I314211

公告本

發明專利說明書

（本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫）

※ 申請案號：95113403

※ 申請日期：95.4.14　　※IPC 分類：G01N 27/26 (2006.01)

一、發明名稱：（中文/英文）

測量溶液中氧氣濃度之方法及虹吸式印刷三電極電化學檢測試片

Method and Electrochemical Sensing Strip with Screen-Printed Three Electrodes for Determining Concentration of Dissolved Oxygen in a Solution

二、申 請 人：（共 1 人）

姓名或名稱：（中文/英文）

淡江大學/Tamkang University

代表人：（中文/英文）張家宜

住居所或營業所地址：（中文/英文）

台北縣淡水鎮英專路 151 號

國　籍：（中文/英文）　中華民國/R.O.C.

電話/傳真/手機：

E-MAIL：

三、發明人：（共 3 人）

姓　名：（中文/英文）

1) 林孟山/LIN, Meng Shan

2) 呂晃志/LEU, Hoang Jyh

3) 賴建宏/LAI, Chien Hung

國　籍：（中文/英文）　1)-3) 中華民國/R.O.C.

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項☐第一款或☐第二款規定之事實，其事實發生日期為：　年　月　日。

☐ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號　順序註記】

☐ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號　順序註記】

☐ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料　【格式請依：寄存機構、日期、號碼　順序註記】

國外生物材料　【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼　順序註記】

☐ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

九、發明說明：

發明所屬之技術領域

本發明係關於一種電化學感測器其適於測量一溶液中的溶氧濃度。進一步地，本發明亦關於一種虹吸式印刷三電極電化學定量檢測試片，除了一般環境的檢測外，更適於測量一小量溶液中的溶氧濃度。

先前技術

在電化學感測器的量測中，三電極系統主要是以工作電極、參考電極、對偶電極所組成，搭配一般三電極式電化學定電位儀進行分析檢測工作。在一般商品化檢測系統中，工作電極材質可為金、白金、玻璃碳、汞、石墨等材質所構成；參考電極則以飽和甘汞電極、銀/氯化銀電極兩種為主；對偶電極則多以白金電極為主。

在電位施加上，工作電極上所施加的電位，為相對於參考電極電位所使用的工作電位；對偶電極則主要為配合工作電極的施加電位所設計；參考電極本身則提供一恆定的電位，不會隨著反應電流增減而造成電位變化。有別於兩電極的電化學系統，三電極系統因參考電極的加入，不但能夠有效補償了內電阻所產生的電位降，更使得施加的工作電位不會偏移、飄動，使偵測的準確性大大提升。

而目前市售的商品化溶氧度計，主要是以兩電極式並配合定電位安培法進行量測，而感測器的設計部分，則以惰性電極直接量測氧氣的還原訊號，並配合在電極前端所

覆蓋高專一性的氧氣通透薄膜，只讓溶於液體中的氧氣進出薄膜表面，因此能有效阻隔其他干擾物種的進入。然而，這樣的裝置，必須置於流動或攪拌的系統當中，才能夠正確量得溶氧的數值，另外，氧氣選擇薄膜、電極表面、內部電解質溶液都必須定期保養及更換，增加了許多操作上的不便，而耗材的花費也會增加使用者的額外負擔。

由於以傳統電化學方式偵測氧氣須在電極外層包覆一層對氧氣具選擇性的透氣薄膜，造成響應時間較長，因此為了改善此缺點，一些對氧氣有催化性的材料便開始被研究。最近隨著修飾電極技術不斷的蓬勃發展，許多修飾方式逐漸被發表，其中 B.W. Ng、R. Lenigk、Y.L.Wong、X.Wu、N.T.Yu 及 R. Renneberg {B.W. Ng, R. Lenigk, Y.L. Wong, X. Wu, N.T. Yu, R. Renneberg, *J. Electrochem. Soc.*, **2000**, *147*, 2350.}利用凝膠法(sol-gel)在白金電極面上修飾含鈷的紫質(porphyrin)大環化合物，以製備氧氣的催化電極；接著，F.D. Souza、Y.-Y. Hsieh、H. Wickman 及 W. Kutner {F.D. Souza, Y.-Y. Hsieh, H. Wickman, W. Kutner, *Electroanalysis*, **1997**, *9*, 1093.}則利用環糊精(cyclodextrin)衍生物混和含鈷紫質大環化合物以製備催化薄膜於金電極上，用以直接偵測溶液中氧氣含量，只需一分鐘的響應時間即可完成整個溶氧的偵測。

而在電化學感測器的發展上，商品化溶氧偵測電極的體積較不易於微小化，並且利用商品化的電極進行檢測時所耗費的成本較高，不易達到拋棄式檢測的目標，為符合

醫療檢測上的拋棄式習慣，以及避免環境檢測的相互污染，發展試片形式的拋棄式電極較能符合實際應用的需求，並配合半導體業界成熟的印刷技術來進行電極之製備，以降低生產成本，並能夠有效提高單位時間製備拋棄式電極的產量，相較於一般商品化之電化學三電極系統，更具有實質使用上之經濟效益，並符合未來的檢測趨勢，值得推廣與應用。

本案部份發明人於我國專利發明第98077號及平行美國專利第6042714號中揭示一種適於測量液體中過氧化氫濃度的電化學感測器，其包含一可傳導電流之傳感器(transducer)，及一附著在該傳感器表面上之具下列化學式的混價化合物(mixed-valence compound)：

