РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) **RU** (11) **2 426 107** (13) **C2**

(51) МПК
G01N 27/48 (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: **2008117118/28, 11.09.2006**

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
11.09.2006

Приоритет(ы):
(30) Конвенционный приоритет:
30.09.2005 US 60/722,584

(43) Дата публикации заявки: **10.11.2009** Бюл. № 31

(45) Опубликовано: **10.08.2011** Бюл. № **22**

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: **US 4304853 A, 08.12.1981. US 6413398 B1, 02.07.2002. US 4897162 A, 30.01.1990. US 5873990 A, 23.02.1999. SU 1778665 A1, 30.11.1992.**

(85) Дата начала рассмотрения заявки PCT на национальной фазе: **30.04.2008**

(86) Заявка PCT:
US 2006/035129 (11.09.2006)

(87) Публикация заявки PCT:
WO 2007/040913 (12.04.2007)

Адрес для переписки:
129090, Москва, ул. Б.Спасская, 25, стр. 3, ООО "Юридическая фирма Городисский и Партнеры", пат.пов. Ю.Д.Кузнецову, рег.№ 595

(72) Автор(ы):
У Хуань-Пин (US)

(73) Патентообладатель(и):
БАЙЕР ХЕЛТКЭА ЭлЭлСи (US)

RU 2426107 C2

(54) ВОЛЬТАМПЕРОМЕТРИЧЕСКИЙ СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ АНАЛИТА В ОБРАЗЦЕ И УСТРОЙСТВО ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОНЦЕНТРАЦИИ АНАЛИТА

(57) Реферат:

Изобретение относится к количественному определению аналитов в биологических жидкостях. Вольтамперометрический способ определения концентрации аналита в образце заключается в том, что осуществляют приложение импульсной последовательности к образцу, причем импульсная последовательность имеет, по меньшей мере, два рабочих цикла, при этом каждый из рабочих циклов содержит возбуждение и релаксацию, причем возбуждение имеет потенциал, изменяющийся во времени, и релаксация находится в пределах от 0,1 до 3 секунд и содержит снижение тока до по меньшей мере половины величины тока при максимальном возбуждении, измеряют результирующие токи от по меньшей мере одного из возбуждений, определяют концентрацию аналита в образце от по

RU 2426107 C2

меньшей мере одного из результирующих токов. Также предложено устройство для определения концентрации аналита. Изобретение обеспечивает повышение точности определения и сокращение времени определения. 2 н. и 36 з.п. ф-лы, 41 ил., 2 табл.

RU 2426107 C2

RU 2426107 C2

RUSSIAN FEDERATION

(19) **RU** (11) **2 426 107** (13) **C2**

(51) Int. Cl.
G01N 27/48 (2006.01)

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2008117118/28, 11.09.2006**

(24) Effective date for property rights:
11.09.2006

Priority:
(30) Priority:
30.09.2005 US 60/722,584

(43) Application published: **10.11.2009** Bull. 31

(45) Date of publication: **10.08.2011 Bull. 22**

(85) Commencement of national phase: **30.04.2008**

(86) PCT application:
US 2006/035129 (11.09.2006)

(87) PCT publication:
WO 2007/040913 (12.04.2007)

Mail address:
129090, Moskva, ul. B.Spasskaja, 25, str. 3, OOO "Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery", pat.pov. Ju.D.Kuznetsovu, reg.№ 595

(72) Inventor(s):
U Khuan'-Pin (US)

(73) Proprietor(s):
BAJER KhELTKEhA EhlEhlSi (US)

RU 2426107 C2

(54) VOLTAMMETRIC METHOD OF DETERMINING CONCENTRATION OF ANALYTE IN SAMPLE AND DEVICE FOR DETERMINING CONCENTRATION OF ANALYTE

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: voltammetric method of determining concentration of an analyte in a sample involves application of a pulse sequence to the sample, wherein the pulse sequence has at least two working cycles, each comprising excitation and relaxation, wherein excitation has time-varying potential and relaxation is in the range from 0.1 to 3 seconds and involves fall of current to at least half the current value at maximum excitation. Current resulting from at least one excitation is measured. Concentration of analyte in the sample is determined from at least one of the resultant current values. The invention also discloses a device for determining concentration of analyte.

EFFECT: high accuracy of determination and shorter time for determination.

38 cl, 21 dwg

RU 2426107 C2

ССЫЛКА НА ПЕРЕКРЕСТНЫЕ ЗАЯВКИ

По настоящей заявке испрашивается приоритет предварительной патентной заявки США №60/722584, поданной 30 сентября 2005 года.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Настоящее изобретение относится к количественному определению аналитов в биологических жидкостях.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Количественное определение аналитов в биологических жидкостях применяют при диагностике и лечении физиологических расстройств. Например, определение уровня глюкозы в биологических жидкостях, таких как кровь, важно для людей, страдающих диабетом, которые должны часто тестировать уровень глюкозы крови для контролирования диеты и/или лечения.

Для данного типа анализа применяют электрохимические системы. В ходе анализа аналит подвергают окислительно-восстановительной реакции с помощью фермента или аналогичного препарата для генерирования электрического тока, который можно измерять и который соотносится с концентрацией аналита. Путем уменьшения времени, требуемого на анализ, можно получить предпочтение для пользователя, в то же время обеспечивая надлежащую точность и воспроизводимость.

Один из примеров электрохимической сенсорной системы для анализа аналитов в биологических жидкостях включает измерительное устройство и сенсорную панель. Сенсорная панель включает реагенты, которые реагируют с аналитом и переносят электроны аналита в ходе анализа, и электроды для передачи электронов через проводники к устройству. Измерительное устройство имеет контакты для получения электронов от панели, и для него обеспечена возможность приложения разности потенциалов между контактами. Устройство может регистрировать ток, проходящий через сенсор, и переводить значения тока в показатель содержания аналита в образце. Эти сенсорные системы могут анализировать одну каплю цельной крови (WB) объемом от 1 до 15 микролитров (мкл).

Примеры настольных измерительных устройств включают анализатор BAS 100B, поставляемый BAS Instruments, West Lafayette, Indiana; анализатор CH Instrument, поставляемый CH Instruments, Austin, Texas; электрохимическую рабочую станцию Cypress, поставляемую Cypress Systems, Lawrence, Kansas; и электрохимический прибор EG&G, поставляемый Princeton Research Instruments, Princeton, New Jersey. Примеры переносных измерительных устройств включают измерители Ascensia Breeze® и Elite® от Bayer Corporation.

Сенсорная панель может содержать рабочий электрод, где аналит подвергается электрохимической реакции, и противоэлектрод, где происходит противоположная электрохимическая реакция, обеспечивая прохождение тока между электродами. Таким образом, если окисление происходит на рабочем электроде, восстановление происходит на противоэлектроде (смотрите, например, Fundamentals Of Analytical Chemistry, 4th издание, D.A.Skoog и D.M.West; Филадельфия: Saunders College Publishing (1982), стр. 304-341).

Сенсорная панель также может включать регулирующий контрольный электрод для подачи инвариантного относительного потенциала на измерительное устройство. Хотя известно множество материалов для контрольных электродов, типичной является смесь серебра (Ag) и хлорида серебра (AgCl) благодаря нерастворимости смеси в водной среде анализируемого раствора. Контрольный электрод можно также использовать в качестве противоэлектрода. Сенсорная панель с использованием

такого сочетания контрольного электрода-противоэлектрода описана в патенте US №5820551.

Сенсорную панель можно изготовить нанесением электродов на диэлектрическую подложку с использованием множества способов (смотрите, например, патенты US №№6531040, 5798031 и 5120420). Один или несколько слоев реагента можно получить нанесением на один или несколько электродов, таких как рабочий электрод и/или противоэлектрод. В одном из аспектов более одного электрода можно покрыть одинаковым слоем реагента, например, когда на рабочий электрод и противоэлектрод наносят одинаковую композицию. В другом аспекте слои реагента, содержащие разные композиции, можно наносить или наносить в микроколичествах на рабочий электрод и противоэлектрод с использованием способа, описанного в предварительной патентной заявке США №60/513817, поданной 24 октября 2003 года. Таким образом, слой реагента на рабочем электроде может содержать фермент, медиатор и связующее вещество, в то время как слой реагента на противоэлектроде содержит растворимое окислительно-восстановительное вещество, которое может являться таким же, как медиатор, или другим, и связующее вещество.

Слой реагента может содержать ионизирующее вещество для облегчения окисления или восстановления аналита, а также любые медиаторы или другие вещества, которые помогают переносить электроны между аналитом и проводником. Ионизирующее вещество может являться специфичным для аналита ферментом, таким как глюкозооксидаза или глюкозодегидрогеназа, чтобы катализировать окисление глюкозы в образце WB. Слой реагента также может содержать связующее вещество, которое удерживает вместе фермент и медиатор. В таблице I ниже представлены общепринятые сочетания ферментов и медиаторов для использования со специфическими аналитами.

Таблица I

Аналит	Фермент	Медиатор
Глюкоза	Глюкозооксидаза	Феррицианид
Глюкоза	Глюкозодегидрогеназа	Феррицианид
Холестерин	Холестериноксидаза	Феррицианид
Лактат	Лактатоксидаза	Феррицианид
Мочевая кислота	Уриказа	Феррицианид
Спирт	Алкогольоксидаза	Фенилендиамин

Связующее вещество может включать полимеры различных типов и молекулярных масс, такие как CMC (карбоксилметилцеллюлоза) и/или PEO (полиэтиленоксид). Кроме связывания реагентов друг с другом, связующее вещество может помогать при фильтрации красных кровяных клеток, предотвращая покрытие ими поверхности электрода.

Примеры общепринятых электрохимических сенсорных систем для анализа аналитов в биологических жидкостях включают биосенсоры Precision®, поставляемые Abbott, Abbott Park, Illinois; биосенсоры Accucheck®, поставляемые Roche, Indianapolis, Indiana; и биосенсоры OneTouch Ultra®, поставляемые Lifescan, Milpitas, California.

Один из электрохимических способов, которые применяют для количественного определения аналитов в биологических жидкостях, представляет собой кулонометрию. Например, в патенте US №6120676 раскрыт кулонометрический способ для измерений глюкозы WB. При кулонометрии концентрацию аналита количественно определяют

полным окислением аналита в малом объеме и интегрированием тока по времени окисления для получения электрического заряда, представляющего концентрацию аналита. Таким образом, кулонометрия фиксирует суммарное количество аналита, которое присутствует на сенсорной панели.

Важный аспект кулонометрии состоит в том, что по направлению к концу кривой интегрирования заряда по времени скорость, с которой ток изменяется со временем, становится по существу постоянной, что приводит к стационарному состоянию. Эта стационарная часть кулонометрической кривой образует относительно плоский участок, плато, позволяя определить соответствующий ток. Однако для кулонометрического способа требуется полное превращение всего объема аналита для достижения стационарного состояния. Как результат, этот способ требует значительного количества времени и не обеспечивает быстрое получение результатов, которые необходимы пользователям электрохимических устройств, таких как средства, осуществляющие мониторинг глюкозы. Другая проблема кулонометрии состоит в том, что необходимо контролировать малый объем сенсорной ячейки для обеспечения точных результатов, что может являться сложным при массовом производстве устройства.

Другим электрохимическим способом, который применяют для количественного определения аналитов в биологических жидкостях, является амперометрия. При амперометрии ток измеряют в течение импульса считывания, при этом постоянную разность потенциалов (напряжение) прикладывают между рабочим электродом и противоэлектродом сенсорной панели. Измеряемый ток используют для количественного определения аналита в образце. С помощью амперометрии измеряют скорость, с которой электрохимически активное вещество, такое как аналит, подвергается окислению или восстановлению около рабочего электрода. Описано много вариаций амперометрического способа для биосенсоров, например, в патентах US №№5620579, 5653863, 6153069 и 6413411.

Недостатком общепринятых амперометрических способов является нестационарная природа тока после приложения разности потенциалов. Скорость изменения тока вначале является очень высокой, но с течением времени становится более низкой по мере проведения анализа вследствие изменяющейся природы лежащего в основе процесса диффузии. До тех пор пока скорость потребления восстановленного медиатора на поверхности электрода не сравняется со скоростью диффузии, невозможно получить стационарный ток. Таким образом, для общепринятых способов амперометрии измерение тока в течение переходного периода перед достижением стационарного состояния может быть связано с большей неточностью, чем измерение, осуществляемое в течение стационарного периода времени.

«Гематокритный эффект» препятствует точному анализу концентрации глюкозы в образцах WB. Образцы WB содержат красные кровяные (RB) клетки и плазму. Плазма в основном состоит из воды, но также содержит некоторые белки и глюкозу. Гематокрит представляет собой объем составной части из RB-клеток по отношению к суммарному объему образца WB, и его часто выражают в виде процентной доли. Образцы цельной крови, как правило, обладают процентными долями гематокрита от 20 до 60%, со средним значением около 40%.

В общепринятых сенсорных панелях глюкозу можно окислять ферментом, который затем передает электроны на медиатор. Этот восстановленный медиатор затем перемещается к рабочему электроду, где он электрохимически окисляется. Количество окисленного медиатора может коррелировать с током, проходящим между рабочим

электродом и противоэлектродом сенсорной панели. Количественно ток, измеряемый на рабочем электроде, прямо пропорционален коэффициенту диффузии медиатора. Гематокритный эффект препятствует этому процессу, так как RB-клетки блокируют диффузию медиатора к рабочему электроду. Следовательно, гематокритный эффект влияет на количество тока, измеряемого на рабочем электроде, без какой-либо связи с количеством глюкозы в образце.

Образцы WB, содержащие варьирующие концентрации RB-клеток, могут приводить к неточностям в измерении, так как сенсор может не отличать более низкую концентрацию медиатора от более высокой концентрации медиатора, если RB-клетки блокируют диффузию к рабочему электроду. Например, если анализируют образцы WB, содержащие идентичные уровни глюкозы, но обладающие гематокритами 20, 40 и 60%, три разных показания глюкозы будут выданы общепринятой сенсорной системой, основанной на одном множестве калибровочных постоянных (наклон и отсекаемый отрезок, например). Даже если концентрации глюкозы одинаковы, система выдаст сообщение о том, что образец с 20% гематокритом содержит больше глюкозы, чем образец с 60% гематокрита, вследствие того, что RB-клетки препятствуют диффузии медиатора к рабочему электроду.

Нормальный диапазон гематокрита (концентрация RBC) для человека составляет от 20 до 60% и концентрируется в области 40%. Отклонение гематокрита отвечает за различие между эталонной концентрацией глюкозы, полученной с помощью эталонного прибора, такого как YSI 2300 STAT PLUS^{TM}, поставляемого YSI Inc., Yellow Springs, Ohio, и опытным показанием глюкозы, полученным с помощью переносной сенсорной системы, для образцов, содержащих отличающиеся уровни гематокрита. Различие между эталонными и опытными показаниями возникает из-за варьирующихся уровней гематокрита в конкретных образцах WB.

Кроме гематокритного эффекта неточности измерения также могут возникать в случае, если концентрация измеряемого вещества не коррелирует с концентрацией аналита. Например, если сенсорная система определяет концентрацию восстановленного медиатора, полученную в ответ на окисление аналита, любой восстановленный медиатор, не полученный окислением аналита, будет приводить к тому, что сенсорная система будет показывать большее количество аналита, чем то, которое действительно присутствует в образце, вследствие фонового влияния медиатора.

Кроме эффектов гематокрита и фонового влияния медиатора, другие факторы также могут приводить к неточностям в способности общепринятой электрохимической сенсорной системы определять концентрацию аналита в образце. В одном из аспектов эти неточности могут возникать вследствие того, что часть сенсорной панели, которая содержит образец, может отличаться по объему от панели к панели. Неточности могут также возникать в случае, если не обеспечено достаточное количество образца для полного заполнения объема пространства заглушки, состояние, обозначаемое как неполное заполнение. В других аспектах неточности могут возникать в ходе измерения вследствие случайного «шума» и когда у сенсорной системы отсутствует способность точно определять изменения температуры в образце.

В попытке преодолеть один или несколько из этих недостатков в общепринятых сенсорных системах применяют множество технических приемов, не только в отношении механической конструкции сенсорной панели и выбора реагента, но также относительно способа, с помощью которого в измерительном устройстве

прикладывают разность электрических потенциалов к панели. Например, общепринятые способы снижения гематокритного эффекта для амперометрических сенсоров включают использование фильтров, как описано в патентах US №№5708247 и 5951836; обращение полярности прикладываемого тока, как описано в публикации WO 01/57510; и способы, которые делают максимальным внутреннее сопротивление образца, как описано в патенте US №5628890.

Многочисленные способы приложения разности электрических потенциалов к панели, обычно обозначаемые как импульсные способы, последовательности или циклы, используют для преодоления неточностей в определении концентрации аналита. Например, в патенте US №4897162 импульсный способ включает непрерывное приложение возрастающей и падающей разности потенциалов, которые смешиваются, приводя к волне в виде последовательности треугольных импульсов. Более того, в публикации WO 2004/053476 и патентных заявках US 2003/0178322 и 2003/0113933 описаны импульсные способы, которые включают непрерывное приложение возрастающей и падающей разности потенциалов, которые также изменяют полярность.

Другие общепринятые способы сочетают специфическую конфигурацию электрода с импульсной последовательностью, адаптированной для этой конфигурации. Например, в патенте US №5942102 сочетается специфическая конфигурация электрода, снабженная тонкослойной ячейкой, с непрерывным импульсом, так что продукты реакции от противоэлектрода поступают на рабочий электрод. Это сочетание используют для проведения реакции до тех пор, пока изменение тока от времени не станет постоянным, причем достигают истинного стационарного состояния для медиатора, перемещающегося между рабочим электродом и противоэлектродом в ходе скачка потенциала. Так как каждый из этих способов имеет различные преимущества и недостатки, ни один из них не является идеальным.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩЕСТВА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Задачей настоящего изобретения является улучшение электрохимических сенсорных систем, в особенности тех, которые могут обеспечить все более точное определение концентрации аналита за меньшее время, и создание систем, устройства и способов, которые обеспечивают преодоление, по меньшей мере, одного из недостатков известных систем.

Согласно изобретению предложен вольтамперометрический способ определения концентрации аналита в образце, который включает следующие шаги: приложение импульсной последовательности к образцу и измерение результирующих токов, причем импульсная последовательность состоит, по меньшей мере, из двух рабочих циклов. В дополнение к, по меньшей мере, двум рабочим циклам, импульсная последовательность может содержать терминальный импульс считывания и/или начальную временную задержку, и ее можно прикладывать к сенсорной панели, содержащей диффузионный барьерный слой на рабочем электроде. Способ может обладать меньшей погрешностью, связанной с фоновым влиянием медиатора, чем концентрация аналита, определяемая другим способом или вольтамперометрическим способом, у которого отсутствует импульсная последовательность, содержащая, по меньшей мере, два рабочих цикла. Образец может являться жидкостью, включая биологическую жидкость, а аналит может представлять собой глюкозу.

Рабочие циклы могут включать возбуждение, включающее разность потенциалов, изменяющуюся с течением времени, или разность потенциалов, изменяющуюся линейно с течением времени, такое как линейное, циклическое, нециклическое

возбуждение или сочетание этих типов возбуждения. Величину тока можно регистрировать в ходе каждого возбуждения, и импульсная последовательность может включать терминальный импульс считывания. Рабочие циклы могут включать нециклические возбуждения, по существу невключающие пик обратного окисления или пик обратного восстановления, и могут уменьшать концентрацию медиатора в образце, не связанную с аналитом, по отношению к способу, где рабочие циклы включают циклические возбуждения. Рабочие циклы могут включать нециклические возбуждения, завершающиеся перед инициацией пика обратного тока, причем нециклические возбуждения по существу не включают пики прямого и обратного окисления и восстановления, или нециклические возбуждения по существу в пределах ограниченной диффузией области тока окислительно-восстановительной пары.

Способ может включать определение, по меньшей мере, одного контурного профиля и использование, по меньшей мере, одного вида обработки данных, такого как полуинтеграл, полупроизводная или производная, по отношению к результирующим токам. Способ может также включать определение совокупности калибровочных множеств, исходя из токов, и определение количества рабочих циклов, исходя из совокупности калибровочных множеств. Определение концентрации аналита может включать усреднение множества величин концентраций, полученных исходя из совокупности калибровочных множеств.

Способ также может включать определение того, является ли сенсорная панель, содержащая образец, не полностью заполненной образцом. Это определение может включать сравнение, по меньшей мере, одной величины токов с предварительно выбранной величиной. Способ также может включать определение содержания активного ионизирующего вещества сенсорной панели, причем определение можно осуществлять с помощью определения соотношения величин прямого и обратного сканированных токов. В одном из аспектов это соотношение ранее коррелировало с известными количествами активного ионизирующего вещества. В другом аспекте наклон калибровки можно изменять в ответ на содержание активного ионизирующего вещества сенсорной панели. В другом аспекте соотношение времени возбуждения/релаксации рабочих циклов может составлять от 0,3 до 0,2.

Предложено переносное устройство для измерения аналитов для определения концентрации аналита в образце. Устройство содержит стробируемое вольтамперометрическое измерительное устройство, адаптированное для подключения сенсорной панели. Стробируемое амперометрическое измерительное устройство содержит, по меньшей мере, два контакта устройства, электрически связанные с дисплеем посредством электрической схемы. Сенсорная панель включает, по меньшей мере, первый и второй контакты сенсорной панели. Первый контакт сенсорной панели электрически связан с рабочим электродом, и второй контакт сенсорной панели электрически связан с противоэлектродом посредством проводников. Первый слой реагента находится, по меньшей мере, на одном из электродов и содержит оксидоредуктазу и, по меньшей мере, одно из веществ окислительно-восстановительной пары. Электроды могут располагаться на одной и той же или разных подложках.

Предложено переносное измерительное устройство для определения концентрации аналита в образце, адаптированное для подключения сенсорной панели. Устройство содержит контакты, по меньшей мере, один дисплей и электрическую схему, устанавливающую электрическую связь между контактами и дисплеем. Схема содержит электрическое зарядное устройство и процессор, причем процессор

электрически связан со считываемым компьютером носителем информации. Носитель содержит читаемую компьютером программу, которая при выполнении процессором заставляет зарядное устройство формировать стробированную вольтамперометрическую импульсную последовательность, включающую, по меньшей мере, два рабочих цикла.

Предложен способ уменьшения погрешности, связанной с фоновым влиянием медиатора в определяемой концентрации аналита в образце, который заключается в использовании стробированной вольтамперометрической импульсной последовательности, включающей, по меньшей мере, два рабочих цикла.

Предложен способ определения продолжительности импульсной последовательности, включающей, по меньшей мере, 2 рабочих цикла, для определения концентрации аналита в образце, который заключается в определении совокупности множеств калибровочных постоянных, определяемых исходя из токов, регистрируемых в течение, по меньшей мере, 2 рабочих циклов, и определении продолжительности импульсной последовательности в ответ на определяемую концентрацию аналита в образце. Импульсная последовательность может являться стробированной вольтамперометрической импульсной последовательностью.

Предложен способ, сигнализирующий пользователю о добавлении дополнительного образца на сенсорную панель, который заключается в определении, является ли сенсорная панель не полностью заполненной, путем сравнения, по меньшей мере, одной величины тока, зарегистрированной от импульсной последовательности, включающей, по меньшей мере, 2 рабочих цикла, с предварительно выбранной величиной, и сигнализации пользователю о добавлении дополнительного образца на сенсорную панель, если панель не полностью заполнена. Импульсная последовательность может являться стробированной вольтамперометрической импульсной последовательностью. Сенсорная панель может включать два электрода, и определение можно осуществлять менее чем за пять секунд.

Предложен вольтамперометрический способ определения концентрации аналита в образце, который включает в себя: приложение импульсной последовательности к образцу и измерение результирующих токов, причем импульсная последовательность включает, по меньшей мере, 2 рабочих цикла, обладающих соотношениями времени возбуждения/релаксации от 0,3 до 0,2. Способ может являться более точным, чем определение концентрации аналита с помощью другого способа, где соотношение времени возбуждения/релаксации импульса выше 0,3.

Предложен электрохимический способ определения концентрации аналита в образце, который включает усовершенствование, включающее приложение стробированной вольтамперометрической импульсной последовательности к образцу, включающей, по меньшей мере, два рабочих цикла.

Предлагаются следующие определения для ясного и непротиворечивого понимания описания и формулы изобретения.

Термин «аналит» определяют как одно или несколько веществ, присутствующих в образце. С помощью анализа определяют присутствие и/или концентрацию аналита, присутствующего в образце.

Термин «образец» определяют как композицию, которая может содержать неизвестное количество аналита. Как правило, образец для электрохимического анализа представляет собой жидкость, и предпочтительно образец является водной смесью. Образец может являться биологическим образцом, таким как кровь, моча или слюна. Образец также может представлять собой производное биологического

образца, такое как экстракт, раствор, фильтрат или растворенный преципитат.

Термин «вольтамперометрия» определяют как способ анализа, в котором концентрацию аналита в образце определяют электрохимическим измерением скорости окисления или восстановления аналита при изменяющейся разности потенциалов.

Термин «система» или «сенсорная система» определяют как сенсорную панель, электрически связанную через проводники с измерительным устройством, которое позволяет количественно определять аналит в образце.

Термин «сенсорная панель» определяют как устройство, которое содержит образец в ходе анализа и обеспечивает электрическую связь между образцом и измерительным устройством. Часть сенсорной панели, которая содержит образец, часто обозначают как «пространство заглушки».

Термин «проводник» определяют как проводящее электричество вещество, которое остается неизменным в ходе электрохимического анализа.

Термин «измерительное устройство» определяют как одно или несколько электронных устройств, которые могут прикладывать электрическую разность потенциалов к проводникам сенсорной панели и измерять результирующий ток. Измерительное устройство также может включать технологическую возможность определения присутствия и/или концентрации одного или нескольких аналитов в ответ на регистрируемые величины токов.

