电极系统；以及一个形成在该基板上或者形成在该基板上方并与该基板之间有一个间隙的反应层。

电绝缘基板由一个合成树脂平板，例如聚对苯二甲酸乙二酯、聚乙烯、聚脂、聚丙烯、聚苯乙烯、和聚氯乙烯等的平板所做成。

含有工作电极和反电极的电极系统可以用已知的方法形成在基板上。例如，在基板上形成引线之后，再形成工作电极和反电极，使它们与各自的引线相连接，并且互相绝缘。引线和电极的材料可以是任何已知的导电材料，例如碳、银、铂、金和钯。

本生物传感器中所使用的反应层含有一种能够同时使 $\alpha$ -葡萄糖和 $\beta$ -葡萄糖氧化的氧化吡喃糖的酶。这种氧化吡喃糖的酶的一个例子是吡喃糖氧化酶 (E C 1 . 1 . 3 . 1 0 ; P y O x ) 。

本生物传感器反应层中的P y O x 的含量优选为每平方厘米的反应层中1 至约2 0 0 个单位，更优选为约2 至约5 0 个单位。这里“单位”一词是指，在一分钟内使1  $\mu$ m o l (微摩尔) 的葡萄糖或多糖氧化所需的氧化还原酶的量。当P y O x 的含量小于每平方厘米的反应层中1 个单位时，则需要增加几分钟或更多的额外测量时间。此外，由于在这附加时间内样品液体的蒸发，

可能会影响到响应电流的值。每平方厘米的反应层中超过200个单位的 $\text{PyOx}$ 含量不仅将增加产品的成本,而且还因为在形成反应层时会造成损坏,将引起响应电流值的不稳定。

为了进一步改善样品液体中葡萄糖的检测灵敏度,并使葡萄糖传感器能够响应于较宽的葡萄糖浓度范围,反应层除了含有氧化吡喃糖的酶之外还可以含有葡萄糖氧化酶( $\text{EC } 1.1.3.4$ ;  $\text{GOD}$ )。 $\text{GOD}$ 的含量优选每平方厘米的反应层中1至约200个单位。当 $\text{GOD}$ 和 $\text{PyOx}$ 一起使用时, $\text{PyOx}$ 的含量优选每平方厘米的反应层中约0.1至约200个单位,更优选为约0.2至约40个单位。

反应层还可以含有各种亲水性聚合物。这种亲水性聚合物的例子有:羧基甲基纤维素(以下写作 $\text{CMC}$ ),羟乙基纤维素( $\text{HEC}$ ),羟丙基纤维素( $\text{HPC}$ ),甲基纤维素,乙基纤维素,乙基羟乙基纤维素,羧基甲基乙基纤维素,聚乙烯基吡咯烷酮、聚乙烯醇,例如聚赖氨酸的聚氨基酸,聚苯乙烯磺酸,乳胶或其衍生物,丙烯酸或其盐,甲基丙烯酸或其盐类,淀粉或其衍生物,以及马来酐或其盐类特别地,优选为 $\text{CMC}$ 。

当把含有葡萄糖的样品液体施加在本生物传感器的反应层上时,样品液体中的 $\alpha$ -葡萄糖和 $\beta$ -葡萄糖分别被氧化吡喃糖的酶氧化。同时,样品液体中溶解的氧被还原成过氧化氢。如果这时加上电压,则该过氧化氢被氧化。在这个氧化过程中所产生的响应电流正比于过氧化氢的浓度,也即正比于样品液体中底物的浓度。这样,通过测量响应电流值就可以获得样品液体中的底物浓度。

在本生物传感器中，反应层可以含有一种电子受体，使得不再是在底物氧化反应同时产生过氧化氢，而是在酶反应的同时形成电子受体的还原形态。电子受体的例子有二氰铁酸根离子、p - 苯醌或其衍生物、吩嗪硫酸甲酯 (phenazine methosulfate)、亚甲蓝、以及二茂铁或其衍生物。可以使用一种或多种电子受体。特别地，优选为氰铁酸根离子。

氰铁酸根离子的含量优选为每平方厘米的反应层中约0.21至约3.30 mg，更优选为约0.30至约2.59 mg。当氰铁酸根离子的含量小于每平方厘米的反应层中约0.21 mg时，可测的葡萄糖浓度范围可能极小。当氰铁酸根离子的含量大于每平方厘米的反应层中约3.30 mg时，则因为反应层在形成时可能被损坏，从而可能引起反应电流值的不稳定，而且该生物传感器在储藏期间其可靠度可能下降。