$M_y^{z+}[Fe^{(II)}(CN)_6]$

式中M為Co、Ni、Cr、Sc、V、Cu、Mn、Ag、Eu、Cd、Zn、Ru或Rh；z為M之價數；以及y=4/z。該發明亦揭示一種適於測量液體中一過氧化氫先驅物濃度之電化學感測器，該過氧化氫先驅物能在適當反應條件下於該液體中被反應而產生過氧化氫，該過氧化氫先驅物電化學感測器包含一可傳導電流之傳感器，及一附著在該傳感器的一表面上的組合物，該組合物包含上述之混價化合物及一催化劑，其中該催化劑能催化該反應。此發明使用之混價化合物作為工作電極，相對於3M KCl Ag/ AgCl參考電極施加0.1V至-0.2V操作電位，催化過氧化氫的還原，以進行過氧化氫濃度的測量，於是可避免溶液中易氧化物質[例如：維生素C酸

(ascorbic acid)，尿酸(uric acid)，多巴胺(dopamine)，半胱胺酸(cystein)和乙醯基酚(acetaminophen)]的干擾，以及溶液中氧氣的干擾。此前案之內容藉由參考方式被併入本案。

本案部份發明人於我國專利發明第245894號揭示一種電化學感測器，包含一可傳導電流之傳感器，以及附著在該傳感器表面上具有下列化學式的混價金屬氧化物：

M_xO_y

其中M為過渡金屬，且同時具兩種或兩種以上的不同價態；x為該M金屬之莫耳數；y為氧之莫耳數，且$2y = (x_1)(z_1) + (x_2)(z_2) .... + (x_n)(z_n)$，其中$z_1, z_2, ... z_n$代表該M金屬之所有價態，$x_1, x_2, ... x_n$分別代表具$z_1, z_2, ... z_n$之價態的M金屬的莫耳數，其中n為正整數，且$x_1 + x_2 + ... + x_n = x$。此發明同時揭示測量溶液中過氧化氫及過氧化氫先驅物的濃度的方法。此前案之內容藉由參考方式被併入本案。

發明內容

本發明主要是以含鈷之金屬氧化物或金屬錯合物發展量測溶氧濃度的電化學感測器，使用於一般環境檢測及醫療檢測上，透過電極修飾技術，可將含鈷之金屬氧化物或金屬錯合物附著在三電極系統的工作電極表面上，直接對於溶氧進行定量偵測工作。而本發明所揭示的溶氧感測器，主要是透過含鈷之金屬氧化物或金屬錯合物能夠在低電位下催化還原氧氣的特性，進而降低溶氧在電化學量測上可能遭遇的干擾。另外，為解決在電化學偵測中的取樣

問題，藉由印刷電極技術將檢測平台微小化，並結合虹吸式電化學偵測試片，將利於可攜式檢測器之需求，提供快速、穩定、低成本、低干擾及高靈敏度之檢測系統，應用於溶液中各式生醫、環境之溶氧檢測工作。

由於混價金屬氧化物或金屬錯合物本身是由配位鍵結所構成，化學性質較為穩定，並具有利於電子傳導之特性，故適於製備電化學感測器，此外它們不易受到環境溼度及溫度等因素影響，加上其低價位、易於取得，使得本發明的溶氧感測器更適合被商品化，甚至進一步結合酵素，用以製備生化感測器。

實施方式

本發明建立在一種傳感器上進行液體中溶氧量測，例如電化學電極即為本系統最適用於傳導電流之傳感器(transducer)，在其表面上修飾含鈷金屬氧化物或金屬錯合物，可作為電化學安培法使用之工作電極，並且對於氧氣具有輔助催化還原之能力，可應用於發展量測溶氧濃度之電化學感測器。

本發明中附著在傳感器表面上具催化氧氣還原特性的含鈷金屬氧化物或金屬錯合物，主要是由鈷金屬核和氧原子或配位基所組成的化合物，由於鈷金屬核在配位後具有內部價電核轉移的特性，可供作為適當的電子傳遞路徑，使該化合物能夠在適時的控制電位環境狀態中，依需要傳遞及推動電子，以達成電核轉移並催化氧氣還原的目的。

本發明鈷金屬氧化物其化學式可表示為 Co_xO_y，式中的"x"代表鈷原子之個數，"y"代表氧原子個數，具代表性之例子為 Co_3O_4，或表示為四氧化三鈷。

本發明的鈷金屬錯合物其化學式可表示為 Co_aL_b，式中的"a"代表鈷原子之個數，"b"代表配位基(L)的個數，具代表性之例子為鈷酞花青素(cobalt(II) phthalocyanine, 簡寫為 Co(PC))，及氰鈷胺素(cyanocobalamin) (或稱為維他命 B_{12} (vitamin B_{12}))；亦或是其他以鈷為中心金屬的大環錯合物。

當上述之鈷金屬氧化物或金屬錯合物修飾電極被用來測量溶液中的溶氧濃度，並作為電化學安培法量測之工作電極時，該鈷金屬氧化物或金屬錯合物便從還原態，經過溶液中氧氣氧化後成為氧化態，而形成結構上的電洞型式，此時電洞結構再經由鈷金屬氧化物或金屬錯合物的內部價電子轉移之特性，傳遞到與傳感器接觸之介面，在電極施加還原電位之下，將電洞傳遞至傳感器上，以完成電子傳遞迴路，用以降低直接量測氧氣所需之偵測電壓，並得到溶氧之響應訊號。

利用此一鈷金屬氧化物或金屬錯合物修飾之傳感器，在作為電化學安培法的工作電極時，可在還原電位被施加在 0 至 -0.3V 的區間(相對於 3M Ag/AgCl 參考電極)，用以量測溶液中氧氣之濃度，兼具有快速的反應時間、廣泛的線性濃度分析範圍、高的分析靈敏度、以及較佳的系統穩定性。另外，鈷金屬氧化物或金屬錯合物修飾電極的偵測

