



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 1938590 B

(45) 授权公告日 2010.05.05

(21) 申请号 200580010410.3

G01N 27/416(2006.01)

(22) 申请日 2005.04.18

G01N 27/26(2006.01)

(30) 优先权数据

123220/2004 2004.04.19 JP

(56) 对比文件

US 6287451 B1, 2001.09.11, 全文.

(85) PCT申请进入国家阶段日

US 5385846 A, 1995.01.31, 全文.

2006.09.29

CN 1303478 A, 2001.07.11, 全文.

(86) PCT申请的申请数据

EP 0735363 A1, 1996.10.02, 全文.

PCT/JP2005/007404 2005.04.18

WO 03089658 A1, 2003.10.30, 全文.

(87) PCT申请的公布数据

审查员 汪妍瑜

W02005/103669 JA 2005.11.03

(73) 专利权人 松下电器产业株式会社

地址 日本大阪府

(72) 发明人 藤原雅树 新野铁平 池田信

(74) 专利代理机构 永新专利商标代理有限公司

72002

代理人 陈建全

(51) Int. Cl.

G01N 33/49(2006.01)

G01N 33/487(2006.01)

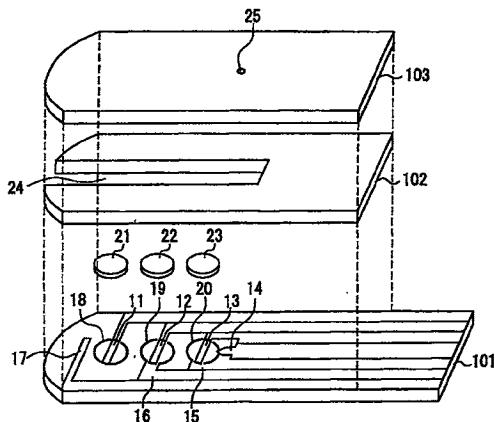
权利要求书 3 页 说明书 17 页 附图 11 页

(54) 发明名称

血液成分的测定方法、该方法中使用的生物传感器和测定装置

(57) 摘要

本发明提供以高精度和高可靠性测定血液的血细胞量和干扰物质的量、并可以根据上述测定结果正确地校正血液成分量的血液成分的测定方法。在血液成分测定用传感器中，用第1工作电极(13)测定血液成分的氧化还原反应时流过的电流，用第2工作电极(17)测定血细胞量，用第3工作电极(12)测定干扰物质量。然后，根据得到的结果校正目标血液成分量。由此实现更高精度和更高准确度的血液成分量的测定。



1. 一种血液成分的测定方法,所述方法包括:

在介体的存在下,用氧化还原酶将血液成分氧化还原,用具有工作电极和对电极的第1电极系统检测出此时产生的氧化还原电流,并将所述电流值换算为所述血液成分量的血液成分量测定工序;和,

用血液中的血细胞量校正所述血液成分量的血细胞量校正工序;和,

用血液中的干扰物质量校正所述血液成分量的干扰物质量校正工序;

其中,所述血细胞量校正工序为:向具有工作电极和对电极的第2电极系统中导入血液,所述第2电极系统中,在工作电极上未设置介体,而在对电极上设置介体,在此状态下对所述第2电极系统施加电压,使氧化还原电流在所述第2电极系统中流过,由此检测出在所述第2电极系统中流过的氧化还原电流,将此在所述第2电极系统中流过的电流值换算为所述血细胞量,并根据此值校正所述血液成分量;

所述干扰物质量校正工序为:向具有工作电极和对电极的第3电极系统中导入血液,并在此状态下对所述第3电极系统施加电压,使氧化还原电流在所述第3电极系统中流过,由此检测出在所述第3电极系统中流过的氧化还原电流,将此在所述第3电极系统中流过的电流值换算为所述干扰物质量,并根据此量校正所述血液成分量。

2. 权利要求1所述的血液成分的测定方法,其特征在于,所述第3电极系统中至少在对电极上存在有介体。

3. 权利要求1所述的血液成分的测定方法,其中,所述第1电极系统、所述第2电极系统和所述第3电极系统的工作电极和对电极中的至少之一与所述第1~第3电极系统的电极中除该至少之一的电极以外的其它的任一电极共用。

4. 权利要求1所述的血液成分的测定方法,其中,在实施所述血液成分量测定工序后进行所述血细胞量校正工序。

5. 权利要求1所述的血液成分的测定方法,其中,在实施所述干扰物质量校正工序后进行所述血细胞量校正工序。

6. 权利要求1所述的血液成分的测定方法,其特征在于,在所述干扰物质量的测定之前,对所述第3电极系统施加用于将所述第3电极系统进行前处理的电压。

7. 权利要求6所述的血液成分的测定方法,其中,为了进行所述电极前处理,相对于所述第3电极系统的对电极,对所述第3电极系统的工作电极施加的电压为0.01~1V的范围。

8. 权利要求1所述的血液成分的测定方法,其中,为了进行所述干扰物质量的测定,相对于所述第3电极系统的对电极,对所述第3电极系统的工作电极施加的电压为0.01~1V的范围。

9. 一种生物传感器,其用于通过将血液成分氧化还原并用电极检测出由该反应产生的氧化还原电流以对所述血液成分进行测定,其中,所述生物传感器具有第1分析部、第2分析部和第3分析部;所述第1分析部具有第1电极系统,所述第2分析部具有第2电极系统,所述第3分析部具有第3电极系统;在所述第1电极系统上至少设置有以所述血液成分为底物的氧化还原酶和介体;在所述第1分析部中,在介体的存在下,用所述氧化还原酶将所述血液成分氧化还原,用所述第1电极系统检测出施加电压时产生的氧化还原电流以测定所述血液成分;在所述第2分析部中,所述第2电极系统具有工作电极和对电极,在所述第2电极系统中,在工作电极上未设置介体,而在对电极上设置介体,向所述第2电极系统

中导入所述血液，并在此状态下对所述第 2 电极系统施加电压，由此通过检测出在所述第 2 电极系统中流过的氧化还原电流来测定所述血液中的血细胞量；在所述第 3 分析部中，所述第 3 电极系统具有工作电极和对电极，向所述第 3 电极系统中导入所述血液，并在此状态下对所述第 3 电极系统施加电压，由此通过检测出在所述第 3 电极系统中流过的氧化还原电流来测定所述血液中的干扰物质量。

10. 权利要求 9 所述的生物传感器，其特征在于，所述第 3 电极系统中至少在对电极上存在有介体。

11. 权利要求 9 所述的生物传感器，其具有用于导入血液的流路，在由所述流路的一端供给的血液的血流的最上游一侧配置有所述第 2 分析部或所述第 3 分析部的工作电极，在下游一侧配置其它电极。

12. 权利要求 11 所述的生物传感器，其中，在所述流路的最下游一侧配置有所述第 1 分析部。

13. 权利要求 9 所述的生物传感器，其中，所述第 1 电极系统、所述第 2 电极系统和所述第 3 电极系统的工作电极和对电极中的至少之一与所述第 1 ~ 第 3 电极系统的电极中除该至少之一的电极以外的其它的任一电极共用。

