



(19)中華民國智慧財產局

(12)發明說明書公告本

(11)證書號數：TW I617807 B

(45)公告日：中華民國 107 (2018) 年 03 月 11 日

(21)申請案號：106103714

(22)申請日：中華民國 106 (2017) 年 02 月 03 日

(51)Int. Cl. : G01N27/26 (2006.01)

G01N33/50 (2006.01)

(30)優先權：2016/04/26 日本

2016-087924

(71)申請人：日本航空電子工業股份有限公司(日本) JAPAN AVIATION ELECTRONICS
INDUSTRY, LIMITED (JP)

日本

國立大學法人東北大學(日本) TOHOKU UNIVERSITY (JP)

日本

(72)發明人：林泰之 HAYASHI, HIROYUKI (JP)；國方亮太 KUNIKATA, RYOTA (JP)；須田篤
史 SUDA, ATSUSHI (JP)；伊野浩介 INO, KOSUKE (JP)；井上久美 INOUE, KUMI
(JP)；末永智一 MATSUE, TOMOKAZU (JP)

(74)代理人：林志剛

(56)參考文獻：

TW I224673

CN 102226779A

JP 2013-92437A

審查人員：林佑霖

申請專利範圍項數：10 項 圖式數：15 共 37 頁

(54)名稱

電化學測定方法、電化學測定裝置及換能器

(57)摘要

電化學測定方法係在包含測定對象物的電解液中，設置進行測定與對象物進行電子的授受而使產生氧化還原反應的作用極、以及對極，對作用極與對極之間施加測定用電壓測定因應於測定對象物的量而流動於作用極與對極之間的電流；在電解液槽的底面設置作用極，設置由前述底面的一點延伸至電解液槽內的空間返回底面的其他點的形狀的細線所構成的測定對象物抵消用細線電極；執行：對測定對象物抵消用細線電極與對極之間施加測定用電壓與同極性的抵消用電壓，藉著氧化或者還原測定對象物而進行抵消的測定對象物抵消步驟、停止施加抵消用電壓之後，使新的測定對象物擴散的測定對象物擴散步驟、以及對使新的測定對象物擴散之後對作用極與對極之間施加測定用電壓而測定電流的電化學測定步驟。

發明專利說明書

(本說明書格式、順序，請勿任意更動)

【發明名稱】(中文/英文)

電化學測定方法、電化學測定裝置及換能器

【技術領域】

[0001] 本發明係關於測定來源於細胞或細胞塊、組織片及其他生體試樣以及包含生體關聯物質的非生體試樣（以下在本發明統括簡稱為「生體試樣」）之化學物質（化學反應產物）的電化學測定方法、電化學測定裝置以及使用於電化學測定的換能器。

【先前技術】

[0002] 定量藉由在細胞或細胞塊、組織片等生體試樣發生的化學反應所產生的物質，是在醫療、製藥等現場進行生體試樣的生死判定、機能性評估等所必要的技術。由生體試樣所放出的化學反應產物的定量方法之一為電化學測定，例如在 M.Sen, et al., "Biosensors and Bioelectronics" 2013 年，48 卷，p.12-18（以下稱為文獻 1）記載著藉由電化學測定進行肝細胞的分化的進行狀態之觀察。

[0003] 電化學測定，是對被插入與外部電源連接的 2 個以上的電極的電解液內之測定對象物，透過電極由測定對象物奪取電子，或者是往測定對象物提供電子，使發生氧化或還原反應，同時測定流動於電極間的電流檢測出有

無氧化還原反應，亦即檢測出有無測定對象物的方法。

[0004] 一般的電化學測定裝置，其係以：與測定對象物進行電子的授受使發生氧化還原反應的作用極、中介著外部電源與作用極連接，補償在作用極產生的電子移動之對極、使透過測定系內的離子之電子移動為可能，而使測定系全體為閉迴路之電解液、以及供取電壓的基準之用的參照極等所構成。

[0005] 在文獻 1，對於由小鼠的胚胎幹細胞（embryonic stem cell：以下亦簡稱 ES 細胞）所製作的 ES 細胞塊亦即胚樣體（embryoid body：以下亦簡稱 EB），以電化學測定來間接測定存在於 ES 細胞的細胞膜的未分化標記（marker）之鹼性磷酸酶（Alkaline Phosphatase:以下亦簡稱 ALP）。

[0006] 機能未被限定的幹細胞，變化為機能限定的體細胞的反應，一般被稱為分化，顯示未發生分化的物質被稱為未分化標記。

[0007] ALP 為細胞的未分化標記，同時具有在鹼性條件下使磷酸酯化合物加水分解的性質。ALP 是作為例如把磷酸酯化合物 p-胺基苯基磷酸酯（p-aminophenyl phosphate：PAPP）變化為 p-胺基苯酚（p-aminophenol：PAP）的反應酵素發揮作用。藉由酵素反應產生的 PAP 是具有電化學活性的物質，藉由把參照極作為基準往作用極施加電壓，往 p-醌亞胺（p-quinone imine：PQI）氧化。亦即，藉由酵素反應、氧化還原反應之 2 次反應，ALP 的

存在是以電化學測定之電流值得形式被檢測出。

[0008] 在文獻 1，使用具備 $\phi 40\mu\text{m}$ 的作用極以 $250\mu\text{m}$ 的間距陣列狀排列 $20\times 20=400$ 個的多點電極電流測定裝置來進行測定。此裝置藉由從 400 個電極所得到的電極電流值，而 2 次元地掌握隨時間變化的數個 μm -數百 μm 的生體試樣的反應的樣貌。

【發明內容】

[0009] 前述文獻 1 之測定，係進行

- 在含有 $4.7\times 10^{-3}\text{mol/L}$ 的 PAPP 電解液投入小鼠 EB
- 投入之後立刻開始酵素反應，藉由細胞膜內 ALP 使 PAPP 變化為 PAP
- PAP 從 EB 表面擴散至電極附近，到達電極表面
- 等待擴散的安定，對電極施加電壓
- PAP 變化為 PQI
- 取得電極間電流值

等過程，圖 1 係以時間為橫軸顯示此過程。

[0010] 於圖 1，把 EB 投入電解液，由開始酵素反應的瞬間起直到施加電壓為止的時間 A，是 PAP 由 EB 表面開始擴散，設想為電解液內的 PAP 濃度分布安定的時間，由電壓施加開始直到取得電流值為止的時間 B，設想為藉由在電極產生的氧化還原反應而使電極附近的 PAP 濃度分布的變化安定的時間。

[0011] 然而，在經過這樣過程的 EB 的 ALP 活性測

定，會產生測定的不確定性。

[0012] 例如，於同時測定複數 EB 的場合，以吸量管等往陣列狀的電極上配置 EB 時，分複數次進行配置的場合 EB 接觸到 PAPP 的時間點會產生差異，所以從酵素反應開始直到施加電壓為止的時間 A，在各個 EB 是不同的，EB 周圍的 PAP 濃度分布以及電流值即使在所有的 EB 都具有同樣的活性（每單位時間的 PAP 放出速度）的情形下也顯示不同值。亦即，於測定電流值，會存在著 EB 具有的 ALP 活性大小的差異，以及由酵素反應開始直到施加電壓為止的時間 A 的長度所導致的不同等這兩種情形。

[0013] 此外，即使同時把複數 EP 加入 PAPP 溶液，在某個時間點進行的 EB 群的測定結果，與不同時間點進行的 EB 群的測定結果，應該會隨著例如 EB 投入時的作業者的加入方式不同所導致的液體晃動情形的不同，而難以比較這些 EB 群間的測定結果。

[0014] 本發明的目的係提供在測定複數次反覆測定的各次之間以及 1 次測定複數試樣的場合之各試樣之間，謀求測定條件的均一化，從而可以進行正確的測定，可以正確地進行複數次測定的各次之間以及 1 次測定的各試樣間的測定結果的比較之電化學測定方法、電化學測定裝置以及使用於該電化學測定的換能器。

[0015] 根據本發明，提供的電化學測定方法係在包含測定對象物的電解液中，設置進行測定與對象物進行電

子的授受而使產生氧化還原反應的作用極、以及透過外部電源與作用極連接的對極，對作用極與對極之間施加測定用電壓測定因應於測定對象物的量而流動於作用極與對極之間的電流；在收容電解液的電解液槽的底面設置作用極，於前述底面，設置由前述底面的一點延伸至上方的電解液槽內的空間再返回前述底面的其他點的形狀的細線所構成的測定對象物抵消用細線電極；執行：對測定對象物抵消用細線電極與對極之間施加測定用電壓與同極性的抵消用電壓，藉著氧化或者還原測定對象物而進行抵消的測定對象物抵消步驟、停止施加抵消用電壓之後，使新的測定對象物擴散的測定對象物擴散步驟、以及對使新的測定對象物擴散之後對作用極與對極之間施加測定用電壓而測定電流的電化學測定步驟。

[0016] 此外，根據本發明，提供的電化學測定裝置，係具備：收容電解液與在電解液中使測定對象物產生的生體試樣之電解液槽、設於電解液槽的底面，與測定對象物進行電子的授受而使產生氧化還原反應的作用極、設於電解液槽的對極、對作用極與對極之間施加測定用電壓的測定用電壓施加手段、以及測定在施加測定用電壓時因應於測定對象物的量而流動於作用極與對極之間的電流的電流測定手段；於前述底面，設置由前述底面的一點延伸至上方的電解液槽內的空間再返回前述底面的其他點的形狀的細線所構成，而與測定對象物進行電子的授受使產生氧化還原反應的測定對象物抵消用細線電極；具有在未對

作用極與對極之間施加測定用電壓時，對測定對象物抵消用細線電極與對極之間，施加測定用電壓與同極性的抵消用電壓之抵消用電壓施加手段。

[0017] 進而，根據本發明，提供可以收容電解液與被浸漬於電解液中的生體試樣之電解液槽被搭載於大型積體電路晶片（以下簡稱 LSI 晶片）上，使用於由生體試樣產生的測定對象物的電化學測定的換能器，被排列為陣列狀而設於 LSI 晶片的複數第 1 電極位於被劃設於電解液槽的底面的感測器區域，於感測器區域上設置由細線所構成的第 2 電極，第 2 電極被延伸為從感測器區域的一點延伸至上方的電解液槽內的空間再返回感測器區域的其他點的形狀者。