Термин «точность» определяют как то, насколько близко количество аналита, измеряемого сенсорной панелью, соответствует истинному количеству аналита в образце. В одном из аспектов точность можно выражать в терминах погрешности.

Термин «воспроизводимость» определяют как то, насколько близко расположены множественные измерения аналита для одного и того же образца. В одном из аспектов воспроизводимость можно выражать в терминах разброса или вариации между множественными измерениями.

Термин «окислительно-восстановительная реакция» определяют как химическую реакцию между двумя веществами, включающую перенос, по меньшей мере, одного электрона от первого вещества ко второму веществу. Таким образом, окислительно-восстановительная реакция включает окисление и восстановление. Окислительный полуэлемент реакции включает утрату, по меньшей мере, одного электрона первым веществом, в то время как восстановительный полуэлемент включает присоединение, по меньшей мере, одного электрона вторым веществом. Ионный заряд вещества, которое окислено, становится более положительным на количество, равное количеству утраченных электронов. Аналогично, ионный заряд вещества, которое восстановлено, становится менее положительным на количество, равное количеству присоединенных электронов.

Термин «медиатор» определяют как вещество, которое может являться окисленным или восстановленным и которое может переносить один или несколько электронов. Медиатор является реагентом в электрохимическом анализе и не является интересующим аналитом, но обеспечивает непрямое измерение аналита. В простейшей системе медиатор подвергается окислительно-восстановительной реакции в ответ на окисление или восстановление аналита. Окисленный или восстановленный медиатор затем подвергается противоположной реакции на рабочем электроде сенсорной панели и восстанавливает свою первоначальную степень окисления.

Термин «связующее вещество» определяют как материал, который обеспечивает физическое закрепление и удерживание реагентов, при этом обладая химической

совместимостью с реагентами.

Термин «фоновое влияние медиатора» определяют как погрешность, вносимую в измеряемую концентрацию аналита, связанную с измеряемым веществом, которая не зависит от лежащей в основе концентрации аналита.

Термин «измеряемое вещество» определяют как любое электрохимически активное вещество, которое можно подвергнуть окислению или восстановлению при подходящем потенциале на рабочем электроде электрохимической сенсорной панели. Примеры измеряемых веществ включают аналиты, оксидоредуктазы и медиаторы.

Термин «неполное заполнение» определяют как то, когда недостаточное количество образца вносят на сенсорную панель для получения точного анализа.

Термин «окислительно-восстановительная пара» определяют как два сопряженных вида химического вещества, обладающих разными степенями окисления. Восстановление вещества, обладающего более высокой степенью окисления, приводит к образованию вещества, обладающего более низкой степенью окисления. Альтернативно, окисление вещества, обладающего более низкой степенью окисления, приводит к образованию вещества, обладающего более высокой степенью окисления.

Термин «степень окисления» определяют как формальный ионный заряд химического вещества, такого как атом. Более высокая степень окисления, такая как (III), является более положительной, и более низкая степень окисления, такая как (II), является менее положительной.

Термин «обратимая окислительно-восстановительная пара» определяют как пару окислительно-восстановительных веществ, где разделение между прямым и обратным сканированиями полуинтеграла составляет самое большее 30 мВ на полувысоте перехода si_{ss}. Например, на фиг.10А приведены прямое и обратное полуинтегральное сканирования для окислительно-восстановительной пары феррицианид/ферроцианид в дополнение к высоте перехода si_{ss}. На линии, где полувысота линии перехода si_{ss} пересекает линии прямого и обратного сканирований, разделение между линиями составляет 29 мВ, что устанавливает обратимость окислительно-восстановительной пары феррицианид/ферроцианид при изображенной скорости сканирования.

Термин «квазиобратимая окислительно-восстановительная пара» определяют как окислительно-восстановительную пару, где разделение между прямым и обратным сканированиями полуинтеграла больше 30 мВ на полувысоте перехода si_{ss} для окислительно-восстановительной пары.

Термин «растворимое окислительно-восстановительное вещество» определяют как вещество, которое способно подвергаться окислению или восстановлению и которое растворимо в воде (pH 7, 25°C) на уровне, по меньшей мере, 1,0 грамма на литр. Растворимое окислительно-восстановительное вещество включает электроактивные органические молекулы, органические комплексы переходных металлов и координационные комплексы переходных металлов. В термин «растворимое окислительно-восстановительное вещество» не включают элементарные металлы и одиночные ионы металлов, в особенности те, которые нерастворимы или плохо растворимы в воде.

Термин «оксидоредуктаза» определяют как любой фермент, который облегчает окисление или восстановление аналита. Оксидоредуктаза является реагентом. Термин «оксидоредуктаза» включает «оксидазы», которые облегчают окислительные реакции, в которых молекулярный кислород является акцептором электронов; «редуктазы», которые облегчают восстановительные реакции, в которых аналит подвергается восстановлению и молекулярный кислород не является аналитом; и «дегидрогеназы»,

которые облегчают окислительные реакции, в которых молекулярный кислород не является акцептором электронов (смотрите, например, Oxford Dictionary of Biochemistry and Molecular Biology, Revised Edition, A.D.Smith, Ed., New York: Oxford University Press (1997) pp. 161, 476, 477 и 560).

Термин «электроактивная органическая молекула» определяют как органическую молекулу, у которой отсутствует металл, способный подвергаться окислительной или восстановительной реакции. Электроактивные органические молекулы могут служить в качестве медиаторов.

Термин «органический комплекс переходных металлов», также обозначаемый как «ОТМ-комплекс», определяют как комплекс, в котором переходный металл связан, по меньшей мере, с одним атомом углерода посредством сигма-связи (формальный заряд -1 на атоме углерода, связанном сигма-связью с переходным металлом) или пи-связи (формальный заряд 0 на атомах углерода, связанных пи-связью с переходным металлом). Например, ферроцен представляет собой ОТМ-комплекс с двумя циклопентадиенильными (Ср) кольцами, каждое из которых посредством своих пяти углеродных атомов связано с центральным атомом железа двумя пи-связями и одной сигма-связью. Другой пример ОТМ-комплекса представляет собой феррицианид (III) и его восстановленный аналог ферроцианид (II), где шесть цианолигандов (формальный заряд -1 на каждом из 6 лигандов) связаны сигма-связью с центральным атомом железа через атомы углерода.

Термин «координационный комплекс» определяют как комплекс, обладающий хорошо определенной координационной геометрией, такой как октаэдрическая или квадратная плоская. В отличие от ОТМ-комплексов, которые определяют по их связям, координационные комплексы определяют по их геометрии. Таким образом, координационные комплексы могут являться ОТМ-комплексами (такими как ранее упомянутый феррицианид), или комплексами, где атомы неметаллов иные, чем углерод, такие как гетероатомы, включающие азот, серу, кислород и фосфор, связаны дативной связью с центральным атомом переходного металла. Например, рутений-гексамин представляет собой координационный комплекс, обладающий хорошо определенной октаэдрической геометрией, где шесть лигандов NH_3 (формальный заряд 0 на каждом из 6 лигандов) соединены дативной связью с центральным атомом рутения. Более полное обсуждение органических комплексов переходных металлов, координационных комплексов и связей переходных металлов можно найти в Collman et al., Principles and Applications of Organotransition Metal Chemistry (1987) и Miessler & Tarr, Inorganic Chemistry (1991).

Термин «стационарный» определяют как то, когда изменение электрохимического сигнала (тока) по отношению к независимой входной переменной (напряжение или время) является по существу постоянным, например в пределах ±10 или ±5%.

Термин «относительно постоянный» определяют как то, когда изменение величины токов или скорости диффузии находится в пределах ±20, ±10 или ±5%.

Термин «точка поворота» определяют как точку в циклическом или нециклическом сканировании, где прямое сканирование заканчивается и начинается обратное сканирование.

Термин «линейное возбуждение» определяют как возбуждение, при котором напряжение изменяется в одном «прямом» направлении с фиксированной скоростью, например, от -0,5 В до +0,5 В для обеспечения диапазона возбуждения 1,0 В. Диапазон возбуждения может охватывать восстановленные и окисленные состояния окислительно-восстановительной пары так, что происходит переход из одного

состояния в другое. Линейное возбуждение можно аппроксимировать сериями инкрементных изменений разности потенциалов. Если инкременты расположены очень близко друг к другу во времени, то они соответствуют непрерывному линейному возбуждению. Таким образом, приложение изменения разности потенциалов, аппроксимирующего линейное изменение, можно рассматривать как линейное возбуждение.

Термин «циклическое возбуждение» определяют как сочетание линейного прямого возбуждения и линейного обратного возбуждения, где диапазон возбуждения включает пики окисления и восстановления окислительно-восстановительной пары. Например, изменение разности потенциалов циклическим образом от -0,5 В до +0,5 В и обратно до -0,5 В является примером циклического возбуждения для окислительно-восстановительной пары феррицианид/ферроцианид, как используют в глюкозном сенсоре, где пики как окисления, так и восстановления включены в диапазон возбуждения.

Термин «нециклическое возбуждение» определяют в одном из аспектов как возбуждение, включающее более одного пика прямого или обратного тока, чем другой пик тока. Например, возбуждение, включающее прямое и обратное линейные возбуждения, где прямое возбуждение начинается при другом напряжении, чем то, где заканчивается обратное возбуждение, например, от -0,5 В до +0,5 В и обратно до +0,25 В, является примером нециклического возбуждения. В другом примере нециклическое возбуждение может начинаться и заканчиваться по существу при том же напряжении, когда возбуждение начинается самое большее при ±20, ±10 или ±5 мВ от формального потенциала E°' окислительно-восстановительной пары. В другом аспекте нециклическое возбуждение определяют как возбуждение, включающее прямое и обратное линейное возбуждения, которые по существу не включают пики окисления и восстановления окислительно-восстановительной пары. Например, возбуждение может начинаться, обращаться и заканчиваться в пределах ограниченной диффузией области окислительно-восстановительной пары, таким образом, не включая пики окисления и восстановления пары.

Термины «быстрое возбуждение», «скорость быстрого возбуждения», «быстрое сканирование» и «скорость быстрого сканирования» определяют как возбуждение, где напряжение изменяется со скоростью, по меньшей мере, 176 мВ/с. Предпочтительные скорости быстрого возбуждения являются скоростями более чем 200, 500, 1000 или 2000 мВ/с.

Термины «медленное возбуждение», «скорость медленного возбуждения», «медленное сканирование» и «скорость медленного сканирования» определяют как возбуждение, где напряжение изменяется со скоростью самое большее 175 мВ/с. Предпочтительные скорости медленного возбуждения являются скоростями более медленными чем 150, 100, 50 или 10 мВ/с.

Термин «средняя начальная толщина» относится к средней высоте слоя перед внесением образца жидкости. Термин «средний» используют вследствие того, что верхняя поверхность слоя не является ровной, обладая пиками и углублениями.

Термин «окислительно-восстановительная интенсивность» (RI) определяют как суммарное время возбуждения, разделенное на сумму задержек суммарного времени возбуждения и суммарного времени релаксации для импульсной последовательности.

Термин «переносное устройство» определяют как устройство, которое может удерживать рука человека и которое является переносным. Примером переносного устройства является измерительное устройство, сопутствующее системе мониторинга

глюкозы крови Ascensia® Elite, поставляемой Bayer HealthCare, LLC, Elkhart, IN.

Термин «на» определяют как «поверх», и он относится к той ориентации, которая будет описана. Например, если первый элемент накладывают, по меньшей мере, на часть второго элемента, то говорят, что первый элемент «накладывают на» второй. В другом примере, если первый элемент находится поверх, по меньшей мере, части второго элемента, то говорят, что первый элемент находится «на» втором. Использование термина «на» не исключает присутствие веществ между верхним и нижним элементами, которые будут описаны. Например, первый элемент может обладать покрытием на своей верхней поверхности, однако второй элемент, располагающийся, по меньшей мере, поверх части первого элемента и его верхнего покрытия, можно описать как располагающийся «на» первом элементе. Таким образом, использование термина «на» может означать или не означать, что два элемента будут находиться в физическом контакте.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Изобретение можно лучше понять из следующего описания предпочтительных вариантов воплощения со ссылками на сопровождающие чертежи, на которых:

фиг.1A изображает общий вид собранной сенсорной панели, согласно изобретению;

фиг.1B - вид сверху сенсорной панели с удаленной заглушкой, согласно изобретению;

фиг.2 - вид сверху сенсорной панели на фиг.1B, согласно изобретению;

фиг.3A и 3B - рабочий электрод, содержащий поверхностный проводник и DBL, в ходе приложения длительного и короткого импульсов считывания, согласно изобретению;

фиг.4A и 4B - диаграммы, иллюстрирующие усовершенствование точности измерения, когда DBL сочетают с коротким возбуждением, согласно изобретению;

фиг.5 - блок-схему последовательности шагов электрохимического аналитического способа определения присутствия и концентрации аналита в образце, согласно изобретению;

фиг.6A-6F - шесть примеров импульсных последовательностей, где к сенсорной панели прикладывали множественные рабочие циклы после внесения образца, согласно изобретению;

фиг.7A - циклическую вольтамперограмму для сенсорной системы, согласно изобретению;

фиг.7B - диаграмму сравнения циклического сканирования с нециклическим сканированием, где прямое возбуждение нециклического сканирования началось вблизи формального потенциала E°' для окислительно-восстановительной пары, согласно изобретению;

фиг.7C - диаграмму нециклического сканирования, где обратное сканирование заканчивается пиком обратного тока, согласно изобретению;

фиг.7D - диаграмму циклического сканирования с нециклическим сканированием, наложенным в области DLC, согласно изобретению;

фиг.8A-8D - диаграммы выходных токов, нанесенных в виде вольтамперограмм, исходя из импульсной последовательности, представленной на фиг.6C для образцов WB с 40% гематокритом, содержащих 50, 100 и 400 мг/дл глюкозы, согласно изобретению;

фиг.9A-9C - контурные профили вольтамперограмм на фиг.8A-8C, согласно изобретению;

фиг.10A - диаграмму полуинтеграла, соответствующего циклической

вольтамперограмме на фиг.7A, согласно изобретению;

На фиг.10B - диаграмму полуинтеграла нециклических данных, соответствующих нециклической вольтамперограмме на фиг.7C, согласно изобретению;

фиг.10C - диаграммы полуинтегралов циклических и нециклических возбуждений на фиг.7B, согласно изобретению;

фиг.10D - диаграмму полуинтеграла и зарегистрированные величины токов для нециклического возбуждения на фиг.7D, согласно изобретению;

фиг.11 - контурные профили, полученные полуинтегрированием вольтамперограмм, исходя из семи импульсных последовательностей возбуждения для образцов WB, содержащих различные количества глюкозы, согласно изобретению;

фиг.12A - циклическую вольтамперограмму, полуинтеграл и полупроизводную 16 мМ ферроцианида в образце WB с 20% гематокритом, согласно изобретению;

фиг.12B - увеличенное изображение полупроизводной кривой на фиг.12A, согласно изобретению;

фиг.13A-13C - производные циклических вольтамперограмм, согласно изобретению;

фиг.14 - диаграммы полуинтегральных токов, зарегистрированных в виде функции от времени для контурных профилей на фиг.11, согласно изобретению;

фиг.15 - циклические вольтамперограммы, полученные при неполном заполнении сенсорной панели, согласно изобретению;

фиг.16A - диаграммы полуинтегральных циклических вольтамперограмм, полученных с пяти сенсорных полосок со скоростями сканирования 1 В/с для образца, содержащего 100 мг/дл глюкозы и 40% гематокрита в WB, согласно изобретению;

фиг.16B - диаграмму отношения величин токов для прямого и обратного сканирования, произведенных при разности потенциалов 0,15 В, в виде функции от концентрации фермента, согласно изобретению;

фиг.16C - диаграмму зависимости для наклона калибровки линейной зависимости для сенсорной панели в виде функции от содержания GO (% от сухой массы), согласно изобретению;

фиг.17 - схему измерительного устройства, согласно изобретению.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНЫХ ВАРИАНТОВ ВОПЛОЩЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Электрохимическая аналитическая система определяет концентрацию аналитов в образце, например концентрацию глюкозы в цельной крови. Система содержит, по меньшей мере, одно устройство, которое прикладывает стробированные вольтамперометрические импульсные последовательности, включающие множественные рабочие циклы, к образцу. Каждый рабочий цикл включает линейное, циклическое или нециклическое возбуждение, в течение которого токи (силу тока) измеряют от сенсорной панели, в то время как разность потенциалов (напряжение), приложенная к панели, изменяется линейно с течением времени. Каждый рабочий цикл также включает релаксацию, которую может обеспечить разомкнутая цепь. Система может сравнивать данные по результирующему току для определения концентрации аналита в образце, в то же время корректируя результаты для вариаций факторов, не зависящих от аналита. В системе можно также применять один или несколько видов обработки данных, включая те, которые основаны на полуинтегрировании, взятии производных и полупроизводных для анализа вольтамперометрических данных.

Стробированные вольтамперометрические импульсные последовательности обеспечивают повышенную точность и воспроизводимость анализа, в то же время уменьшая время осуществления анализа. Систематические погрешности, вносимые

гематокритным эффектом, и случайные погрешности, вносимые варьированием объема пространства заглушки, можно уменьшить с помощью сочетания диффузионного барьерного слоя со стробированными импульсными последовательностями. Погрешности, возникающие в других случаях из-за нестационарного состояния сенсора и/или фонового влияния медиатора, также можно уменьшить. Время, требуемое для анализа, можно уменьшить устранением потребности в дополнительных задержках и импульсах, таких как задержки «инкубации» для обеспечения регидратации реагента, импульсы «выгорания» для восстановления электродов и импульсы регенерации медиатора для восстановления состояния окисления медиатора. Стробированные импульсные последовательности также могут обеспечить определение динамического тока и контурных профилей, которые дают множественные точки калибровки, детектирование неполного заполнения и способность осуществлять компенсацию температуры в анализе. Вследствие того что стробированные импульсные последовательности могут быстро давать пригодные данные, можно устранить длительные времена ожидания общепринятой кулонометрии и неточность нестационарных измерений в общепринятой амперометрии.

На фиг.1А-1В представлена сенсорная панель 100, которую можно применять в заявленной сенсорной системе. Фиг.1А представляет собой перспективное изображение собранной сенсорной панели 100, включающей основание сенсора 110, по меньшей мере, частично покрытое заглушкой 120, которая включает выпускное отверстие 130, вогнутую область 140 и отверстие на входном конце 150. Частично закрытый объем 160 (пространство заглушки) образован между основанием 110 и заглушкой 120. Также можно применять другие конструкции сенсорной панели, совместимые с настоящим изобретением, например, описанные в патентах US №№5120420 и 5798031.

Жидкий образец для анализа можно переносить в пространство заглушки 160 внесением жидкости в отверстие 150. Жидкость заполняет пространство заглушки 160, при этом вытесняя содержащийся там воздух через выпускное отверстие 130. Пространство заглушки 160 может содержать композицию (не показана), которая помогает удерживать жидкий образец в пространстве заглушки. Примеры таких композиций включают набухающие в воде полимеры, такие как карбоксиметилцеллюлоза и полиэтиленгликоль, и пористые полимерные матрицы, такие как декстран и полиакриламид.

На фиг.1В представлен вид сверху сенсорной панели 100 с удаленной заглушкой 120. Проводники 170 и 180 могут проходить под слоем диэлектрика 190 от отверстия 150 к рабочему электроду 175 и противоэлектроду 185 соответственно. В одном из аспектов рабочий электрод и противоэлектрод 175, 185 могут располагаться, по существу, на одной плоскости. В другом аспекте электроды 175, 185 могут быть обращены друг к другу, так как описано в патентной заявке US 2004/0054267.

Хотя рабочий электрод и противоэлектрод 175, 185 могут находиться более близко, в одном из аспектов электроды 175, 185 можно отделить более чем на 200 или 250 мкм. Аналогично, хотя, по меньшей мере, один из электродов 175, 185 может находиться более близко, в одном из аспектов, по меньшей мере, один электрод можно отделить от верхней части заглушки 120, по меньшей мере, на 100 мкм. В одном из аспектов рабочий электрод и противоэлектрод 175, 185 могут обладать областями поверхности около 1 и 1,2 мм^2 соответственно. Слой диэлектрика 190 может частично покрывать электроды 175, 185, и его можно изготовить из любого подходящего диэлектрического

материала, такого как изоляционный полимер.

Противоэлектрод 185 компенсирует потенциал на рабочем электроде 175 сенсорной панели 100. В одном из аспектов этот потенциал может представлять собой относительный потенциал, достигаемый формированием противоэлектрода 185 из окислительно-восстановительной пары, такой как Ag/AgCl, для формирования контрольного электрода-противоэлектрода. В другом аспекте разность потенциалов можно обеспечить для сенсорной системы формированием противоэлектрода 185 из инертного материала, такого как углерод, и внесением растворимого окислительно-восстановительного вещества, такого как феррицианид, в пространство заглушки 160.

Альтернативно, сенсорную панель 100 можно снабдить третьим проводником и электродом (не показаны) для обеспечения относительной разности потенциалов в сенсорной системе. Третий электрод можно изготовить в виде регулирующего контрольного электрода или в виде инертного материала, который использует растворимое окислительно-восстановительное вещество для обеспечения относительной разности потенциалов. Третий электрод может также обеспечивать измерительному устройству возможность определить, подключена ли сенсорная панель и/или заполнено ли образцом пространство заглушки 160. Можно также снабдить панель 100 дополнительными проводниками и/или электродами для обеспечения этих и других функций.

На фиг.2 представлен вид сбоку сенсорной панели, изображенной на фиг.1B, на которой показана структура слоев рабочего электрода 175 и противоэлектрода 185. Проводники 170 и 180 могут лежать прямо на основании 110. Поверхностные слои проводников 270 и 280, не обязательно, можно наносить на проводники 170 и 180 соответственно. Поверхностные слои проводников 270, 280 можно изготовить из одинаковых или разных материалов.

Материал или материалы, используемые для изготовления проводников 170, 180 и поверхностных слоев проводников 270, 280, могут включать любой электрический проводник. Предпочтительные электрические проводники являются неионизирующими, так что материал не подвергается общему окислению или общему восстановлению в ходе анализа образца. Проводники 170, 180 предпочтительно содержат тонкий слой металлической пасты или металла, такого как золото, серебро, платина, палладий, медь или вольфрам. Поверхностные слои проводников 270, 280 предпочтительно содержат углерод, золото, платину, палладий или их сочетания. Если у проводника отсутствует поверхностный слой проводника, то проводник предпочтительно изготавливают из неионизирующего материала.

Поверхностный материал проводника можно наносить на проводники 170, 180 любым известным способом, совместимым с функционированием сенсорной панели, включая нанесение фольги, химическое вакуумное нанесение, осаждение суспензии, металлизацию и т.п. В случае осаждения суспензии смесь можно наносить в виде пасты на проводники 170, 180.

Слои реагентов 275 и 285 можно наносить на проводники 170 и 180 соответственно, и они могут содержать реагенты и не обязательно связующее вещество. Связующее вещество предпочтительно является полимерным материалом, который, по меньшей мере, частично является водорастворимым. Подходящие частично водорастворимые полимерные материалы для использования в качестве связующего вещества могут включать поли(этиленоксид) (PEO), карбоксиметилцеллюлозу (CMC), поливиниловый спирт (PVA), гидроксиэтиленцеллюлозу (HEC), гидроксипропилцеллюлозу (HPC), метилцеллюлозу, этилцеллюлозу, этилгидроксиэтилцеллюлозу,

карбоксиметилэтилцеллюлозу, поливинилпирролидон (PVP), полиаминокислоты, такие как полилизин, полистиролсульфонат, желатин, акриловую кислоту, метакриловую кислоту, крахмал, малеиновый ангидрид, их соли, их производные и их сочетания. Среди вышеупомянутых связующих веществ предпочтительными являются PEO, PVA, CMC и PVA, более предпочтительными в настоящее время являются CMC и PEO.

Кроме связующего вещества слои реагентов 275 и 285 могут содержать одинаковые или разные реагенты. В одном из аспектов реагенты, присутствующие в первом слое 275, можно отбирать для использования с рабочим электродом 175, в то время как реагенты, присутствующие во втором слое 285, можно отбирать для использования с противоэлектродом 185. Например, реагенты в слое 285 могут облегчать свободное перемещение электронов между образцом и проводником 180. Аналогично, реагенты в слое 275 могут облегчать взаимодействие аналита.

Слой реагента 275 может содержать оксидоредуктазу, специфичную для аналита, которая может облегчать реагирование аналита, в то же время усиливая специфичность сенсорной системы для аналита, в особенности в многокомпонентных биологических образцах. Примеры некоторых специфических оксидоредуктаз и соответствующих аналитов приведены ниже в таблице II.

Таблица II

Оксидоредуктаза (слой реагента)	Аналит
Глюкозодегидрогеназа	β-глюкоза
Глюкозооксидаза	β-глюкоза
Холестеринэстераза; холестериноксидаза	Холестерин
Липопротеинлипаза; глицеринкиназа; глицерин-3-фосфатоксидаза	Триглицериды
Лактатоксидаза; лактатдегидрогеназа; диафораза	Лактат
Пируватоксидаза	Пируват
Алкогольоксидаза	Спирт
Билирубиноксидаза	Билирубин
Уриказа	Мочевая кислота
Глутатионредуктаза	NAD(P)H
Оксидоредуктаза монооксида углерода	Монооксид углерода

В настоящее время особенно предпочтительные оксидоредуктазы для анализа глюкозы включают глюкозооксидазу, глюкозодегидрогеназу, их производные или их сочетания.