電位區間，係在不受環境中重金屬物質及易氧化物質干擾的電位下進行，同時經由合適之電解質及 pH 等環境之調控，亦可進一步降低其他環境干擾物的影響。而環境中常見之重金屬干擾物質包含有 Cu^{2+}、Cr^{3+}、Cd^{2+}、Fe^{2+}、Co^{2+}等，有機干擾物包含有樟腦(Camphor)、腐植酸(Humic acid)、p-硝基酚(p-Nitrophenol)等皆無重大干擾。

本發明所使用之鈷金屬氧化物或金屬錯合物大多為非水溶性、高化學穩定性之物質，故相當適合於運用在界面修飾技術及電化學應用分析上。而本發明利用含鈷之金屬氧化物或錯合物修飾技術來製備電極也相當容易，可以直接將市售之鈷金屬氧化物或金屬錯合物，例如四氧化三鈷(Co_3O_4)或鈷酞花青素(Co(PC))，以固定比例與導電油墨混合，作為一複合材料，直接將此混合油墨經由塗佈、化學修飾、濺鍍或雷射蒸鍍法等方式修飾於電極表面上，形成厚膜電極，待油墨乾燥後即可使用於溶液中進行電化學量測工作。而水溶性材料部分亦可藉由相同方式進行電極修飾，利用導電油墨中的石墨成份均勻吸附金屬錯合物的特性，加上高分子材料的包覆作為修飾電極，例如氰鈷胺素。

本發明以上述方式，利用固態電極對於溶液中的氧氣進行電化學量測，由於待測液體的體積相當大，於是該待測液體必須藉由固定速度的攪拌，而成為均勻相進行量測，然而，另一方面，本發明的另一可施行的量測模式可透過網版印刷電極，大量製作溶氧感測試片，將含鈷金屬氧化物或鈷金屬錯合物混合於導電油墨中，依模板設計在

傳感器之工作電極表面上進行電極修飾，即可製成微型化的電化學感測試片，並在電極上搭配虹吸取樣的設計，此時即使是微量的待測溶液樣品，皆可迅速取樣偵測，並可以藉此裝置有效隔絕後續大氣中之氧氣再溶入樣品中所造成的影響與誤差，以利於電化學溶氧感測器即時偵測樣品中之溶氧量，當該電化學感測器的工作電極表面積縮小到其電流訊號不會受到該待測液體所引起之實質電位降時，該參考電極亦可省略不用。

本發明的虹吸式印刷三電極電化學定量檢測試片包含：

1.網版印刷基材，可為各式白色之塑膠或塑膠合成紙，其中，塑膠可為PP、PE、PVC、PET...等材質，厚度在0.1mm～2mm之間，可配合於各式載具上進行印刷。

2.對偶電極及電極線路導電部分，可為碳、金、銀、白金材質的導電油墨，在上述之基材上配合網版、鋼板直接印刷，無須在基材上先印製導電物質增進導電度。

3.參考電極，可為銀或是銀/氯化銀材質之導電油墨，可在上述電極線路導電部分上印刷，亦可直接在上述基材上配合網版、鋼板直接印刷，無須在基材上先印製導電物質增進導電度。

4.工作電極，主要可為混有鈷金屬氧化物或鈷金屬錯合物之碳、金、銀、白金材質的導電油墨，可在上述電極線路導電尾端部分印刷工作區域，並配合以鋼板或網版方式製備。

5.絕緣層，主要是不具導電性油墨或絕緣之黏著劑，可配合網版印刷方式製備，乾燥方式可為熱烘乾及UV照射交聯方式，或是以雙面黏貼膠帶取代該位置，皆可用以阻隔導線部分不要與待測液體接觸並與上蓋構成一反應區。

6.上覆蓋膜部分，主要是高分子材質之上覆蓋膜，其被貼合在基材上將該絕緣層蓋住，並在該上覆蓋膜上開一適當孔洞，以提供排氣並限制液體被吸入反應區之高度用，其中在該基材上沒覆蓋該絕緣層之部分，與上覆蓋膜間存在有一間隙，用以藉由毛細管/虹吸作用將待測液體吸入基材上電極反應區。

一適合於實驗室製備本發明的虹吸式印刷三電極電化學定量檢測試片之方法，如圖1至4所示，包含以下步驟：

1.裁切適當之合成紙基材10(試片大小長4.5公分，寬1公分)，放於載具上等待印刷。

2.在基材上印刷三電極之導線30，依右而左分別作為參考電極、工作電極及對偶電極的導線，再以40~50℃烘乾40分鐘，其中最左邊導線的圓弧形底端被作為一對偶電極20，如圖1所示。

3.在基材上印刷參考電極40，電極面積不需太大，需有部分重疊於之前所印三條導線之最右邊導線的底端部分，再以40~50℃烘乾40分鐘，如圖2所示。

4.在基材上印刷工作電極50，此部分之油墨必須均勻混合催化劑後再行印刷，且印刷部分必須完全重疊於之前所印三條導線之中間導線的底端圓形部分，再以30~40℃烘乾

40分鐘，如圖2所示。

5.使用機械模具沖出成型的雙面黏貼膠帶(膠厚度為15μM)對準貼在基材上，撕下離型紙得到絕緣層60，絕緣層60蓋在該三條導線的中段，使得該三條導線的兩端為其所隔開，及該絕緣層進一步封蓋住該圓弧狀對偶電極20的底部，於是形成包含該對偶電極20、工作電極50及參考電極40的反應區，及形成位於該反應區兩側的通道，如圖3所示。

6. 如圖4所示，將具有一穿孔81 (直徑0.5 mm)之高分子上覆蓋膜80做對位校正，貼合於該基材10上的雙面膠絕緣層60，並在該上覆蓋膜80與該基材10之間形成毛細管/虹吸作用區。該上覆蓋膜的穿孔81在該工作電極50上方，作為排氣並限制待測溶液接觸工作電極的面積，以降低偵測所產生的變率。