[0018] 根據本發明之電化學測定方法，係使在電解液中產生、擴散的測定對象物一度抵消之後，再度使測定對象物產生、擴散而進行測定者，此外，根據本發明之電化學測定裝置可以進行這樣的測定。從而，根據本發明之電化學測定方法、電化學測定裝置的話，可以謀求測定對象物的產生、擴散條件的均一化，亦即可以謀求測定條件的均一化，可以達成正確的測定。

[0019] 藉此，可以正確進行例如複數次反覆測定之各次之間的測定結果的比較或是 1 次測定複數試樣（生體試樣）的場合之各試樣間的測定結果的比較。

[0020] 此外，根據本發明之換能器適於使用在這樣的電化學測定。

【圖式簡單說明】

[0021]

圖 1 係顯示電化學測定之從前的測定過程之一具體例之圖。

圖 2 係顯示由於圖 1 所示的電化學測定之酵素反應的時間 A 的不同而產生的電流值的計算結果的不同之圖。

圖 3 係顯示本發明之測定對象物抵消用細線電極之一例之立體圖。

圖 4 係圖 3 所示之測定對象物抵消用細線電極之平面圖。

圖 5A 係圖 4 之部分擴大圖。

圖 5B 係對應於圖 5A 的正面圖。

圖 6 係顯示本發明之測定對象物抵消用細線電極之一例及測定對象物抵消用底面電極之立體圖。

圖 7 係與從前的測定過程一起顯示之根據本發明的電化學測定的測定過程之圖。

圖 8 係顯示根據圖 3 所示之測定對象物抵消用細線電極執行測定對象物抵消步驟的場合之電流值的計算結果之圖。

圖 9 係顯示根據圖 6 所示之測定對象物抵消用細線電極及對象物抵消用底面電極執行測定對象物抵消步驟的場合之電流值的計算結果之圖。

圖 10 係顯示有對流的場合之有無執行測定對象物抵

消步驟所導致的電流值計算結果的不同之圖。

圖 11 係顯示本發明之測定對象物抵消用細線電極之其他例之立體圖。

圖 12 係供說明測定對象物抵消用細線電極的連續形成例之圖。

圖 13 係供說明根據本發明之電化學測定裝置之一實施例的構成之圖。

圖 14A 係顯示根據本發明之換能器之一實施例之平面圖。

圖 14B 係圖 14A 所示的換能器之剖面圖。

圖 15 係圖 14A 所示的換能器之立體圖。

【實施方式】

[0022] 首先，以小鼠 EB 的 ALP 活性測定為例，說明根據有限元素法進行數值解析的結果。數值解析軟體使用 COMSOL Multiphysics Ver4.4。以下顯示解析模型形狀、邊界條件。

[0023]

< 解析模型形狀 >

準備 $2.3\text{mm} \times 2.3\text{mm} \times 1.3\text{mm}$ 之解析空間，將 $\phi 40\mu\text{m}$ 之電極（作用極）以陣列狀設置於解析空間底面。

[0024] 在 $2.3\text{mm} \times 2.3\text{mm}$ 之解析空間底面的中心設為原點，配合電極陣列全體的中心與解析空間底面的中心使電極以 $250\mu\text{m}$ 的間距設置 $8 \times 8 = 64$ 個，其中往中心附近的

第 4 行第 5 列的電極上方對準中心配置 $\phi 300\mu\text{m}$ 之模擬 EB 的球體。考慮到解析網目切劃的容易性，球體與正下方的電極的間隔採 $3\mu\text{m}$ 之距離。

[0025]

< 邊界條件 >

解析空間內設定濃度 $4.7 \times 10^{-3} \text{mol/L}$ 之基質 PAPP 作為空間內濃度初期值，解析空間 4 邊之壁與頂部，設定解析空間外為濃度 $4.7 \times 10^{-3} \text{mol/L}$ 的解放邊界。酵素反應的模型為 EB 表面（球體表面）依照下列所示的米氏方程（Michaelis-Menten equation）之式（1），作為依存於表面附近的 PAPP 的濃度放出 PAP 之邊界。

[0026]

【式1】

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]} \quad \dots (1)$$

[0027]

v : PAP 放出速度 [mol/s]

[S] : 基質 PAPP 濃度 ($4.7 \times 10^{-3} \text{mol/L}$)

V_{\max} : PAPP 濃度最大時之反應速度 ($3.33 \times 10^{-12} \text{mol/s}$)

K_m : Michaelis-Menten 常數 ($1.7 \times 10^{-3} \text{mol/L}$)

[0028] 為了表現 PAP 的氧化還原反應，在電極上把電壓施加時之 PAP 濃度設為零，由 PAP 濃度梯度計算電流值。電流值比例於垂直電極的方向的濃度梯度，遵循式

(2)。

[0029]

【式 2】

$$i = nFD \frac{dC(x,y,z)}{dz} \quad \dots (2)$$

[0030]

i ：電極上之任意點 (x,y,z) 之電流密度 $[A/m^2]$

C ：任意點 (x,y,z) 之 PAP 濃度 $[mol]$

z ：垂直於電極之成分

x,y ：與電極平行的成分

F ：法拉第常數 $(96485C/mol)$

D ：氧化還原物種 PAP 擴散係數 $(6.47 \times 10^{-10} m^2/s)$

n ：反應電子數 $(n=2)$

[0031] 又，為了在視覺上容易了解而評估 PAP 濃度分布的影響，64 個電極之中，把與乘載 EB 的電極同一列的 7 個（沿著 Y 軸的 7 個）電極的電流值使用於評估。

[0032] 最初，依照圖 1 所示的過程，計算從酵素反應開始直到電壓施加為止的時間 A 為 3 秒，由電壓施加起直到取得電流值為止的時間 B 為 0.1 秒的場合之電流值，以及時間 A 為 20 秒，時間 B 為 0.1 秒的場合之電流值。結果顯示於圖 2。如圖 2 所示從酵素反應開始直到電壓施加為止的時間 A 的差異會呈現出電流值差異。又，圖 2 係 EB 正下方的電極位置為 $y=0\mu m$ ，描繪由 EB 正下方的電極與兩側各 3 個電極所量得的電流值（後述的圖 8~10 之

圖也相同)。

[0033] 本發明係在電解液中設測定對象物抵消用電極，執行：對測定對象物抵消用電極與對極之間施加測定用電壓與同極性的抵消用電壓，藉著氧化或者還原測定對象物而進行抵消的測定對象物抵消步驟、停止施加抵消用電壓之後，使新的測定對象物擴散的測定對象物擴散步驟、以及對使新的測定對象物擴散之後對作用極與對極之間施加測定用電壓而測定電流的電化學測定步驟者，以下說明使用於數值解析的測定對象物抵消用電極之 2 個構成（構成 1、2）。

[0034] 構成 1：把作用極與同極性的測定對象物抵消用細線電極設在被設置作用極的底面（解析空間底面）上。圖 3、4、5A 及 5B，顯示此測定對象物抵消用細線電極的配置、構成，圖 3、4、5A 及 5B 中，11 為 $\phi 40\mu\text{m}$ 的作用極，21 為測定對象物抵消用細線電極。此外 31 為 $\phi 300\mu\text{m}$ 之 EB。EB31 位於作用極 11 的正上方。

[0035] 測定對象物抵消用細線電極 21 係被延伸為由底面 10 的一點延伸至上方（Z 方向）的空間再度返回底面 10 的另一點的形狀之粗達 $33\mu\text{m}$ 的細線（導線）所構成，成為逆 U 字形狀。作為逆 U 字的兩腳部的間隔為 $120\mu\text{m}$ ，由底面 10 到逆 U 字的中央部的細線中心的高度為 $300\mu\text{m}$ 。

[0036] 測定對象物抵消用細線電極 21 如圖 4 所示，於作用極 11 之每隔 1 行的排列（1,3,5,7 行）以分別位於

鄰接的作用極 11 間的方式配置，進而於作用極 11 的每隔 1 列的排列（2,4,6,8 列）以分別位於鄰接的作用極 11 間的方式配置。藉此，把合計 56 根測定對象物抵消用細線電極 21 設於底面 10 上。

[0037] 又，這樣的測定對象物抵消用細線電極 21 例如可以藉由引線接合而形成。於圖 3、4、5A 及 5B 也一併顯示實際設置測定對象物抵消用細線電極 21 時所必要的接合用墊（pad）22。

[0038] 構成 2：如圖 6 所示，除了構成 1 的 56 根測定對象物抵消用細線電極 21 以外，於底面 10 配置與作用極 11 同極性的測定對象物抵消用底面電極 23。測定對象物抵消用底面電極 23 是在 $\phi 40\mu\text{m}$ 地作用極 11 的周圍同心環狀地隔開 $20\mu\text{m}$ 的間隙全面配置於底面 10。

[0039] 又，在此構成不需要圖 3 所示的墊 22，成為逆 U 字形狀的測定對象物抵消用細線電極 21 可以將其兩端接合（bonding）設置於測定對象物抵消用底面電極 23。

[0040] 如前所述，測定對象物抵消用電極在構成 1 係由測定對象物抵消用細線電極 21 所構成，在構成 2 係由測定對象物抵消用細線電極 21 與測定對象物抵消用底面電極 23 二者所構成。

[0041] 測定對象物抵消用電極，與作用極同樣，藉著以電壓施加時 PAP 濃度成為零的方式設定解析邊界條件而再現往測定對象物抵消用電極之電壓施加。

[0042] 圖 7 的 P1 顯示前述圖 2 所示的計算結果的過程，圖 7 的 P2 係包含根據測定對象物抵消用電極之測定對象物抵消步驟的過程，亦即顯示根據本發明的電化學測定方法的過程。