Слой реагента 275 также может содержать медиатор для более эффективной передачи результатов реакции с аналитом к поверхностному проводнику 270 и/или проводнику 170. Примеры медиаторов включают OTM-комплексы, координационные комплексы и электроактивные органические молекулы. Конкретные примеры включают соединения ферроцена, ферроцианид, феррицианид, коферменты замещенных или незамещенных пирролохинолинхинонов (PQQ), замещенные или незамещенные 3-фенилимино-3H-фенотиазины (PIPT), 3-фенилимино-3H-феноксазин (PIPO), замещенные или незамещенные бензохиноны, замещенные или незамещенные нафтохиноны, N-оксиды, нитрозосоединения, гидроксиламины, оксины, флавины, феназины, производные феназинов, фенотиазины, индофенолы и индамины. Эти и другие медиаторы, которые можно включить в слой реагента, раскрыты в патентах US №№5653863, 5520786, 4746607, 3791988 и в EP №№0354441 и 0330517.

В настоящее время особенно предпочтительные медиаторы для анализа глюкозы включают феррицианид, рутений-гексамин, PIPT, PIPO или их сочетания. Обзор

пригодных электрохимических медиаторов для биологических окислительно-восстановительных систем можно найти в Analytica Clinica Acta 140 (1982), стр. 1-18.

Слои реагентов 275, 285 можно наносить любыми известными способами, такими как печатание, нанесение жидкости или струйное нанесение. В одном из аспектов слои наносят печатанием. При прочих равных условиях угол печатной пластины может обратно пропорционально влиять на толщину слоев реагентов. Например, если пластину передвигают под углом около 82° по отношению к основанию 110, то слой может иметь толщину около 10 мкм. Аналогично, если используют угол пластины около 62° по отношению к основанию 110, то можно получить более толстый слой 30 мкм. Таким образом, меньшие углы пластины будут обеспечивать более толстые слои реагентов. Кроме угла пластины другие факторы, такие как вязкость наносимого материала, а также размер сита и сочетание эмульсий могут влиять на результирующую толщину слоев реагентов 275, 285.

Рабочий электрод 175 может также содержать диффузионный барьерный слой (DBL), который составляет одно целое со слоем реагента 275 или который представляет собой отдельный слой 290, такой как слой на фиг.2. Таким образом, DBL можно сформировать в виде сочетания реагент/DBL на проводнике, в виде отдельного слоя на проводнике или в виде отдельного слоя на слое реагента. Если рабочий электрод 175 содержит отдельный DBL 290, то слой реагента 275 может или не может располагаться на DBL 290. Вместо расположения на DBL 290 слой реагента 275 может располагаться на любой части сенсорной панели 100, которая обеспечивает растворение реагента в образце. Например, слой реагента 175 может располагаться на основании 110 или на заглушке 120.

DBL обеспечивает пористое пространство, обладающее внутренним объемом, где может находиться измеряемое вещество. Поры DBL можно выбирать так, что измеряемое вещество может диффундировать в DBL, в то время как физически более крупные составные части образца, такие как RB-клетки, по существу исключаются. Хотя в общепринятых сенсорных панелях используют разнообразные материалы для отфильтровывания RB-клеток с поверхности рабочего электрода, DBL обеспечивает внутренний объем для содержания и отделения части измеряемого вещества от образца.

Если слой реагента 275 содержит водорастворимое связующее вещество, любая часть связующего вещества, которая не растворяется в образце перед приложением возбуждения, может функционировать в качестве интегрального DBL. Средняя начальная толщина сочетания DBL/слой реагента составляет предпочтительно менее 30 или 23 микрометров (мкм) и более предпочтительно менее 16 мкм. В настоящее время особенно предпочтительная средняя начальная толщина сочетания DBL/слой реагента составляет от 1 до 30 мкм или от 3 до 12 мкм. Требуемую среднюю начальную толщину сочетания DBL/слой реагента можно выбрать для конкретной длины возбуждения, основываясь на том, когда скорость диффузии измеряемого вещества от DBL к поверхности проводника, такой как поверхность проводника 170 или поверхность поверхности проводника 270 на фиг.2, станет относительно постоянной.

Более того, использование слишком толстого DBL в сочетании с короткой длиной возбуждения может задержать тот момент, когда скорость диффузии измеряемого вещества от DBL к поверхности проводника станет относительно постоянной. Например, если рабочие циклы, включающие последовательные 1-секундные возбуждения, разделенные 0,5-секундными релаксациями, прикладывают к рабочему

электроду с использованием сочетания DBL/слой реагента, обладающего средней начальной толщиной 30 мкм, то предпочтительную скорость диффузии измеряемого вещества от DBL к поверхности проводника можно не достичь до тех пор, пока не будут приложены, по меньшей мере, 6 рабочих циклов (>~10 секунд). С другой стороны, если те же самые рабочие циклы прикладывают к рабочему электроду с использованием сочетания DBL/слой реагента, обладающего средней начальной толщиной 11 мкм, то относительно постоянную скорость диффузии можно достичь после второго возбуждения (~2,5 секунды). Таким образом, существует верхний предел для предпочтительной средней начальной толщины DBL для данного рабочего цикла. Более подробное исследование соотношения между толщиной DBL, длиной возбуждения и временем до достижения относительно постоянной скорости диффузии раскрыто в публикации WO 2006/042304 от 12 октября 2005 года.

Отдельный DBL 290 может включать любое вещество, которое обеспечивает требуемое поровое пространство, в то же время являясь частично или медленно растворимым в образце. В одном из аспектов отдельный DBL 290 может включать вещество, которое связывает реагент, но не содержит реагентов. Отдельный DBL 290 может обладать средней начальной толщиной, по меньшей мере, 1 мкм, предпочтительно от 5 до 25 мкм и более предпочтительно от 8 до 15 мкм.

На фиг.3A и 3B представлен рабочий электрод 300, содержащий поверхностный проводник 330 и отдельный DBL 305 в ходе приложения длительного и короткого импульсов считывания. Когда образец WB наносят на рабочий электрод 300, RB-клетки 320 покрывают DBL 305. Аналит, присутствующий в образце, образует наружное измеряемое вещество 310, внешнее по отношению к DBL 305. Часть наружного измеряемого вещества 310 диффундирует в отдельный DBL 305 для получения внутреннего измеряемого вещества 315.

Как показано на фиг.3A, если непрерывный 10-секундный импульс считывания прикладывают к рабочему электроду 300, то как наружное, так и внутреннее измеряемое вещество 310 и 315 подвергаются возбуждению на поверхностном проводнике 330 за счет изменения в состоянии окисления. В ходе длительного импульса считывания наружное измеряемое вещество 310 диффундирует через область образца, где располагаются RB-клетки 320, и через DBL 305 к поверхностному проводнику 330. Диффузия наружного измеряемого вещества 310 через RB-клетки 320 в ходе импульса считывания вносит в анализ гематокритный эффект. Вследствие того что существенная часть измеряемого вещества, подвергаемая возбуждению на поверхностном проводнике 330, происходит извне DBL 320, длительный импульс считывания, приложенный к сенсорной панели, обладающей DBL, в отношении гематокритного эффекта может действовать аналогично короткому импульсу считывания, приложенному к панели, не содержащей DBL.

С другой стороны, на фиг.3B представлена ситуация, где короткое возбуждение приложено к сенсорной панели 300, снабженной DBL, для возбуждения внутреннего измеряемого вещества 315, в то же время, по существу, исключая из возбуждения измеряемое вещество 310, наружное по отношению к DBL 305. В ходе короткого возбуждения измеряемое вещество 310 или остается наружным по отношению к DBL 305, или существенно не диффундирует через DBL до достижения поверхностного проводника 330. Таким образом, короткое возбуждение может обеспечивать существенное снижения влияния гематокритного эффекта на анализ. Посредством уменьшения гематокритного эффекта можно уменьшить ошибки анализа (погрешность), вносимые составными частями образца, включая RB-клетки.

Другим преимуществом избирательного анализа измеряемого вещества, внутреннего по отношению к DBL, в сочетании с коротким возбуждением является снижение невоспроизводимости измерений от сенсорных полосок, обладающих изменяющимися объемами пространства заглушки. Вариации объема пространства заглушки между сенсорными панелями могут приводить к невоспроизводимости, так как в электронных схемах в известных измерительных устройствах прикладывают одинаковую электрическую разность потенциалов и осуществляют одинаковые вычисления для каждого анализа. Если импульс считывания продолжается после того времени, когда, по существу, проанализировано все измеряемое вещество, присутствующее в пространстве заглушки, то анализ больше не отражает концентрацию измеряемого вещества в образце, но вместо этого отражает количество измеряемого вещества в пространстве заглушки, совсем другое измерение. Таким образом, для сенсорной панели, обладающей более значительным объемом пространства заглушки, будет зарегистрирована более высокая концентрация аналита, чем для сенсорной панели, обладающей меньшим объемом пространства заглушки, вне зависимости от концентрации аналита в образце. По существу, ограничивая анализ измеряемым веществом, присутствующим в DBL, можно снизить невоспроизводимость, в противном случае вносимую образованием вариаций сенсорных полосок.

На фиг.4A и 4B представлены диаграммы, иллюстрирующие усовершенствование измерения точности, когда DBL сочетали с коротким возбуждением. На фиг.4A показана значительная неточность, представленная как расхождение между калибровочными линиями 16% и 48% (полный диапазон гематокритной погрешности), полученными от сенсорной панели, не содержащей DBL, после 1-секундного возбуждения. На фиг.4B показано меньшее расхождение между калибровочными линиями, представляющими более точный результат, когда DBL сочетали с 1-секундным возбуждением. Полный диапазон гематокритной погрешности для DBL в сочетании с коротким возбуждением оказался меньше приблизительно на две третьих, чем полный диапазон погрешности без DBL.

Как описано выше, короткий импульс считывания или возбуждение может обеспечивать усовершенствование точности и/или воспроизводимости анализа. Однако если для анализа используют одиночное короткое возбуждение, то можно не достичь относительно постоянной скорости диффузии измеряемого вещества из DBL к поверхности проводника в ходе анализа. Это состояние также может приводить к неточности измерения вследствие того, что концентрация измеряемого вещества в DBL не точно соответствует концентрации в образце. Более того, одиночное возбуждение не может эффективно уменьшать фоновый сигнал от медиатора.

На фиг.5 представлена блок-схема последовательности операций электрохимического анализа 500 для определения присутствия и не обязательно концентрации аналита 522 в образце 512, посредством которого можно преодолеть недостатки, связанные с короткими возбуждениями. В одном из аспектов в анализе 500 можно уменьшать погрешность из-за фонового влияния медиатора, в то же время обеспечивая более короткое время анализа с DBL или без него. В предпочтительном аспекте анализ 500 можно завершить менее чем за 3 минуты или менее чем за 1 минуту. В более предпочтительном аспекте анализ 500 можно завершить за время от 2 до 50 или от 4 до 32 секунд.

На шаге 510 образец 512 вносят на сенсорную панель 514, такую как сенсорная панель на фиг.1A-1B и 2. Слои реагентов, такие как 275 и/или 285 (фиг.2), начинают

растворять в образце 512, таким образом обеспечивая протекание реакции. На этой стадии анализа можно, не обязательно, предусмотреть начальную временную задержку, или «инкубационный период», для того, чтобы реагенты прореагировали с образцом 512. Предпочтительно необязательная временная задержка может составлять от 1 до 10 секунд. Более подробное рассмотрение начальных временных задержек раскрыто в патентах US №№5620579 и 5653863. В одном из аспектов анализ 500 может уменьшать потребность в инкубационном периоде.

В ходе реакции часть аналита 522, присутствующая в образце 512, химически или биохимически окислена или восстановлена на шаге 520, например, оксидоредуктазой. При окислении или восстановлении, не обязательно, можно осуществлять перенос электронов между аналитом 522 и медиатором 532 на шаге 530.

На шаге 540 измеряемое вещество 542, которое может являться заряженным аналитом 522 с шага 520 или заряженным медиатором 532 с шага 530, подвергают электрохимическому возбуждению (окислению или восстановлению). Например, если образец 512 представляет собой цельную кровь, содержащую глюкозу, окисленную глюкозооксидазой на шаге 520 и переносящую электрон для восстановления медиатора феррицианида (III) в ферроцианид (II) на шаге 530, то возбуждение на шаге 540 приводит к окислению ферроцианида (II) в феррицианид (III) на рабочем электроде. Таким образом, электрон избирательно переносится с аналита глюкозы на рабочий электрод сенсорной панели, где его можно детектировать измерительным устройством (не показано).

Возбуждение на шаге 540 включает вольтамперометрическое сканирование, при котором меняющуюся разность потенциалов или «сканирование» прикладывают между электродами сенсорной панели 514 при, по существу, фиксированной скорости (В/с). Скорость сканирования может являться низкой или высокой; однако быстрые сканирования предпочтительны вследствие природы стробированных импульсных последовательностей. В одном из аспектов скорость, при которой происходит сканирование потенциала, составляет, по меньшей мере, 2 мВ/с, предпочтительно от 20 до 5000 мВ/с, более предпочтительно от 200 до 2000 мВ/с. В настоящее время особенно предпочтительная скорость сканирования составляет от 500 до 1500 мВ/с.

Продолжительность возбуждения на шаге 540 составляет самое большее 4 или 5 секунд и предпочтительно менее 3, 2, 1,5 или 1 секунды. В другом аспекте продолжительность возбуждения на шаге 540 составляет от 0,1 до 3 секунд, от 0,1 до 2 секунд или от 0,1 до 1,5 секунды. Более предпочтительно продолжительность возбуждения на шаге 540 составляет от 0,4 до 1,2 секунды.

На шаге 550 токи, полученные в результате сканирующего возбуждения на шаге 540, можно отслеживать и регистрировать в виде функции от приложенной разности потенциалов (напряжения). Это контрастирует с общепринятой амперометрией и кулонометрией, при которых прикладывают постоянное напряжение, в то время как ток измеряют в виде функции от времени. В одном из аспектов ток отслеживают и регистрируют на шаге возбуждения 540. В другом аспекте ток не отслеживают в течение релаксации на шаге 560 или, по меньшей мере, в течение части релаксации на шаге 560. В другом аспекте ток и потенциал на рабочем электроде можно отслеживать в течение, по меньшей мере, части релаксации на шаге 560, но величины не используют при определении концентрации аналита 522.

На шаге 560 образец подвергается релаксации, при которой измерительное устройство может открыть цепь через сенсорную панель 514, таким образом давая возможность системе перейти на шаг релаксации. В течение релаксации на шаге 560

ток, приложенный в ходе возбуждения на шаге 540, по существу уменьшен, по меньшей мере, на половину, предпочтительно на порядок величины и более предпочтительно до нуля. Предпочтительно состояние с нулевым током обусловлено открытой цепью. В одном из аспектов продолжительность шага релаксации 560 составляет, по меньшей мере, 10, 5, 3, 2, 1,5, 1 или 0,5 секунды. В другом аспекте продолжительность шага релаксации 560 составляет от 0,1 до 3 секунд, от 0,1 до 2 секунд или от 0,1 до 1,5 секунды. Более предпочтительно продолжительность шага релаксации 560 составляет от 0,2 до 1,5 секунды, и она обусловлена открытой цепью.

В течение шага релаксации 560 ионизирующее вещество может реагировать с аналитом с образованием дополнительного количества измеряемого вещества без воздействия со стороны электрической разности потенциалов. Таким образом, в глюкозной сенсорной системе, содержащей глюкозооксидазу и медиатор феррицианид в качестве реагентов, может образовываться дополнительное количество ферроцианида (восстановленного медиатора), соответствующее концентрации аналита в образце без воздействия электрической разности потенциалов в течение шага релаксации 560.

Возбуждение на шаге 540, регистрация на шаге 550 и релаксация на шаге 560 составляют одиночный рабочий цикл. На шаге 570 рабочий цикл повторяют, по меньшей мере, один раз, давая в сумме, по меньшей мере, два рабочих цикла. В одном из аспектов рабочий цикл повторяют, по меньшей мере, дважды, давая в сумме, по меньшей мере, три рабочих цикла в течение 180 секунд, 90 секунд или менее. В другом аспекте импульсная последовательность анализа 500 включает, по меньшей мере, 4, 6, 8, 10, 14, 18 или 22 рабочих цикла, приложенных в течение независимо выбранного периода времени 120, 90, 60, 30, 15, 10 или 5 секунд. В другом аспекте рабочие циклы прикладывают в течение периода времени от 5 до 60 секунд. В другом аспекте от 3 до 18 или от 3 до 10 рабочих циклов можно прикладывать в течение 30 секунд или менее. В другом аспекте от 4 до 8 рабочих циклов можно прикладывать в течение 3-16 секунд.

Повторяющаяся периодическая природа рабочих циклов анализа 500 прямо контрастирует с известными способами, в которых напряжение непрерывно прикладывают к сенсорной панели, и с нее непрерывно поступает ток в течение 5-10 секунд в ходе продолжения импульса считывания. Для этих общепринятых способов приложенное напряжение может обладать фиксированной разностью потенциалов или может обладать разностью потенциалов, которая изменяется с положительной на отрицательную или с положительной или отрицательной разности потенциалов на нулевую разность потенциалов по отношению к относительной разности потенциалов. Даже при нулевой относительной разности потенциалов в этих способах ток непрерывно поступает от сенсорной панели в течение импульса считывания, который дает возможность электрохимической реакции продолжаться на всем протяжении импульса считывания. Таким образом, в этих общепринятых способах как реакция, в которой образуется измеряемое вещество, соответствующее концентрации аналита, так и диффузия измеряемого вещества к рабочему электроду подвергаются действию тока в течение части общепринятого импульса считывания, соответствующей нулевой разности потенциалов. Импульсные последовательности анализа 500 также заметно отличаются от общепринятых способов, в которых используют одиночный длительный импульс со множественными измерениями, такой как импульсы, описанные в патенте US №5243516, благодаря множественным шагам релаксации 560.

На шаге 580 зарегистрированные величины токов и напряжения можно преобразовать с помощью одной или нескольких обработок данных. Преобразованные величины можно использовать для определения присутствия и/или концентрации аналита 522 в образце 512. Преобразованные величины можно также использовать для определения других характеристик анализа 500, включая гематокритную концентрацию образца, многочисленные калибровочные множества, неполное заполнение и содержание активного ионизирующего вещества сенсорной панели, как изложено ниже.

На фиг.6A-6F представлено шесть примеров стробированных вольтамперометрических импульсных последовательностей, которые можно использовать в способе 500. В каждой импульсной последовательности множественные рабочие циклы прикладывали к сенсорной панели после внесения образца. Часть каждого рабочего цикла, соответствующую вольтамперометрическому возбуждению, можно прикладывать линейным (фиг.6A), циклическим (фиг.6B) или нециклическим образом (фиг.6C-6F). В этих примерах использовали наклонные (линейные) или треугольно-волновые (циклические или нециклические) импульсы возбуждения; однако также можно использовать другие типы волн, совместимые с сенсорной системой и образцом.

На фиг.6A представлены множественные наклонные возбуждения, где напряжение возрастало линейно с течением времени до конца. На фиг.6B представлены множественные треугольно-волновые возбуждения, предоставляющие циклические данные, которые включают диапазон полного потенциала медиатора феррицианида. На фиг.6C представлено шесть рабочих циклов, содержащих шесть треугольно-волновых возбуждений, предоставляющих нециклические данные, которые начинаются и заканчиваются по существу при одинаковом напряжении. Вследствие того что последнее возбуждение на фиг.6C, терминальный импульс считывания 640, не содержит релаксацию, показано только шесть рабочих циклов. На фиг.6D представлено семь рабочих циклов, включающих семь треугольно-волновых возбуждений, предоставляющих нециклические данные. Первому рабочему циклу предшествует начальный инкубационный период. На фиг.6E представлены множественные треугольно-волновые возбуждения, предоставляющие нециклические данные, которые начинаются и заканчиваются при разных напряжениях. На фиг.6F представлены множественные треугольно-волновые возбуждения, приводящие к нециклическим данным, которые по существу не включают пики окисления и восстановления окислительно-восстановительной пары феррицианид/ферроцианид.

Терминальный импульс считывания 640 может обладать такой же продолжительностью и скоростью сканирования, как возбуждения предшествующих рабочих циклов, как изображено на фиг.6C, или терминальный импульс считывания 640 может обладать другой продолжительностью или скоростью. В одном из аспектов терминальный импульс считывания 640 может обладать большей продолжительностью и повышенным напряжением по отношению к возбуждениям предшествующих рабочих циклов. Повышенное напряжение может обеспечивать способность детектировать вещество, обладающее большим окислительным потенциалом, такое как контрольный раствор. Более полное обсуждение, относящееся к терминальным импульсам считывания, раскрыто в предварительной заявке на патент US №60/669729 от 8 апреля 2005 года.

Контрольные растворы, содержащие известные количества глюкозы, можно использовать для подтверждения того, что система анализа правильно

функционирует. Конкретные композиции для контрольных растворов раскрыты в патентах US №№3920580, 4572899, 4729959, 5028542, 5605837 и публикациях WO 93/21928, WO 95/13535 и WO 95/13536. Если измерительное устройство не может отличить сигнал от контрольного раствора по сравнению с образцом, показания контрольного раствора можно сохранять как величины для аналита. Таким образом, в запатентованных способах история определения глюкозы может включать неточности относительно диабетического состояния пациента.

Если измерительный прибор не может идентифицировать контрольные растворы и отделить их характеристики от характеристик образцов крови, значения глюкозы в контрольных растворах будут включены в историю измерений глюкозы, которые могут приводить к неправильной интерпретации диабетического состояния пациента.

Каждый из рабочих циклов для импульсных последовательностей, изображенных на фиг.6A-6F, дает времена возбуждения более короткой продолжительности, чем последующие времена релаксации для открытой цепи; однако это не требуется. На фиг.6C продолжительность возбуждений составляет 0,8 секунды при скорости 1 В/с, в то время как продолжительность каждой релаксации составляет около 3,2 секунды. Таким образом, каждый рабочий цикл имеет продолжительность около 4 секунд, и импульсная последовательность продолжается около 24,8 секунд, включая терминальный импульс считывания, для обеспечения интенсивности окисления-восстановления (RI) 0,226 (5,6/24,8). Импульсная последовательность на фиг.6D обеспечивает более низкую RI 0,2 (5,6/28), что связано с инкубационным периодом перед первым рабочим циклом.

Чем выше RI для импульсной последовательности, тем меньше фоновая неточность, вносимая в анализ медиатором. Импульсные последовательности, представленные на фиг.6A-6F, являются окислительными импульсами, предназначенными для возбуждения (например, окисления) восстановленного медиатора, который является измеряемым веществом. Таким образом, чем больше окислительный ток, приложенный к сенсорной панели в данный период времени, тем меньше шанс того, что медиатор, восстановленный способами, другими, чем окисление аналита, даст вклад в регистрируемые величины токов. В сочетании множественные возбуждения стробированной вольтамперометрической импульсной последовательности могут устранять потребность в начальном импульсе для восстановления окислительного состояния медиатора. Для феррицианида являются предпочтительными импульсные последовательности, обладающие величинами RI, по меньшей мере, 0,01, 0,3, 0,6 или 1, с более предпочтительными на настоящее время величинами RI от 0,1 до 0,8, от 0,2 до 0,7 или от 0,4 до 0,6.

В ходе линейного возбуждения, такого как прямое возбуждение 610 (фиг.6A), измеряют ток на рабочем электроде, в то время как потенциал на рабочем электроде изменяется линейно с течением времени с постоянной скоростью. Диапазон возбуждения, например, от -0,5 В до +0,5 В, может охватывать восстановленное и окисленное состояния окислительно-восстановительной пары так, что происходит переход из первого состояния во второе состояние. Можно считать, что ток, измеряемый на рабочем электроде, может состоять из трех компонентов: равновесный ток, диффузионный ток и поверхностный ток. Поверхностный ток, который может происходить из любого вещества, адсорбированного на электроде, как правило, мал. Равновесный и диффузионный токи являются основными компонентами, представленными в результирующей вольтамперограмме.

Линейную вольтамперограмму (зависимость тока от напряжения) можно

охарактеризовать диаграммой, которая начинается на начальном токе, достигает максимального тока и в ходе возбуждения уменьшается до более низкого уровня, ограниченного диффузией тока (DLC). Начальный ток по существу зависит от приложенной разности потенциалов, в то время как DLC не зависит. Если сканирование является достаточно медленным, DLC можно рассматривать как область плато на вольтамперограмме.

Область DLC представляет собой состояние, при котором окисление или восстановление измеряемого вещества на поверхности проводника достигает максимальной скорости, которая по существу ограничена диффузией. Диффузию можно ограничить скоростью, при которой измеряемое вещество перемещается от образца к поверхности проводника. Альтернативно, если рабочий электрод сенсорной панели содержит DBL, то диффузию можно ограничить скоростью, при которой измеряемое вещество перемещается от DBL к поверхности проводника.

Величины DLC, зарегистрированные при относительно постоянной скорости диффузии после регидратации слоя реагента, могут минимизировать неточности, которые в противном случае могут быть внесены вариациями в скоростях регидратации и диффузии реагентов. Таким образом, как только достигнута относительно постоянная скорость диффузии, зарегистрированные величины DLC могут более точно соответствовать концентрации измеряемого вещества и, таким образом, аналита.

После окончания прямого возбуждения 610 для циклического или нециклического возбуждения, такого как возбуждения на фиг.6B и 6C соответственно, прикладывают линейное возбуждение 620 обратного потенциала. Линейное сканирование обратного потенциала возбуждения 620 можно приложить по существу с такой же скоростью, как прямое сканирование 610. Таким образом, диапазон возбуждения сканируют от первой более низкой величины до более высокой величины и в обратном направлении, до второй более низкой величины, где первая и вторая более низкие величины могут являться или не являться одинаковыми для циклического или нециклического сканирований соответственно. С помощью циклических и, в некоторых случаях, нециклических возбуждений можно исследовать переход окислительно-восстановительного вещества из восстановленного состояния в окисленное состояние (и наоборот) по отношению к приложенной разности потенциалов или по отношению к скорости диффузии окислительно-восстановительного вещества к поверхности проводника.