14. 权利要求 13 所述的生物传感器，其中，在所述第 3 电极系统的工作电极上未配置介体，所述第 2 电极系统的工作电极与所述第 3 电极系统的工作电极共用。

15. 权利要求 14 所述的生物传感器，其中，所述第 2 电极系统的对电极和所述第 3 电极系统的对电极的至少其中之一与所述第 1 电极系统的任一电极或它们的电极组合共用。

16. 权利要求 13 所述的生物传感器，其中，所述第 2 电极系统的对电极和所述第 3 电极系统的工作电极互相共用。

17. 权利要求 13 所述的生物传感器，其中，所述第 3 电极系统的工作电极和所述第 2 电极系统的对电极共用，并且所述第 3 电极系统的对电极和所述第 1 电极系统的对电极共用。

18. 权利要求 9 所述的生物传感器，其中，所述生物传感器进一步具有液体检测电极，此液体检测电极位于所述各分析部中的至少之一的后方，通过此液体检测电极，可以检测得知所述各分析部中的至少之一有血液导入。

19. 一种采用权利要求 9 所述的生物传感器进行血液成分量的测定的测定装置，其包括：

用氧化还原酶将所述血液成分氧化还原，用第 1 电极系统检测出此时产生的氧化还原电流，并将所述电流值换算为所述血液成分量的血液成分量测定手段；和，

用血液中的血细胞量校正所述血液成分量的血细胞量校正手段；和，

用血液中的干扰物质量校正所述血液成分量的干扰物质量校正手段；

其中，所述血细胞量校正手段为：采用用于测定所述血细胞量的第 2 电极系统，在所述血液存在下，对所述第 2 电极系统施加电压并检测流过的电流，将此电流值换算为血细胞量，并根据此值校正所述血液成分量；

所述干扰物质量校正手段为：采用用于测定所述干扰物质量的第 3 电极系统，在所述血液存在下，对所述第 3 电极系统施加电压并检测流过的电流，将此电流值换算为所述干扰物质量，并根据此量校正所述血液成分量。

20. 权利要求 19 所述的测定装置，其中，在实施所述血液成分量测定后进行所述血细

胞量的测定。

21. 权利要求 19 所述的测定装置,其中,在实施所述干扰物质量的测定后进行所述血液中的血细胞量的测定。

22. 权利要求 19 所述的测定装置,其中,所述测定装置进一步包括对所述第 3 电极系统的工作电极施加用于电极前处理的电压的电极前处理手段。

23. 权利要求 22 所述的测定装置,其中,相对于所述第 3 电极系统的对电极,对所述第 3 电极系统的工作电极施加的用于电极前处理的电压为 0.01-1V 的范围。

24. 权利要求 19 所述的测定装置,其中,为了进行所述干扰物质量的测定,相对于所述第 3 电极系统的对电极,对所述第 3 电极系统的工作电极施加的电压为 0.01-1V 的范围。

25. 权利要求 19 所述的测定装置,其中,所述测定装置进一步包括通过所述液体检测电极检测得知生物传感器的内部有血液导入的检测手段。

血液成分的测定方法、该方法中使用的生物传感器和测定装置

技术领域

[0001] 本发明涉及血液成分的测定方法、该方法中使用的生物传感器和测定装置。

背景技术

[0002] 在临床检查、糖尿病患者的血糖值自我测定等中，一直以来使用血液成分测定用传感器。血液成分测定用传感器例如是在表面上形成有工作电极和对电极的绝缘基板上隔着隔板配设有保护罩（cover）的构成。在上述工作电极和对电极上配设有含有氧化还原酶和介体（mediator）（电子传递体）等的试剂，此部分成为分析部。此分析部与导入血液用的流路的一端连通，上述流路的另一端向外部开口，这里成为血液供给口。采用这种传感器进行血液成分的分析（例如血糖值）例如可以如下上述进行：即首先，将上述传感器设置在专用的测定装置中。然后，用刺血针将指尖等部位刺伤，使其出血，并使其与上述传感器的血液供给口接触，血液通过毛细管现象被吸入至传感器的流路中，通过流路被导入到分析部，在这里与上述试剂接触，然后，血液中的成分与氧化还原酶反应，发生氧化还原反应，通过介体，电子向电极移动，检测此时流过的电流，用上述测定装置换算成血液成分含量并表示。

[0003] 可是，上述电化学式血糖传感器的传感器响应有时受以易氧化性化合物（例如抗坏血酸、尿酸）为代表的干扰物质、血细胞量 / 血细胞比容（Hct）的影响，因此，为了得到正确的测定值，就需要将干扰物质量、血细胞量或将其二者进行定量，并根据此值对血液成分量（血糖值等）进行校正。例如有通过 2 个工作电极和 1 个参比电极测定血细胞量以对血液成分含量进行校正的传感器（参照专利文件 1）。此外，也有采用介体测定血细胞量的方法（参照专利文件 2）。另外，也有采用干扰物质检测电极进行干扰物质定量的方法（参照专利文献 3）。但是，现有技术中的测定的血细胞量和干扰物质量的精度和可靠性还存在问题，不能进行充分的校正。

[0004] 专利文献 1 :特表 2003-501627 号公报

[0005] 专利文献 2 :特许第 3369183 号公报

[0006] 专利文献 3 :特许第 3267933 号公报

发明内容

[0007] 鉴于上述情况，本发明的目的是提供一种以高精度和高可靠性测定血细胞量和干扰物质量，从而能够对血液成分量进行正确校正的血液成分的测定方法以及此方法中使用的生物传感器和测定装置。

[0008] 为了实现上述目的，本发明的测定方法是一种血液成分的测定方法，上述方法包括：在介体的存在下，用氧化还原酶将血液成分氧化还原，用具有工作电极和对电极的第 1 电极系统检测出此时产生的氧化还原电流，并将上述电流值换算为上述血液成分量的血液成分量测定工序；用血液中的血细胞量校正上述血液成分量的血细胞量校正工序；以其用

血液中的干扰物质量校正上述血液成分量的干扰物质量校正工序；上述血细胞量校正工序为：准备具有工作电极和对电极的第2电极系统，上述第2电极系统中，工作电极上未设置介体，而在对电极上设置介体，向上述第2电极系统中导入血液，在此状态下对上述第2电极系统施加电压，由此检测出在上述第2电极系统中流过的氧化还原电流，将此电流值换算为上述血细胞量，并根据此值校正上述血液成分量；上述干扰物质校正工序为：准备具有工作电极和对电极的第3电极系统，向上述第3电极系统中导入血液，在此状态下对上述第3电极系统施加电压，由此检测出在上述第3电极系统中流过的氧化还原电流，将此电流值换算为上述干扰物质量，并根据此值校正上述血液成分量。