[0043] 對於從酵素反應開始 3 秒後與 20 秒後的狀態，對作用極與測定對象物抵消用電極施加與測定用電壓同極性的抵消用電壓，執行 10 秒的測定對象物抵消步驟（PAP 濃度分布抵消步驟）之後，停止抵消用電壓的施加，再度，經過使酵素反應進行 3 秒使新的測定對象物擴散的測定對象物擴散步驟之後，對作用極施加測定用電壓，執行電化學測定步驟者，計算了 0.1 秒後的電流值。

[0044] 圖 8 及圖 9 分別顯示測定對象物抵消用電極為構成 1 及構成 2 的場合之電流值的計算結果。

[0045] 測定對象物抵消步驟後的反應（測定對象物的產生、擴散...測定對象物擴散步驟），不管測定對象物抵消步驟前的時間為 3 秒或者是 20 秒，都為一定，所以測定對象物抵消步驟前的時間為 3 秒、20 秒雙方的結果最好是一致的。構成 1、2 分別的結果比圖 2 所示的結果更充分地接近 3 秒與 20 秒的結果。

[0046] 其次，例如於電解液存在對流的場合，電解液的流動會擾亂 EB 形成的 PAP 濃度分布，應該會對測定造成影響。關於這點，說明電解液有對流的場合之針對根據本發明的電化學測定方法的效果之計算結果。又，測定對象物抵消用電極的構成為構成 2。

[0047] 計算針對以下 3 個事例（事例 1~3）來進行。

- 事例 1：從酵素反應開始到電壓施加為止的時間為 10 秒，計算電壓施加後 0.1 秒後的電流值

- 事例 2：於酵素反應開始時對於作用極旁的平行方向（Y 方向）存在 $50\mu\text{m/s}$ 的對流的場合，從酵素反應開始到電壓施加為止的時間為 10 秒，計算電壓施加後 0.1 秒後的電流值

- 事例 3：於酵素反應開始時對於作用極旁的平行方向（Y 方向）存在 $50\mu\text{m/s}$ 的對流的場合，10 秒的對流之後，使用作用極及與作用極同極性的測定對象物抵消用電極執行 10 秒的測定對象物抵消步驟，其後，停止抵消用電壓的施加，再度使進行酵素反應，經過 10 秒的測定對象物擴散步驟後對作用極施加電壓，計算電壓施加後 0.1 秒後的電流值

[0048] 圖 10 為這些事例 1~3 的電流值計算結果，沒有測定對象物抵消步驟的話，對流會如事例 2 那樣造成結果扭曲，在偏離原本位置（EB 存在的位置）的位置產生電流值的峰值，相對於此，可知執行了測定對象物抵消步驟的事例 3 可以得到接近於事例 1 原本應得到的電流值之電流值，可知可除去對流或者液體晃動的影響。

[0049] 以上說明了進行數值解析的結果，但在包含測定對象物的電解液中，設置與測定對象物進行電子的授受使產生氧化還原反應的作用極，以及與作用極透過外部

電源連接的對極，對作用極與對極之間施加測定用電壓而測定因應於測定對象物的量而連動於作用極與對極之間的電流之電化學測定，如前所述執行測定對象物抵消步驟的話，電解液中之至少對測定造成影像的範圍內所存在的測定對象物全部被氧化或還原而抵消，其產生及擴散的過程被初期化而重設（reset）電解液中的狀態。從而，藉著把後續的測定對象物擴散步驟的時間控制為一定，在複數次反覆測定的各次之間以及 1 次測定複數試樣的場合之各試樣之間，可以使測定對象物的產生、擴散條件都均一化，總之可以謀求測定條件的均一化。

[0050] 此外，藉由如此執行測定對象物抵消步驟，可以排除電解液的液體晃動或對流等的影響，進而可以在把使測定對象物產生的試樣（生體試樣）投入電解液之後，選在測定者所期望的時機進行測定。

[0051] 又，於前述對測定對象物抵消用電極及作用極雙方施加抵消用電壓執行測定對象物抵消步驟，但例如把抵消用電壓僅施加於測定對象物抵消用電極而執行測定對象物抵消步驟亦可。

[0052] 在前述之例測定對象物抵消用細線電極 21 為逆 U 字形狀，而配置多數個各個分別構成獨立的逆 U 字形狀的測定對象物抵消用細線電極 21 的構成，但是測定對象物抵消用細線電極亦可構成為圖 11 所示的形狀、構成。

[0053] 在圖 11，測定對象物抵消用細線電極 25 為 U

字形與逆 U 字形的反覆所構成的具有波形形狀者，亦即於圖 3 及圖 6 所示的測定對象物抵消用細線電極 21 的排列相互鄰接者藉由細線（細線被延長）相互連續的構成。

[0054] 測定對象物抵消用細線電極 25 對於作用極 11 的排列，被配置於與前述之測定對象物抵消用細線電極 21 的配置相同的行、列，亦及延伸於 X 方向的 4 根測定對象物抵消用細線電極 25 與延伸於 Y 方向的 4 根測定對象物抵消用細線電極 25 以相互交叉的方式配置。

[0055] 於底面 10 被配置測定對象物抵消用底面電極 23，測定對象物抵消用細線電極 25 位於 U 字形中央部分鄰接的作用極 11 間，逆 U 字形的中央部分位於作用極 11 的上方的方式被設置，接於測定對象物抵消用底面電極 23 的 U 字形的中央部分分別接合（bonding）於測定對象物抵消用底面電極 23。

[0056] 又，測定對象物抵消用細線電極 25 的波形的反覆間距不限於此例，例如亦可擴大，此外因應於此連接鄰接的逆 U 字形狀的部分不只 1 點，以 2 點接合亦可。此外，圖 11 中在與底面 10 離開的上方（與測定對象物抵消用底面電極 23 隔開的上方），交叉著相互正交的測定對象物抵消用細線電極 25，但在底面 10 上使其交叉亦可。

[0057] 另一方面，如此構成波形形狀的測定對象物抵消用細線電極的正交 2 方向的形成，也能夠以不產生交叉的方式形成。圖 12 係模式顯示該形成例，在圖 12 顯示以構成 4 行、4 列的格子的方式形成構成波形形狀的測定

對象物抵消用細線電極的場合。

[0058] 圖 12 中×印顯示引線接合處所，箭頭印顯示引線的延伸方向（=接合的順序）。在此例為

- 從 a_1 到 a_2 為止以實線 a 所示的路徑延伸導線，接合
- 從 b_1 到 b_2 為止以虛線 b 所示的路徑延伸導線，接合
- 從 c_1 到 c_2 為止以虛線 c 所示的路徑延伸導線，接合
- 從 d_1 到 d_2 為止以實線 d 所示的路徑延伸導線，接合

者，如此延伸導線的話，可以不產生成為波形形狀的測定對象物抵消用細線電極的交叉。

[0059] 其次，說明根據本發明之電化學測定裝置的構成。

[0060] 圖 13 係模式顯示電化學測定裝置的構成。電化學測定裝置具備收容電解液 41 以及在電解液 41 中使測定對象物產生的生體試樣 30 之電解液槽 40，係在電解液槽 40 設置作用極 11 與測定對象物抵消用細線電極 21 與對極 50 與參照極 60 的構成。作用極 11 與測定對象物抵消用細線電極 21 在圖 13 為簡化顯示，但如前所述作用極 11 為以特定的間距多數排列為陣列狀的構成，測定對象物抵消用細線電極 21 具有圖 3 所示的構成。又，亦可為配合具有測定對象物抵消用底面電極 23 的構成，此外亦

可使測定對象物抵消用細線電極 21 為圖 11 所示的測定對象物抵消用細線電極 25。圖 13 中 90 為鹽橋。

[0061] 作用極 11、測定對象物抵消用細線電極 21、對極 50 及參照極 60 例如同圖 13 所示被連接於恆電位器 (potentiostat) 70。恆電位器 70 被構成為包含可變電源 71 與電壓計 72 與電流計 73，藉由此恆電位器 70 進行往作用極 11 與對極 50 之間的測定用電壓的施加；以及施加測定用電壓時因應於測定對象物的量而流動於作用極 11 與對極 50 之間的電極間電流的測定。

[0062] 此外，未對作用極 11 與對極 50 之間施加測定用電壓時，往測定對象物抵消用細線電極 21 與對極 50 之間的測定用電壓相同極性的抵消用電壓的施加也藉由恆電位器 70 來進行。往作用極 11 之測定用電壓的施加，藉由打開 (ON) 開關 81，關閉 (OFF) 開關 82、83 而進行，往測定對象物抵消用細線電極 21 之抵消用電壓的施加，是打開開關 82、83，關閉開關 81。又，把開關 81 打開對作用極 11 也施加抵消用電壓亦可。

[0063] 在圖 13，測定對象物抵消用細線電極 21 由恆電位器 70 施加抵消用電壓，但不限於此，抵消用電壓的施加亦可使用不同於恆電位器 70 的其他電源來進行。

[0064] 其次，參照圖 14A、14B 及 15 說明使用於由生體試樣產生的測定對象物之電化學測定之本發明的還能器之構成。

[0065] 此換能器被稱為生物大型積體電路晶片，係

可以收容電解液 41 與被浸漬於電解液 41 中的生體試樣的電解液槽 40 被搭載於 LSI 晶片 100 上的構成。於電解液槽 40 的中央被形成孔穴 42，LSI 晶片以塞住孔穴 42 的方式被配置於此孔穴 42 的下端。

[0066] LSI 晶片 100 及電解液槽 40 被搭載固定於基板 110 上，於基板 110 被形成進行換能器的控制的與外部裝置連接用的多數配線圖案 111。圖 14B 中，120 為連接 LSI 晶片 100 與配線圖案 111 的結合線。