圖1至4所的虹吸式印刷三電極電化學定量檢測試片其電極面積為：工作電極，1.78 mm^2；參考電極，1.5 mm^2；對偶電極，大於6 mm^2；上覆蓋膜與底材間的空隙為虹吸樣品空間，經純水秤重量測其體積固定為10μL。

本發明之其他特色及優點將於下列實施範例中被進一步舉例與說明，而該實施範例僅作為輔助說明，而並非用於限制本發明之範圍。

實施例一：以四氧化三鈷(Co_3O_4)發展氧氣電化學感測器

(1)電極之前處理

首先將石墨旋轉電極以 0.1 μm 的氧化鋁粉拋光後，再

以乾淨的去離子水在超音波下震盪三分鐘，接著再重複上述步驟一次，最後再以乾淨的去離子水連續沖洗兩次即可，如此處理後的電極以循環伏安法檢驗電極狀況，以確定電極面無吸附。

(2)工作電極的製備

將固定 50 %比例之 Co_3O_4 與導電油墨均勻混合，再以環己酮稀釋至適合進行塗佈修飾之比例(約稀釋 1 倍)，將其塗佈在前述處理過的空白石墨旋轉電極上，固定 40℃乾燥 20 分鐘，即可完成修飾電極的製備。

(3)偵測條件與方式

將製備好的工作電極、自製 3M KCl Ag/AgCl 參考電極及白金輔助電極同時放入 0.05M 的 pH 8 磷酸鹽緩衝溶液中，並添加 0.15M NaCl 以增加導電度，藉由定電位安培法量測方式，施加-300 mV(vs. Ag/AgCl)作為偵測電壓，並以恆溫循環水槽保持緩衝溶液之溫度在 25℃，並以旋轉控制馬達固定在電極轉速 625 rpm 下攪拌該緩衝溶液，藉由得到一穩定狀態電流，偵測該緩衝溶液之溶氧濃度；而緩衝溶液的溶氧量控制，則利用分批定量注入飽和溶氧之緩衝溶液的方式，使每次添加皆能提升分析樣品的溶氧濃度，以利於定電位安培法的量測。

(4)結果

在感測器的分析特性上，分批定量注入飽和溶氧水溶液到待測的緩衝溶液後，觀察濃度對工作電極的實際電流響應圖，接著再將所測得的穩定響應電流(μA)訊號對添加

溶氧濃度作圖，發現從 0.015mM 至 0.781mM 溶氧濃度範圍內，分析物濃度對電流訊號明顯呈現一線性關係(相關係數為 0.998)，以最小平方法處理後所獲得的直線斜率(靈敏度)為 1.002 $mA/mM \cdot cm^2$，如圖 5 所示。

在其他分析特性上，本偵測系統的反應時間(10%~90%電流響應區間)約為 3.0 秒；對於濃度 0.25mM 的溶氧水溶液，以 0.05M pH 8 並添加 0.15M NaCl 的磷酸鹽緩衝溶液，進行再現性評估，在重複量測 17 次的情況下，所得的相對標準偏差為 3.5%；此外，若在訊號雜訊比(S/N)為 3 的前提下，本系統的偵測極限可達 0.34μM。

最後對於干擾物影響程度進行探討，實驗結果顯示，當溶氧濃度控制在 0.25mM 時，接著加入 100μM 下述干擾物進行探討時，例如 Cr^{+3}、Cd^{+2}、Cu^{+2}、Co^{+2}、Fe^{+2}、樟腦、p-硝基酚及濃度為 100 ppm 的腐植酸等，皆不會產生明顯的量測干擾。

實施例二：以氰鈷胺素(Cyanocobalamin)(或稱維他命 B_{12})發展氧氣電化學感測器

(1)電極之前處理

首先將石墨旋轉電極以 0.1 μm 的氧化鋁粉拋光後，再以乾淨的去離子水在超音波下震盪三分鐘，接著再重複上述步驟一次，最後再以乾淨的去離子水連續沖洗兩次即可，如此處理後的電極以循環伏安法檢驗電極狀況，以確定電極面無吸附。

(2)工作電極的製備

將固定 15%比例之氯鈷胺素與 45%導電油墨均勻混合，再以環己酮 40%稀釋至適合進行塗佈修飾之比例，接著取 3μL 並將其塗佈在前述處理過的空白石墨旋轉電極上，室溫 25℃乾燥 30 分，再放入 0.05M pH 6 的磷酸緩衝溶液中，以轉速 625rpm 的情形下穩定電極 25 分鐘即完成製備。

(3)偵測條件與方式

將製備好的工作電極、自製 3M KCl Ag/AgCl 參考電極及白金輔助電極同時放入 0.05M pH 3 的醋酸鹽緩衝溶液中，並添加 0.1 M NaCl 增加導電度，以定電位安培法的量測方式，施加-200 mV (vs. Ag/AgCl)作為偵測電位，並以恆溫循環水槽保持緩衝溶液之溫度能維持在 25℃，並以旋轉控制馬達固定在電極轉速 900 rpm 下攪拌該緩衝溶液，藉由得到一穩定狀態的電流，以偵測該緩衝溶液之溶氧濃度；而緩衝溶液的溶氧量控制，則利用分批定量注入飽和溶氧之緩衝溶液的方式，使每次添加皆能提升溶氧濃度，以利於安培法量測。