本生物传感器中所用的反应层还可以含有一种多糖水解酶，用来使多糖水解以产生 $\alpha$ -葡萄糖。多糖水解酶是一种能够使例如蔗糖和麦芽等多糖水解以产生葡萄糖的酶。这种多糖水解酶的例子有：例如转化酶（以下写作INV）等蔗糖水解酶，麦芽糖酶等麦芽糖水解酶，以及 $\beta$ -半乳糖苷酶等乳糖水解酶。多糖水解酶的含量优选是每方厘米的反应层中1至约400个单位，更优选为约2至约200个单位。

下面将参考图1和2来说明本生物传感器的制作方法。

首先，用网板印刷法在电绝缘基板1上印刷例如银浆这样的导电材料，由此形成引线2和3。然后把另一种含有树脂粘合剂的导电材料印刷在基板1上，由此形

成一个工作电极4，并使之与引线2相连接。

然后在基板1上印刷绝缘浆，由此形成一个绝缘层6。绝缘层6复盖了工作电极4的周边区域，只露出工作电极4的一个固定的面积。如图1所示，绝缘层6也复盖了引线2和3的一部分。环绕工作电极4形成一个由含有树脂粘合剂的导电材料所做成的环形反电极5。反电极5与引线3相连接。这样，就在基板1上形成了一个包括工作电极4和反电极5的电极系统8。

或者，本生物传感器也可以包括一个形成在基板1上的三电极系统，它除了工作电极4和反电极5之外还包括一个参考电极（未示出），其目的是进一步稳定测量精度。

反应层以下述方法形成在基板1上：

把亲水性聚合物的水溶液滴在电极系统8上并使之干燥，由此形成一个亲水性聚合物层。然后，把一种含有 $P y O x$ ，并且在需要时还含有电子受体和/或多糖水解酶的水溶液滴在亲水性聚合物层上，并使之干燥。为了重复使用本生物传感器，可以通过与戊二醛的交联固定在亲水性聚合物层上，或者与聚合物材料一起把氧化吡喃糖的酶和需要时的多糖水解酶固定在亲水性聚合物层上，其中的聚合物材料例如有：硝化纤维素、醋酸纤维素、和聚丙烯腈。再有，如果需要，可以利用聚合物材料把电子受体以化学方法固定在亲水性聚合物层上。这样，如图2所示，就可以形成一个复盖整个电极系统8的反应层7。

或者，反应层也可以位在基板1上方，与基板1之间有一个间隙。在该情形下，如图3所示，该生物传感器包括一个基板1和一个位在基板1上方的盖板30，

两者之间夹有一个间隔器2 0。盖板3 0 包含一个孔3 1 和一个形成在其一个表面上的反应层3 7。盖板3 0 位在基板1 的上方，而使之与反应层3 7 和电极系统8 互相面对。这种位在基板1 的上方并与基板1 之间有一间隙的反应层3 7 可以用例如日本专利公开NO. 1 - 1 1 4 7 4 7 中所描述的方法来形成。在这种类型的生物传感器中，当通过一个样品施加口3 8 所施加的样品液体到达反应层3 7 和电极系统8 之间的空间时，反应层3 7 中所产生的过氧化氢的量或者处于还原形态的电子受体的量可以由电极系统8 以与图2 所示的生物传感器同样的方式测量出来。

本生物传感器可以用来定量测定含在生物样品中的各种底物，这些样品例如有：全血液、血浆、血清、尿液、以及食品工业原料及其产品如果汁等。特别地，当用来测定特定患者的血（葡萄）糖水平时，本生物传感器可以用作能够易于使用的一次性血（葡萄）糖传感器。