[0067] LSI 晶片 100 的上面被構成感測器區域 101。在圖 14A 以影線顯示感測器區域 101，在電解液槽 40 的底面的孔穴 42 的位置被劃定感測器區域 101。雖省略詳細圖示，但在此例，於感測器區域 101 內 $\phi 40\mu\text{m}$ 的作用極（第 1 電極）以 $250\mu\text{m}$ 間距被排列 $20 \times 20 = 400$ 個為陣列狀。此外，被形成在感測器區域 101 上由感測器區域 101 的一點延伸到上方的電解液槽 40 內的空間再返回感測器區域 101 的其他點的形狀延伸的細線所構成的測定對象物抵消用細線電極（第 2 電極）。測定對象物抵消用細線電極具有例如前述之圖 3 所示的測定對象物抵消用細線電極 21 的構成。

[0068] 進而，除了測定對象物抵消用細線電極（第 2 電極）以外，測定對象物抵消用底面電極（第 3 電極）以位於作用極（第 1 電極）的周圍的方式全面被形成於感測器區域 101 的構成亦可，在此場合成為具有前述圖 6 所示的測定對象物抵消用細線電極 21 及測定對象物抵消用底

面電極 23 的構成，此外，亦可具有前述圖 11 所示的測定對象物抵消用細線電極 25 及測定對象物抵消用底面電極 23 的構成。

[0069] LSI 晶片 100 具備往各作用極及測定對象物抵消用電極之電壓施加機能，把在各作用極的反應檢出為電流值，予以放大的機能，進而還有切換機能。

[0070] LSI 晶片具備的電極墊一般藉由含銅的鋁合金來形成，但在此例中供接合位於感測器區域 101 的作用極、測定對象物抵消用底面電極、甚至在沒有測定對象物抵消用底面電極的場合接合測定對象物抵消用細線電極之用的墊 (pad) 都是在鋁合金之上施以 Ti/Pt、Ti/Pt/Au、Cr/Au 等任一種電鍍而形成。此外，構成測定對象物抵消用細線電極的細線以使用金線為較佳。

[0071] 又，對極與參照極是不同於換能器的其他零件，在測定時 (使用時) 投入電解液 41 中。

【符號說明】

[0072]

10：底面

11：作用極

21：測定對象物抵消用細線電極

22：接合用墊 (pad)

23：測定對象物抵消用底面電極

31：胚樣體 (embryoid body：EB)

發明摘要

※申請案號： 106103714

G01N 27/26 (2006.01)

※申請日： 106/02/03

※IPC 分類： G01N 33/50 (2006.01)

【發明名稱】(中文/英文)

電化學測定方法、電化學測定裝置及換能器

【中文】

電化學測定方法係在包含測定對象物的電解液中，設置進行測定與對象物進行電子的授受而使產生氧化還原反應的作用極、以及對極，對作用極與對極之間施加測定用電壓測定因應於測定對象物的量而流動於作用極與對極之間的電流；在電解液槽的底面設置作用極，設置由前述底面的一點延伸至電解液槽內的空間返回底面的其他點的形狀的細線所構成的測定對象物抵消用細線電極；執行：對測定對象物抵消用細線電極與對極之間施加測定用電壓與同極性的抵消用電壓，藉著氧化或者還原測定對象物而進行抵消的測定對象物抵消步驟、停止施加抵消用電壓之後，使新的測定對象物擴散的測定對象物擴散步驟、以及對使新的測定對象物擴散之後對作用極與對極之間施加測定用電壓而測定電流的電化學測定步驟。

【英文】

申請專利範圍

1. 一種電化學測定方法，其特徵係

在包含測定對象物的電解液中，設置進行測定與前述對象物進行電子的授受而使產生氧化還原反應的作用極、以及透過外部電源與前述作用極連接的對極，對前述作用極與前述對極之間施加測定用電壓測定因應於前述測定對象物的量而流動於前述作用極與前述對極之間的電流；

在收容前述電解液的電解液槽的底面設置前述作用極，

於前述底面，設置由前述底面的一點延伸至上方的前述電解液槽內的空間再返回前述底面的其他點的形狀的細線所構成的測定對象物抵消用細線電極；

執行：對前述測定對象物抵消用細線電極與前述對極之間施加前述測定用電壓與同極性的抵消用電壓，藉著氧化或者還原前述測定對象物而進行抵消的測定對象物抵消步驟、停止施加前述抵消用電壓之後，使新的測定對象物擴散的測定對象物擴散步驟、以及對使前述新的測定對象物擴散之後對前述作用極與前述對極之間施加前述測定用電壓而測定前述電流的電化學測定步驟。

2. 如申請專利範圍第 1 項之電化學測定方法，其中
在前述測定對象物抵消步驟也對前述作用極施加前述抵消用電壓。

3. 如申請專利範圍第 1 或 2 項之電化學測定方法，其中

在前述底面之前述作用極的周圍全面配置與前述測定對象物抵消用細線電極一起被施加前述抵消用電壓的測定對象物抵消用底面電極，

前述測定對象物抵消用細線電極於前述一點及前述其他點被接合於前述測定對象物抵消用底面電極。

4. 如申請專利範圍第 3 項之電化學測定方法，其中前述測定對象物抵消用細線電極被設置複數個，其中至少 2 個相互鄰接的前述測定對象物抵消用細線電極在前述測定對象物抵消用底面電極之上藉由細線相互連接。

5. 一種電化學測定裝置，其特徵係

具備：收容電解液與在前述電解液中使測定對象物產生的生體試樣之電解液槽、設於前述電解液槽的底面，與前述測定對象物進行電子的授受而使產生氧化還原反應的作用極、設於前述電解液槽的對極、對前述作用極與前述對極之間施加測定用電壓的測定用電壓施加手段、以及測定在施加前述測定用電壓時因應於前述測定對象物的量而流動於前述作用極與前述對極之間的電流的電流測定手段；

於前述底面，設置由前述底面的一點延伸至上方的前述電解液槽內的空間再返回前述底面的其他點的形狀的細線所構成，而與前述測定對象物進行電子的授受使產生氧化還原反應的測定對象物抵消用細線電極；

具有在未對前述作用極與前述對極之間施加前述測定用電壓時，對前述測定對象物抵消用細線電極與前述對極

之間，施加前述測定用電壓與同極性的抵消用電壓之抵消用電壓施加手段。

6. 如申請專利範圍第 5 項之電化學測定裝置，其中
在前述底面之前述作用極的周圍全面配置與前述測定對象物抵消用細線電極一起被施加前述抵消用電壓的測定對象物抵消用底面電極，前述測定對象物抵消用細線電極於前述一點及前述其他點被接合於前述測定對象物抵消用底面電極。

7. 如申請專利範圍第 6 項之電化學測定裝置，其中
前述測定對象物抵消用細線電極被設置複數個，其中至少 2 個相互鄰接的測定前述對象物抵消用細線電極在前述測定對象物抵消用底面電極之上藉由細線相互連接。

8. 一種換能器，其特徵係
可以收容電解液與被浸漬於前述電解液中的生體試樣之電解液槽被搭載於大型積體電路晶片上，用於由前述生體試樣產生的測定對象物的電化學測定；

被排列為陣列狀而設於前述大型積體電路晶片的複數第 1 電極位於被劃設於前述電解液槽的底面的感測器區域，於前述感測器區域上設置由細線所構成的第 2 電極，前述第 2 電極被延伸為從前述感測器區域的一點延伸至上方的前述電解液槽內的空間再返回前述感測器區域的其他點的形狀。

9. 如申請專利範圍第 8 項之換能器，其中
第 3 電極以位於前述複數第 1 電極之各個的周圍的方

式被形成於前述大型積體電路晶片，前述第 3 電極不與前述第 1 電極導通，被全面配置於前述感測器區域，前述第 2 電極於前述一點及前述其他點被接合於前述第 3 電極。