(4)結果

在感測器的分析特性上，分批定量注入飽和溶氧水溶液到待測的緩衝溶液後，觀察濃度對工作電極的實際電流響應圖，接著再將所測得的穩定響應電流(μA)訊號對添加溶氧濃度作圖，發現從 0.015mM 至 0.6mM 的溶氧濃度範圍內，分析物濃度對電流訊號明顯呈現一線性關係(相關係數

為 0.999)，以最小平方法處理後所獲得的直線斜率(靈敏度)為 1.369 mA/mM·cm^2，如圖 6 所示。

在其他分析特性上，本偵測系統的反應時間(10%~90%電流響應區間)約為 8.8 秒；對於濃度 0.25 mM 的溶氧水溶液，以 0.05M pH 3 並添加 0.1M NaCl 的醋酸鹽緩衝溶液，進行再現性評估，在重複量測 20 次的情況下，所得的相對標準偏差為 1.37%；此外，若在訊號雜訊比(S/N)為 3 的前提下，本系統的偵測極限可達 9.2μM。

最後對於干擾物影響程度進行探討，根據實驗結果顯示，當溶氧濃度控制在 0.25mM 時，接著加入 100μM 下述干擾物進行探討時，例如 Cr^{+3}、Cd^{+2}、Cu^{+2}、Co^{+2}、Fe^{+2}、樟腦、p-硝基酚及濃度為 100 ppm 的腐植酸等，皆不會產生明顯的量測干擾。

實施例三：以鈷酞花青素(Cobalt(II) phthalocyanine)發展氧氣電化學感測器

(1)電極之前處理

首先將石墨旋轉電極以 0.1 μm 的氧化鋁粉拋光後，再以乾淨的去離子水在超音波下震盪三分鐘，接著再重複上述步驟一次，最後再以乾淨的去離子水連續沖洗兩次即可，如此處理後的電極以循環伏安法檢驗電極狀況，以確定電極面無吸附。

(2)工作電極的製備

將固定 20%比例之鈷酞花青素與導電油墨均勻混合，

再以環己酮稀釋至適合進行塗佈修飾之比例(約稀釋 1 倍)，接著將其塗佈在前述處理過的空白石墨旋轉電極上，固定 30℃乾燥 30 分鐘，即完成修飾電極的製備。

(3)偵測條件與方式

將製備好的工作電極、自製 3M KCl Ag/AgCl 參考電極及白金輔助電極同時放入 0.05M pH 8 的磷酸鹽緩衝溶液中，並添加 0.15M NaCl 以增加導電度，接著以定電位安培法的量測方式，施加-300mV(vs. Ag/AgCl)作為偵測電位，並以恆溫循環水槽保持緩衝溶液之溫度能維持在 25℃，再以旋轉控制馬達固定在電極轉速 625rpm 下攪拌該緩衝溶液，藉由得到一穩定狀態的電流，以偵測該緩衝溶液之溶氧濃度；而緩衝溶液的溶氧量控制，則利用分批定量注入飽和溶氧之緩衝溶液的方式，使每次添加皆能提升溶氧濃度，以利於安培法量測。

(4)結果

在感測器的分析特性上，分批定量注入飽和溶氧水溶液到待測的緩衝溶液後，觀察濃度對工作電極的實際電流響應圖，接著再將所測得的穩定響應電流(μA)訊號對添加溶氧濃度作圖，發現從 0.012mM 至 0.925mM 的溶氧濃度範圍內，分析物濃度對電流訊號明顯呈現一線性關係(相關係數為 0.998)，以最小平方法處理後，所獲得的直線斜率(即靈敏度)為 1.235mA/mM·cm^2，亦表示於圖 7 中。

在其他分析特性上，本偵測系統的反應時間(10%~90%電流響應區間)約為 2.2 秒；對於濃度 0.25 mM 的溶氧水溶

液，以 0.05M pH 8 並添加 0.15M NaCl 的磷酸鹽緩衝溶液，進行再現性評估，在重複量測 20 次的情況下，所得的相對標準偏差為 3.1%；此外，若在訊號雜訊比(S/N)為 3 的前提下，本系統的偵測極限可達 0.5μM。

最後對於干擾物影響程度進行探討，根據實驗結果顯示，當溶氧濃度控制在 0.25mM 時，接著加入 100μM 下述干擾物進行探討時，例如 Cr^{+3}、Cd^{+2}、Cu^{+2}、Co^{+2}、Fe^{+2}、樟腦、p-硝基酚及濃度為 100 ppm 的腐植酸等，皆不會產生明顯的量測干擾。

基於上述各範例，利用網版印刷電極亦可表示一種量測液體中溶氧濃度的電化學方法，適用在上述所有的鈷金屬氧化物或鈷金屬錯合物，其網印電極試片的製備與量測依照以下步驟：

(1)利用網版印刷技術將三電極系統製備在不透氧的平板絕緣材質上，包含一工作電極(反應區印製有鈷金屬氧化物或鈷金屬錯合物)、一參考電極(主成分為 Ag/AgCl 油墨)、一對偶電極(主成分為導電碳糊)；

(2)將上述印製完成的微型化溶氧電化學感測試片進一步加工及封裝，搭配虹吸取樣的設計，可將取樣體積控制在 10μL 的微量範圍，迅速進行取樣偵測，並可藉此虹吸裝置有效隔絕後續大氣中之氧氣再溶入樣品中所造成的影響與誤差，以利於電化學溶氧感測器即時偵測樣品中之溶氧量；

(3)虹吸裝置為試片兩側開口的設計，位於試片偵測區兩旁，該區包含有對偶電極、參考電極及本發明所提及的含鈷金屬氧化物或金屬錯合物修飾工作電極的偵測區域範圍，使該待測液體能藉由虹吸現象進入反應偵測區，同時接觸三電極系統，並迅速充滿上述偵測區域範圍，以利偵測進行；