[0009] 另外，本发明的生物传感器为一种通过将血液成分氧化还原并用电极检测出由该反应产生的氧化还原电流以对上述血液成分进行测定的生物传感器，上述生物传感器具有第1分析部、第2分析部和第3分析部，上述第1分析部具有第1电极系统，上述第2分析部具有第2电极系统，上述第3分析部具有第3电极系统，在上述第1电极系统上至少设置有以上述血液成分为底物的氧化还原酶和介体，在上述第1分析部中，在介体的存在下，用上述氧化还原酶将上述血液成分氧化还原，用上述第1电极系统检测出施加电压时产生的氧化还原电流以测定上述血液成分；在上述第2分析部中，上述第2电极系统具有工作电极和对电极，在上述第2电极系统中，在工作电极上未设置介体，而在对电极上设置介体，向上述第2电极系统中导入血液，在此状态下对上述第2电极系统施加电压，由此通过检测出在上述第2电极系统中流过的氧化还原电流来测定上述血液中的血细胞量；在上述第3分析部中，上述第3电极系统具有工作电极和对电极，向上述第3电极系统中导入血液，在此状态下对上述第3电极系统施加电压，由此通过检测出在上述第3电极系统中流过的电流来测定上述血液中的干扰物质量。

[0010] 本发明的测定装置为采用上述本发明的生物传感器来测定血液成分量的测定装置，其包括：用氧化还原酶将上述血液成分氧化还原，用上述第1电极系统检测出此时产生的氧化还原电流，将该电流值换算为上述血液成分量的血液成分量测定手段，用血液中的血细胞量校正上述血液成分量的血细胞量校正手段，以及用血液中的干扰物质量校正上述血液成分量的干扰物质量校正手段；上述血细胞量校正手段为：采用用于测定上述血细胞量的第2电极系统，在上述血液存在下，向上述第2电极系统施加电压后检测流过的电流，将此电流值换算为血细胞量，根据此值校正上述血液成分量；上述干扰物质量校正手段为：采用用于测定上述干扰物质量的第3电极系统，在上述血液存在下，向上述第3电极系统施加电压后检测流过的电流，将此电流值换算为上述干扰物质量，根据此值校正上述血液成分量。

[0011] 这样，如果在血液成分的测定中，准备多个工作电极，采用其中的某工作电极测定血液成分量，采用其它的工作电极测定血细胞量和干扰物质量，就能够以高精度测定血细胞量和干扰物质量，其结果也使利用它的血液成分量的校正能够以高精度和高可靠性进行。

附图说明

[0012] 图1为表示本发明的传感器的一个例子的分解立体图。

[0013] 图2为图1的传感器的剖面图。

- [0014] 图 3 为图 1 的传感器的平面图。
- [0015] 图 4 为表示本发明的传感器的另一例子的分解立体图。
- [0016] 图 5 为图 4 的传感器的剖面图。
- [0017] 图 6 为图 4 的传感器的平面图。
- [0018] 图 7 为表示本发明的传感器的另外的又一例子的平面图。
- [0019] 图 8 为表示本发明的传感器的另外的又一例子的分解立体图。
- [0020] 图 9 为图 8 的传感器的剖面图。
- [0021] 图 10 为图 8 的传感器的平面图。
- [0022] 图 11 为表示本发明的传感器的又一例子的平面图。
- [0023] 图 12 为表示相对于干扰物质量的响应电流的测定结果的例子的图。
- [0024] 图 13 为表示响应电流相对于血细胞量的测定结果的一个例子的图。(a) 为表示响应电流值 (μA) 相对于施加电压 (V) 的随时间变化的图 ;(b) 为灵敏度差相对于施加电压 (V) 的随时间变化的图。
- [0025] 图 14 为表示响应电流相对于血细胞量的测定结果的另一例子的图。(a) 为表示响应电流值 (μA) 相对于施加电压 (V) 的随时间变化的图 ;(b) 为灵敏度差相对于施加电压 (V) 的随时间变化的图。
- [0026] 图 15 为表示响应电流相对于血细胞量的测定结果的另外又一例子的图。(a) 为表示响应电流值 (μA) 相对于施加电压 (V) 的随时间变化的图 ;(b) 为灵敏度差相对于施加电压 (V) 的随时间变化的图。
- [0027] 图 16 为表示响应电流相对于血细胞量的测定结果的另外又一例子的图。(a) 为表示响应电流值 (μA) 相对于施加电压 (V) 的随时间变化的图 ;(b) 为灵敏度差相对于施加电压 (V) 的随时间变化的图。
- [0028] 图 17 为表示响应电流相对于血细胞量的测定结果的另外又一例子的图。(a) 为表示响应电流值 (μA) 相对于施加电压 (V) 的随时间变化的图 ;(b) 为灵敏度差相对于施加电压 (V) 的随时间变化的图。
- [0029] 符号说明
- [0030] 11 第 2 对电极 12、32、52 第 3 工作电极
- [0031] 13、33、53 第 1 工作电极 14、34、54 液体检测电极
- [0032] 15、35、55 第 1 对电极 16、36 第 3 对电极
- [0033] 17、37、57 第 2 工作电极
- [0034] 18、19、20、39、40、60 圆形切口部
- [0035] 21 第 2 试剂层 22、42 第 3 试剂层
- [0036] 23、43、63 第 1 试剂层 24、44、64 流路
- [0037] 25、45、65 空气孔 101、301、501 绝缘基板
- [0038] 102、302、502 隔板 103、303、503 保护罩

具体实施方式

[0039] 本发明中,利用上述血细胞量的校正优选通过预先作好的血细胞量和血液成分量的校准线和校准表中的至少之一进行校正。而且,本发明中,基于上述干扰物质量的上述血

液成分量的校正优选通过预先作好的干扰物质量和血液成分量的校准线和校准表中的至少之一进行校正。

[0040] 本发明中,上述第3电极系统中,优选至少在对电极上存在介体。

[0041] 本发明中,上述第1电极系统、上述第2电极系统以及上述第3电极系统的工作电极和对电极中的至少之一可以与其它任意的电极共用。而且,在本发明的血液成分的测定方法中,在某些工序中用作工作电极的电极也可以在其它工序中用作对电极,反之也可。

[0042] 本发明中,血液成分量测定、血细胞量测定、干扰物质量测定的顺序不作特别限定,但优选最后测定血细胞量。血液成分量测定和干扰物质量测定先进行哪一个都可以,同时进行也可以。

[0043] 本发明中,在进行上述干扰物质量测定之前,优选对上述第3电极系统施加用于对上述第3电极系统进行前处理的电压。通过实施这种前处理,上述第3电极系统的表面被清理干净,可以进行更高精度的干扰物质量和血细胞量的测定。

[0044] 本发明中,为进行上述电极前处理,相对于上述第3电极系统的对电极,对上述第3电极系统的工作电极施加的电压优选在0.01-1V的范围内。

[0045] 本发明中,为测定上述干扰物质量,相对于上述第3电极系统的对电极,对上述第3电极系统的工作电极施加的电压优选在0.01-1V的范围内,更优选在0.01-0.5V的范围内。