实施例：

现在将说明本生物传感器的一些具体例子。需要注意本发明不局限于这些例子。在各个例子中所提及的附图中，同样的元件用同样的代号表示，并且为了简明，省去了一部分说明。

实施例1：

作为本生物传感器的一个例子，用下述方法制作了一种葡萄糖传感器。

如图1 所示，用网板印刷法在由聚对苯二甲酸乙二酯所做成的电绝缘基板1 上印刷银浆，由此形成引线2

和3。然后在基板1上印刷含有树脂粘合剂的导电碳浆，以形成一个工作电极4，并使之与引线2相连接。

接着，在基板1上印刷绝缘浆，由此形成一个绝缘层6。绝缘层6覆盖了工作电极4的周边部分，暴露出工作电极4的一个固定面积。

然后，在基板1上印刷含有树脂粘合剂的导电碳浆，由此形成一个环形反电极5，并与引线3相连接。

在电极系统8上，也就是在工作电极4和反电极5上滴上0.5%（重量）的CMC水溶液并使之干燥，由此形成一个CMC层。在CMC层上滴上一种含有PyOx和铁氰化钾的混合水溶液并使之干燥，由此形成一个反应层7。反应层7中PyOx和铁氰化钾的含量分别是每平方厘米的反应层中10个单位和1.3mg。

在这样制成的葡萄糖传感器的反应层7上滴上90mg/dl的葡萄糖水溶液，作为样品液体。一分钟之后，在工作电极4上施加相对于反电极5为+0.5V的电压，并在施加电压之后5秒钟测量电流值。以这种方式，对葡萄糖溶液总共测量12次响应电流值，每次测量时都用一个新的葡萄糖传感器。所得到的响应电流值的涨落是小的。

再有，对180mg/dl和360mg/dl的葡萄糖水溶液也分别以与上相同的方法测量12次响应电流值。发现这样所得到的响应电流值随着葡萄糖浓度的增大而增大，并且增大的比率是大的。

作为一个对比性例子，制作了一种含有葡萄糖氧化酶（EC 1.1.3.4；GOD）而不是PyOx的葡萄糖传感器，并对具有上述各个浓度的葡萄糖溶液测量12次响应电流值。在相同的葡萄糖浓度下所得到的

响应电流值不稳定。此外，虽然也发现响应电流值随着葡萄糖浓度的增大而增大，但增大的比率是小的。

## 实施例2

作为本生物传感器的一个例子，用如下方法制作了一种蔗糖传感器。

用与实施例1中相同的方法，在一个由聚对苯二甲酸乙二酯所做成的电绝缘基板1上形成引线2和3，电极系统8（即一个工作电极4和一个反电极5）、以及绝缘层6。然后在电极系统8上滴上0.5%（重量）的CMC水溶液并使之干燥，由此形成一个CMC层。

在CMC层上滴上一种含有 $\text{PyOx}$ 、 $\text{INV}$ 和铁氰化钾的混合水溶液并使之干燥，由此形成一个反应层7。反应层7中 $\text{PyOx}$ 、 $\text{INV}$ 和铁氰化钾的含量分别是每平方厘米的反应层中10个单位、40个单位、和1.3mg。

在这样制作的蔗糖传感器的反应层7上滴上171mg/dl的蔗糖水溶液，作为样品液体，反应层7被该样品液体溶解。3分钟之后，在工作电极4上施加相对于反电极5为+0.5V的电压，并在施加电压之后5秒钟测量电流值。

还有，用与上述相同的方法对342mg/dl和684mg/dl的蔗糖水溶液测量响应电流值，每次测量都使用一个新的蔗糖传感器。

发现所得到的响应电流值随着蔗糖浓度的增大而增大，并且增大的比率是大的。

作为对比性的例子，制作了一种麦芽糖传感器和一种乳糖传感器，其制作方法除了分别用麦芽糖水解酶和



乳糖水解酶来替换I N V 之外与上述方法相同。这种麦芽糖和乳糖传感器呈现出与上述相同的效果。

### 实施例3

作为本生物传感器的一个例子，用下述方法制作了一种葡萄糖传感器。

用与实施例1 所说明的相同的方法，在一个由聚对苯二甲酸乙二酯所做成的电绝缘基板1 上形成引线2 和3 、电极系统8 （即一个工作电极4 和一个反电极5 ）、以及绝缘层6 。然后，在电极系统8 上滴上0 . 5 % （重量）的C M C 水溶液并使之干燥，由此形成一个C M C 层。

在C M C 层上滴上一种含有P y O x 、G O D 和铁氰化钾的混合水溶液并使之干燥，由此形成一个反应层7 。反应层7 中P y O x 、G O D 和铁氰化钾的含量分别是每平方厘米的反应层中1 个单位、1 0 个单位、和1 . 3 m g 。