(4)在取樣後，藉由進行定電位時間安培法(chronoamperometry)的量測，而從該化學感測器的傳感器中獲得一瞬間電流；

(5)將上述步驟量取得到之瞬間電流，進一步與已知溶氧濃度之液體樣品在相同量測法下所測得之電流值進行比對，而計算出該待測液體中的溶氧濃度。

熟悉上述技術者可以明顯的在不脫離本發明的精神或範圍內，對本發明做出許多方面的修飾與變化。因此本發明實涵蓋以下所附申請專利範圍及該等修飾和變化。

圖式簡單說明

圖 1 顯示製備本發明的虹吸式印刷三電極電化學定量檢測試片時，將導線印刷在基材上的平面示意圖。

圖 2 顯示將參考電極及工作電極印刷在圖 1 的基材上的平面示意圖。

圖 3 顯示將絕緣層貼合在圖 2 的基材上的平面示意圖。

圖 4 顯示將一上覆蓋膜貼合於圖 3 的基材上的平面示

意圖。

圖5顯示了以定電位安培法測量被分批定量注入溶氧水溶液之緩衝溶液的工作電極之穩定電流，其中該工作電極為依本發明之實施例一完成的Co_3O_4溶氧電化學感測器，其中的橫軸為過氧化氫濃度(mM)，縱軸為電流(μA)。

圖6顯示了以定電位安培法測量被分批定量注入溶氧水溶液之緩衝溶液的工作電極之穩定電流，其中該工作電極為依本發明之實施例二完成的氰鈷胺素溶氧電化學感測器，其中的橫軸為過氧化氫濃度(mM)，縱軸為電流(μA)。

圖7顯示了以定電位安培法測量被分批定量注入溶氧水溶液之緩衝溶液的工作電極之穩定電流，其中該工作電極為依本發明之實施例三完成的鈷酞花青素溶氧電化學感測器，其中的橫軸為過氧化氫濃度(mM)，縱軸為電流(μA)。

主要元件之圖號說明

10..基材；20..對偶電極；30..導線；40..參考電極；

50..工作電極；60..絕緣層；80..高分子上覆蓋膜；

81..穿孔

五、中文發明摘要：

一種適用於電化學量測方式的溶氧化學感測器，其基本上以鈷金屬氧化物或是鈷金屬錯合物修飾一可導電的工作電極表面。該鈷金屬氧化物其化學式可表示為 Co_xO_y，式中"x"代表鈷原子之個數，"y"代表氧原子個數，具代表性之例子為四氧化三鈷。該鈷金屬錯合物其化學式可表示為 Co_aL_b，式中"a"代表鈷原子之個數，"b"代表配位基(L)的個數，具代表性之例子為鈷酞花青素及氰鈷胺素(或稱為維他命 B_{12})，或是其他以鈷為中心金屬的大環錯合物。本發明於三電極型式下以定電位模式偵測，可催化氧氣在低電位進行還原，在 0.0 到 -0.3 V 的工作範圍間(vs. Ag/AgCl)進行溶氧量測，即能夠有效避免環境中易氧化物質的干擾。

六、英文發明摘要：

A new electrochemical method used to determine dissolved oxygen concentration is developed. It employs cobalt based oxide or complex as the catalyst coating on a conductive electrode surface to modified electrode. This scheme can be applied to determine dissolved oxygen in medical and environmental demands. The chemical formula of the cobalt based oxide or complex can be showed as Co_xO_y or Co_aL_b. "x" and "a" are indicated as the quantity of the cobalt atom; "y" and "b" are indicated as the quantity of the oxygen atom and the binding ligand. Based on the above statement, the representative cobalt oxide is Co_3O_4, and the representative cobalt complexes are cyanocobalamin (vitamin B_{12}) and cobalt phthalocyanine (CoPC). This invention presents a new technique to sense the concentration of dissolved oxygen in solution. Subsequently, the dissolved oxygen can be measured between 0.0V and -0.3V vs. Ag/AgCl. This approach significantly reduces interferences, especially those easy oxidization compounds in water solutions.