10. 如申請專利範圍第 9 項之換能器，其中

前述第 2 電極被設置複數個，其中至少 2 個相互鄰接的前述第 2 電極在前述第 3 電極之上藉由細線相互連接。

圖式

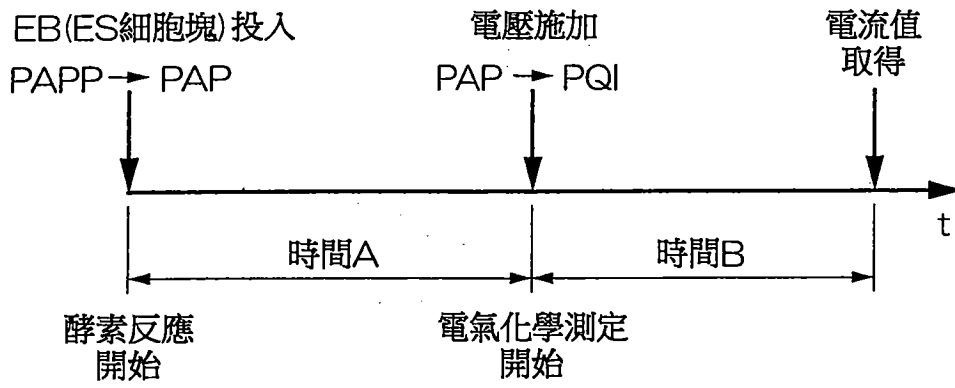


圖 1

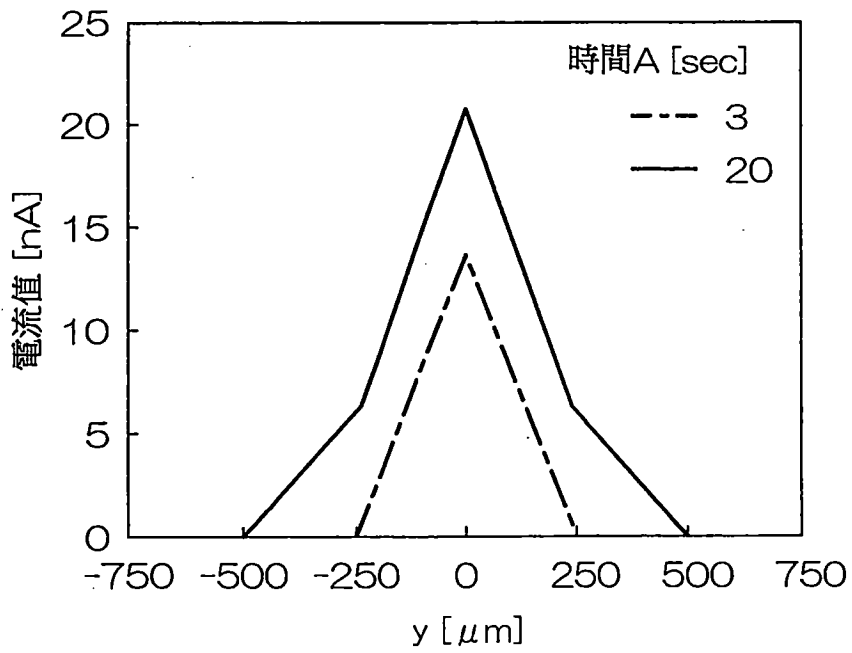


圖 2

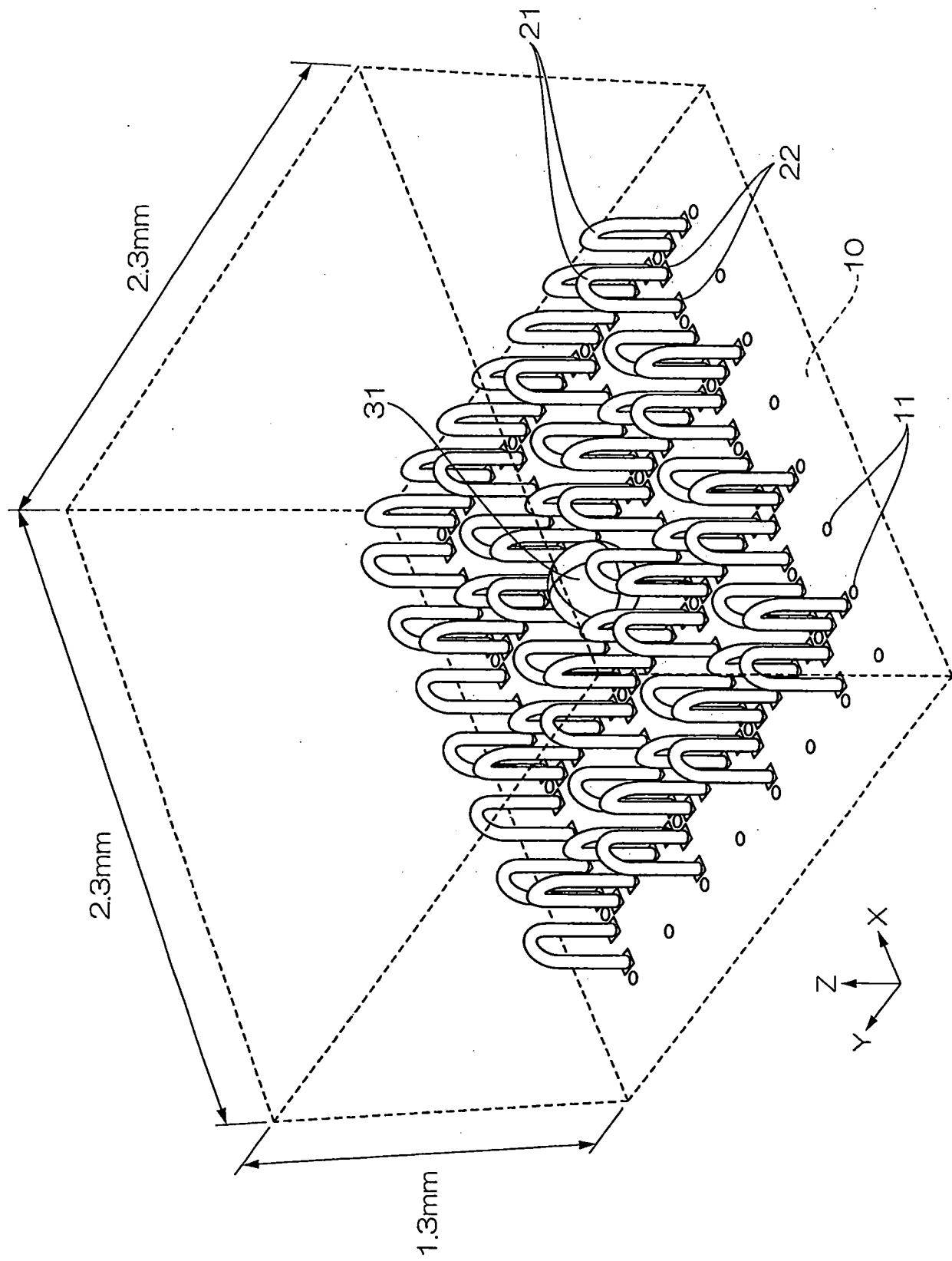


圖 3

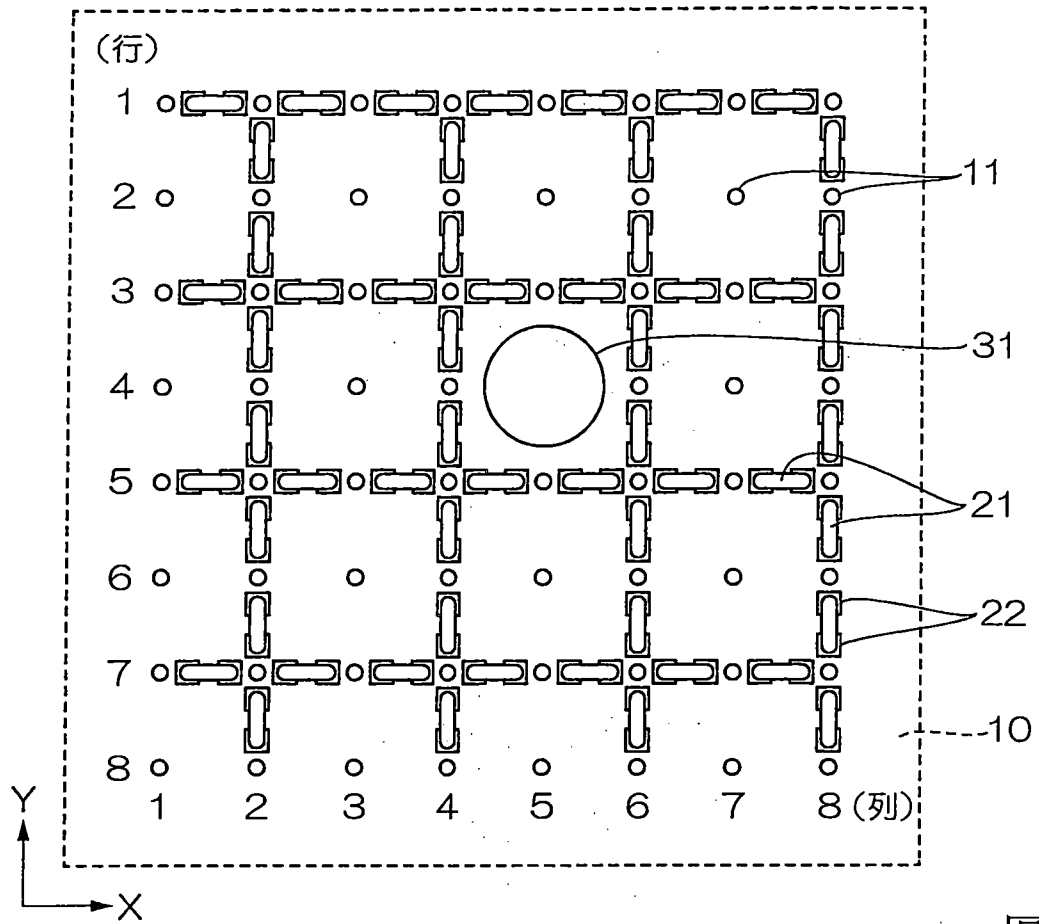


圖 4

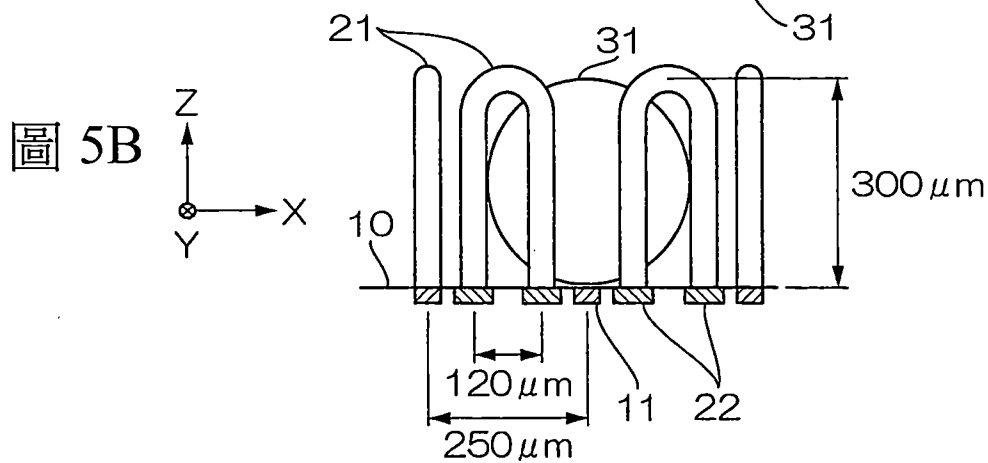
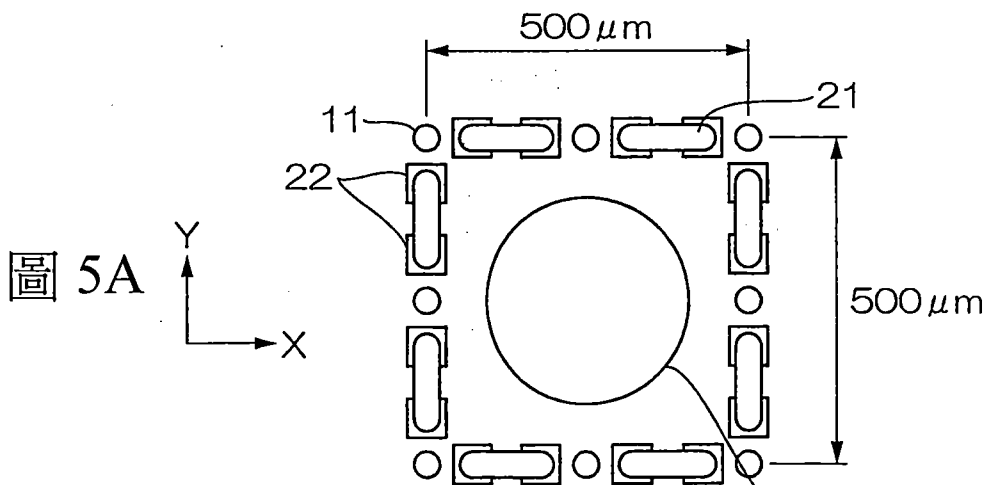