[0046] 本发明中,为测定上述血细胞量,相对于上述第2电极系统的对电极,对上述第2电极系统的工作电极施加的电压优选为1V以上,更优选在1-10V的范围内,进一步优选在1-5V的范围内。

[0047] 本发明中,测定对象的血液成分例如为葡萄糖、乳酸、尿酸、胆红素和胆固醇等。上述氧化还原酶可以根据测定对象的血液成分适当选择。作为上述氧化还原酶,例如有葡萄糖氧化酶、乳酸氧化酶、胆固醇氧化酶、胆红素氧化酶、葡萄糖脱氢酶、乳酸脱氢酶等。上述氧化还原酶的量例如每个传感器、或者每次测定例如为0.01-100U,优选为0.05-10U,更优选为0.1-5U,其中,以葡萄糖为测定对象时的氧化还原酶优选为葡萄糖氧化酶和葡萄糖脱氢酶。

[0048] 本发明的生物传感器中具有用于导入血液的流路,优选在由上述流路的一端供给的血液的血流的最上游一侧配置上述第2分析部或上述第3分析部的工作电极,在下游一侧配置其它电极。

[0049] 本发明的生物传感器中,优选在上述流路的最下游一侧配置上述第1分析部。

[0050] 本发明的生物传感器中,在上述第3电极系统的工作电极上也可不配置介体,此时,上述第2电极系统的工作电极和上述第3电极系统的工作电极可以共用。而且,此时上述第2电极系统的对电极和上述第3电极系统的对电极的至少其中一个也可以与上述第1电极系统的任一电极或这些电极的组合进行共用。

[0051] 本发明的生物传感器中,上述第2电极系统的对电极和上述第3电极系统的工作电极可以互相共用。

[0052] 本发明的生物传感器中,在上述第3电极系统的工作电极上也可配置介体,此时,在上述第3电极系统的工作电极和上述第2电极系统的对电极共用的同时,上述第3电极系统的对电极和上述第1电极系统的对电极可以共用。

[0053] 本发明的生物传感器中进一步具有液体检测电极,此液体检测电极优选位于上述

各分析部的至少其中之一的后方,通过此液体检测电极,能够检测得知上述各分析部的至少其中之一有血液导入。通过此液体检测电极可以防止血液量不足时的测定误差,从而可以更准确地测定血液成分的含量。上述第1电极系统、上述第2电极系统和上述第3电极系统的工作电极和对电极的至少其中之一也可兼作上述液体检测电极。而且,本发明的装置优选进一步含有通过上述液体检测电极检测生物传感器内部有血液导入的检测手段。

[0054] 本发明中也可采用介体。对所采用的介体不做特别限定。例如,可以列举出铁氰化物、对苯醌、对苯醌衍生物、吩嗪甲基硫酸酯、亚甲基蓝、二茂铁、二茂铁衍生物等。其中,优选为铁氰化物,更优选为铁氰化钾。对上述介体的配合量不作特别限定,每次测定或每个传感器例如为0.1~1000mM,优选为1~500mM,更优选为10~200mM。

[0055] 在本发明中,为了防止杂质附着和防止氧化等,各电极可以由高分子材料包覆。作为上述高分子材料,例如可以列举出羧甲基纤维素(CMC)、羟乙基纤维素、羟丙基纤维素、甲基纤维素、乙基纤维素、乙基羟乙基纤维素、羧乙基纤维素、聚乙烯醇、聚乙烯吡咯烷酮、多熔素等多氨基酸、磺化聚苯乙烯、明胶及其衍生物、聚丙烯酸及其盐、聚甲基丙烯酸及其盐、淀粉及其衍生物、马来酸酐聚合物及其盐、琼脂糖凝胶及其衍生物等。这些高分子材料可以单独使用,也可以2种以上并用。高分子材料对电极的包覆不作特别限定,例如可以准备高分子材料的溶液,将此溶液涂布于电极表面,然后使其干燥以除去上述涂膜中的溶剂。

[0056] 接下来,根据附图说明本发明的血液成分测定用传感器等的实施例。

[0057] 实施例 1

[0058] 图1、图2和图3表示本发明的血液成分测定用传感器的一个例子。图1为上述传感器的分解立体图。图2为剖面图,图3为平面图。上述三个图中同一部分采用相同的符号。

[0059] 如图所示,此传感器在绝缘基板101上形成有由第1工作电极13和第1对电极15构成的第1电极系统、由第2工作电极17和第2对电极11构成的第2电极系统、由第3工作电极12和第3对电极16构成的第3电极系统以及液体检测电极14。在上述第1电极系统上配置有第1试剂层23,在上述第2对电极11上配置有第2试剂层21,在上述第3电极系统上配置有第3试剂层22,上述第1试剂层23包含有葡萄糖脱氢酶等氧化还原酶、铁氰化钾等介体,作为任意成分,还包含酶稳定剂、晶体均质化剂等。上述第2试剂层21和上述第3试剂层22包含铁氰化钾等介体,作为任意成分,还包含酶稳定剂、晶体均质化剂等。在上述绝缘基板101的上面,一个端部(图中为右侧端部)保留,隔着隔板102配置有保护罩103。在这个传感器中,为了向各电极(11~17)导入血液,形成有由绝缘基板101、隔板102、保护罩103构成的流路24。此流路24的前端延伸至传感器的另一端部(图中为左侧端部),并向外部开口构成血液供给口,上述7个电极(11~17)各自与导线连接,这些导线延伸至上述一个端部侧(图中为右侧端部),导线的前端裸露,不被保护罩覆盖。在上述保护罩103上,在对应流路24的右侧端部的部分上形成有空气孔25。

[0060] 本发明中,对上述绝缘基板的材质不作特别限定。例如可以使用聚对苯二甲酸乙二酯(PET)、聚碳酸酯(PC)、聚酰亚胺(PI)、聚乙烯(PE)、聚丙烯(PP)、聚苯乙烯(PS)、聚氯乙烯(PVC)、聚甲醛(POM)、单体铸塑尼龙(MC)、聚对苯二甲酸丁二酯(PBT)、甲基丙烯酸树脂(PMMA)、ABS树脂(ABS)、玻璃等。其中,优选为聚对苯二甲酸乙二酯(PET)、聚碳酸酯(PC)和聚酰亚胺(PI),更优选为聚对苯二甲酸乙二酯(PET)。对绝缘基板的大小不作特别限定,

例如全长为 5–100mm、宽为 2–50mm、厚度为 0.05–2mm，优选全长为 7–50mm、宽为 3–20mm、厚度为 0.1–1mm，更优选全长为 10–30mm、宽为 3–10mm、厚度为 0.1–0.6mm。关于上述绝缘基板的材质和大小，后述的实施例 2–6 也同样如此。

[0061] 绝缘基板上的电极和导线例如可以以金、铂、钯等为材料，通过溅射法或蒸镀法形成导电层，通过激光对其以特定的电极图案进行加工而形成。作为激光，例如可以使用 YAG 激光、CO₂ 激光、准分子激光等。对此，后述的实施例 2–6 也同样如此。