По отношению к линейному возбуждению циклические и нециклические возбуждения могут обеспечивать лучшее представление области DLC возбуждения. Преимущество циклических и нециклических возбуждений может являться в особенности полезным для количественного определения DLC от квазиобратимых окислительно-восстановительных пар при скоростях быстрого сканирования.

На фиг.7A представлены данные по циклическому возбуждению 25 мВ/с для окислительно-восстановительной пары феррицианид/ферроцианид в виде циклической вольтамперограммы. Вольтамперограмма характеризуется пиком прямого тока в ходе прямой части сканирования от -0,3 В до +0,6 В, указывающим на окисление ферроцианида, и пиком обратного тока в ходе сканирования обратного напряжения от +0,6 В в обратном направлении до -0,3 В, указывающим на восстановление феррицианида. Пики прямого и обратного тока концентрируются вокруг формального потенциала $E^{\circ\prime}$ окислительно-восстановительной пары ферроцианид/феррицианид при отнесении к противоэлектроду. В данном аспекте

потенциал противоэлектрода по существу определяется восстановительным потенциалом феррицианида, основного окислительно-восстановительного вещества, присутствующего на противоэлектроде.

Хотя потенциалы, при которых начинаются прямое и обратное сканирования (диапазон возбуждения) можно выбирать так, чтобы включить восстановленное и окисленное состояния окислительно-восстановительной пары, диапазон возбуждения можно уменьшить для укорочения времени анализа. Однако диапазон возбуждения предпочтительно содержит область DLC для окислительно-восстановительной пары. Например, при скорости сканирования 25 мВ/с концентрация восстановленного [Red] и окисленного [Ox] вещества обратимой окислительно-восстановительной пары ферроцианид/феррицианид и результирующий электродный потенциал описывает уравнение Нернста

$$E = E^{0'} + \frac{RT}{nF}\ln\frac{[Ox]}{[Red]} \overset{T=25°C}{=\!=} E^{0'} + \frac{0{,}059}{n}\log\frac{[Ox]}{[Red]} \overset{n=1}{=\!=} E^{0'} + 0{,}059\log\frac{[Ox]}{[Red]} \quad (1)$$

где: R представляет собой газовую постоянную 8,314 Дж/(моль*К); F представляет собой постоянную Фарадея 965000 Кл/экв.; n представляет собой количество эквивалентов на моль; T представляет собой температуру в градусах по Кельвину. Если потенциал на рабочем электроде отнесен к своему собственному окислительно-восстановительному потенциалу, то формальный потенциал E°' обратится по существу в нуль и уравнение сократится до:

$$E = 0{,}059\log\frac{[Ox]}{[Red]} = 0{,}059\log\frac{[Fe(CN)_6^{-3}]}{[Fe(CN)_6^{-4}]}. \quad (2)$$

Из уравнения (2) следует, что, когда отношение окисленного медиатора к восстановленному медиатору изменяется на 10, потенциал на рабочем электроде изменяется приблизительно на 60 мВ. Также верно обратное. Таким образом, для отношений концентраций феррицианида [Ox] к ферроцианиду [Red] 10:1, 100:1, 1000:1 и 10000:1 потенциал на рабочем электроде станет приблизительно 60, 120, 180 и 240 мВ по отношению к нулевому потенциалу соответственно.

Таким образом, когда отношение феррицианида к ферроцианиду составляет ~1000:1, диапазон сканирования от -180 мВ до +180 мВ может обеспечить по существу полное окисление восстановленного вещества на рабочем электроде. При 180 мВ скорость окисления ограничена тем, насколько быстро восстановленная форма медиатора может диффундировать к поверхности проводника и от этого потенциала прямо туда, где существует область DLC. Таким образом, если точка возврата установлена на ~400 мВ от нулевого потенциала, то можно получить область DLC ~200 мВ.

Для обратимых систем может оказаться предпочтительным обеспечение диапазона возбуждения от 400 до 600 мВ, таким образом, вызывая возбуждение от 200 до 300 мВ с каждой стороны от формального потенциала E°' окислительно-восстановительной пары. Для квазиобратимых систем может оказаться предпочтительным обеспечение диапазона возбуждения от 600 до 1000 мВ, таким образом, вызывая возбуждение от 300 до 500 мВ с каждой стороны от формального потенциала E°' окислительно-восстановительной пары.

Для квазиобратимых систем может оказаться предпочтительным больший диапазон возбуждения вследствие того, что область DLC может быть меньше. В дополнение к окислительно-восстановительным парам, которые по природе являются квазиобратимыми, возбуждение при быстром сканировании может приводить к тому, что окислительно-восстановительная пара, которая обратима при скоростях

медленного возбуждения, обладает квазиобратимым поведением. Таким образом, может оказаться предпочтительным обеспечение большего диапазона квазиобратимого возбуждения для обратимой окислительно-восстановительной пары при скоростях быстрого возбуждения.

Предпочтительно, по меньшей мере, 25, 50, 100, 150 или 300 мВ области DLC представлено выбранным диапазоном возбуждения. В другом аспекте точка возврата для циклического или нециклического возбуждения выбрана так, что представлено от 25 до 400 мВ, от 50 до 350 мВ, от 100 до 300 мВ или от 175 до 225 мВ области DLC. Для обратимых систем точку возврата для циклического или нециклического возбуждения можно выбрать так, что представлено от 180 до 260 мВ или от 200 до 240 мВ области DLC. Для квазиобратимых систем точку возврата для циклического или нециклического возбуждения можно выбрать так, что представлено от 180 до 400 мВ или от 200 до 260 мВ области DLC.

После того как точка возврата выбрана для обеспечения требуемой области DLC, можно выбрать продолжительность обратного сканирования для нециклического сканирования. Как можно видеть на фиг.7B, начало прямого сканирования и завершение обратного сканирования при около -0,025 мВ приводило к нециклическому сканированию, которое включало больше пиков прямого тока, чем пиков обратного тока. Из сравнения на фиг.7B следует, что, хотя пиковые значения токов, полученные для циклического (a) и нециклического (b) сканирований, отличаются, область DLC сканирований остается приблизительно одинаковой, в особенности в отношении обратного сканирования.

В другом аспекте обратное возбуждение можно завершить перед достижением пика обратного тока, как изображено на фиг.7C. Тогда, когда прямое возбуждение начиналось при потенциале, достаточно отрицательном, таком как при -0,3 мВ на фиг.7C, по сравнению с серединой диапазона потенциала окислительно-восстановительной пары, такой как -0,05 мВ на фиг.7C, прямое возбуждение включало полный диапазон окислительно-восстановительного потенциала окислительно-восстановительной пары. Таким образом, посредством завершения обратного возбуждения при потенциале от 50 до 500 мВ, от 150 до 450 мВ или от 300 до 400 мВ в отрицательной области от точки возврата, например, пик обратного тока можно не включать для окислительно-восстановительной пары феррицианид/ферроцианид.

Аналогично, обратное возбуждение можно также завершить перед достижением пика обратного тока посредством завершения возбуждения тогда, когда ток обратного возбуждения отклоняется по величине от DLC. Изменение тока обратного возбуждения, по меньшей мере, на 2%, 5%, 10% или 25% можно использовать для указания на начало пика тока обратного возбуждения.

На фиг.7D сравнивается циклическая вольтамперограмма 1 В/с, включающая пики прямого и обратного окисления окислительно-восстановительной пары, с нециклической вольтамперограммой 1 В/с, которая не включает пики прямого и обратного окисления окислительно-восстановительной пары. Нециклическое возбуждение обладало начальными и конечными точками 200 мВ и точкой возврата 300 мВ. Предпочтительные диапазоны возбуждения для нециклических возбуждений в пределах области DLC окислительно-восстановительной пары феррицианид/ферроцианид, которые не включают пики прямого и обратного окисления и восстановления, составляют от 10 до 200 мВ, более предпочтительно от 50 до 100 мВ. Хотя циклическая вольтамперограмма, включающая полный диапазон сканирования, значительно затухала после достижения пикового значения тока,

нециклическая вольтамперограмма давала по существу плоскую область тока за пределами диапазона сканирования. Эта область тока может непосредственно коррелировать с концентрацией аналита в образце.

Как видно на фиг.7D, величины токов, зарегистрированные для нециклического возбуждения, в числовом отношении меньше, чем величины циклического возбуждения, хотя фоновый ток ниже для нециклического возбуждения. Это полезное уменьшение фонового тока неожиданно получено без необходимости инициации нециклического возбуждения в части пика восстановления циклического возбуждения. Таким образом, быстрое и короткое нециклическое возбуждение в пределах области DLC окислительно-восстановительной пары может повышать точность определения аналита благодаря уменьшению фонового тока, что может обеспечить повышение отношения сигнала к фону.

Циклическое и нециклическое возбуждения могут давать многочисленные преимущества по отношению к линейным возбуждениям. В одном из аспектов часть обратного сканирования от точки возврата до точки, где начинается пик обратного тока, может лучше представлять истинные величины DLC, чем область DLC прямого сканирования. Область DLC обратного возбуждения может более точно представлять концентрацию аналита для квазиобратимых окислительно-восстановительных систем или при высоких скоростях возбуждения благодаря тому, что прямое возбуждение может не отображать отдельную область DLC.

Нециклические возбуждения могут обладать многочисленными преимуществами по сравнению с циклическими возбуждениями, включая более короткое время возбуждения и существенное уменьшение количества медиатора, электрохимически превращенного в измеряемое состояние. Таким образом, если медиатор восстановлен под влиянием аналита и электрохимически окислен в ходе измерения, завершение обратного возбуждения перед электрохимическим восстановлением окисленного медиатора снижает количество восстановленного медиатора в образце, которое не соответствует аналиту. Аналогично, начало прямого возбуждения при потенциале, более высоком, чем тот, при котором восстановлено измеряемое вещество, также может снижать количество восстановленного медиатора в образце, которое не соответствует аналиту. Оба вида нециклического возбуждения могут обеспечить более короткое время анализа, что является значительным преимуществом для пользователя.

На фиг.8A-8D показаны выходные динамические токи, представленные в виде функции потенциала, исходя из импульсной последовательности на фиг.6C с использованием 7 треугольно-волновых возбуждений для образцов WB, содержащих 40% гематокрит и 0, 50, 100 и 400 мг/дл глюкозы. Скорость сканирования составляла 1 В/с. Вместо общепринятого длительного импульса считывания, приводящего к избыточному окислению измеряемого вещества, за каждым треугольным возбуждением следовала релаксация для обеспечения разрыва в профиле тока. Токи из каждого последовательного возбуждения наносили на диаграмму в виде отдельной «повторной» линии, таким образом, давая повторы от 1 до 7 включительно для каждой фигуры.

Величины токов для каждого из множественных возбуждений (каждый повтор) вольтамперограмм на фиг.8A-8D превращали в одиночное значение данных и соединяли для получения контурных профилей фиг.9A-9C. Для фиг.9A и 9B превращение осуществляли отбором величины токов при одинаковом потенциале на области DLC каждого последовательного возбуждения, например, 300 мВ. На фиг.9A величины токов из фиг.8A-8D непосредственно наносили на диаграмму в виде

функции от времени исходя из завершения импульсной последовательности. На фиг.9B использована полуинтегральная обработка данных величин токов перед нанесением. Для фиг.9C множественные возбуждения превращали в одиночные значения данных отбором пиковой величины токов для каждого повтора и с использованием обработки данных с взятием полупроизводной. Таким образом, оси X контурных профилей представляют собой время, имитируя данные, полученные для известной системы в стационарном состоянии, где изменение тока с течением времени является по существу постоянным. Хотя токи зарегистрированных вольтамперограмм можно обрабатывать множеством способов для извлечения полезной информации, в настоящее время является предпочтительной обработка данных с взятием полуинтеграла, полупроизводной и производной.

Профили динамического тока, полученные, исходя из стробированных вольтамперометрических импульсных последовательностей, коренным образом отличаются от профилей тока, полученных, исходя из известного анализа с использованием одиночного импульса считывания. Хотя токи, зарегистрированные, исходя из одиночного импульса считывания, происходят из одиночной релаксации/диффузии, каждая временная точка на контурном профиле динамических токов происходит из возбуждения после независимого процесса релаксации/диффузии. Более того, с увеличением продолжительности возбуждения корреляция между током и концентрацией аналита может уменьшаться часто вследствие гематокритного эффекта. Таким образом, можно увеличить точность анализа с использованием множественных коротких возбуждений по сравнению с анализом с использованием более длительного импульса считывания, обладающего продолжительностью объединенных множественных возбуждений.

Применение этих обработок данных для анализа глюкозы описано ниже. Более подробное обсуждение обработок данных для преобразования электрохимических токов и связанных с ними программных реализаций можно найти в Bard, A.J., Faulkner, L.R., «Electrochemical Methods: Fundamentals and Applications», 1980; Oldham, K.B., «A Signal-Independent Electroanalytical Method», Anal. Chem. 1972, 44, 196; Goto, M., Oldham, K.B., «Semi-integral Electroanalysis: Shapes of Neopolarograms», Anal. Chem. 1973, 45, 2043; Dalrymple-Alford, P., Goto, M., Oldham, K.B., «Peak Shapes in Semi-differential Electroanalysis», Anal. Chem. 1977, 49, 1390; Oldham, K.B., «Convolution: A General Electrochemical Procedure Implemented by a Universal Algorithm», Anal. Chem. 1986, 58, 2296; Pedrosa, J.M., Martin, M.T., Ruiz, J.J., Camacho, L., «Application of the Cyclic Semi-Integral Voltammetry and Cyclic Semi-Differential Voltammetry to the Determination of the Reduction Mechanism of a Ni-Porphyrin» J. Electroanal. Chem. 2002, 523, 160; Klicka, R., «Adsorption in Semi-Differential Voltammetry», J. Electroanal. Chem. 1998, 455, 253.

Полуинтегрированием вольтамперограммы можно отделить DLC от равновесного тока, измененного гематокритом (начальный пик), так как можно наблюдать отдельные сигналы для измененного гематокритом равновесного si-тока и гематокрита. Это в особенности верно при медленных скоростях сканирования. Полуинтеграл экспериментально полученного вольтамперометрического тока i(t) выражается уравнением

$$\frac{d^{-1/2}}{dt^{-1/2}} i(t) = I(t) = \frac{1}{\pi^{1/2}} \int_0^t \frac{i(u)}{(t-u)^{1/2}} du \qquad (3)$$

где: i(t) представляет собой функцию от времени вольтамперометрического тока, полученного в ходе сканирования;

I(t) представляет собой преобразование и полуинтеграл i(t);

u представляет собой параметр преобразования; и

$d^{-1/2}/dt^{-1/2}$ представляет собой оператор полуинтегрирования.

При достаточно высоком окислительном потенциале стационарный полуинтегральный ток представлен в виде:

$$I_{lim} = nFAD^{1/2}C \ (\text{Кл/с}^{1/2}) \quad (4)$$

где: I_{lim} представляет собой DLC при условии того, что поверхностная концентрация окисляемого вещества равна нулю. Обратите внимание на то, что единицей измерения полуинтегрального тока является $Кл/с^{1/2}$, что не является традиционной единицей измерения для выражения электрического тока, которая представляет собой Кл/с.

Для простоты I_{lim} обозначен как DLC при полуинтегрировании (SI) с единицей измерения $Кл/с^{1/2}$. Этот SI-ток ($Кл/с^{1/2}$) представляет собой только полуинтегрирование тока (Кл/с). Полуинтегрирование коренным образом отличается от кулонометрии, где используют полный интеграл кривой i-t для получения полного заряда, проходящего через электроды.

Хотя уравнение (3) дает теоретическое определение полуинтеграла, для цифровой обработки данных i-t можно разделить на N равномерно расположенных временных интервалов между t=0 и t=NΔt. Один из таких алгоритмов цифровой обработки выражается уравнением (5), где t=kΔt и u=jΔt, и i определяют в середине каждого интервала.

$$I(k\Delta t) = \frac{1}{\pi^{1/2}} \sum_{j=1}^{j=k} \frac{i(j\Delta t - 1/2\Delta t)\Delta t^{1/2}}{\sqrt{k-j+1/2}} \quad (5)$$

Предпочтительный алгоритм для цифровой обработки представлен в виде:

$$I(k\Delta t) = \frac{1}{\pi^{1/2}} \sum_{j=1}^{j=k} \frac{\Gamma(k-j+1/2)}{(k-j)!} \Delta t^{1/2} i(j\Delta t) \quad (6)$$

где: Γ(x) представляет собой гамма-функцию от x, где $\Gamma(1/2)=\pi^{1/2}$, $\Gamma(3/2)=1/2\pi^{1/2}$ и $\Gamma(5/2)=3/2*1/2\pi^{1/2}$ и т.д.

Из уравнения (4) можно видеть, что у SI-тока отсутствует фактор зависимости от времени известных амперометрических способов. Таким образом, характеристику SI-тока можно рассматривать в виде серий токов плато, вместо непрерывно изменяющихся амперометрических токов, полученных с помощью общепринятой амперометрии. Вследствие того что полуинтегрирование позволяет количественно определять DLC, можно использовать более высокую скорость сканирования, чем ту, когда количественно определяют пиковые значения токов. Таким образом, линейная, циклическая или нециклическая вольтамперометрия в сочетании с полуинтегрированием может быстро получить DLC в зависимости от концентраций глюкозы. Таким образом, можно уменьшить недостатки времен длительного ожидания кулонометрии и нестационарной природы тока в общепринятой амперометрии.

Из уравнения (4) также следует, что обратимые или квазиобратимые окислительно-восстановительные пары предпочтительны для использования с полуинтегрированием. Это происходит потому, что полуинтеграл от обратимой или квазиобратимой окислительно-восстановительной пары может показывать резкий переход от восстановленного состояния в окисленное состояние (и наоборот) и широкую область DLC, таким образом, позволяя более легко определить переход. Феррицианид/ферроцианид и состояния +3 и +2 рутения-гексамина являются примерами окислительно-восстановительных пар, обладающих предпочтительными

обратимыми (медленное сканирование) или квазиобратимыми (быстрое сканирование) типами поведения.

Плохо активированные электроды не могут обеспечить приемлемое состояние DLC даже с обратимыми или квазиобратимыми окислительно-восстановительными парами. Известные способы активации электродов, такие как способы, описанные в патенте US №5429735, можно использовать для достижения предпочтительной активности электродов.

В дополнение к полуинтегралам также можно использовать полупроизводные вольтамперограммы для количественного определения аналита измерением пика полупроизводной. Полупроизводная экспериментально полученного вольтамперометрического тока i(t) обладает следующими математическими формами:

$$\frac{d^{1/2}}{dt^{1/2}} i(t) \qquad (7)$$

$$\frac{d^{1/2}}{dt^{1/2}} i(t) = \frac{dI(t)}{dt} = \frac{d}{dt}\left[\frac{1}{\pi^{1/2}} \int_0^t \frac{i(u)}{(t-u)^{1/2}} du\right], (\text{Кл/с}^{3/2}) \qquad (8)$$

где: I(t) представляет собой полуинтеграл функции от времени i(t). Уравнения, используемые для обработки данных с взятием полуинтеграла, полупроизводной и производной, описанные ниже, реализованы с помощью набора программного обеспечения для электрохимической рабочей станции, версии 4,07, модифицированной 26 апреля 2004 года, который прилагается к электрохимической рабочей станции CH Instruments, модель CHI 660A.

На фиг.10A представлена полуинтегральная циклическая вольтамперограмма из фиг.7A. Аналогично, на фиг.10B представлена полуинтегральная нециклическая вольтамперограмма из фиг.7C, где обратное возбуждение заканчивалось перед инициацией пика обратного тока. На фиг.10C установлено, что если полуинтеграл циклического и нециклического возбуждений фиг.7B представлен в виде диаграммы, то область DLC обратного сканирования легко установлена, обеспечивая точную регистрацию тока до 50 мВ от точки возврата. Более того, часть пика полуинтегральной диаграммы соответствует значению гематокрита в образце, и размеры пика можно количественно соотнести с уровнем гематокрита.

На фиг.10D показаны полуинтегралы для циклического и 200-300 мВ нециклического возбуждений фиг.7D. Форма si-вольтамперограммы для короткого нециклического возбуждения отличается от вольтамперограммы циклического возбуждения вследствие того, что область окислительно-восстановительного перехода отсутствует в нециклическом возбуждении. Посредством начала нециклического возбуждения в области DLC фоновый si-ток уменьшается с более высокой скоростью по сравнению со скоростью, наблюдаемой для циклической вольтамперограммы, улучшая отношение сигнала к фону для нециклического возбуждения. Более того, обратный si-ток для нециклического возбуждения обладает плато, более точно отображающим концентрацию аналита в образце, чем прямой si-ток. Таким образом, нециклическое сканирование области DLC обеспечило повышение точности анализа по сравнению с циклическим возбуждением.

На фиг.11 показаны контурные профили, полученные путем полуинтегрирования вольтамперограмм для семи импульсных последовательностей возбуждения для образцов WB, содержащих 0, 56, 111, 221,75, 455,25 и 712,5 мг/дл глюкозы плазмы. Для каждой концентрации глюкозы достигалось равновесие по отношению к регидратации DBL при наивысшей величине тока на контурном профиле для каждой

концентрации глюкозы. Таким образом, показания 1110 (самое высокое) и 1120 (более низкое) устанавливают, что для концентрации глюкозы 455 мг/дл равновесие достигнуто относительно регидратации DBL приблизительно за четыре секунды.

Величины токов, зарегистрированные при относительно постоянной скорости диффузии, могут минимизировать неточности, которые в противном случае могут быть внесены из-за вариаций в скоростях регидратации и диффузии реагентов. Таким образом, после достижения относительно постоянной скорости диффузии зарегистрированные величины токов могут более точно соответствовать концентрации измеряемого вещества и, таким образом, аналита. Более того, для фиг.11 можно осуществить полный анализ всего за семь секунд вследствие того, что если известна наибольшая величина тока 1110 контурного профиля, то его величина может непосредственно коррелировать с концентрацией аналита. Дополнительные значения данных можно получить для уменьшения фоновой ошибки, обусловленной медиатором, как обсуждалось ранее относительно RI.

Другой формой обработки данных, которую можно использовать для получения контурного профиля, является взятие полупроизводной. Одна операция получения полупроизводной состоит во взятии полной производной полуинтеграла, как ранее описано в отношении уравнения (8). В отличие от области плато, представляющей вольтамперометрическое сканирование на полуинтегральных диаграммах, полупроизводные диаграммы преобразуют данные вольтамперометрического сканирования в пик, сосредоточенный в области перехода окислительно-восстановительной пары.

На фиг.12A представлены циклическая вольтамперограмма (a), полуинтеграл (b) и полупроизводная (c) для 16 мМ ферроцианида в образце WB с 20% гематокритом. В этом случае на рабочем электроде сенсорной панели отсутствуют фермент и окисленный медиатор. Фиг.12B представляет собой увеличенное изображение полупроизводной кривой фиг.12A, на которой показана высота пика для прямого сканирования. Величина высоты пика прямого или обратного сканирования может коррелировать с концентрацией аналита в образце. Более того, обработка данных с взятием полупроизводной может по своей природе обеспечивать поправку на гематокрит для определения глюкозы, в особенности для образцов, содержащих менее 40% гематокрита. Более подробное описание применения обработки данных с взятием полупроизводной для анализа глюкозы можно найти в публикации WO 2005/114164 от 16 мая 2005 года.

Кроме обработки данных с взятием полуинтеграла и полупроизводной, также можно использовать обработку данных с взятием производной для получения контурного профиля и, таким образом, определения концентрации аналита в образце. На фиг.13A-13C представлены производные циклических вольтамперограмм для образцов, обладающих 20, 40 и 60% гематокритом. На этих производных диаграммах показано начальное увеличение тока с возрастанием напряжения, с последующим снижением и, наконец, область DLC. Гематокритный эффект, представленный в виде более отрицательных величин пиков, можно видеть на отрицательном пике, расположенном при около 0,1 В на фиг.12A-12C с более высокой концентрациями RB-клеток.

Хотя величины положительных и отрицательных пиков производной, таких как пики, изображенные на производной диаграмме фиг.13B, зависят от концентрации, отношение отрицательного пика к положительному пику исключает зависимость от концентрации, таким образом, являясь зависимым от гематокрита. Вследствие того

что это отношение (HI-DER) не зависит от концентрации и зависит от гематокрита, отношение указывает на процентную долю гематокрита в образце. Таким образом, это отношение пиков производной можно использовать для определения уравнения поправки на гематокрит для определения аналита. Более подробное описание применения обработки данных с взятием производной для анализа глюкозы можно найти в публикации WO 2005/114164.

Кроме способности стробированных импульсных последовательностей уменьшать неточность вследствие гематокритного эффекта и вследствие фонового сигнала медиатора, сочетание профиля динамического тока каждого возбуждения и результирующих контурных профилей можно использовать для получения нескольких множеств калибровочных постоянных для сенсорной системы, таким образом, повышая точность анализа. Каждое полученное множество калибровочных постоянных можно использовать для соотнесения конкретного показания тока с конкретной концентрацией измеряемого вещества в образце. Таким образом, в одном из аспектов увеличение точности можно получить усреднением величин для глюкозы, полученных с использованием нескольких множеств калибровочных постоянных.

В общепринятых электрохимических сенсорных системах, как правило, используют одно множество калибровочных постоянных, такое как наклон и отсекаемый отрезок, для преобразования показаний тока в соответствующую концентрацию аналита в образце. Однако одиночное множество калибровочных постоянных может приводить к неточностям в концентрации аналита, определяемой по зарегистрированным величинам токов вследствие того, что в измерении участвует фоновый шум.

Посредством получения величины токов или преобразованной величины токов после обработки данных в фиксированное время в пределах каждого рабочего цикла стробированной вольтамперометрической импульсной последовательности можно получить несколько множеств калибровочных постоянных. На фиг.14 представлены диаграммы полуинтегральных токов, зарегистрированных на 7,4, 10,65, 13,9 и 17,15 секунды для контурных профилей фиг.11. Каждая из этих четырех калибровочных линий независима от другой, и ее можно использовать, по меньшей мере, двумя способами.