圖 5B

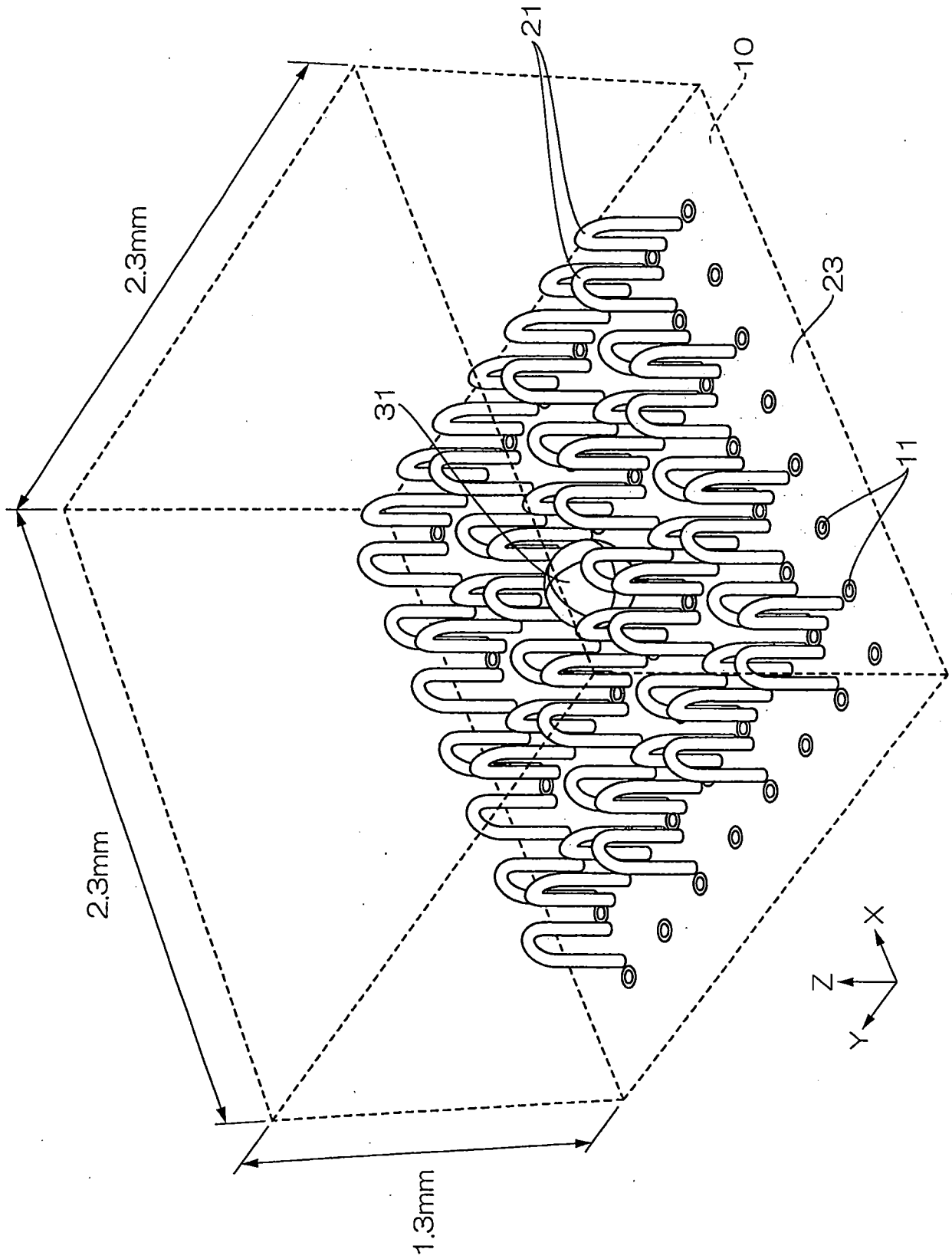


圖6

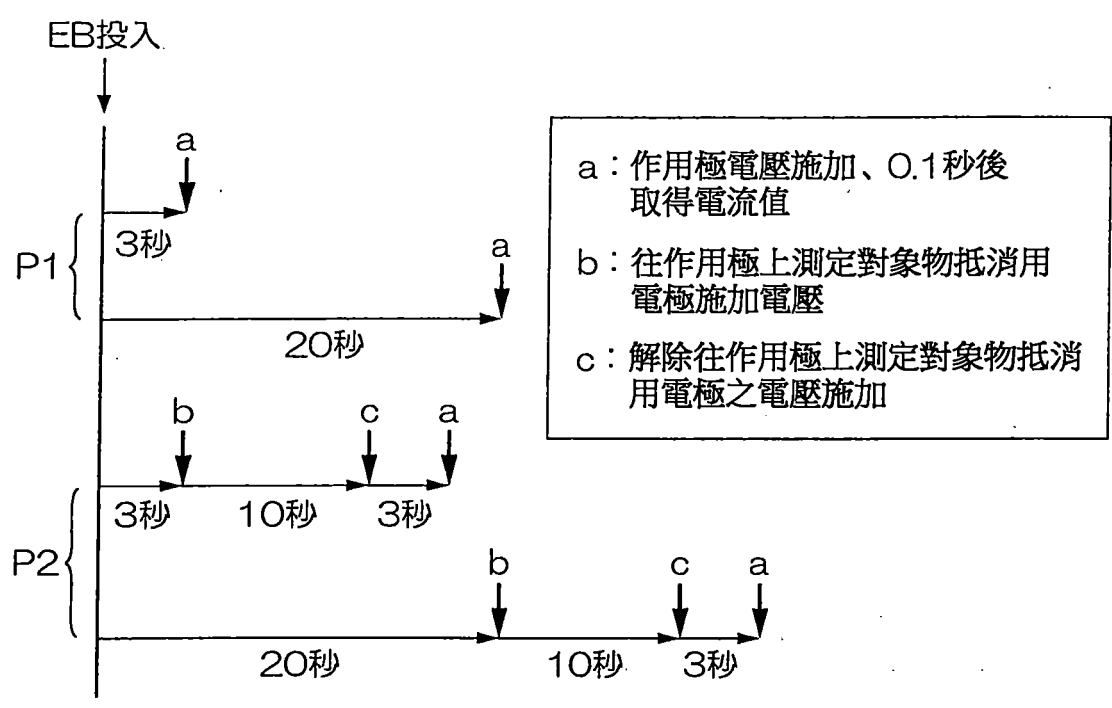


圖 7

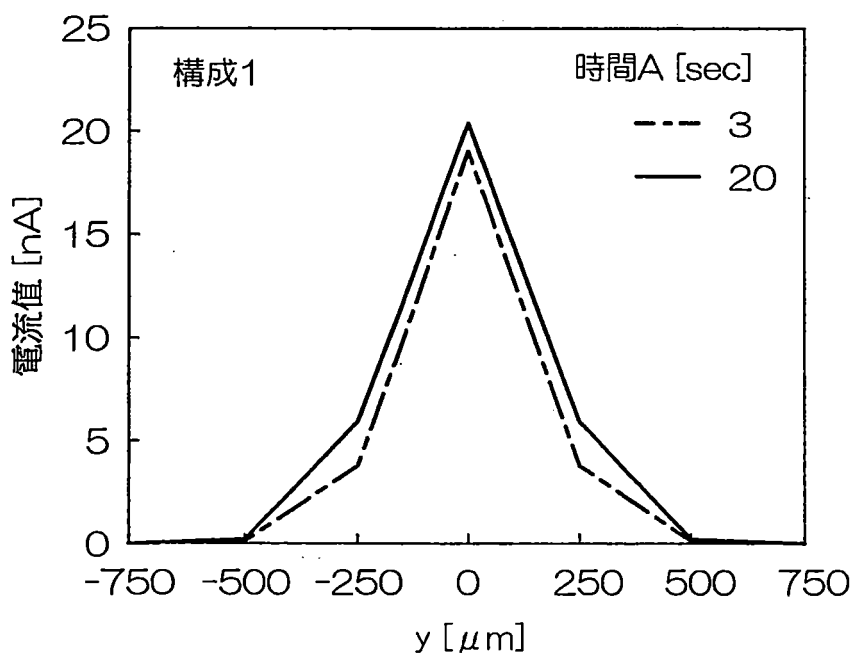


圖 8

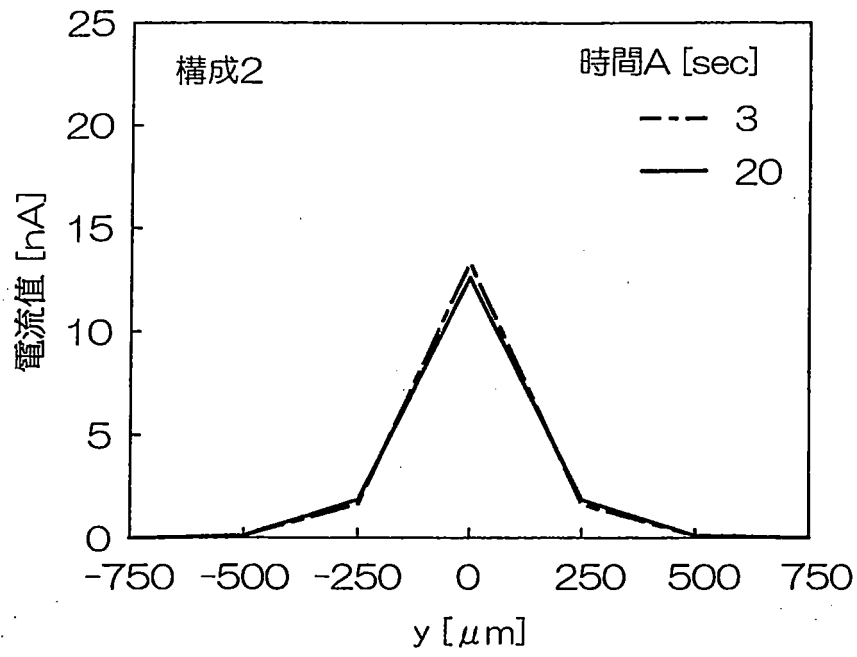


圖 9