[0062] 上述第 1 试剂层 23 如下形成。例如，将含有 0.1–5U/传感器的葡萄糖脱氢酶、10–200mM 的铁氰化钾、1–50mM 的麦芽糖醇、20–200mM 的牛磺酸的水溶液向圆形切口部 20 中滴加，并使其干燥。由于设置有此切口部 20，可以抑制滴加的水溶液的扩散，从而可以使第 1 试剂层 23 配置在更正确的位置上。由此在第 1 工作电极 13 和第 1 对电极 15 上形成第 1 试剂层 23。上述干燥例如可以使用自然干燥或暖风强制干燥，因为温度过高酶有可能会失活，所以优选采用 50°C 左右的暖风。

[0063] 上述第 2 试剂层 21 如下形成。例如，向圆形切口部 18 中滴加含有 10–200mM 的铁氰化钾、20–200mM 的牛磺酸的水溶液，并使其干燥。由于设置有此切口部 18，可以抑制滴加的水溶液的扩散，从而可以使第 2 试剂层 21 配置在更正确的位置上。由此在第 2 对电极 11 上形成第 2 试剂层 21。

[0064] 上述第 3 试剂层 22 如下形成。例如，向圆形切口部 19 中滴加含有 10–200mM 的铁氰化钾、20–200mM 的牛磺酸的水溶液，并使其干燥。由于设置有此切口部 19，可以抑制滴加的水溶液的扩散，从而可以使第 3 试剂层 22 配置在更正确的位置上。由此在第 3 工作电极 12 和第 3 对电极 16 上形成第 3 试剂层 22。

[0065] 本发明中，对隔板的材质不做特别限定。例如可以使用与绝缘基板同样的材料。而且，对隔板的大小也不作特别限定。例如全长为 5–100mm、宽为 2–50mm、厚度为 0.01–1mm，优选全长为 7–50mm、宽为 3–20mm、厚度为 0.05–0.5mm，更优选全长为 10–30mm、宽为 3–10mm、厚度为 0.05–0.25mm。在本实施例中的隔板中形成有成为用于血液导入的流路的 I 字形的缺口部，其大小例如全长为 0.5–8mm、宽为 0.1–5mm，优选全长为 1–10mm、宽为 0.2–3mm，更优选全长为 1–5mm、宽为 0.5–2mm。此缺口部也可通过例如激光、钻头等穿孔形成，也可在隔板形成时使用能够形成缺口部的模具形成，关于上述隔板的材质和大小以及缺口部，后述的实施例 2–6 也同样如此。

[0066] 本发明中，对保护罩的材质不作特别限定。例如可以使用与绝缘基板同样的材料。保护罩的相当于用于导入血液的流路的顶部的部分更优选进行亲水处理。作为亲水处理，例如有涂布表面活性剂的方法、通过等离子处理等在保护罩表面上引入羟基、羧基、羧基等亲水性官能团的方法等。也可在试剂层上形成由卵磷脂等表面活性剂构成的层。对保护罩的大小不作特别限定，例如全长为 5–100mm、宽为 3–50mm、厚度为 0.01–0.5mm，优选全长为 10–50mm、宽 3–20mm、厚度为 0.05–0.25mm，更优选为全长 15–30mm、宽为 5–10mm、厚度为 0.05–0.1mm。在保护罩上优选形成有空气孔，形状例如为圆形、椭圆形、多角形等。其大小例如最大直径为 0.01–10mm，优选最大直径为 0.05–5mm，更优选最大直径为 0.1–2mm。此空气孔例如可由激光、钻头等穿孔形成，也可在保护罩形成时使用能够形成空气贯穿部的模具形成，关于上述保护罩的材质和大小以及空气孔，后述的实施例 2–6 也同样如此。

[0067] 另外，本传感器按绝缘基板、隔板和保护罩的顺序层叠，通过一体化而制得。上述

3个部件通过粘结剂、热熔接等互相贴合而一体化。作为上述粘结剂,可以使用例如环氧系粘结剂、丙烯酸系粘结剂、聚氨酯系粘结剂、热固化性粘结剂(热熔粘结剂等)、UV固化性粘结剂等。对此,后述的实施例2-6也同样如此。

[0068] 采用此传感器的血糖值测定例如如下进行。首先,用专用的刺血针穿刺指尖等,使其出血。另外,将上述传感器设置在专用的测定装置上。使流出的血液与设置在测定装置中的传感器的血液供给口接触,通过毛细管现象将血液导入至传感器内部。此传感器的分析按下述步骤进行。

[0069] 步骤1:检体(血液)的检测

[0070] 通过在第1对电极15和液体检测电极14的两个电极间施加电压,检测血液的导入。但用于血液检测的电极组合决不仅限于此。确认血液导入以后,开始后续的步骤。步骤1的施加电压例如为0.05-1.0V,优选为0.1-0.8V,更优选为0.2-0.5V。

[0071] 步骤2:葡萄糖的测定

[0072] 血液中的葡萄糖和氧化还原酶反应一定时间以后,将第1工作电极13作为工作电极,将第1对电极15作为对电极,向第1工作电极13施加电压。通过酶反应,将在第1工作电极13上产生的还原状态的介体氧化,检测出其氧化电流。上述葡萄糖与氧化还原酶的反应时间例如为0-60秒,优选为1-30秒,更优选为2-10秒。步骤2中的施加电压例如为0.05-1V,优选为0.1-0.8V,更优选为0.2-0.5V。施加电压的时间例如为0.01-30秒,优选为0.1-10秒,更优选为1-5秒。

[0073] 步骤3:干扰物质量的测定

[0074] 将第3工作电极12作为工作电极,将第3对电极16作为对电极,通过向第3工作电极12施加电压,检出根据干扰物质的电解氧化反应的电流。根据此结果测定干扰物质量。此干扰物质量用于葡萄糖测定时的校正。此校正可以使用从预先作好的电流与干扰物质量的校准线中求得的干扰物质量,也可直接使用检测出的电流。步骤3中的施加电压例如为0.01-1V,优选为0.01-0.5V。施加电压的时间例如为0.001-60秒,优选为0.01-10秒,更优选为0.01-5秒。在本实施例中,由于第3电极系统的工作电极和对电极两者均存在介体,所以基于上述干扰物质的电解氧化反应的电流变大,其结果能够以更高精度进行干扰物质量的测定。

[0075] 步骤4:血细胞量的测定

[0076] 将第2工作电极17作为工作电极,将第2对电极11作为对电极,通过向第2工作电极17施加电压,检测出依赖于血细胞量的电解电流。根据此结果测定血细胞量。此血细胞量用于葡萄糖测定时的校正。此校正可以使用从预先作好的电解电流与血细胞量的校准线中求得的血细胞量,也可直接使用检测出的电解电流。步骤4中的施加电压例如为1-10V,优选为1-5V,更优选为2-3V。施加电压的时间例如为0.001-60秒,优选为0.01-10秒,更优选为0.01-5秒。