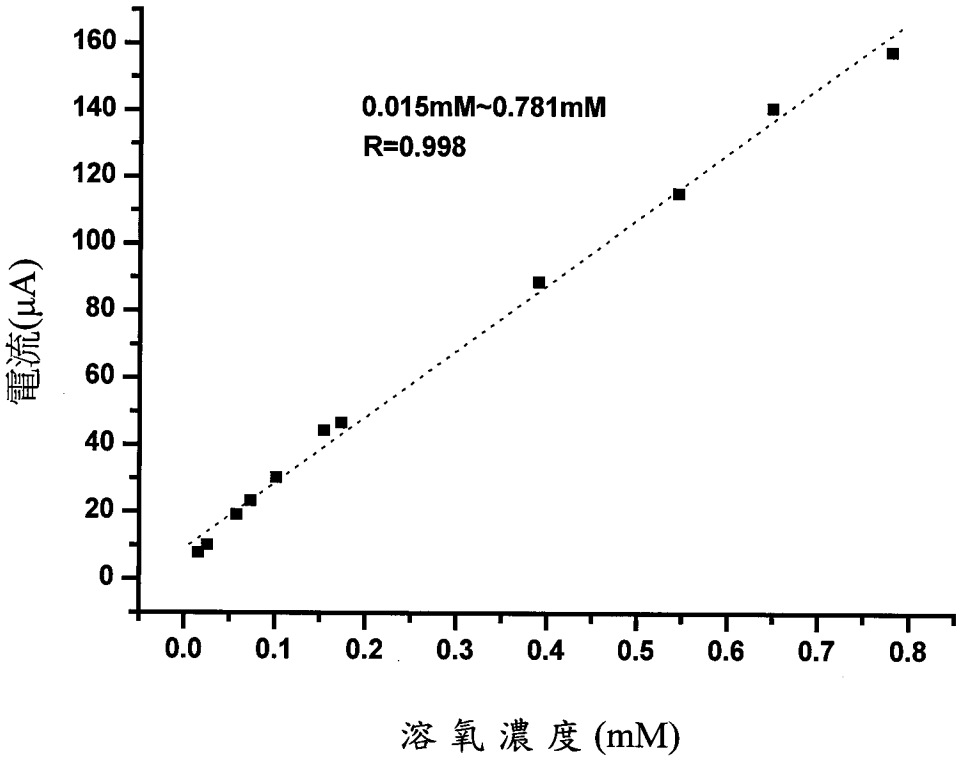

0.015mM~0.781mM
R=0.998
電流(μA)
溶氧濃度(mM)
0
20
40
60
80
100
120
140
160
0.0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
0.7
0.8

圖 5

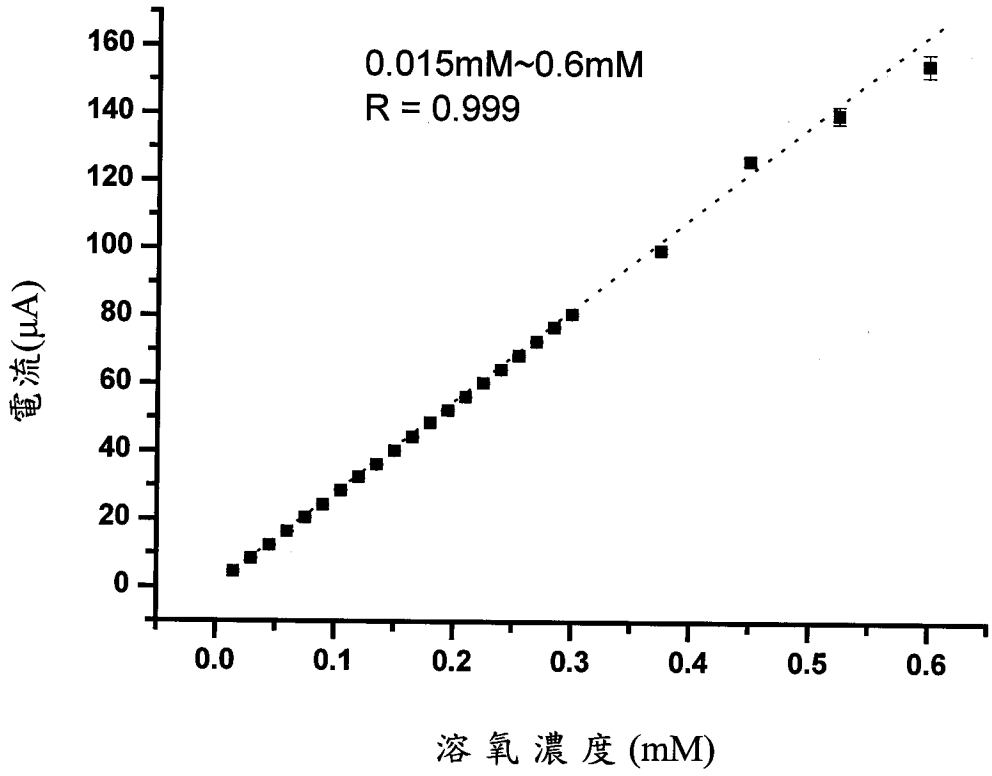

0.015mM~0.6mM
R = 0.999
電流(μA)
160
140
120
100
80
60
40
20
0
0.0
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
溶氧濃度(mM)

圖 6

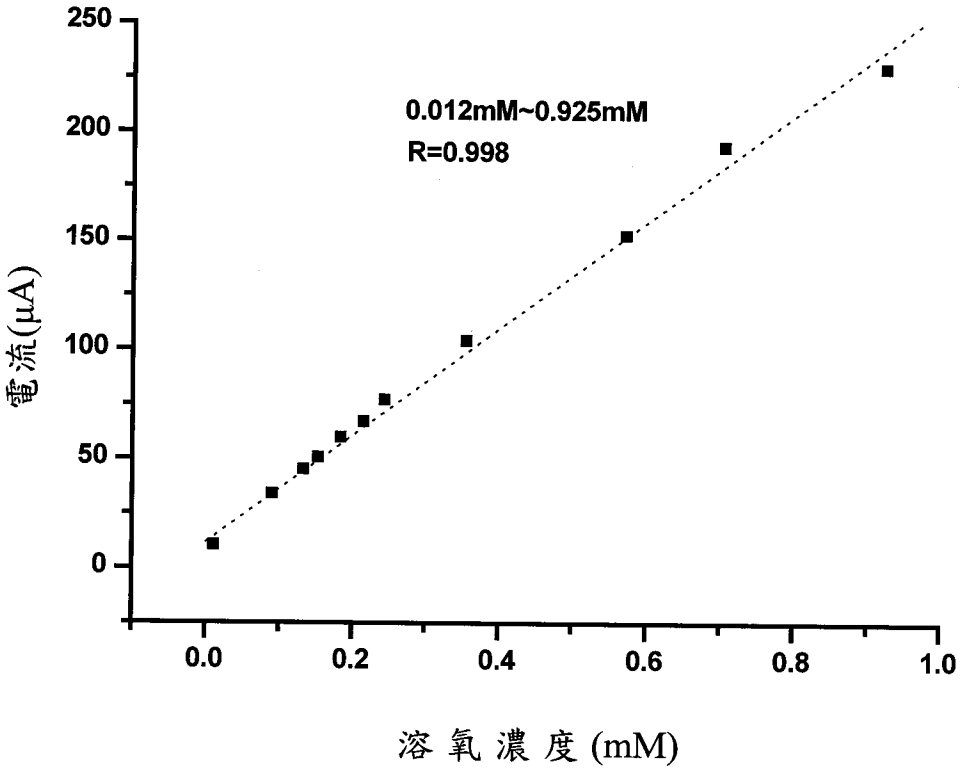

250
200
150
100
50
0
電流(μA)
0.012mM~0.925mM
R=0.998
0.0
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
溶氧濃度(mM)