在这样制作的葡萄糖传感器的反应层7 上滴上9 0 m g / d l 的葡萄糖水溶液，作为样品液体。一分钟之后，在工作电极4 上施加相对于反电极5 为+0 . 5 V 的电压，并在施加电压之后5 秒钟测量电流值。

还有，用与上述相同的方法对1 8 0 m g / d l 和3 6 0 m g / d l 的葡萄糖水溶液测量响应电流值，每次测量都使用一个新的葡萄糖传感器。葡萄糖浓度和响应电流值之间的响应特性如图4 中的曲线（a ）所示。

作为对比性的例子，还分别制作了不含P y O x 的葡萄糖传感器和不含G O D 的葡萄糖传感器，并用与上述相同的方法测量响应电流值。其结果分别如图4 中的

曲线 (b) 和 (c) 所示。

如图4 所示, 只含有G O D 作为酶的葡萄糖传感器 (对应于图4 中的曲线 (b) ) 呈现出最低的响应电流值, 这是因为这时的反应电流值仅取决于含在样品液体中的 $\beta$  - 葡萄糖的浓度。比较而言, 只含有P y O x 作为酶的葡萄糖传感器 (对应于图4 中的曲线 (c) ) 呈现出高于曲线 (b) 的电流值, 特别当葡萄糖的浓度小时更是如此, 这是因为这时的响应电流值取决于含在样品液体中的 $\alpha$  - 葡萄糖和 $\beta$  - 葡萄糖的浓度之和。然而, 当葡萄糖浓度高时, 只含P y O x 作为酶的葡萄糖传感器呈现出低于曲线 (b) 的电流值。结果, 同时含有P y O x 和G O D 的葡萄糖传感器 (对应于图4 中的曲线 (a) ) 在最宽的浓度范围内总是呈现出高的响应电流值。

#### 实施例4

作为本生物传感器的一个例子, 用下述方法制作了一种蔗糖传感器:

用与实施例1 中相同的方法, 在一个由聚对苯二甲酸乙二酯所做的电绝缘基板1 上形成引线2 和3 , 电极系统8 (即一个工作电极4 和一个反电极5 ) , 以及绝缘层6 。然后, 把0 . 5 % (重量) 的C M C 水溶液滴在电极系统8 上并使之干燥, 由此形成一个C M C 层。

把含有P y O x 、G O D 、I N V 、和铁氰化钾的混合水溶液滴在C M C 层上并使之干燥, 由此形成一个反应层7 。反应层7 中的P y O x 、G O D 、I N V 、和铁氰化钾的含量分别是每平方厘米的反应层中1 个单位、1 0 个单位、4 0 个单位、和1 . 3 m g 。

当把171 mg / dl 的蔗糖水溶液滴到这样制出的蔗糖传感器的反应层7 上时，反应层7 被该样品液体溶解。3 分钟之后，在工作电极4 上施加相对于反电极5 为+0.5 V 的电压，并在施加电压后5 秒钟测量电流值。

还有，用与上述相同的方法对342 mg / dl 和684 mg / dl 的蔗糖水溶液测量响应电流值，每次测量都使用一个新的蔗糖传感器。

发现所得到的响应电流值随着蔗糖浓度的增大而增大，而且在宽广的蔗糖浓度范围内该电流值总是高的。

作为一个对比性的例子，用与上述相同的方法制作了一种蔗糖传感器，只是其中的反应层7 中不再含有GOD，然后用类似方法测量反应电流值。得得到的响应电流值总是低于由含有GOD 的蔗糖传感器所得到的电流值。

分别用麦芽糖水解酶和乳糖水解酶替代INV 制作了麦芽糖传感器和乳糖传感器，发现它们呈现出与上述相同的效果。

#### 实施例5

用与实施例1 至4 相同的方法制作了一些生物传感器，只是其中的反应层7 中不含有铁氰化钾。分别在这些生物传感器的电极系统上滴上具有实施例1 至4 中那样的各种不同的底物浓度的样品液体。经过一个预定的时间后，在工作电极4 上施加相对于反电极5 为+1.0 V 的电压，并且在施加电压后5 秒钟测量电流值。

发现所得到的响应电流值随着底物浓度的增大而增大。

## 实施例6

用与实施例3 中相同的方法制作一种葡萄糖传感器。

在该葡萄糖传感器的反应层7 上滴上其葡萄糖浓度为9.5 mg / dl 的全血液，作为样品液体。一分钟之后，在工作电极4 上施加相对于反电极5 为+0.5 V 的电压，并在施加电压之后5 秒钟测量电流值。