[0077] 步骤5:血液成分量的校正

[0078] 通过步骤3中测定的干扰物质量和步骤4中测定的血细胞量校正步骤2中得到的葡萄糖量。此校正优选基于预先作制好的校准线(包括校准表)进行。校正后的葡萄糖量在测定装置上显示或被存储。

[0079] 实施例2

[0080] 图 4、图 5 和图 6 表示本发明的血液成分测定用传感器的又一例子。图 4 为上述传感器的分解立体图。图 5 为剖面图，图 6 为平面图。上述三个图中同一部分采用相同的符号。本实施例的传感器将实施例 1 的传感器的第 2 电极系统的对电极与第 1 电极系统或第 3 电极系统的任一电极或它们的电极组合共用。这样，通过共用电极，可以进一步缩短用于导入血液的流路，从而可以使检体即血液的必需量减少。而且，通过上述电极的共用，试剂层数量也可以减少为 2 个。

[0081] 如图所示，此传感器在绝缘基板 301 上形成有由第 1 工作电极 33 和第 1 对电极 35 构成的第 1 电极系统、由第 2 工作电极 37、第 3 工作电极 32 和第 3 对电极 36 构成的第 3 电极系统以及液体检测电极 34。在上述第 1 电极系统上配置有第 1 试剂层 43，在上述第 3 电极系统上配置有第 3 试剂层 42。上述第 1 试剂层 43 含有葡萄糖脱氢酶等氧化还原酶、铁氰化钾等介体，作为任意成分，还包含酶稳定剂、晶体均质化剂等。上述第 3 试剂层 42 包含铁氰化钾等介体，作为任意成分，还包含酶稳定剂、晶体均质化剂等。在上述绝缘基板 301 的上面，一个端部（图中为右侧端部）保留，通过隔板 302 配设有保护罩 303。在这个传感器中，为了向各电极（32-37）导入血液，形成有由绝缘基板 301、隔板 302、保护罩 303 构成的流路 44。此流路 44 的前端延伸至传感器的另一端部（图中为左侧端部），向外部开口构成血液供给口，上述 6 个电极（32-37）各自与导线连接，这些导线延伸至上述一个端部侧（图中为右侧端部），导线的前端裸露，不被保护罩覆盖。在上述保护罩 303 上，在对应流路 44 的右侧端部的部分上形成有空气孔 45。

[0082] 上述第 1 试剂层 43 如下形成。例如，将含有 0.1-5U/传感器的葡萄糖脱氢酶、10-200mM 的铁氰化钾、1-50mM 的麦芽糖醇、20-200mM 的牛磺酸的水溶液向圆形切口部 40 中滴加，并使其干燥。由于设置有此切口部 40，可以抑制滴加的水溶液的扩散，从而可以使第 1 试剂层 43 配置在更正确的位置上。由此在第 1 工作电极 33 和第 1 对电极 35 上形成第 1 试剂层 43。上述干燥例如可以使用自然干燥或暖风强制干燥，因为温度过高酶有可能会失活，所以优选采用 50℃左右的暖风。

[0083] 上述第 3 试剂层 42 如下形成。例如，向圆形切口部 39 中滴加含有 10-200mM 的铁氰化钾、20-200mM 的牛磺酸的水溶液，并使其干燥。由于设置有此切口部 39，可以抑制滴加的水溶液的扩散，从而可以使第 3 试剂层 42 配置在更正确的位置上。由此在第 3 工作电极 32 和第 3 对电极 36 上形成第 3 试剂层 42。

[0084] 采用此传感器的血糖值测定例如如下进行。首先，用专用的刺血针穿刺指尖等，使其出血。另外，将上述传感器设置在专用的测定装置上。使流出的血液与设置在测定装置上的传感器的血液供给口接触，通过毛细管现象将血液导入至传感器内部。此传感器的分析按下述步骤进行。

[0085] 步骤 1：检体（血液）的检测

[0086] 通过在第 1 对电极 35 和液体检测电极 34 的两个电极间施加电压，检测血液的导入。但用于血液检测的电极组合决不仅限于此。确认血液导入以后，开始后续的步骤。步骤 1 中的施加电压例如为 0.05-1.0V，优选为 0.1-0.8V，更优选为 0.2-0.5V。

[0087] 步骤 2：葡萄糖的测定

[0088] 血液中的葡萄糖和氧化还原酶反应一定时间以后，将第 1 工作电极 33 作为工作电极，将第 1 对电极 35 作为对电极，向第 1 工作电极 33 施加电压。通过酶反应，将在第 1 工

作电极 33 上产生的还原状态的介体氧化,检测出其氧化电流。上述葡萄糖与氧化还原酶的反应时间例如为 0-60 秒,优选为 1-30 秒,更优选为 2-10 秒。步骤 2 中的施加电压例如为 0.05-1V,优选为 0.1-0.8V,更优选为 0.2-0.5V。施加电压的时间例如为 0.01-30 秒,优选为 0.1-10 秒,更优选为 1-5 秒。

[0089] 步骤 3 :干扰物质量的测定

[0090] 将第 3 工作电极 32 作为工作电极,将第 3 对电极 36 作为对电极,通过向第 3 工作电极 32 施加电压,检出根据干扰物质的电解氧化反应的电流。根据此结果测定干扰物质量。此干扰物质量用于葡萄糖测定时的校正。此校正可以使用从预先作好的电流与干扰物质量的校准线中求得的干扰物质量,也可直接使用检测出的电流。步骤 3 中的施加电压例如为 0.01-1V,优选为 0.01-0.5V。施加电压的时间例如为 0.001-60 秒,优选为 0.01-10 秒,更优选为 0.01-5 秒。

[0091] 步骤 4 :血细胞量的测定

[0092] 将第 2 工作电极 37 作为工作电极,将第 3 工作电极 32 作为对电极,通过向第 2 工作电极 37 施加电压,检测出依赖于血细胞量的电解电流。根据此结果测定血细胞量。此血细胞量用于葡萄糖测定时的校正。此校正可以使用从预先作好的电解电流与血细胞量的校准线中求得的血细胞量,也可直接使用检测出的电解电流。步骤 4 中的施加电压例如为 1-10V,优选为 1-5V,更优选为 2-3V。施加电压的时间例如为 0.001-60 秒,优选为 0.01-10 秒,更优选为 0.01-5 秒。本步骤 4 优选在一系列步骤的最后进行。另外,本实施例中是将第 3 工作电极 32 作为对电极,但本发明并不仅限于此。也可以是将单独的第 1 工作电极 33、单独的第 1 对电极 35、单独的第 3 对电极 36、第 3 工作电极 32 与第 3 对电极 36 的组合、第 1 工作电极 33 与第 1 对电极 35 的组合作为对电极。

[0093] 血细胞量的测定在最后进行的理由如下:当比血液成分量的测定和干扰物质量的测定先进行血细胞量的测定时,在作为对电极使用的电极上,最初配设有氧化状态的介体(例如铁氰化钾),但通过血细胞量测定,则生成了还原状态的介体(例如亚铁氰化钾)。此后,当进行血液成分量的测定和干扰物质量的测定时,生成的还原状态的介体就成为背景噪音,从而使测定值产生误差。