Во-первых, можно использовать несколько множеств калибровочных постоянных для определения количества рабочих циклов, которые следует прикладывать в ходе импульсной последовательности для получения требуемой точности и воспроизводимости. Например, если величины токов, полученные исходя из первых трех возбуждений, указывают на высокую концентрацию глюкозы, такую как >150 или 200 мг/дл, сенсорная система может рано закончить анализ, например после 4-го возбуждения, изображенного на фиг.11. Таким образом, можно существенно сократить время, требуемое для анализа. Такое сокращение возможно вследствие того, что невоспроизводимость при высоких концентрациях глюкозы, как правило, меньше, чем при более низких концентрациях глюкозы. Наоборот, если величины токов, полученные исходя из первых трех возбуждений, указывают на низкую концентрацию глюкозы, такую как ≤150 или 100 мг/дл, сенсорная система может продлить анализ до более 5 или 7 возбуждений. Таким образом, точность и/или воспроизводимость анализа можно повышать включением 5 или более рабочих циклов.

Во-вторых, несколько множеств калибровочных постоянных можно использовать для повышения точности и/или воспроизводимости анализа путем усреднения. Например, если время измерения исследуемой глюкозы составляет 17,15 секунды,

можно использовать токи на 10,65, 13,9 и 17,15 секунды для вычисления концентраций глюкозы с использованием наклонов и отсекаемых отрезков от соответствующих калибровочных линий; таким образом, $G_{10,65}=(i_{10,65}-Int_{10,65})/Slope_{10,65}$, $G_{13,9}=(i_{13,9}-Int_{13,9})/Slope_{13,9}$ и $G_{17,15}=(i_{17,15}-Int_{17,15})/Slope_{17,15}$. Теоретически, эти три значения глюкозы должны быть эквивалентными, отличаясь только благодаря случайным изменениям. Таким образом, значения глюкозы $G_{10,65}$, $G_{13,9}$ и $G_{17,15}$ можно усреднить и можно вычислить окончательное значение глюкозы $(G_{10,65}+G_{13,9}+G_{17,15})/3$. Усреднение значений исходя из калибровочных линий может обеспечить уменьшение шума при скорости $1/\sqrt{3}$).

Неожиданным преимуществом стробированных вольтамперометрических импульсных последовательностей, включающих относительно короткие возбуждения и относительно длительные релаксации, изображенные на фиг.6С, является способность упрощать калибровку. В то время как несколько множеств калибровочных постоянных, которые можно получить исходя из динамических и контурных профилей, могут обеспечить преимущество в точности анализа, импульсная последовательность, изображенная на фиг.6С, исходя из одиночного множества калибровочных постоянных, может обеспечить точность, аналогичную той, которую получают с использованием нескольких множеств калибровочных постоянных. Этот эффект можно наблюдать на контурных профилях фиг.11 и результирующих калибровочных линиях на фиг.14.

Это неожиданное повышение точности можно отнести за счет относительно длительных времен релаксации по сравнению с короткими релаксациями. В одном из аспектов предпочтительны отношения времени возбуждения/релаксации (ERT) от 0,3 до 0,2, с более предпочтительными отношениями ERT от 0,27 до 0,22. Например, стробированную вольтамперометрическую импульсную последовательность, обладающую отношением ERT 0,25 (0,8 секунды/3,2 секунды), изображенную на фиг.6С, можно предпочесть импульсу, обладающему отношением ERT больше 0,3, такому как импульсная последовательность на фиг.6В, обладающая отношением ERT 0,56 (1,4 секунды/2,5 секунды). Не вдаваясь в конкретные теоретические подробности, относительно длительные времена релаксаций могут обеспечить состояние, при котором средняя скорость потребления измеряемого вещества в ходе возбуждения компенсирована скоростью поступления измеряемого вещества, диффундирующего в DBL. Таким образом, несколько множеств калибровочных постоянных могут перейти в одиночное множество, и преобразование зарегистрированных данных в концентрацию аналита можно упростить осуществлением процесса усреднения зарегистрированных данных тока перед определением концентрации аналита.

Динамические профили тока, получаемые с помощью множественных рабочих циклов, можно использовать для определения того, является ли сенсорная панель не полностью заполненной образцом, чтобы позволить пользователю внести дополнительное количество образца на сенсорную панель. Кроме рабочего электрода и противоэлектрода, общепринятые сенсорные системы могут определять состояние неполного заполнения с помощью использования третьего электрода или электродной пары; однако третий электрод или электродная пара приводят к усложнению и увеличению стоимости сенсорной системы.

Известные двухэлектродные системы способны определять, что анализ «плохой», но не могут определять, вызвана ли причина неудачного анализа неполным заполнением или дефектной сенсорной панелью. Способность определять, вызван ли неправильный анализ неполным заполнением, является полезной, так как его можно

исправить внесением дополнительного количества образца на ту же самую сенсорную панель и повторением анализа, предотвращая хорошую панель от забраковывания.

На фиг.15 представлены циклические вольтамперограммы, полученные при неполном заполнении сенсорной панели, в то время как на фиг.8А представлены серии семи циклических вольтамперограмм, полученных с помощью стробированной вольтамперометрической импульсной последовательности от нормально заполненной сенсорной панели. В обоих случаях скорость сканирования составляла 1 В/с. Даже если образец на фиг.8А совсем не содержал глюкозы и образец, использованный на фиг.15, содержал 400 мг/дл глюкозы, величины токов, полученные от неполностью заполненной панели, обладающей концентрацией глюкозы 400 мг/дл, оказались значительно ниже величин от нормально заполненной панели, не содержащей глюкозы. Таким образом, можно определить с помощью второго рабочего цикла импульсной последовательности, что полученные токи ниже, чем ранее выбранная величина, и что сенсорная панель не полностью заполнена. Например, для системы на фиг.15 начальные величины токов меньше 0 означают, что сенсорная панель не полностью заполнена.

Таким образом, стробированные вольтамперометрические импульсные последовательности по настоящему изобретению позволяют детектировать неполное заполнение в двухэлектродной сенсорной панели; что, как правило, требует третьего электрода в известных сенсорных системах. Более того, определение неполного заполнения можно осуществлять менее чем за 5 секунд, предоставляя время измерительному устройству сигнализировать пользователю, например, направлением сигнала к светоизлучающему устройству или дисплею, чтобы добавить дополнительное количество образца на панель.

Общая проблема для точности способов анализа с использованием панели состоит в том, что реагенты, в особенности фермент, деградируют с течением времени. Один из этих эффектов деградации фермента состоит в изменении калибровочных величин и, таким образом, воспроизводимости и/или точности анализа.

Динамические профили тока, получаемые путем множественных рабочих циклов по настоящему изобретению, можно использовать для определения содержания активного ионизирующего вещества старых сенсорных панелей, где ионизирующее вещество может деградировать. Знание количества ионизирующего вещества, доступного для реакции с аналитом, может позволить идентифицировать дефектные сенсорные панели и скорректировать величину концентрации аналита для обеспечения требуемой точности и воспроизводимости анализа. Таким образом, можно обеспечить точность и/или воспроизводимость анализа, полученного для сенсорных панелей, обладающих варьирующими количествами активного ионизирующего вещества вследствие вариаций изготовления или деградации реагента.

На фиг.16А представлены полуинтегральные циклические вольтамперограммы, полученные от пяти сенсорных панелей со скоростями сканирования 1 В/с, для образца, содержащего 100 мг/дл глюкозы и 40% гематокрита в WB. Хотя на фиг.16А представлены нециклические вольтамперограммы, способ можно также применять для циклических сканирований. Ионизирующим веществом, используемым в слое реагента для сенсорных панелей, являлся фермент глюкозооксидаза (GO). Каждая сенсорная панель содержала, в процентных долях от сухой массы, 1,7, 3,5, 5,3, 7 или 10 процентов (масса/масса) GO по отношению к суммарной сухой массе вещества, образующего слой реагента. Как показано, величины токов для прямых сканирований возрастают по отношению к величинам для обратных сканирований с возрастанием

процентной доли ионизирующего вещества. Таким образом, различие между величинами токов для прямого и обратного сканирования можно использовать для определения процентной доли активного ионизирующего вещества, присутствующего в слое реагента сенсорной панели.

На фиг.16B представлена диаграмма отношения величин si-тока для прямого и обратного сканирования, зарегистрированных при потенциале 0,15 в виде функции процентной доли GO. После того как определена корреляция между отношениями прямого и обратного тока и процентной долей активной GO, количество активной GO, присутствующей в слое реагента, можно определить исходя из величин токов, измеренных для панели. Отношение прямого и обратного сканирований можно определить до или в течение части анализа аналита импульсной последовательности, таким образом, предоставляя пользователю уведомление о том, является ли панель дефектной.

Действительное содержание активного ионизирующего вещества на панели можно затем использовать для изменения наклона калибровки на основе взаимоотношения, как показано на фиг.16C. На фиг.16C представлена типичная зависимость наклона калибровки в виде линейной зависимости для сенсорной панели как функции от содержания GO (% от сухой массы). На диаграмме показано, что с возрастанием содержания GO понижается наклон калибровки. Таким образом, если действительное содержание GO в слое реагента вычислить исходя из фиг.16B, то измененный наклон для сенсорной панели на основе GO можно вычислить исходя из многочлена 2-й степени на фиг.16C с использованием содержания GO в качестве входных данных. Полученный на выходе наклон затем можно использовать для исправления величины концентрации глюкозы в зависимости от отличающихся количеств активного ионизирующего вещества, присутствующего в слое реагента сенсорной панели. Таким образом, можно уменьшить неточность и/или невоспроизводимость, которая в противном случае может возникнуть вследствие деградации фермента.

На фиг.17 представлено измерительное устройство 1700, содержащее контакты 1720, электрически связанные с электрической схемой 1710 и дисплеем 1730. В одном из аспектов измерительное устройство 1700 является переносным и адаптировано для портативного использования и подключения сенсорной панели 100 (фиг.1A). В другом аспекте измерительное устройство 1700 является переносным измерительным устройством, адаптированным для подключения сенсорной панели и генерации стробированных вольтамперометрических импульсных последовательностей.

Контакты 1720 адаптированы для обеспечения электрической связи с электрической схемой 1710 и контактами сенсорной панели, такими как контакты 170 и 180 сенсорной панели 100 на фиг.1B. Электрическая схема 1710 может включать электрическое зарядное устройство 1750, процессор 1740 и считываемый компьютером носитель информации 1745. Электрическое зарядное устройство 1750 может представлять собой потенциостат, генератор сигналов и т.п. Таким образом, зарядное устройство 1750 может прикладывать напряжение на контакты 1720, в то же время при регистрации результирующего тока функционируя в качестве зарядного регистрирующего устройства.

Процессор 1740 можно электрически связать с зарядным устройством 1750, считываемым компьютером носителем информации 1745 и дисплеем 1730. Если зарядное устройство не адаптировано для регистрации тока, то процессор 1740 можно адаптировать для регистрации тока на контактах 1720.

Считываемый компьютером носитель информации 1745 может являться любым носителем информации, таким как магнитное, оптическое, полупроводниковое запоминающее устройство и т.п. Считываемый компьютером носитель информации 1745 может являться стационарным запоминающим устройством или съемным запоминающим устройством, таким как съемная карта памяти. Дисплей 1730 может являться аналоговым или цифровым, в одном из аспектов LCD-дисплей адаптирован для показа числовых данных.

Если контакты сенсорной панели, содержащей образец, электрически связаны с контактами 1720, то процессор 1740 может заставить зарядное устройство 1750 прикладывать стробированную вольтамперометрическую импульсную последовательность к образцу, таким образом, начиная анализ. Процессор 1740 может начать анализ, например, в зависимости от подключения сенсорной панели, нанесения образца на предварительно подключенную сенсорную панель или в зависимости от ввода пользователем.

Инструкции относительно генерации стробированной вольтамперометрической импульсной последовательности может обеспечить считываемая компьютером системная программа, которая хранится на считываемом компьютером носителе информации 1745. Программа может являться объектной программой или любой другой программой, описывающей или контролирующей функционирование, описанное в данной заявке. Данные, которые получают исходя из стробированной вольтамперометрической импульсной последовательности, можно подвергать одной или нескольким обработкам данных, включая определение скоростей распада, постоянных K, наклонов, отсекаемых отрезков и/или температуры образца, с помощью процессора 1740, и результаты, такие как исправленная концентрация аналита, выводятся на дисплей 1730. Как и в случае инструкций относительно импульсной последовательности, обработку данных можно осуществлять процессором 1740 с помощью считываемой компьютером системной программы, которая хранится на считываемом компьютером носителе информации 1745.

ПРИМЕРЫ

Пример 1: Получение вольтамперометрических данных

Циклическая вольтамперограмма (фиг.7A) получена с помощью электрохимической рабочей станции CH путем приложения разности потенциалов между рабочим электродом и противоэлектродом сенсорной панели, которая линейно изменялась на 1 В/с со скоростью сканирования 0,025 В/с. Ток, полученный на рабочем электроде в ходе приложения разности потенциалов, зарегистрирован и нанесен на диаграмму в виде функции от приложенной разности потенциалов. После начального возбуждения 0,8 секунды потенциостат открыл цепь для обеспечения релаксации 3,2 секунды. Шесть дополнительных возбуждений приложено к панели с использованием импульсной последовательности на фиг.6C. Таким образом, получено семь нециклических вольтамперограмм для концентраций глюкозы 0, 50, 100 и 400 мг/дл (фиг.8A-8D) соответственно.

Пример 2: Получение контурных диаграмм для множественной обработки данных

Фиг.9A, 9B и 9C представляют собой контурные диаграммы необработанных вольтамперометрических токов, обработанных данных с взятием полуинтеграла и полупроизводной, соответственно. На фиг.9A необработанные величины тока при 0,3 В отбирали из каждого прямого сканирования для получения семи экспериментальных значений. На результирующей контурной диаграмме представлены необработанные величины токов в виде функции от времени с того

момента, как каждый рабочий цикл включал возбуждение 0,8 секунды с последующей релаксацией 3,2 секунды.

На фиг.9B представлена контурная диаграмма тех же вольтамперометрических данных, преобразованных путем обработки данных с взятием полуинтеграла согласно уравнению (3) и полученных с помощью уравнений (5) и (6). Полуинтегральную обработку данных осуществляли так, как представлено в программном пакете для электрохимической рабочей станции CH, версия 4,07, модифицированная 26 апреля 2004 года, которая прилагается к электрохимической рабочей станции CH Instruments, модель CHI 660A. После полуинтегральной обработки полуинтегральные токи при 0,3 В отбирали из обратной части каждого сканирования и наносили на диаграмму в виде функции от времени, как ранее описано для фиг.9A.

На фиг.9C представлена контурная диаграмма тех же вольтамперометрических данных, преобразованных путем обработки данных с взятием полупроизводной согласно уравнению (8). Используемую обработку данных с взятием полупроизводной осуществляли так, как представлено в программном пакете для электрохимической рабочей станции CH, версия 4,07, модифицированная 26 апреля 2004 года, которая прилагается к электрохимической рабочей станции CH Instruments, модель CHI 660A. После обработки с взятием полупроизводной пиковую величину тока отбирали из каждого сканирования и наносили на диаграмму в виде функции от времени, как ранее описано для фиг.9A и 9B. Таким образом, ось Y на фиг.9C обладает для полупроизводных токов размерностью мкКл/с$^{3/2}$.

Пример 3: Построение калибровочных диаграмм и определение концентрации аналита

Как показано на фиг.14, калибровочная диаграмма для способа полуинтегральной обработки данных получена взятием полуинтегральных токов для четырех разных концентраций глюкозы на 8,8, 12,8, 16,8 и 20,8 секунды из фиг.9B и нанесением на диаграмму токов в виде функции от концентрации глюкозы в плазме YSI. Концентрации глюкозы в образцах определяли из калибровочной диаграммы, вставляя полуинтегральный обработанный ток из измерения образца в конкретное время в наклон и отсекаемый отрезок калибровочной линии.

Калибровочные диаграммы для необработанных и обработанных с взятием полупроизводной данных получали аналогично. Калибровочные диаграммы затем использовали для определения концентраций глюкозы в образцах, исходя из необработанных и обработанных с взятием полупроизводной измеренных величин токов, взятых в конкретное время.

Пример 4: Определение концентрации аналита исходя из нескольких калибровочных множеств

На фиг.4 представлены, по меньшей мере, четыре калибровочные линии для времен вплоть до 20,8 секунды. Для времени анализа 16,8 секунды калибровочные значения на 8,8 и 12,8 секунды использовали для калибрования значений глюкозы. Три значения глюкозы, вычисленные исходя из калибровочных значений 8,8, 12,8 и 16,8 секунды, получили в результате независимых окислений, разделенных временем релаксации перед возбуждением 8,8, 12,8 и 16,8 секунды. Отображая одинаковую концентрацию глюкозы в образце, величины концентрации отличались вследствие экспериментального шума. Таким образом, путем усреднения этих величин, $G=(G_{8,8}+G_{12,8}+G_{16,8})/3$ возросло отношение сигнала к шуму для конечной величины концентрации глюкозы.

Хотя описаны различные варианты осуществления изобретения, будет очевидно для

специалистов в данной области, что в пределах объема изобретения возможны другие варианты осуществления и реализации.

Формула изобретения

1. Вольтамперометрический способ определения концентрации аналита в образце, заключающийся в том, что

осуществляют приложение импульсной последовательности к образцу, причем импульсная последовательность имеет, по меньшей мере, два рабочих цикла,

при этом каждый из рабочих циклов содержит возбуждение и релаксацию,

причем возбуждение имеет потенциал, изменяющийся во времени, и

релаксация находится в пределах от 0,1 до 3 с и содержит снижение тока до, по меньшей мере, половины величины тока при максимальном возбуждении,

измеряют результирующие токи от, по меньшей мере, одного из возбуждений,

определяют концентрацию аналита в образце от, по меньшей мере, одного из результирующих токов.

2. Способ по п.1, в котором релаксация включает в себя снижение величины тока, по меньшей мере, до величины, меньшей, чем величина тока при максимуме возбуждения.

3. Способ по п.1, в котором релаксация включает в себя снижение величины тока до нулевого значения.

4. Способ по п.1, в котором возбуждение осуществляют в течение от 0,1 до 1,5 с.

5. Способ по п.1, в котором возбуждение осуществляют в течение от 0,1 до 2 с.

6. Способ по п.1, в котором импульсная последовательность содержит, по меньшей мере, три рабочих цикла в пределах 90 с.

7. Способ по п.1, в котором импульсная последовательность содержит, по меньшей мере, три рабочих цикла в пределах 5 с.

8. Способ по п.1, в котором определение концентрации аналита в образце завершается в течение от 2 до 50 с.

9. Способ по п.1, в котором импульсная последовательность содержит терминальный импульс считывания.

10. Способ по п.1, в котором дополнительно прикладывают импульсную последовательность к сенсорной панели, содержащей противоэлектрод и диффузионный барьерный слой на рабочем электроде.

11. Способ по п.1, в котором дополнительно определяют концентрацию аналита в образце с меньшей погрешностью, вызванной фоновым влиянием медиатора, чем концентрация аналита, определенная в ответ на результирующие токи, измеренные от импульсной последовательности, не имеющей, по меньшей мере, два рабочих цикла.

12. Способ по п.1, в котором используют образец, являющийся жидкостью, содержащей биологическую жидкость.

13. Способ по п.1, в котором аналит является глюкозой.

14. Способ по п.1, в котором возбуждение содержит потенциал, изменяющийся линейно со скоростью, по меньшей мере, 2 мВ/с.

15. Способ по п.14, в котором возбуждение выбрано из группы, состоящей из линейного, циклического, нециклического и их сочетаний.

16. Способ по п.14, в котором, по меньшей мере, две результирующие величины тока регистрируют во время возбуждения.

17. Способ по п.1, в котором возбуждения представляют собой нециклические возбуждения, и, по существу, не включают пик обратного окисления или пик

обратного восстановления измеряемых ионов, отвечающих за концентрацию аналита в образце.

18. Способ по п.17, в котором дополнительно определяют концентрацию аналита в образце с меньшей погрешностью от измеряемых ионов, не отвечающих за концентрацию аналита в образце, чем концентрация аналита в образце, определенная в ответ на импульсную последовательность, включающую в себя циклические возбуждения.

19. Способ по п.1, в котором возбуждения являются нециклическими и завершаются до инициирования пика обратного тока.

20. Способ по п.1, в котором возбуждения являются нециклическими и, по существу, не включают пики прямого и обратного окисления и восстановления измеряемых ионов, отвечающих за концентрацию аналита в образце.

21. Способ по п.1, в котором возбуждения являются нециклическими и находятся, по существу, в пределах области ограниченного диффузией тока окислительно-восстановительной пары.

22. Способ по п.1, в котором дополнительно определяют, по меньшей мере, один контурный профиль результирующих токов.

23. Способ по п.1, в котором дополнительно осуществляют, по меньшей мере, одну обработку результирующих токов, выбранную из группы, состоящей из полуинтеграла, полупроизводной и производной.

24. Способ по п.1, в котором дополнительно определяют множество калибровочных множеств исходя из результирующих токов.

25. Способ по п.24, в котором дополнительно определяют количество рабочих циклов импульсной последовательности, исходя из совокупности калибровочных множеств.

26. Способ по п.24, в котором определяют концентрацию аналита в образце путем усреднения множественных величин концентраций, полученных исходя из множества калибровочных множеств.

27. Способ по п.1, в котором дополнительно сравнивают, по меньшей мере, один результирующий ток с предварительно выбранной величиной и определяют из результата сравнения, является ли сенсорная панель, содержащая образец, не полностью заполненной образцом.

28. Способ по п.1, в котором дополнительно определяют отношение результирующих токов прямого и обратного сканирования и определяют содержание активного ионизирующего вещества сенсорной панели.

29. Способ по п.28, в котором указанное отношение предварительно коррелируют до известных количеств активного ионизирующего вещества.

30. Способ по п.28, в котором дополнительно изменяют угловой коэффициент калибровки в зависимости от содержания активного ионизирующего вещества сенсорной панели.

31. Способ по п.1, в котором отношение времени возбуждения/релаксации для рабочих циклов устанавливают от 0,3 до 0,2.

32. Способ по п.31, в котором определяют концентрацию аналита в образце более точно, чем концентрация аналита в образце, определенная в ответ на результирующие токи импульсной последовательности, имеющей отношение времени возбуждения/релаксации рабочих циклов больше 0,3.

33. Способ по п.1, в котором дополнительно определяют концентрацию аналита в образце с меньшей погрешностью, вызванной фоновым влиянием медиатора, чем

концентрация аналита, определенная в ответ на результирующие токи, измеренные от импульсной последовательности, имеющей меньше, чем, по меньшей мере, два рабочих цикла.

34. Способ по п.1, в котором дополнительно определяют множество калибровочных множеств исходя из токов, зарегистрированных во время, по меньшей мере, двух рабочих циклов, и

определяют продолжительность импульсной последовательности в зависимости от определяемой концентрации аналита в образце.

35. Способ по п.1, в котором

сравнивают, по меньшей мере, одну величину результирующего тока с предварительно заданной величиной,

определяют, является ли сенсорная панель не полностью заполненной, исходя из результата сравнения,

сигнализируют пользователю о добавлении дополнительного количества образца на сенсорную панель, если панель не полностью заполнена.

36. Способ по п.35, в котором сигнализацию осуществляют менее, чем за 5 с.

37. Переносное измерительное устройство для определения концентрации аналита в образце,

указанное устройство адаптировано для подключения сенсорной панели, и содержит,

по меньшей мере, два контакта,

по меньшей мере, один дисплей, и

электрическую схему, обеспечивающую электрическую связь, по меньшей мере, между двумя контактами и, по меньшей мере, одним дисплеем, и содержащую процессор, электрически связанный с электрическим зарядным устройством, и считываемым компьютером носителем информации,

при этом процессор предназначен для генерирования импульсной последовательности от электрического зарядного устройства, по меньшей мере, к двум контактам, причем импульсная последовательность содержит, по меньшей мере, два рабочих цикла,

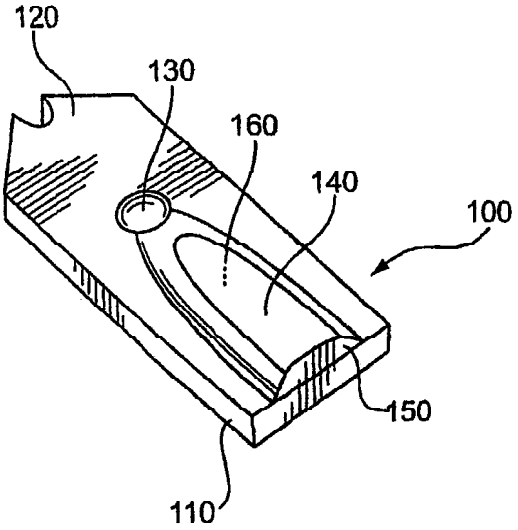
при этом каждый из рабочих циклов содержит возбуждение и релаксацию,

причем возбуждение имеет потенциал, изменяющийся во времени, и во время релаксации электрическое зарядное устройство снижает величину тока, подаваемого к, по меньшей мере, двум контактам, до, по меньшей мере, половины от величины тока при максимальном возбуждении в течение от 0,1 до 3 с,

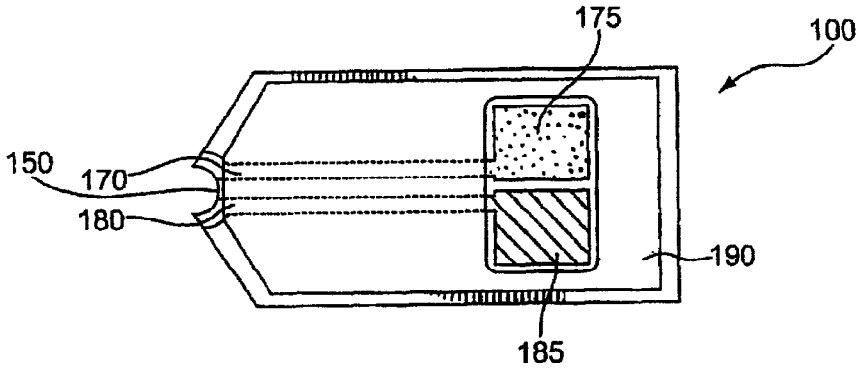
при этом процессор предназначен для измерения, по меньшей мере, одного профиля тока, по меньшей мере, на двух контактах,

и предназначен также для определения концентрации аналита в образце в ответ на, по меньшей мере, один профиль тока.