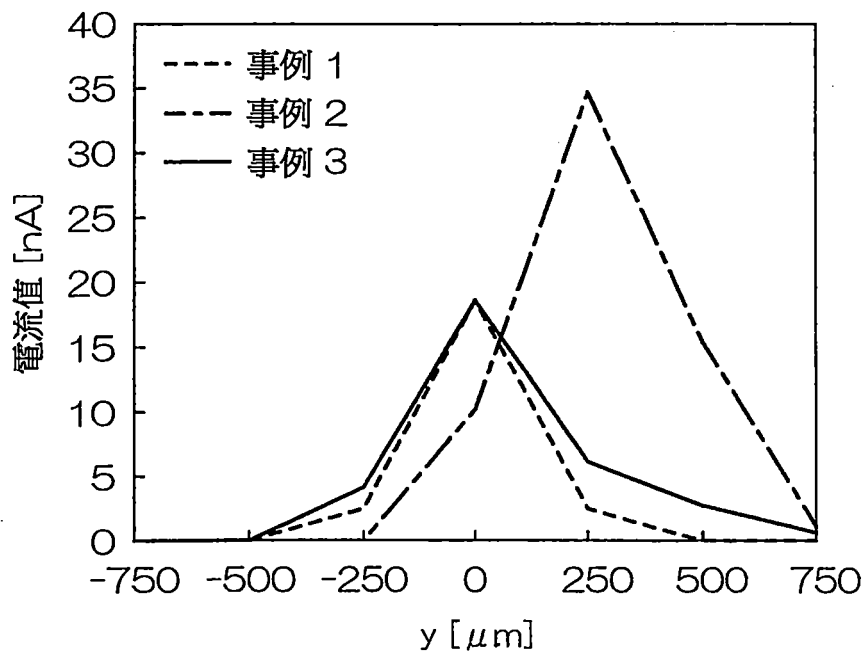


圖 10

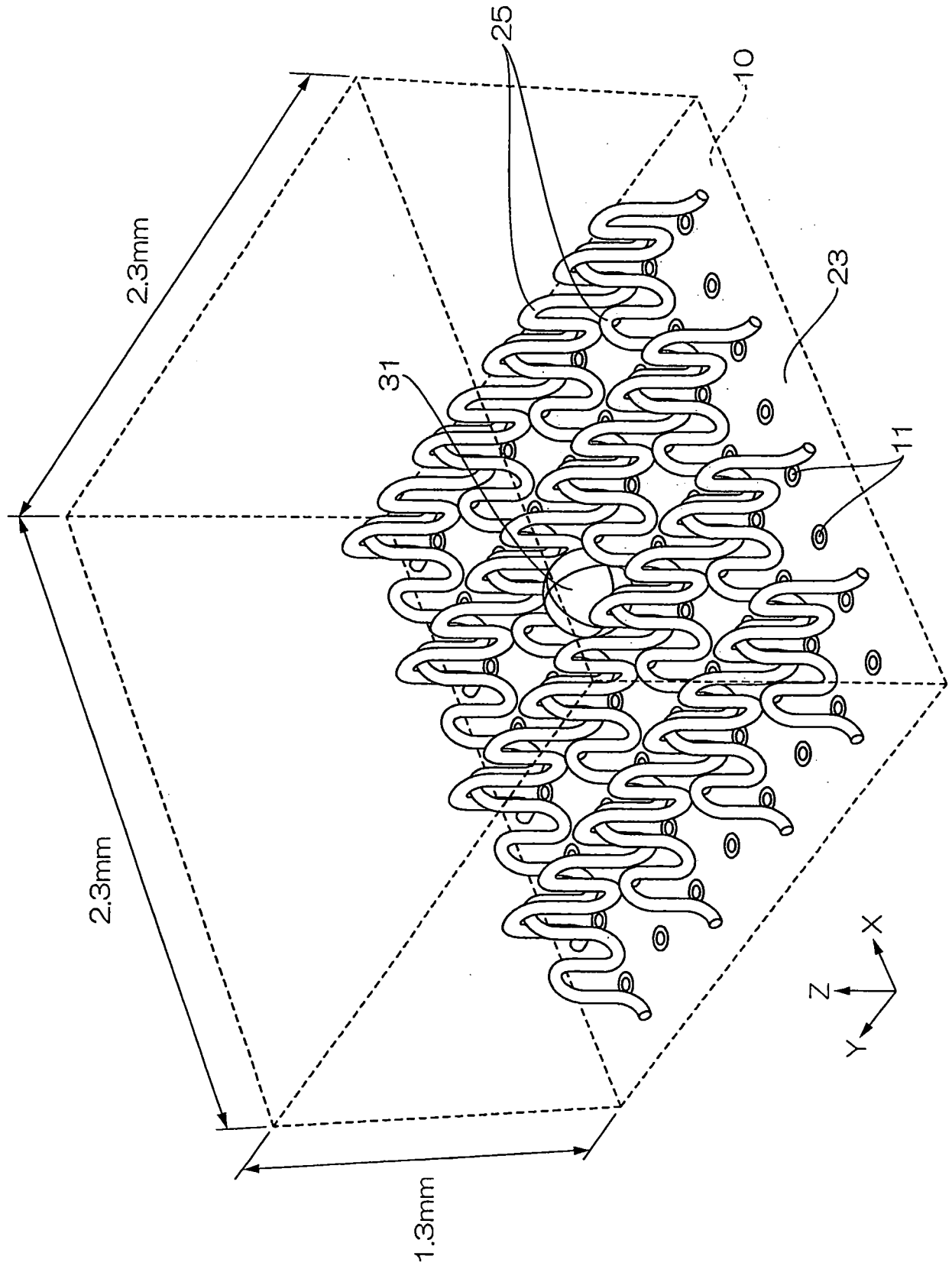


圖 11

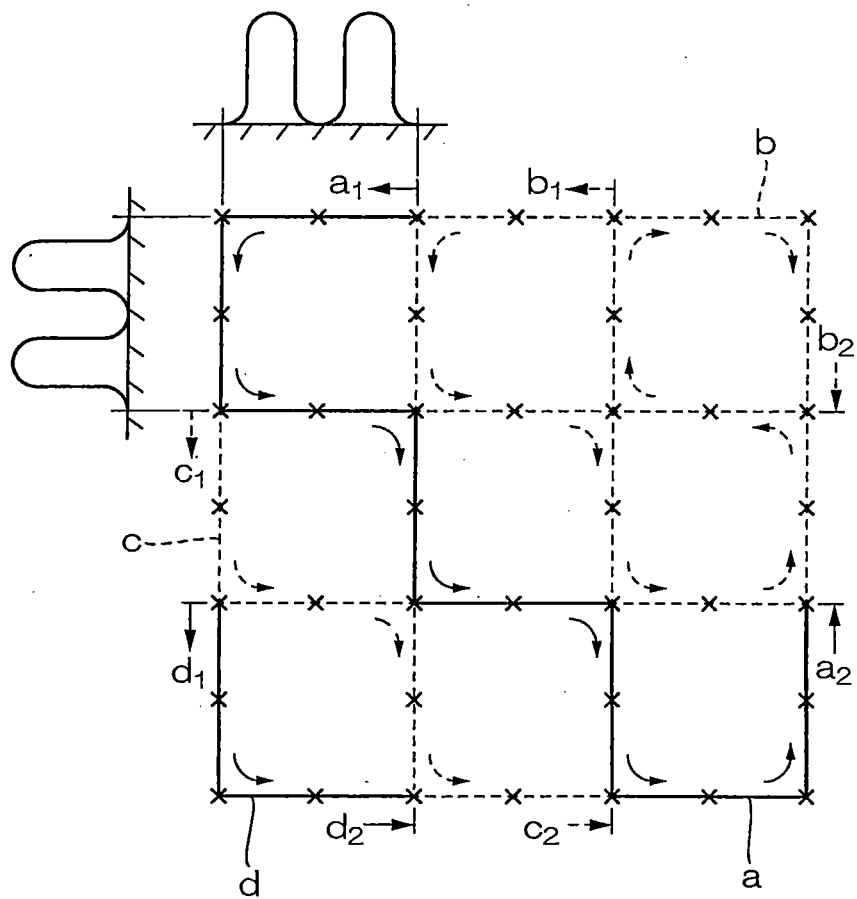


圖 12

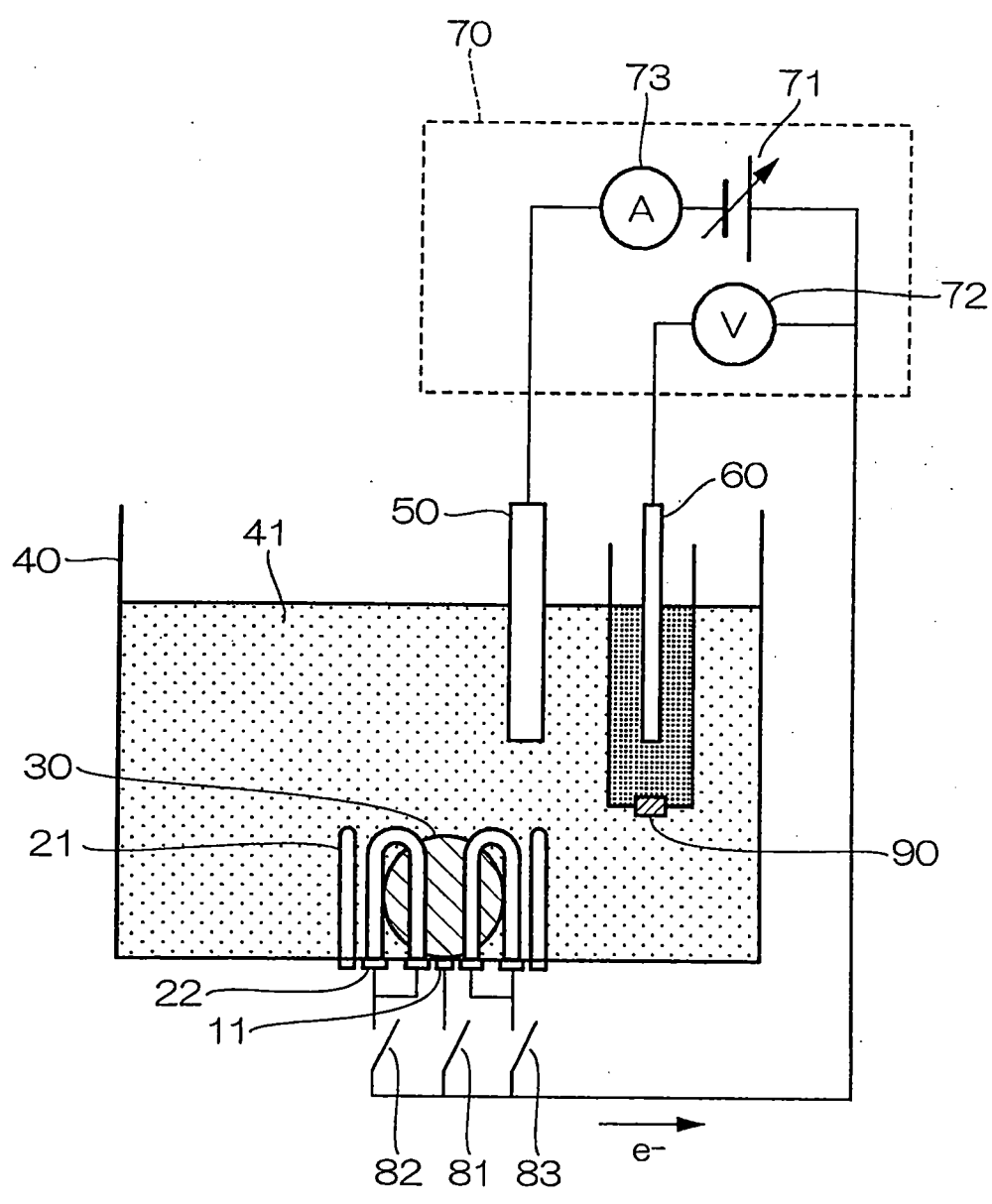


圖 13

圖 14A

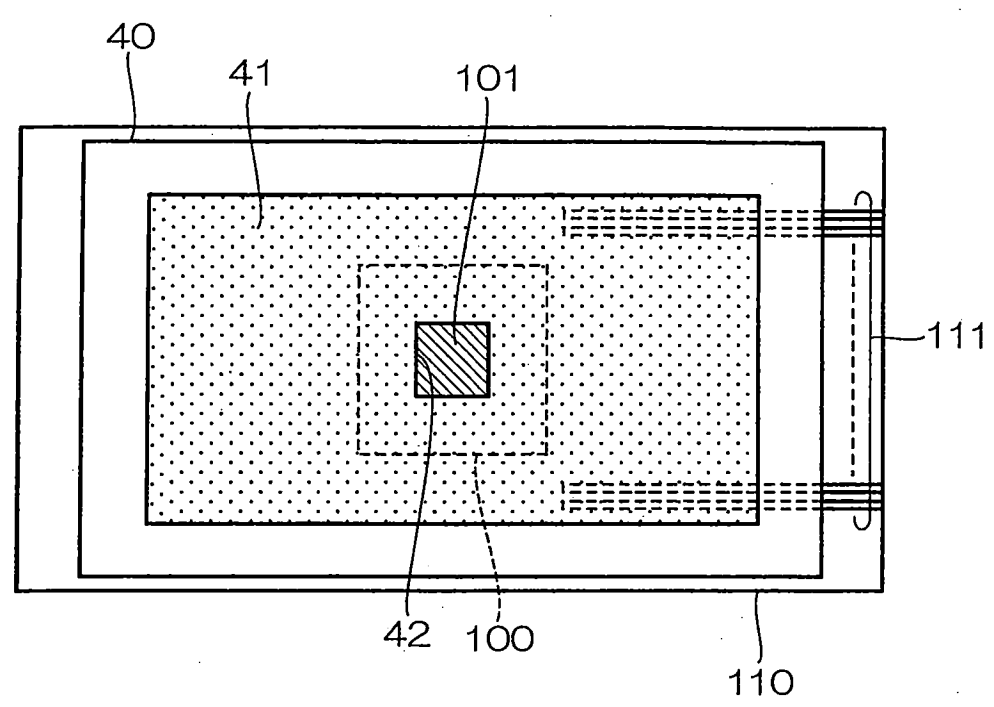