[0094] 步骤 5 :血液成分量的校正

[0095] 通过步骤 3 中测定的干扰物质量和步骤 4 中测定的血细胞量校正步骤 2 中得到的葡萄糖量。此校正优选基于预先作好的校准线(包括校准表)进行。校正后的葡萄糖量在测定装置上显示或被存储。

[0096] 实施例 3

[0097] 图 7 表示本发明的血液成分测定用传感器的另外又一个例子。图 7 为上述传感器电极图案的平面图,是将图 6 的电极图案中的第 3 电极系统的对电极与第 1 电极系统的任一电极或它们的电极组合进行共用的图。除此以外的传感器构成、使用部件、试剂层构成、传感器制造方法等均同实施例 2。

[0098] 采用此传感器的血糖值测定例如如下进行。首先,用专用的刺血针穿刺指尖等,使其出血。另外,将上述传感器设置在专用的测定装置上。使流出的血液与设置在测定装置上的传感器的血液供给口接触,通过毛细管现象将血液导入至传感器内部。此传感器的分析按下列步骤进行。

[0099] 步骤 1 : 检体 (血液) 的检测

[0100] 通过在第 1 对电极 35 和液体检测电极 34 的两个电极间施加电压, 检测血液的导入。但用于血液检测的电极组合决不仅限于此。确认血液导入以后, 开始后续的步骤。步骤 1 中的施加电压例如为 0.05-1.0V, 优选为 0.1-0.8V, 更优选为 0.2-0.5V。

[0101] 步骤 2 : 葡萄糖的测定

[0102] 血液中的葡萄糖和氧化还原酶反应一定时间以后, 将第 1 工作电极 33 作为工作电极, 将第 1 对电极 35 作为对电极, 向第 1 工作电极 33 施加电压。通过酶反应, 将在第 1 工作电极 33 上产生的还原状态的介体氧化, 检测出其氧化电流。上述葡萄糖与氧化还原酶的反应时间例如为 0-60 秒, 优选为 1-30 秒, 更优选为 2-10 秒。步骤 2 中的施加电压例如为 0.05-1V, 优选为 0.1-0.8V, 更优选为 0.2-0.5V。施加电压的时间例如为 0.01-30 秒, 优选为 0.1-10 秒, 更优选为 1-5 秒。

[0103] 步骤 3 : 干扰物质量的测定

[0104] 将第 3 工作电极 32 作为工作电极, 将第 1 工作电极 33 作为对电极, 通过向第 3 工作电极 32 施加电压, 检出根据干扰物质的电解氧化反应的电流。根据此结果测定干扰物质的量。此干扰物质量用于葡萄糖测定时的校正。此校正可以使用从预先作好的电流与干扰物质量的校准线中求得的干扰物质量, 也可直接使用检测出的电流。步骤 3 中的施加电压例如为 0.01-1V, 优选为 0.01-0.5V。施加电压的时间例如为 0.001-60 秒, 优选为 0.01-10 秒, 更优选为 0.01-5 秒。另外, 在本实施例中是以第 1 工作电极 33 作为对电极, 但本发明并不仅限于此。也可以是将单独的第 1 对电极 35、第 1 工作电极 33 与第 1 对电极 35 的组合作为对电极。

[0105] 另外, 当以第 1 工作电极 33 或第 1 工作电极 33 与第 1 对电极 35 的组合作为对电极的时候, 此步骤 3 优选在实施了血液成分量的测定以后进行。将干扰物质量的测定在血液成分量的测定之后进行的理由如下: 当比血液成分量的测定先进行干扰物质量的测定时, 在作为对电极使用的电极上, 最初配设有氧化状态的介体 (例如铁氰化钾), 但通过干扰物质量的测定, 则生成还原状态的介体 (例如亚铁氰化钾)。这种还原状态的介体向用于血液成分量测定的第 1 工作电极扩散, 当进行血液成分量的测定时, 其就成为背景噪音, 从而使测定值产生误差。

[0106] 但是, 在单独以第 1 对电极 35 作为对电极使用时, 也可在血液成分量的测定之前实施该步骤 3。其理由是: 在第 1 对电极 35 上生成的还原状态的介体 (例如亚铁氰化钾) 并不是向第 1 工作电极 33 扩散程度的量, 所以很难成为背景噪音。

[0107] 步骤 4 : 血细胞量的测定

[0108] 将第 2 工作电极 37 作为工作电极, 将第 3 工作电极 32 作为对电极, 通过向第 2 工作电极 37 施加电压, 检测出依赖于血细胞量的电解电流。根据此结果测定血细胞量。此血细胞量用于葡萄糖测定时的校正。此校正可以使用从预先作好的电解电流与血细胞量的校准线中求得的血细胞量, 也可直接使用检测出的电解电流。步骤 4 中的施加电压例如为 1-10V, 优选为 1-5V, 更优选为 2-3V。施加电压的时间例如为 0.001-60 秒, 优选为 0.01-10 秒, 更优选为 0.01-5 秒。本步骤 4 优选在一系列步骤的最后进行。另外, 本实施例中是将第 3 工作电极 32 作为对电极, 但本发明并不仅限于此。也可以是将单独的第 1 工作电极 33、单独的第 1 对电极 35、第 2 工作电极 33 与第 1 对电极 35 的组合作为对电极。

[0109] 血细胞量的测定在最后进行的理由同实施例 2 中所述的理由。

[0110] 步骤 5 :血液成分量的校正

[0111] 通过步骤 3 中测定的干扰物质量和步骤 4 中测定的血细胞量校正步骤 2 中得到的葡萄糖量。此校正优选基于预先作好的校准线（包括校准表）进行。校正后的葡萄糖量在测定装置上显示或被存储。

[0112] 实施例 4

[0113] 图 8、图 9 和图 10 表示本发明的血液成分测定用传感器的另外又一例子。图 8 为上述传感器的分解立体图。图 9 为剖面图，图 10 为平面图。上述三个图中同一部分采用相同的符号。本实施例的传感器是将实施例 3 的传感器的第 3 工作电极上配置的第 3 试剂层去除后得到的传感器。如图所示，此传感器在绝缘基板 501 上形成有由第 1 工作电极 53 和第 1 对电极 55 构成的第 1 电极系统、由第 2 工作电极 57、第 3 工作电极 52 以及液体检测电极 54。在上述第 1 电极系统上配置有第 1 试剂层 63，上述第 1 试剂层 63 含有葡糖脱氢酶等氧化还原酶、铁氰化钾等介体，作为任意成分，还包含酶稳定剂、晶体均质化剂等。在上述绝缘基板 501 的上面，一个端部（图中为右侧端部）保留，通过隔板 502 配设有保护罩 503。在这个传感器中，为了向各电极（52-55、57）导入血液，形成由绝缘基板 501、隔板 502、保护罩 503 构成的流路 64。此流路 64 的前端延伸至传感器的另一端部（图中为左侧端部），向外部开口构成血液供给口，上述 5 个电极（52-55、57）各自与导线连接，这些导线延伸至上述一个端部侧（图中为右侧端部），导线的前端裸露，不被保护罩覆盖。在上述保护罩 503 上，在对应流路 64 的右侧端部的部分上形成有空气孔 65。