还有，用与上述相同的方法，对葡萄糖浓度为1.70 mg / dl 和3.20 mg / dl 的全血液测量响应电流值，每次测量都用一个新的葡萄糖传感器。葡萄糖浓度和响应电流值之间的响应特性如图5 中的曲线 (a) 所示。

作为对比性的例子，分别制作了不含PyOx 的葡萄糖传感器和不含GOD 的葡萄糖传感器，并且用同样的方法测量响应电流值。其结果分别如图5 中的曲线 (b) 和 (c) 所示。

如图5 所示，只含有GOD 作为酶的葡萄糖传感器 (对应于图5 中的曲线 (b) ) 呈现出最低的响应电流值，这是因为该电流值仅取决于全血液中的 $\beta$ -葡萄糖的浓度。比较而言，只含有PyOx 作为酶的葡萄糖传感器 (对应于图5 中的曲线 (c) ) 呈现出高于曲线 (b) 的响应电流值，这是因为该电流值取决于全血液中的 $\alpha$ -葡萄糖和 $\beta$ -葡萄糖的浓度之和。结果，同时含有PyOx 和GOD 的葡萄糖传感器 (对应于图5 中的曲线 (a) ) 在最宽广的血液葡萄糖浓度范围内总是呈现出高的响应电流值。