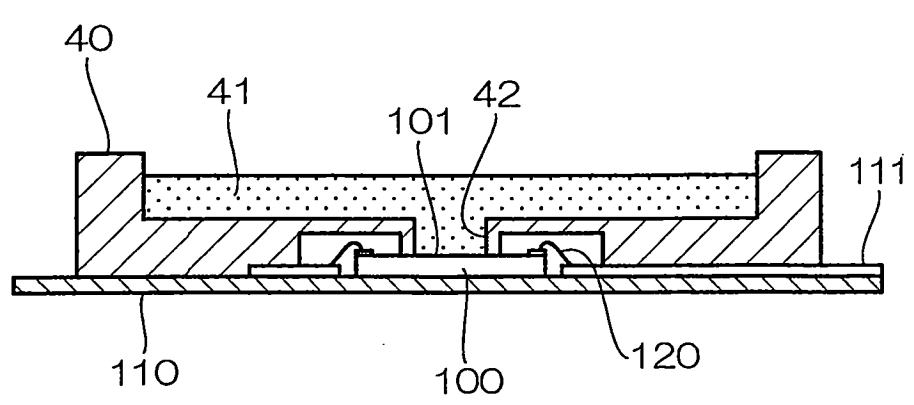


圖 14B



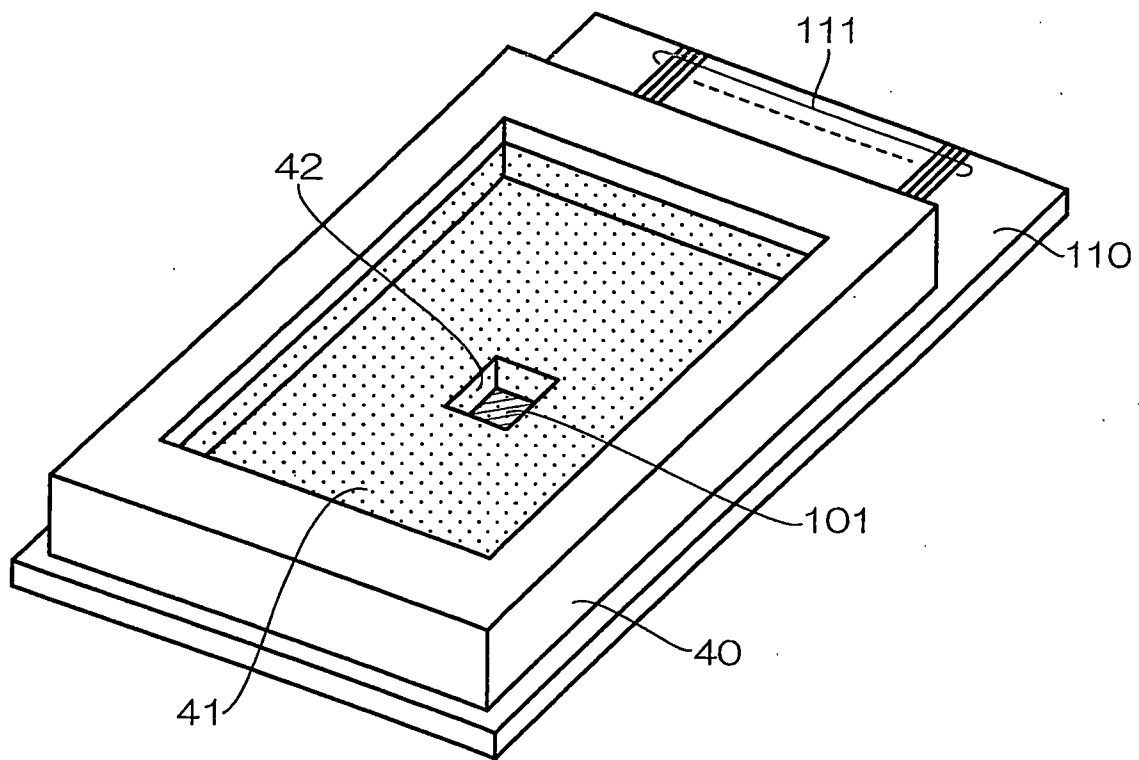


圖 15

【代表圖】

【本案指定代表圖】：無

【本代表圖之符號簡單說明】：無

【本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式】：無