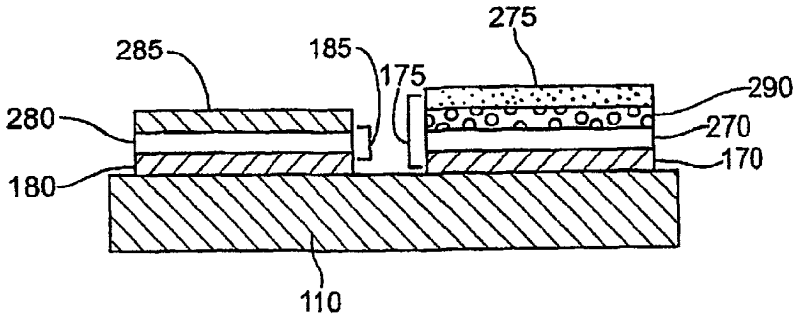
38. Устройство по п.37, в котором процессор предназначен для проведения, по меньшей мере, одной обработки данных, выбранной из группы, состоящей из полуинтеграла, полупроизводной и производной для профиля тока, для определения концентрации аналита в образце.



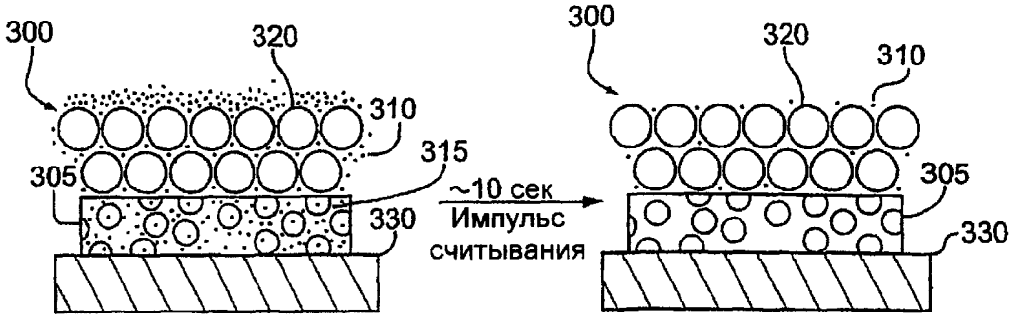
ФИГ.1А



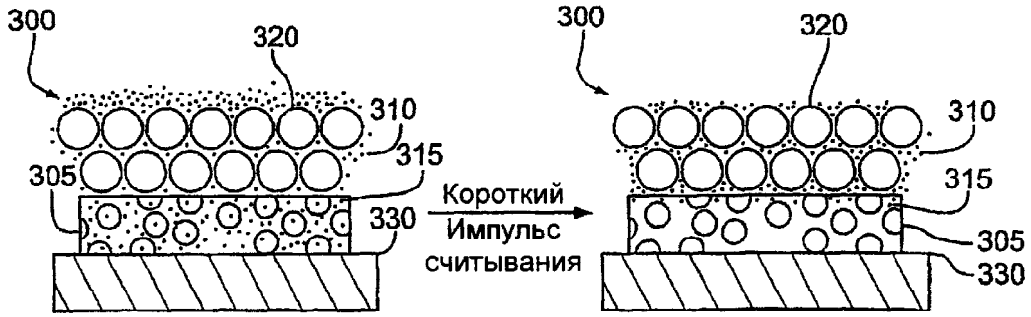
ФИГ.1В



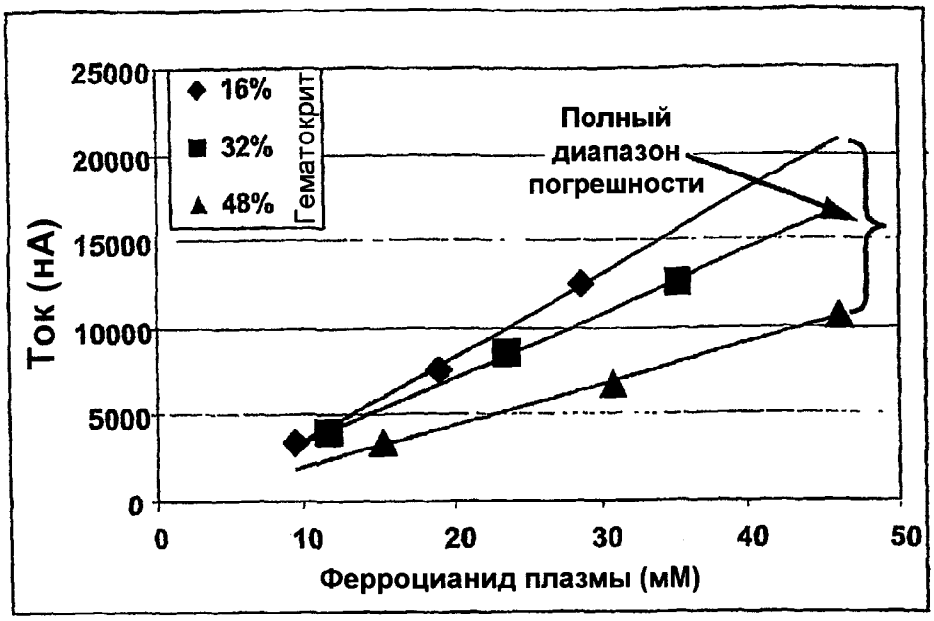
ФИГ.2



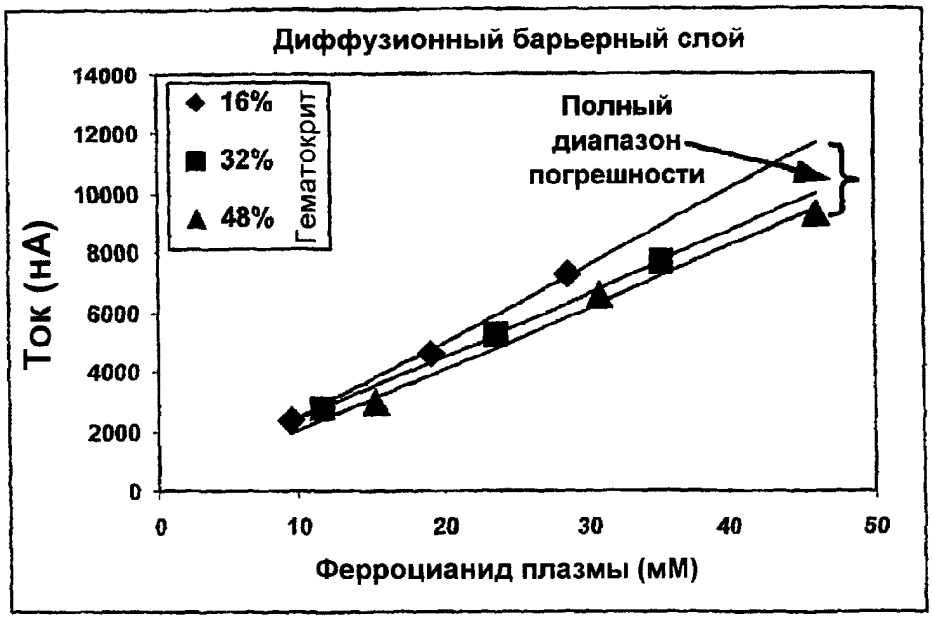
ФИГ.3А



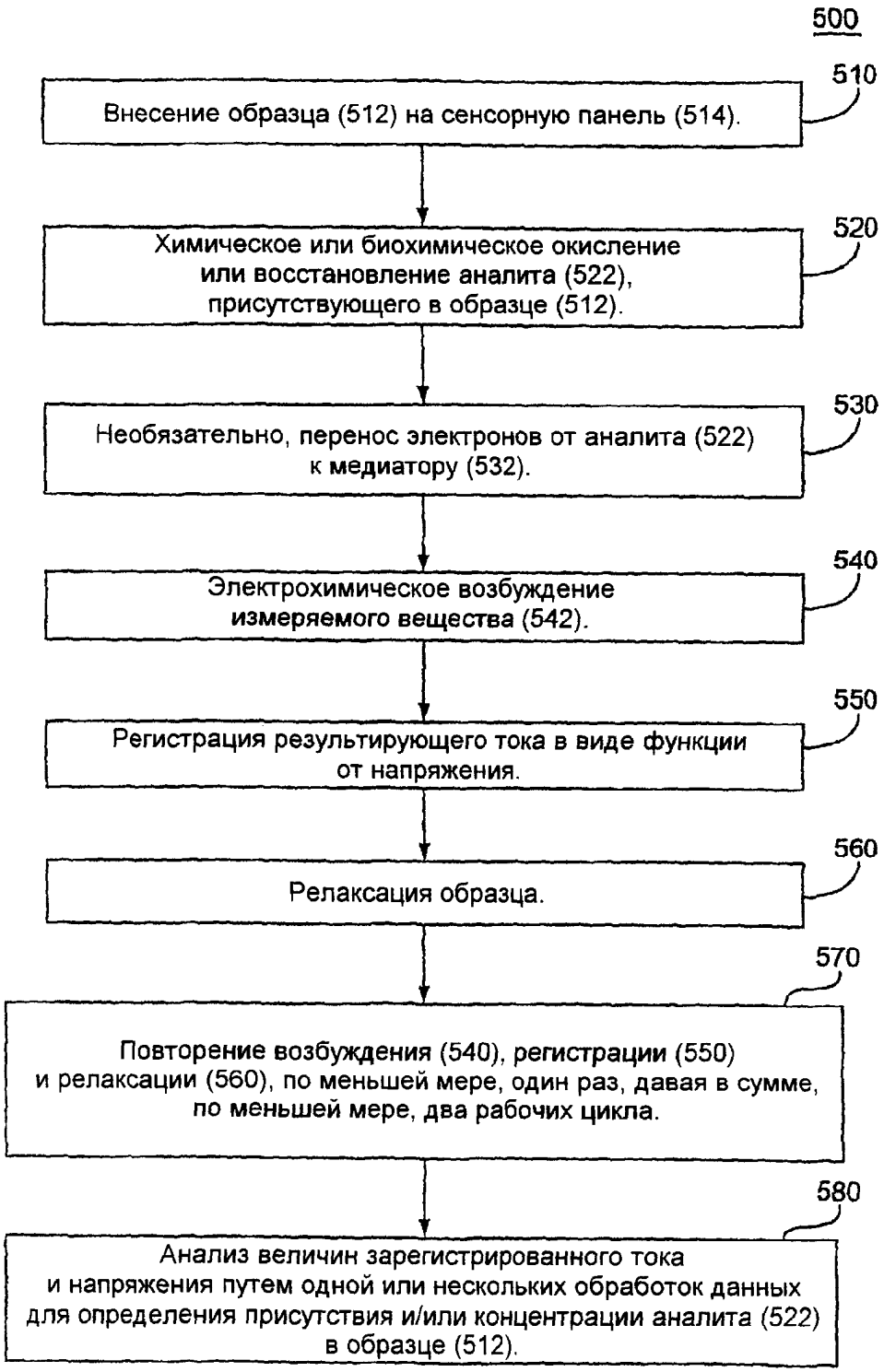
ФИГ.3В



ФИГ.4А



ФИГ.4В


500
510
Внесение образца (512) на сенсорную панель (514).
520
Химическое или биохимическое окисление или восстановление аналита (522), присутствующего в образце (512).
530
Необязательно, перенос электронов от аналита (522) к медиатору (532).
540
Электрохимическое возбуждение измеряемого вещества (542).
550
Регистрация результирующего тока в виде функции от напряжения.
560
Релаксация образца.
570
Повторение возбуждения (540), регистрации (550) и релаксации (560), по меньшей мере, один раз, давая в сумме, по меньшей мере, два рабочих цикла.
580
Анализ величин зарегистрированного тока и напряжения путем одной или нескольких обработок данных для определения присутствия и/или концентрации аналита (522) в образце (512).

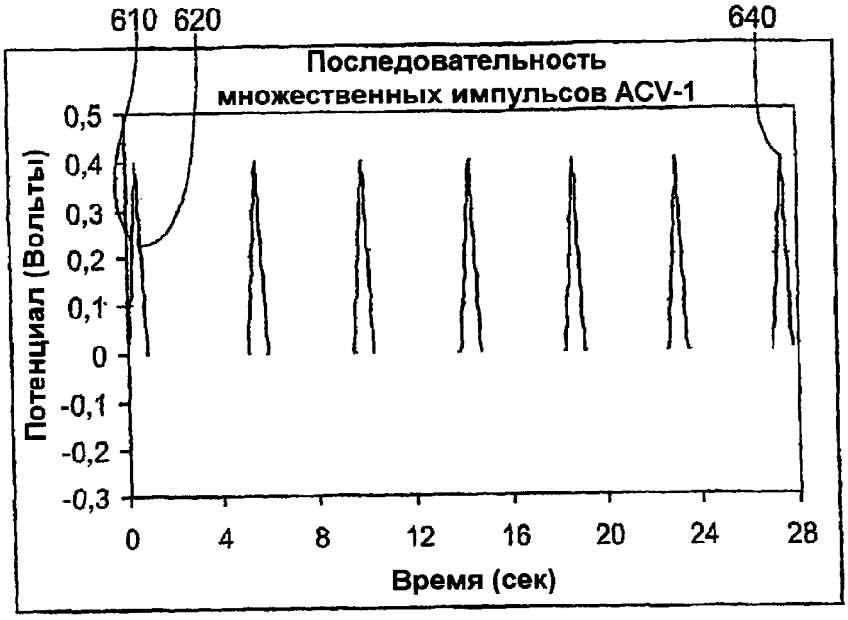
ФИГ.5

Рабочие циклы при линейном сканировании
610
Потенциал (Вольты)
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
-0,1
-0,2
-0,3
0 2 4 6 8 10 12 14 16 18 20 22
Время (сек)

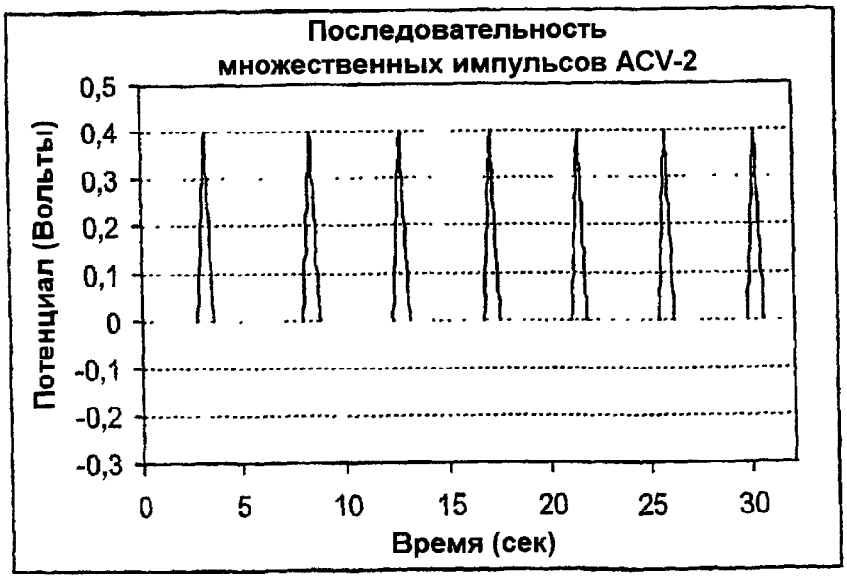
ФИГ.6А

Рабочие циклы при циклическом сканировании
610
620
Потенциал (Вольты)
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
0
-0,1
-0,2
-0,3
0 5 10 15 20 25 30
Время (сек)

ФИГ.6В

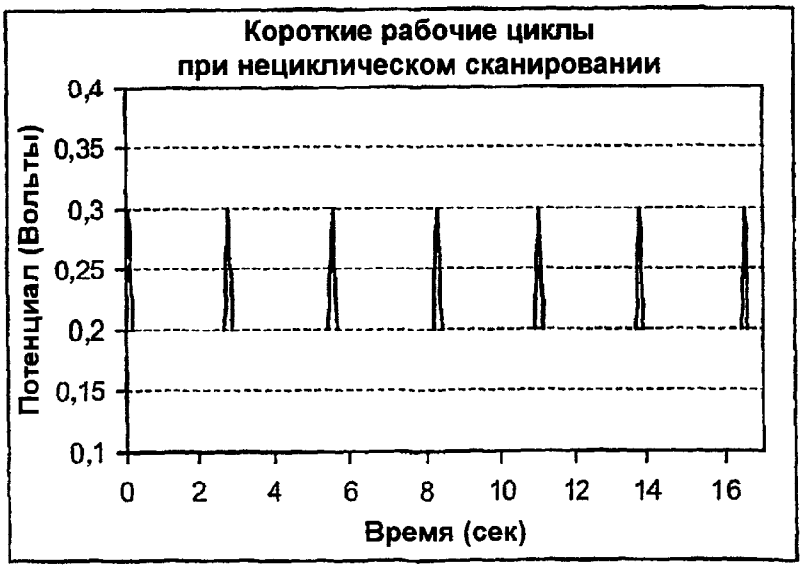


ФИГ.6C

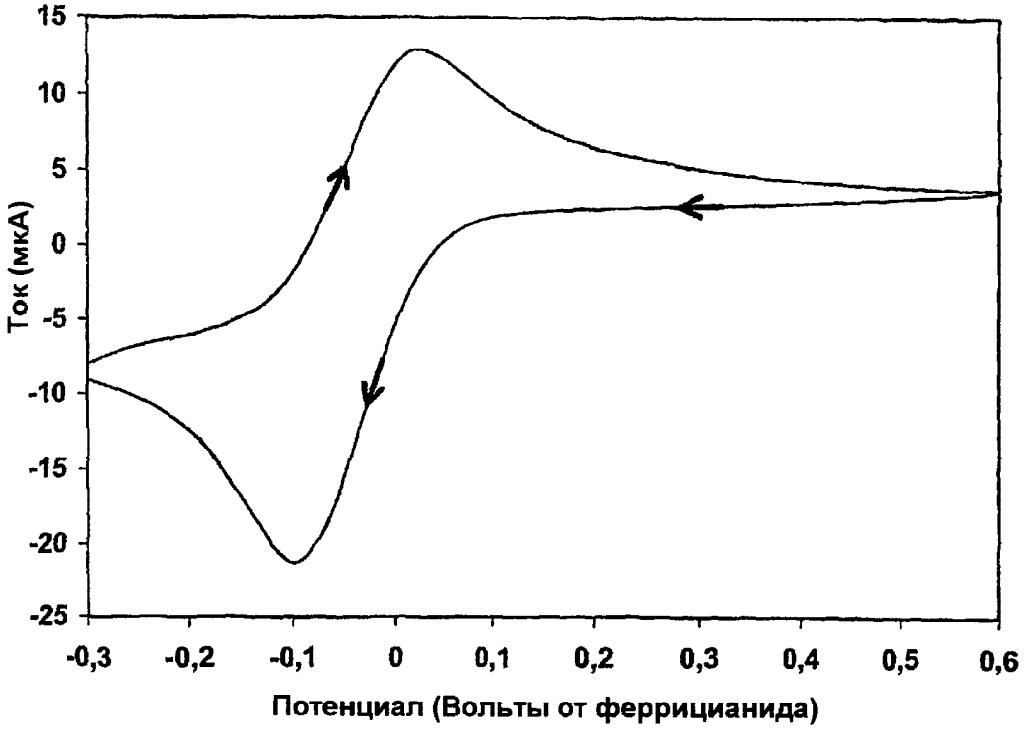


ФИГ.6D

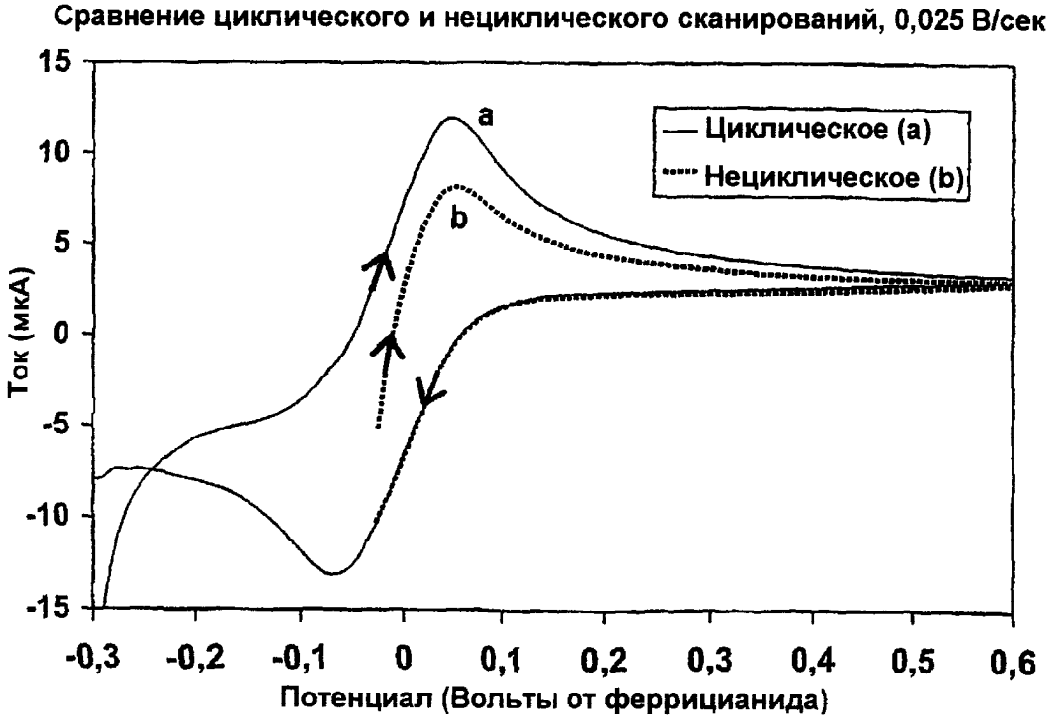
ФИГ.6E


Короткие рабочие циклы
при нециклическом сканировании
Потенциал (Вольты)
0,4
0,35
0,3
0,25
0,2
0,15
0,1
0
2
4
6
8
10
12
14
16
Время (сек)

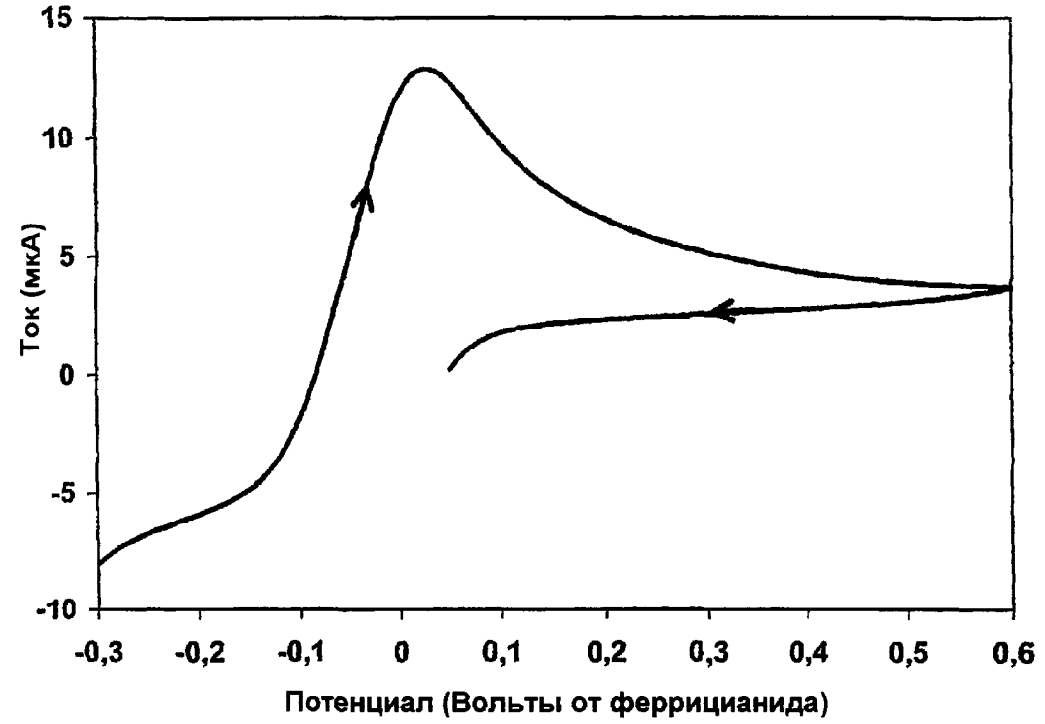
ФИГ.6F


Ток (мкА)
15
10
5
0
-5
-10
-15
-20
-25
-0,3
-0,2
-0,1
0
0,1
0,2
0,3
0,4
0,5
0,6
Потенциал (Вольты от феррицианида)