对于熟悉本技术领域的人们来说，在不偏离本发明的范畴和精神的情况下将能明显地看出并容易实现各种

其他的修改。从而，不希望把这里所附的权利要求的范围局限于这里所给出的说明，而希望能够广义地理解这些权利要求。

说明书附图

---

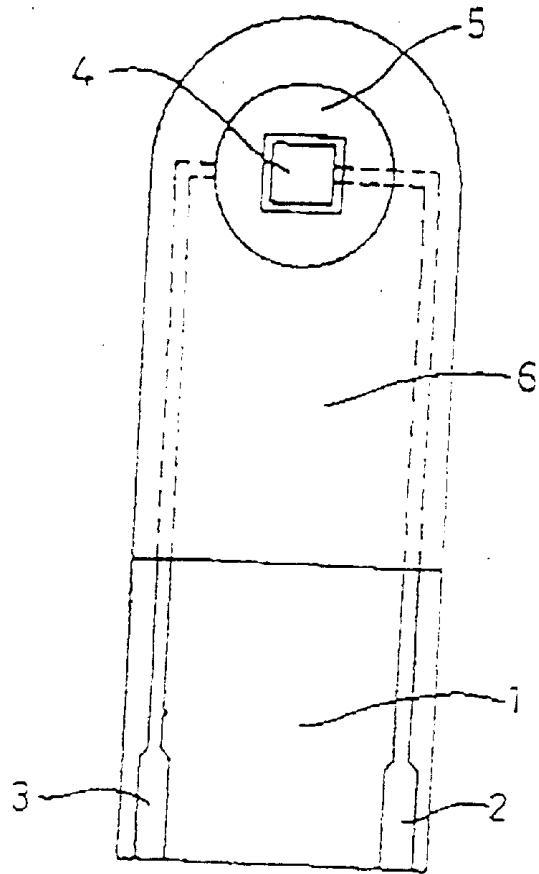


图1