圖 7

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第（ 5 ）圖。

(二)本代表圖之元件代表符號簡單說明:

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

98年3月11日修(更)正本

公告本
(2009年3月修正)

十、申請專利範圍：

1.一種測量溶液中溶氧濃度的方法，包含以下步驟：

(a)將一輔助電極、一參考電極及一工作電極同時與一待測溶液接觸，其中該工作電極包含一可傳導電流之傳感器，以及附著在該傳感器表面上具有Co_xO_y化學式的鈷氧化物，其中x代表鈷氧化物中的鈷原子莫耳數，及y代表其中的氧原子莫耳數；

(b)以電化學安培法量測該待測溶液中的溶氧濃度，包含在該工作電極與參考電極之間維持一固定電位，而從該工作電極得到一電流，其中當該參考電極為內含3M KCl的Ag/AgCl時，該固定電位為0.0V至-0.30V的範圍區間；及

(c)將步驟(b)量取所得到的電流與已知溶氧濃度之溶液以步驟(a)及(b)所測得之電流進行比對，而計算出該待測溶液中的溶氧濃度。

2.如申請專利範圍第1項的方法，其中x為3及y為4。

3.如申請專利範圍第1或2項的方法，其中步驟(a)進一步包含以一固定攪拌速度攪拌該待測溶液，使其呈現一均勻相；加入一電解質於該待測溶液，及加入一pH緩衝溶液於該待測溶液。

4.如申請專利範圍第3項的方法，其中該緩衝溶液為磷酸鹽緩衝溶液或醋酸鹽緩衝溶液，及該電解質為鹼金屬

鹵化物。

5.如申請專利範圍第4項的方法，其中該傳感器表面上被附著有四氧化三鈷，該緩衝溶液為pH=8的磷酸鹽緩衝溶液，且該電解質為NaCl或KCl。

6.如申請專利範圍第5項的方法，其中該參考電極為內含3M KCl的Ag/AgCl，及該固定電位為-300mV。

7.如申請專利範圍第1項的方法，其中該電流為一穩定電流。

8.如申請專利範圍第1項的方法，其中該電流為一瞬間電流。

9.一種虹吸式印刷三電極電化學定量檢測試片，包含：

一基材；

附著在該基材的一表面上的式樣化導線，包含互相間隔開的三條導線，該三條導線的一端適於連接一電化學分析儀器，而該三條導線的另一端分別被形成一對偶電極，一工作電極及一參考電極，其中該對偶電極具有一圓弧狀，用以形成分佈均勻的電場；該工作電極位於接近該圓弧圓心的一點，及該參考電極位於該圓弧的周緣且靠近該工作電極；

一絕緣層，其被附著於該基材的該表面上，其中該絕緣層的上半部份封蓋在該三條導線的中段，使得該三條導線的兩端為其所隔開，及該絕緣層的下半部份附著在沿著該圓弧狀對偶電極的底部周圍，於是形成包含該對偶電極、工作電極及參考電極的反應區，及形成位於該反應區兩側的通道；及

一上覆蓋膜其被附著於該絕緣層上及將該反應區蓋住，使該覆蓋膜與該基材之間形成一間隙，且該上覆蓋膜設有一穿孔，且該穿孔與該三條導線中具有工作電極的導線接近工作電極的導線部份相對，於是該穿孔具有限制體積的作用，使得一接觸該間隙的液體會藉由毛細管作用或虹吸作用，由該通道被吸入該反應區至充滿的狀況，其中，該穿孔可以限制待測溶液不接觸導線部份；及

該工作電極包含一附著在該導線上具有Co_xO_y化學式的鈷氧化物，其中x代表鈷氧化物中的鈷原子莫耳數，及y代表其中的氧原子莫耳數；及

該參考電極包含附著在該導線上的銀或是銀/氯化銀。

10.如申請專利範圍第9項所述之檢測試片，其中該基材為不導電、不透氧之高分子基材。

11.如申請專利範圍第10項所述之檢測試片，其中該基材為聚乙烯、聚丙烯、聚氯乙烯、聚酯或其等之共聚物或摻合物。

12.如申請專利範圍第9項所述之檢測試片，其中該三條導線係使用導電油墨印刷於該基材上及該三條導線中最左邊的導線末端具有一圓弧狀直接作為該對偶電極。

13.如申請專利範圍第12項所述之檢測試片，其中該導電油墨含碳、金、銀或白金。

14.如申請專利範圍第9項所述之檢測試片，其中該參考電極係使用含銀或是銀/氯化銀材質之導電油墨印刷於該基材三條導線中最右邊的導線末端上。

15.如申請專利範圍第9項所述之檢測試片，其中該工作電極係使用混有該鈷氧化物之導電油墨，印刷於該基材三條導線的中間導線末端圓點上。

16.如申請專利範圍第9項所述之檢測試片，其中該絕緣層係使用絕緣且不導電及不透氧之絕緣黏著劑或雙面膠帶，直接黏著於該基材上。

17.如申請專利範圍第9項所述之檢測試片，其中x為3及y為4。

18. 如申請專利範圍第9項所述之檢測試片，其中該上

覆蓋膜為不導電及不透氧之高分子材料。