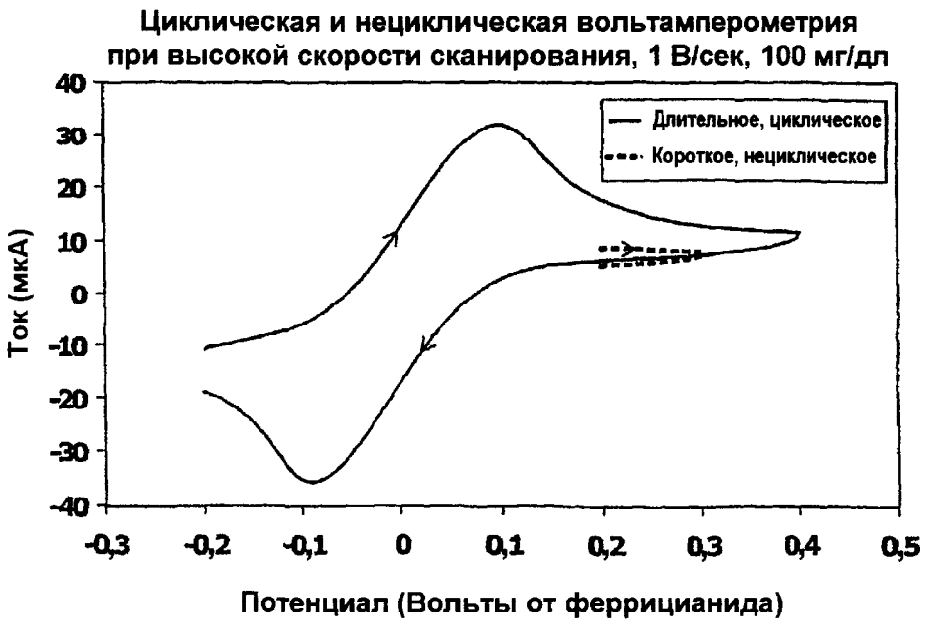
ФИГ.7А


Сравнение циклического и нециклического сканирований, 0,025 В/сек
Циклическое (a)
Нециклическое (b)
a
b
Ток (мкА)
Потенциал (Вольты от феррицианида)
15
10
5
0
-5
-10
-15
-0,3
-0,2
-0,1
0
0,1
0,2
0,3
0,4
0,5
0,6

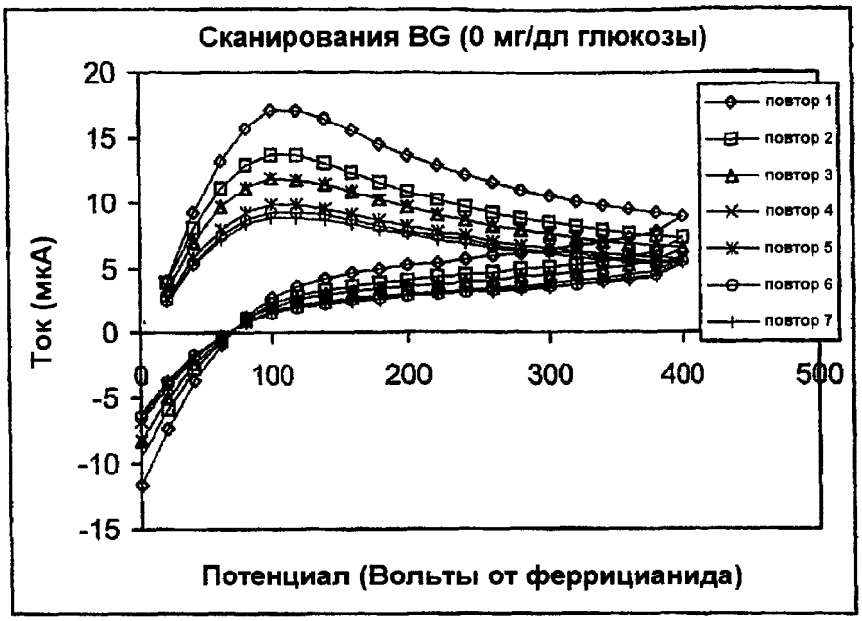
ФИГ.7B


Ток (мкА)
Потенциал (Вольты от феррицианида)
15
10
5
0
-5
-10
-0,3
-0,2
-0,1
0
0,1
0,2
0,3
0,4
0,5
0,6

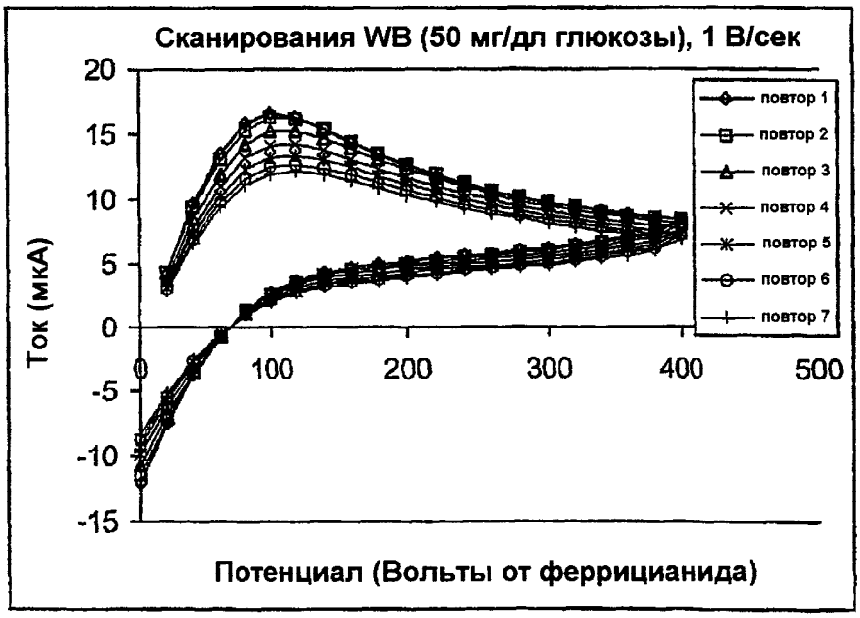
ФИГ.7C


Циклическая и нециклическая вольтамперометрия
при высокой скорости сканирования, 1 В/сек, 100 мг/дл
Длительное, циклическое
Короткое, нециклическое
Ток (мкА)
40
30
20
10
0
-10
-20
-30
-40
-0,3
-0,2
-0,1
0
0,1
0,2
0,3
0,4
0,5
Потенциал (Вольты от феррицианида)

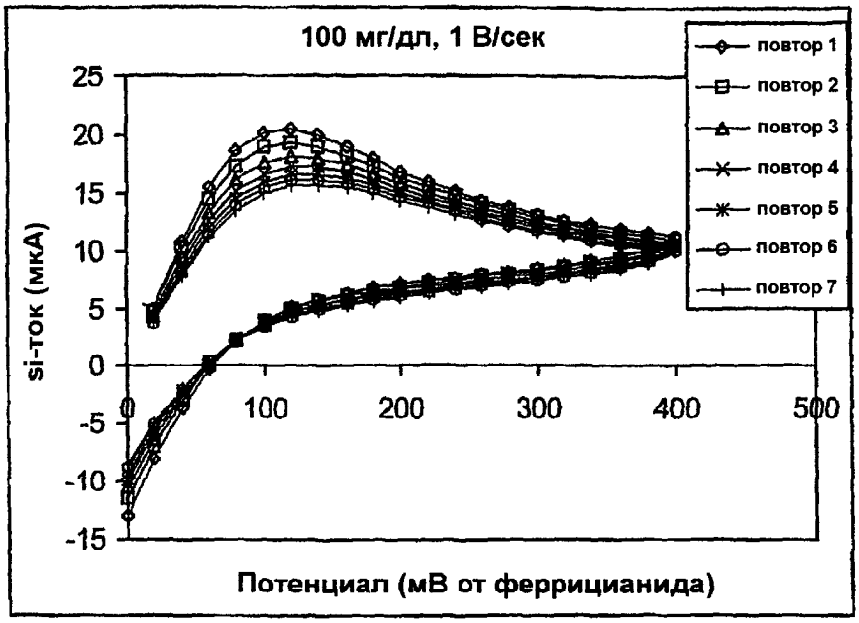
ФИГ.7D


Сканирования BG (0 мг/дл глюкозы)
повтор 1
повтор 2
повтор 3
повтор 4
повтор 5
повтор 6
повтор 7
Ток (мкА)
20
15
10
5
0
-5
-10
-15
0
100
200
300
400
500
Потенциал (Вольты от феррицианида)

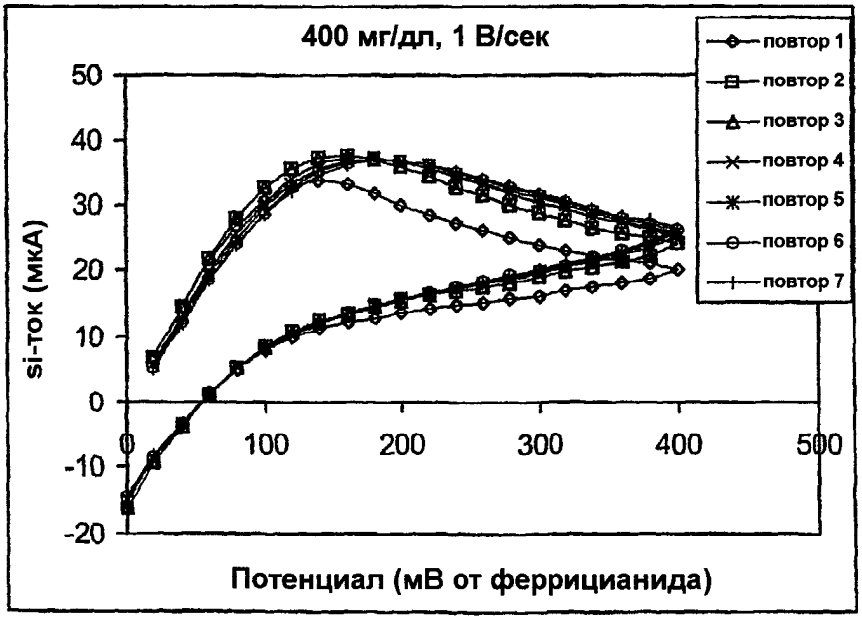
ФИГ.8A


Сканирования WB (50 мг/дл глюкозы), 1 В/сек
Ток (мкА)
Потенциал (Вольты от феррицианида)
повтор 1
повтор 2
повтор 3
повтор 4
повтор 5
повтор 6
повтор 7

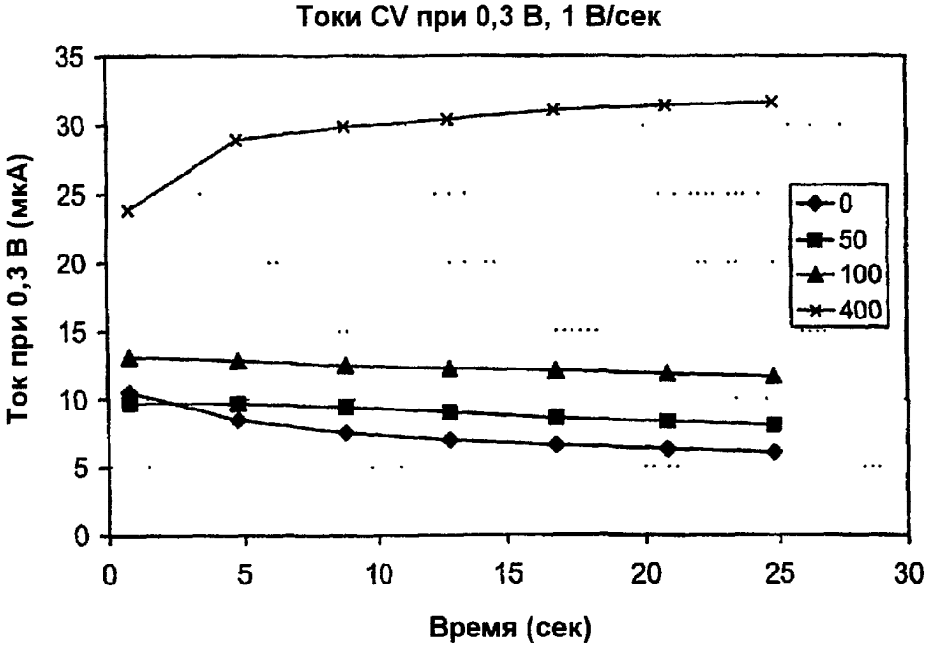
ФИГ.8В


100 мг/дл, 1 В/сек
si-ток (мкА)
Потенциал (мВ от феррицианида)
повтор 1
повтор 2
повтор 3
повтор 4
повтор 5
повтор 6
повтор 7

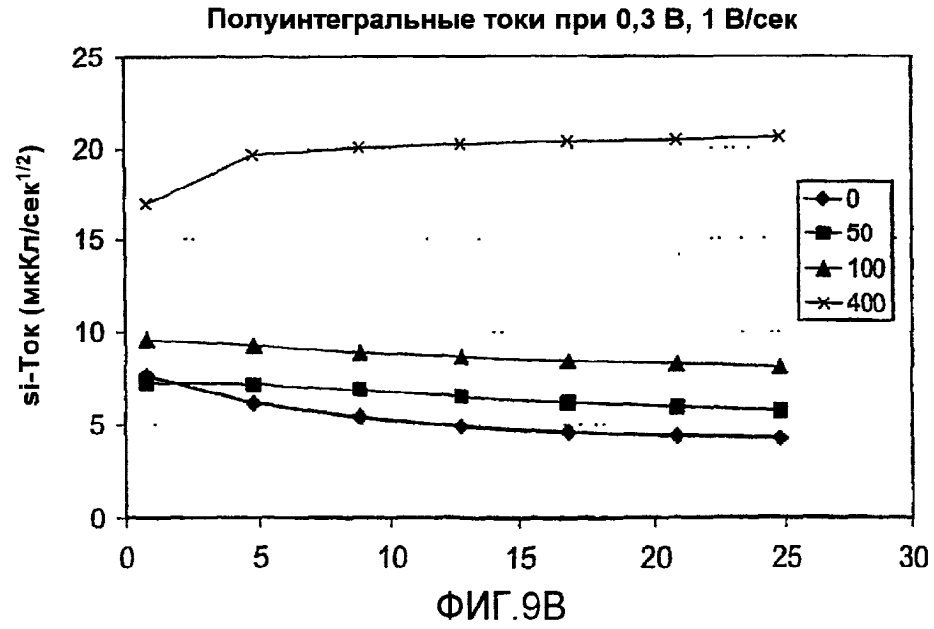
ФИГ.8С


400 мг/дл, 1 В/сек
повтор 1
повтор 2
повтор 3
повтор 4
повтор 5
повтор 6
повтор 7
si-ток (мкА)
50
40
30
20
10
0
-10
-20
0
100
200
300
400
500
Потенциал (мВ от феррицианида)

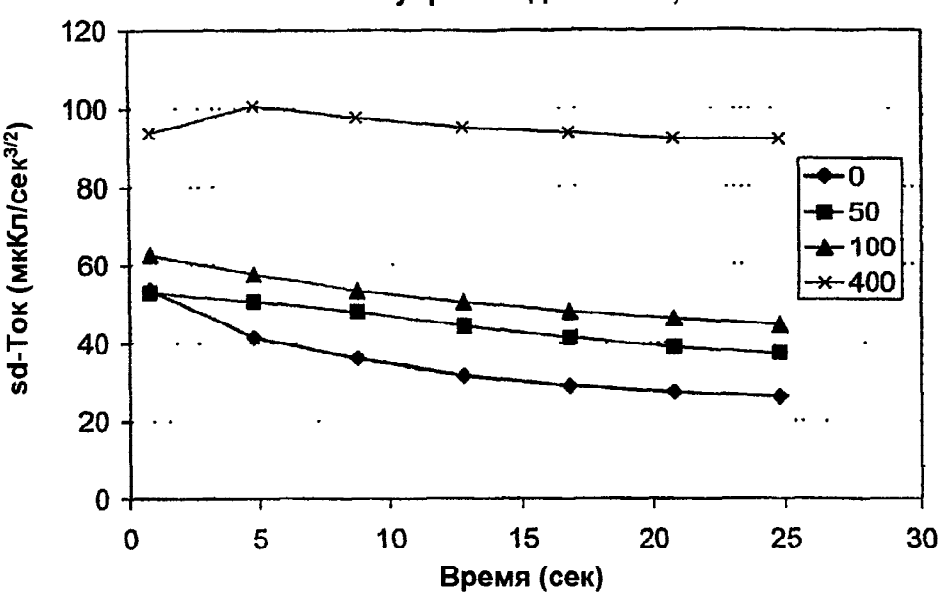
ФИГ.8D


Токи CV при 0,3 В, 1 В/сек
Ток при 0,3 В (мкА)
35
30
25
20
15
10
5
0
0
5
10
15
20
25
30
0
50
100
400
Время (сек)

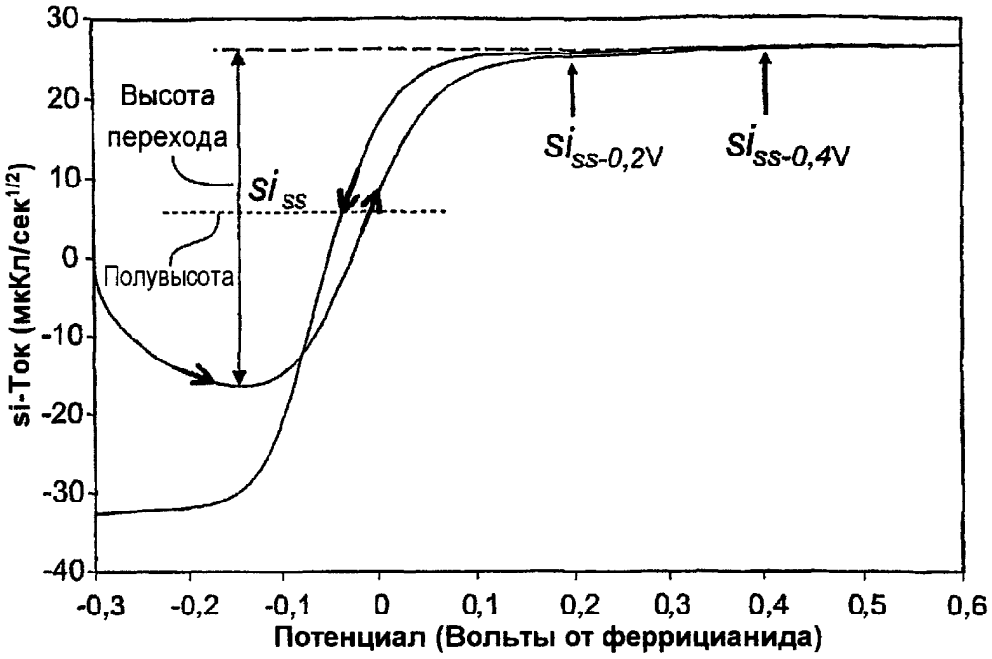
ФИГ.9А


Полуинтегральные токи при 0,3 В, 1 В/сек
si-Ток (мкКл/сек^1/2)
25
20
15
10
5
0
0
5
10
15
20
25
30
0
50
100
400

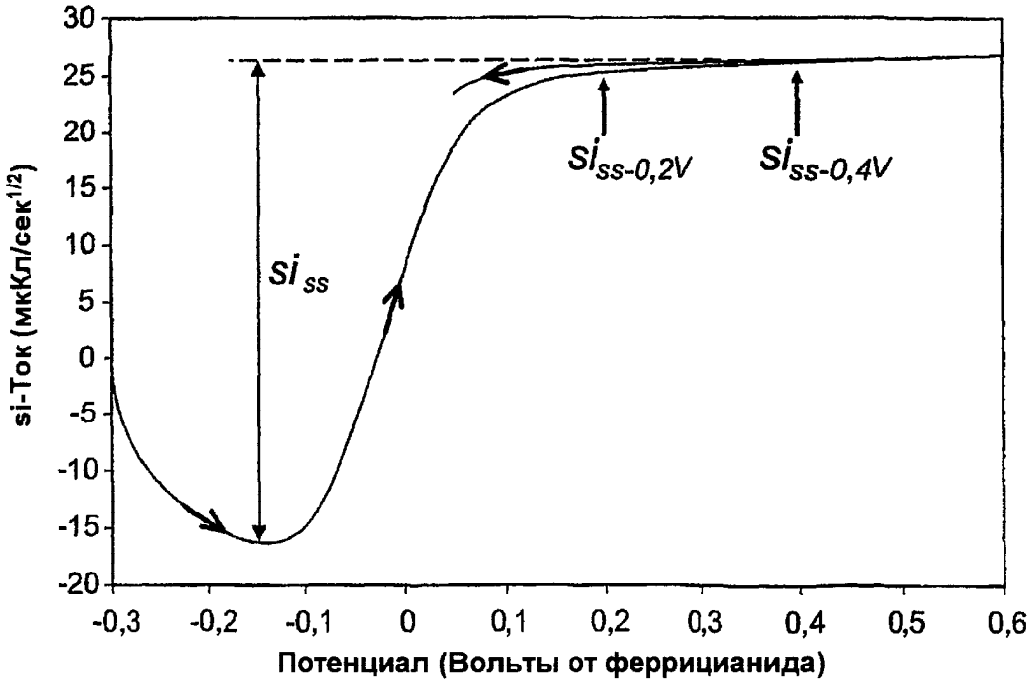
ФИГ.9В


Пиковые полупроизводные токи, 1В/сек
sd-Ток (мкКл/сек^3/2)
120
100
80
60
40
20
0
0
5
10
15
20
25
30
Время (сек)
0
50
100
400