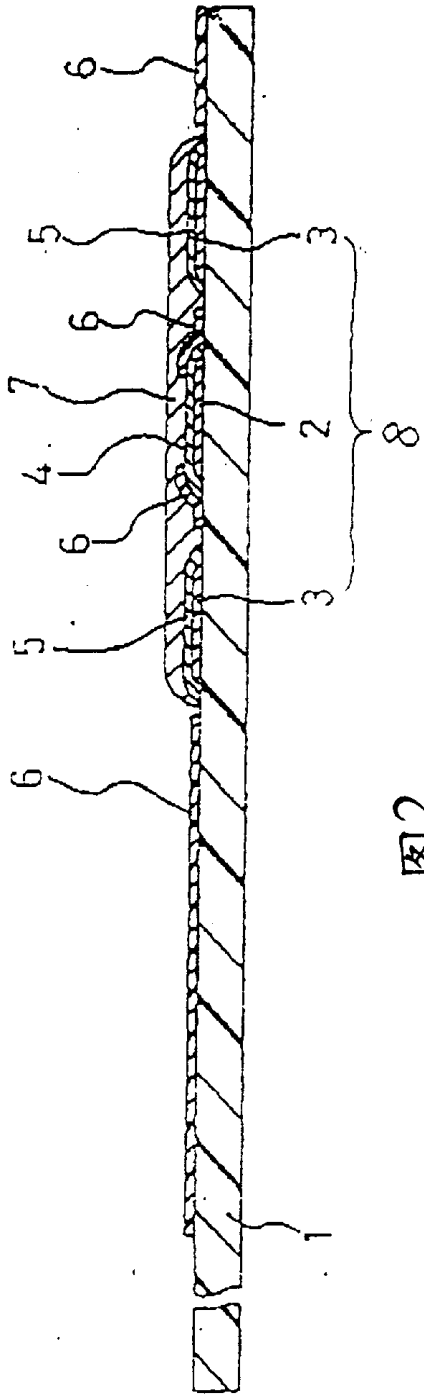


图2

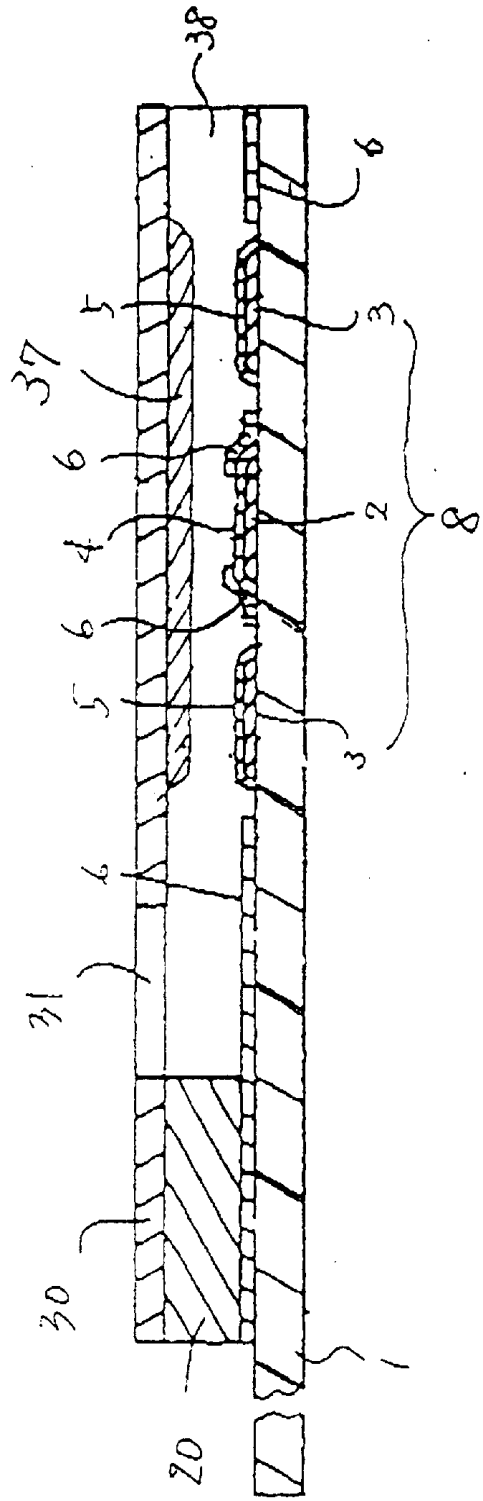


图3

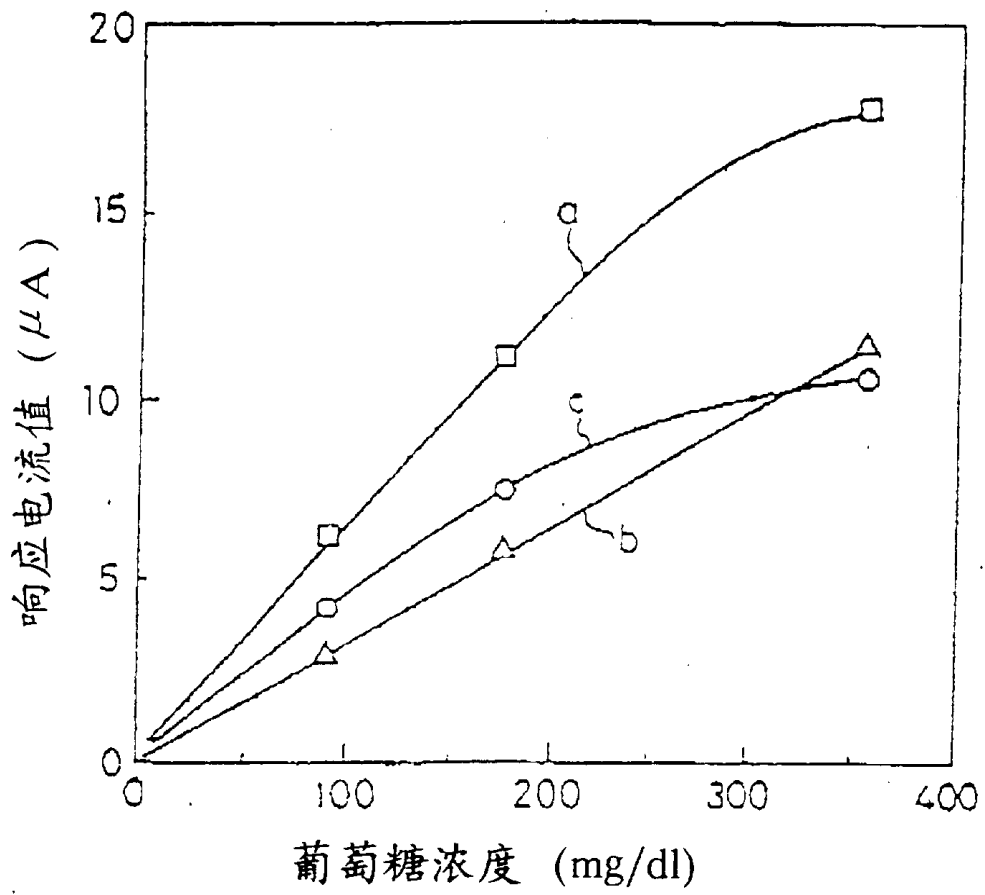


图4



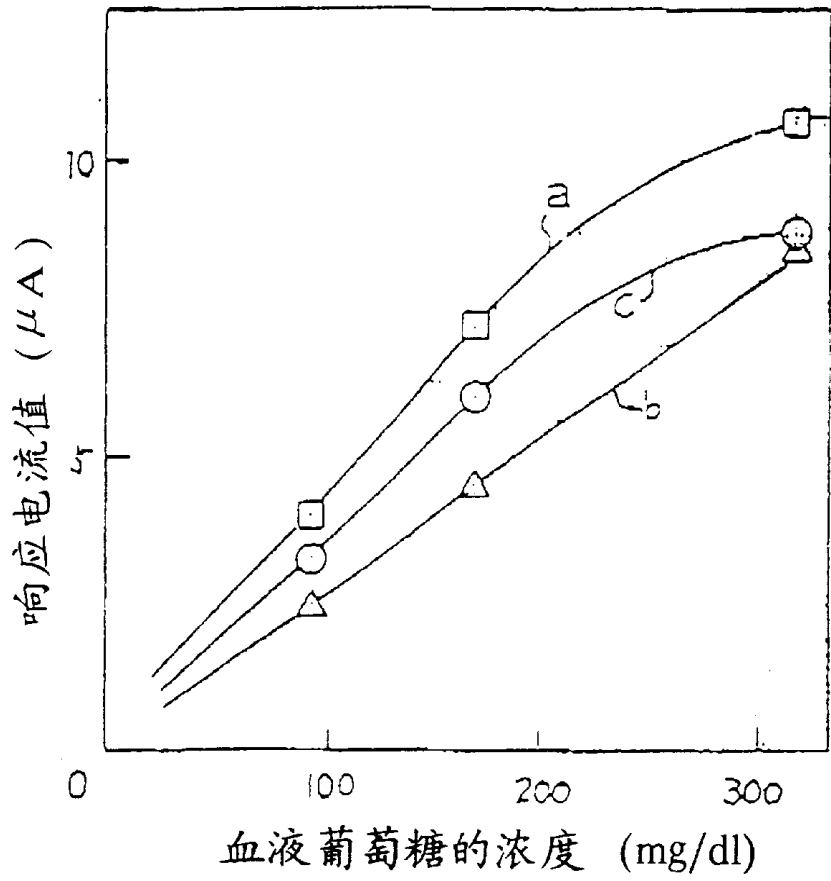


图5