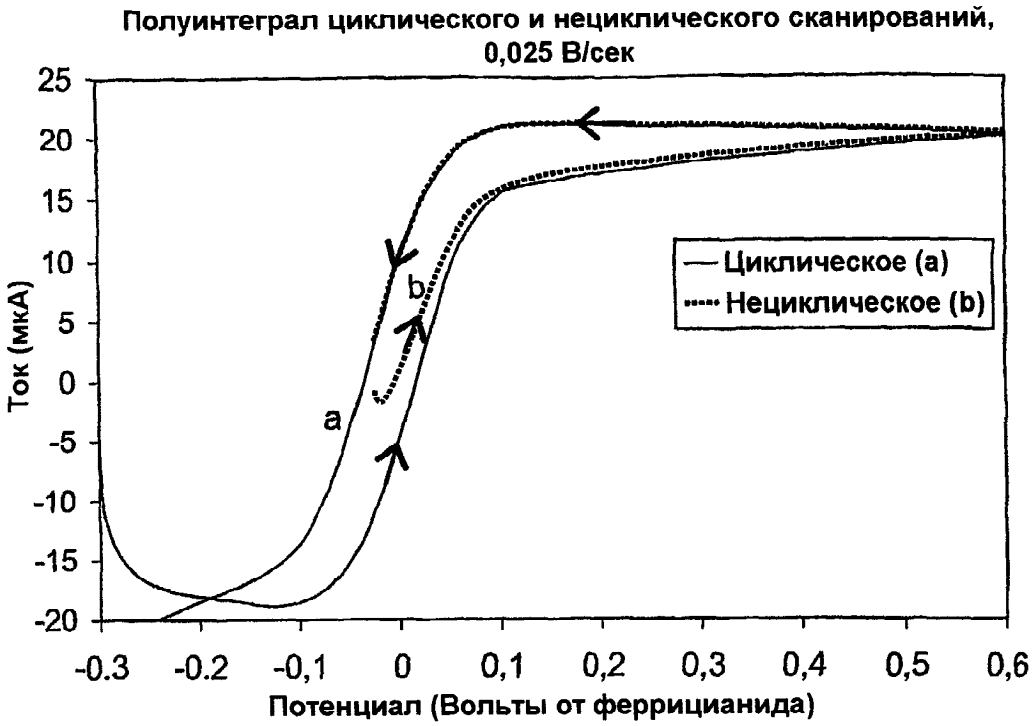
ФИГ.9С



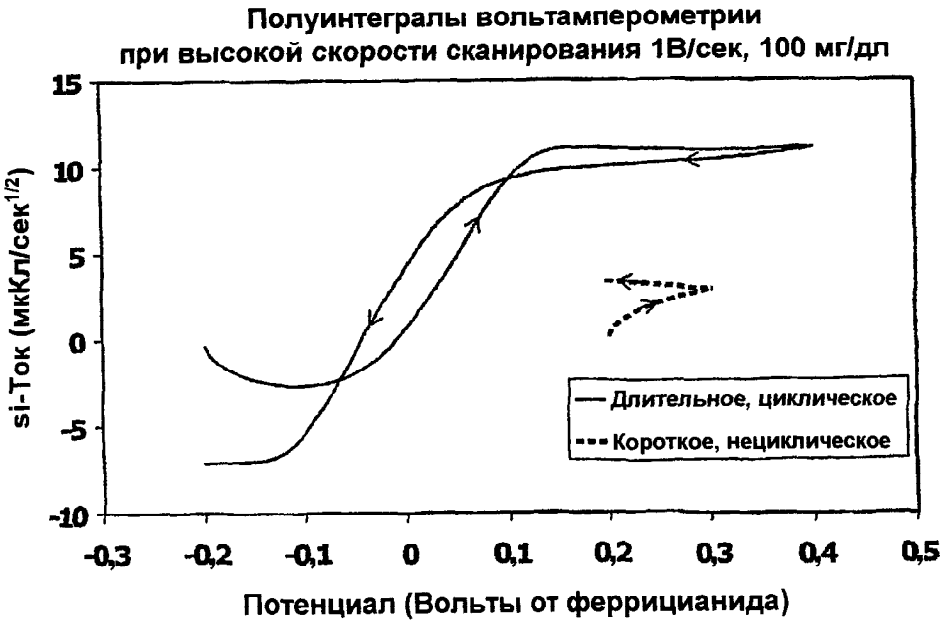
ФИГ.10А



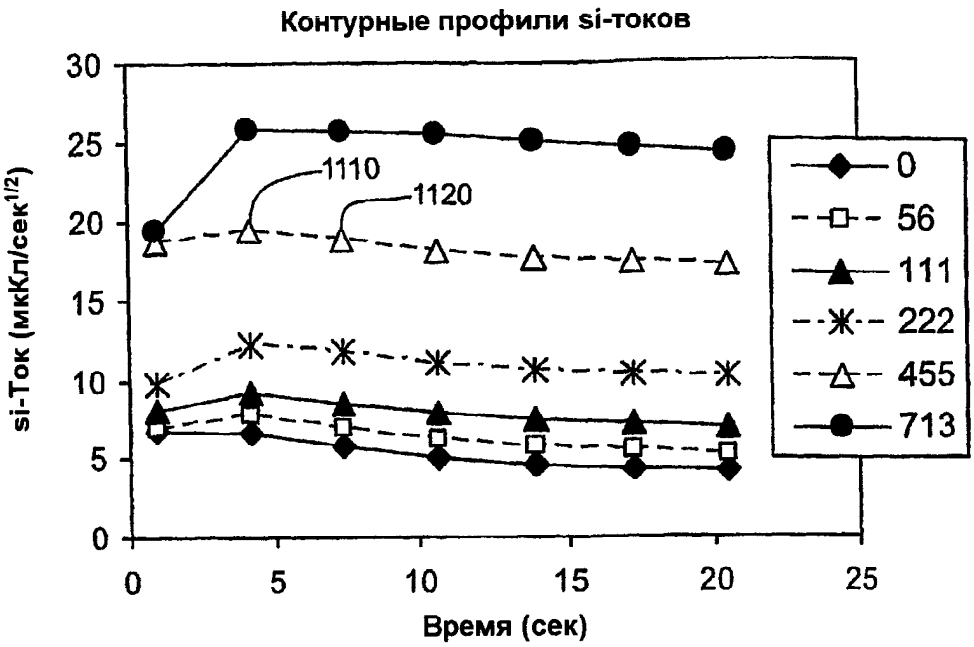
Фиг.10В



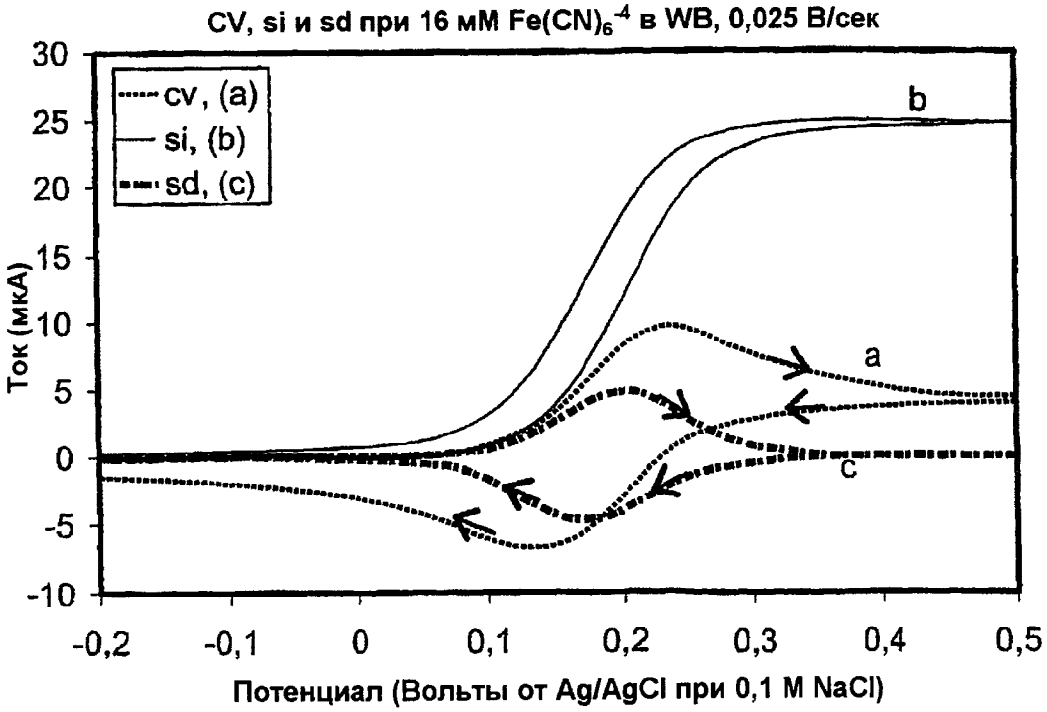
ФИГ.10C



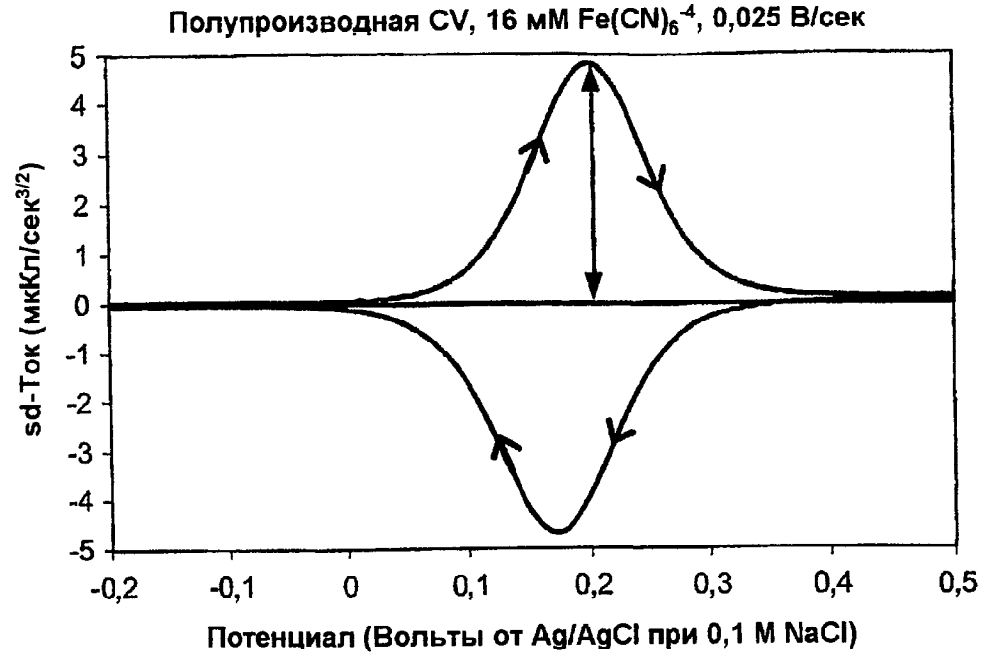
ФИГ.10D



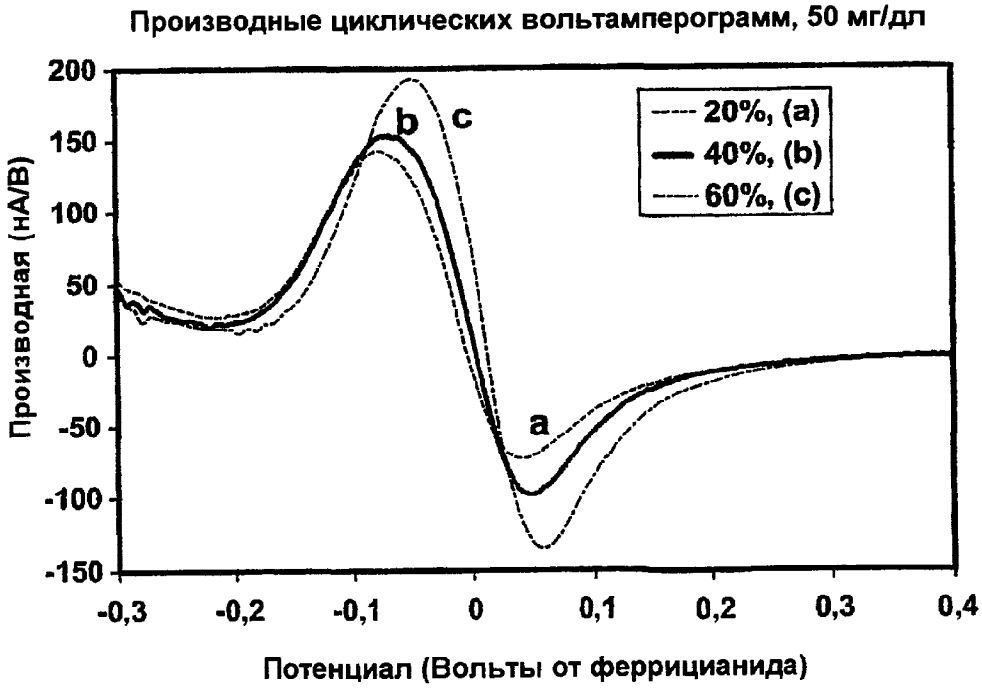
ФИГ.11



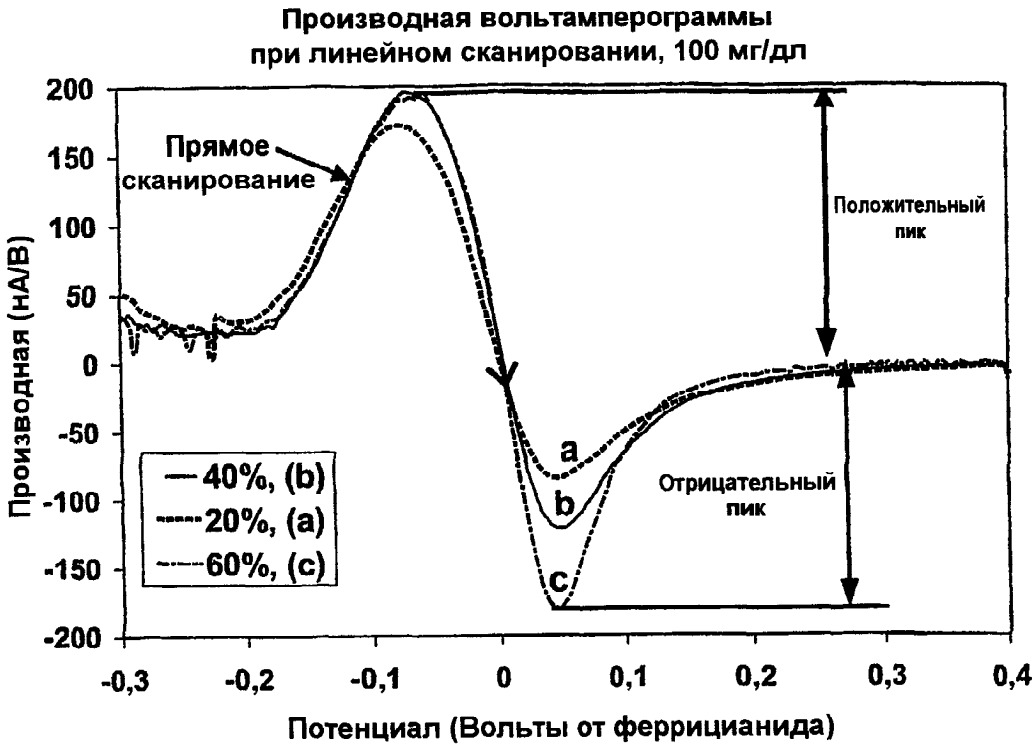
ФИГ.12А



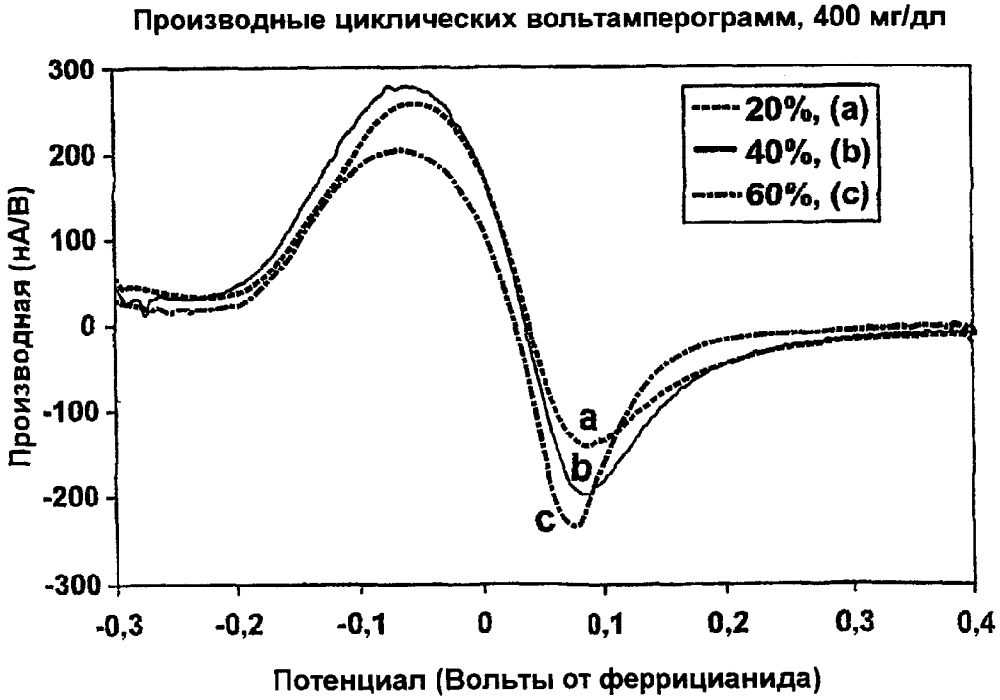
ФИГ.12В



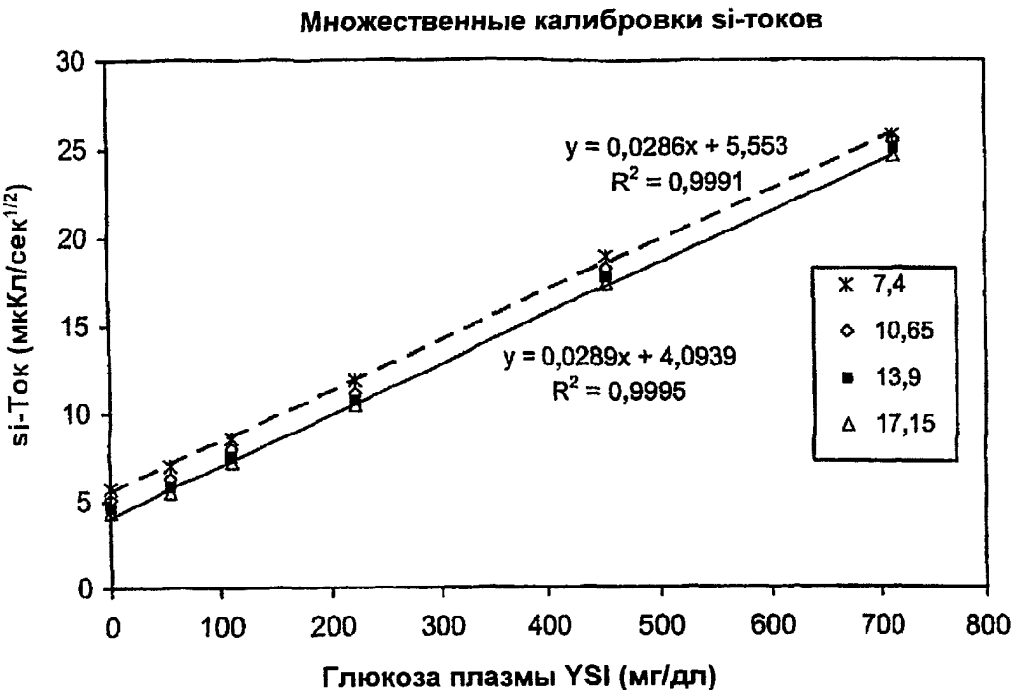
ФИГ.13А



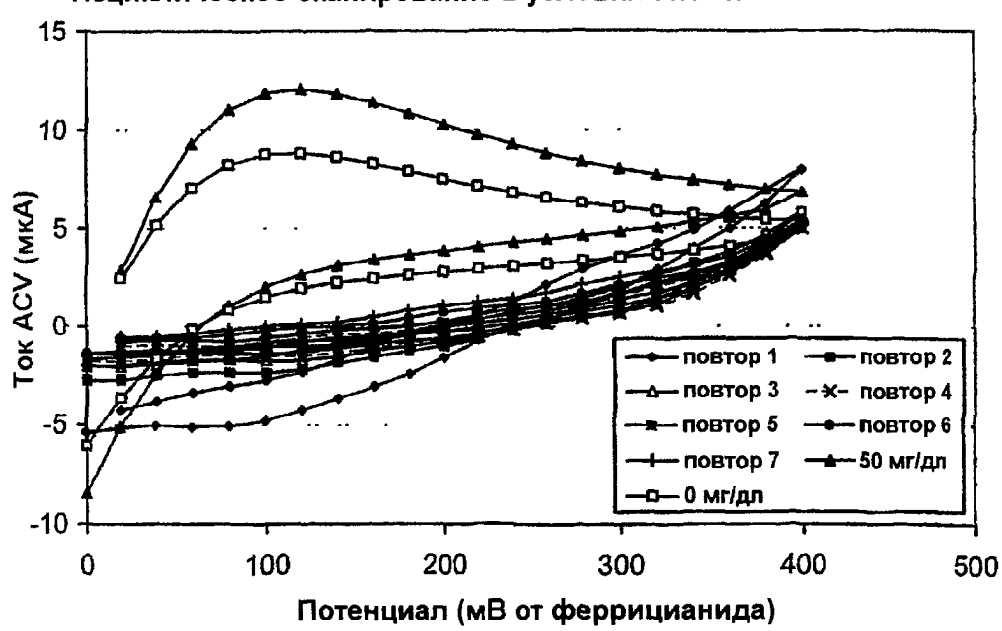
ФИГ.13В



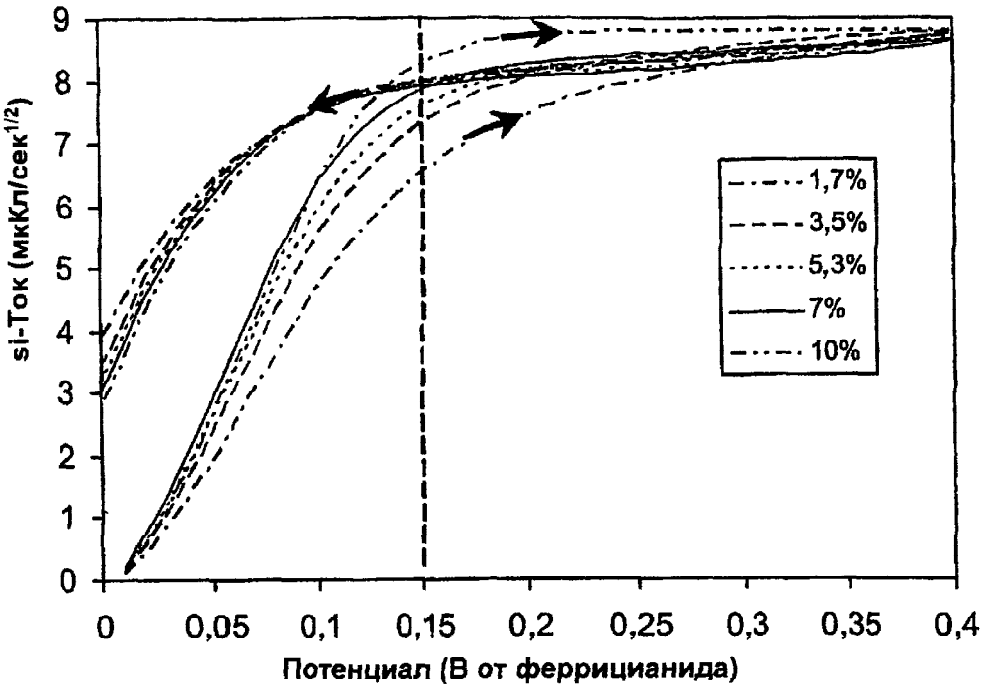
ФИГ.13С


Множественные калибровки si-токов
y = 0,0286x + 5,553
R2 = 0,9991
y = 0,0289x + 4,0939
R2 = 0,9995
7,4
10,65
13,9
17,15
si-Ток (мкКл/сек1/2)
Глюкоза плазмы YSI (мг/дл)
0
5
10
15
20
25
30
0
100
200
300
400
500
600
700
800

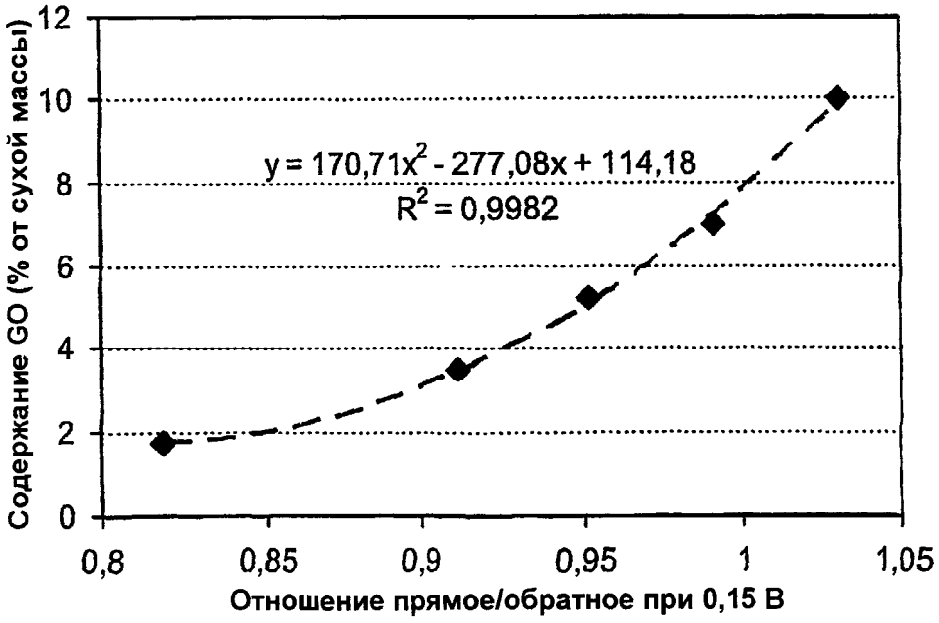
ФИГ.14


Нециклическое сканирование в условиях неполного заполнения
повтор 1
повтор 2
повтор 3
повтор 4
повтор 5
повтор 6
повтор 7
50 мг/дл
0 мг/дл
Ток ACV (мкА)
Потенциал (мВ от феррицианида)
15
10
5
0
-5
-10
0
100
200
300
400
500

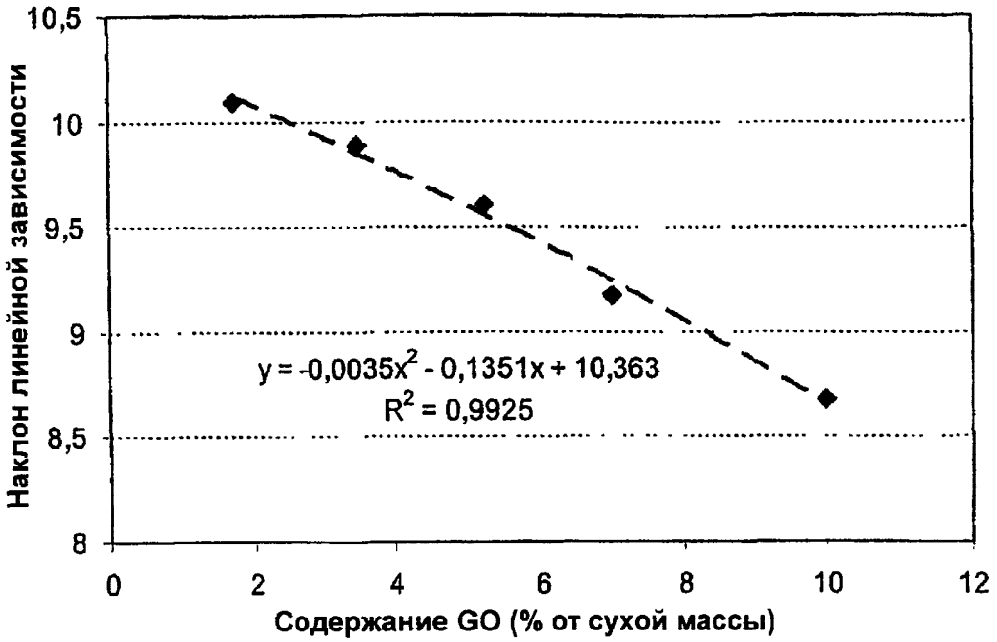
ФИГ.15



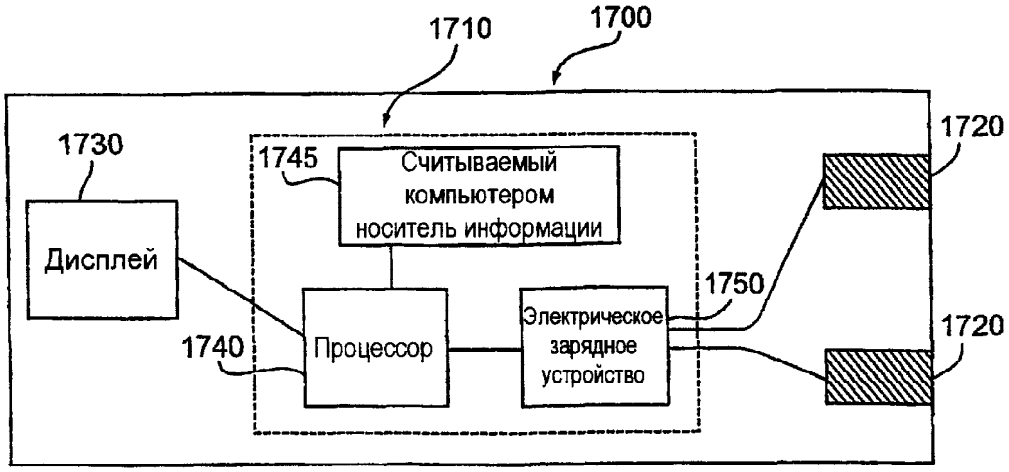
ФИГ.16А



ФИГ.16В



ФИГ.16С



ФИГ.17