[0114] 上述第 1 试剂层 63 如下形成。例如，将含有 0.1-5U/ 传感器的葡糖脱氢酶、10-200mM 的铁氰化钾、1-50mM 的麦芽糖醇、20-200mM 的牛磺酸的水溶液向圆形切口部 60 中滴加，并使其干燥。由于设置有此切口部 60，可以抑制滴加的水溶液的扩散，从而可以使第 1 试剂层 63 配置在更正确的位置上。由此在第 1 工作电极 53 和第 1 对电极 55 上形成第 1 试剂层 63。上述干燥例如可以使用自然干燥或暖风强制干燥，因为温度过高酶有可能会失活，所以优选采用 50℃ 左右的暖风。

[0115] 采用此传感器的血糖值测定例如如下进行。首先，用专用的刺血针穿刺指尖等，使其出血。另外，将上述传感器设置在专用的测定装置上。使流出的血液与设置在测定装置上的传感器的血液供给口接触，通过毛细管现象将血液导入至传感器内部。此传感器的分析按下述步骤进行。

[0116] 步骤 1 :检体（血液）的检测

[0117] 通过在第 1 对电极 55 和液体检测电极 54 的两个电极间施加电压，检测血液的导入。但用于血液检测的电极组合决不仅限于此。确认血液导入以后，开始后续的步骤。步骤 1 中的施加电压例如为 0.05-1.0V，优选为 0.1-0.8V，更优选为 0.2-0.5V。

[0118] 步骤 2 :葡萄糖的测定

[0119] 血液中的葡萄糖和氧化还原酶反应一定时间以后，将第 1 工作电极 53 作为工作电极，将第 1 对电极 55 作为对电极，向第 1 工作电极 53 施加电压。通过酶反应，将在第 1 工作电极 53 上产生的还原状态的介体氧化，检测出其氧化电流。上述葡萄糖与氧化还原酶的反应时间例如为 0-60 秒，优选为 1-30 秒，更优选为 2-10 秒。步骤 2 中的施加电压例如为 0.05-1V，优选为 0.1-0.8V，更优选为 0.2-0.5V。施加电压的时间例如为 0.01-30 秒，优选

为 0.1-10 秒,更优选为 1-5 秒。

[0120] 步骤 3 : 干扰物质量的测定

[0121] 将第 3 工作电极 52 作为工作电极,将第 1 工作电极 53 作为对电极,通过向第 3 工作电极 52 施加电压,检出根据干扰物质的电解氧化反应的电流。根据此结果测定干扰物质的量。此干扰物质量用于葡萄糖测定时的校正。此校正可以使用从预先作好的电流与干扰物质量的校准线求得的干扰物质量,也可直接使用检测出的电流。步骤 3 中的施加电压例如为 0.01-1V,优选为 0.01-0.5V。施加电压的时间例如为 0.001-60 秒,优选为 0.01-10 秒,更优选为 0.01-5 秒。另外,本实施例是将第 1 工作电极 53 作为对电极,但本发明并不仅限于此。也可以是将单独的第 1 对电极 55、第 1 工作电极 53 和第 1 对电极 55 的组合作为对电极。

[0122] 另外,使用第 1 工作电极 53 或第 1 工作电极 53 和第 1 对电极 55 的组合作为对电极的情况下,此步骤 3 优选在测定血液成分量之后进行。将干扰物质的量的测定在血液成分量的测定之后进行的理由同实施例 3 中所述的理由。

[0123] 步骤 4 : 血细胞量的测定

[0124] 将第 2 工作电极 57 作为工作电极,将第 1 工作电极 53 作为对电极,通过向第 2 工作电极 57 施加电压,检测出依赖于血细胞量的电解电流。根据此结果测定血细胞量。采用第 1 工作电极 53 作为对电极的理由如下:在血液成分量测定后的第 1 工作电极 53 上,绝大部分地存在氧化状态的介体(例如铁氰化钾),因此,当将其用作用于血细胞量测定的对电极时,可以抑制在对电极上发生的电解还原反应成为速率控制步骤。此血细胞量用于葡萄糖测定时的校正。此校正可以使用从预先作好的电解电流与血细胞量的校准线中求得的血细胞量,也可直接使用检测出的电解电流。步骤 4 中的施加电压例如为 1-10V,优选为 1-5V,更优选为 2-3V。施加电压的时间例如为 0.001-60 秒,优选为 0.01-10 秒,更优选为 0.01-5 秒。本步骤 4 优选在一系列步骤的最后进行。另外,本实施例中是将第 1 工作电极 53 作为对电极,但本发明并不仅限于此。也可以是将单独的第 1 对电极 55、第 1 工作电极 53 与第 1 对电极 55 的组合作为对电极。

[0125] 血细胞量的测定在最后进行的理由同实施例 2 中所述的理由。

[0126] 步骤 5 : 血液成分量的校正

[0127] 通过步骤 3 中测定的干扰物质量和步骤 4 中测定的血细胞量校正步骤 2 中得到的葡萄糖量。此校正优选基于预先作制好的校准线(包括校准表)进行。校正后的葡萄糖量在测定装置上显示或被存储。

[0128] 实施例 5

[0129] 图 11 表示本发明的血液成分测定用传感器的另外又一个例子。图 11 为上述传感器电极图案的平面图,是图 10 的电极图案中将第 3 工作电极与第 2 工作电极共用的图。除此之外的传感器构成、使用部件、试剂层构成、传感器制造方法等均同实施例 4。

[0130] 采用此传感器的血糖值测定例如如下进行。首先,用专用的刺血针穿刺指尖等,使其出血。另外,将上述传感器设置在专用的测定装置上。使流出的血液与设置在测定装置上的传感器的血液供给口接触,通过毛细管现象将血液导入至传感器内部。此传感器的分析按下述步骤进行。

[0131] 步骤 1 : 检体(血液)的检测

[0132] 通过在第 1 对电极 55 和液体检测电极 54 的两个电极间施加电压, 检测血液的导入。但用于血液检测的电极组合决不仅限于此。确认血液导入以后, 开始后续的步骤。步骤 1 中的施加电压例如为 0.05-1.0V, 优选为 0.1-0.8V, 更优选为 0.2-0.5V。

[0133] 步骤 2 : 葡萄糖的测定

[0134] 血液中的葡萄糖和氧化还原酶反应一定时间以后, 将第 1 工作电极 53 作为工作电极, 将第 1 对电极 55 作为对电极, 向第 1 工作电极 53 施加电压。通过酶反应, 将在第 1 工作电极 53 上产生的还原状态的介体氧化, 检测出其氧化电流。上述葡萄糖与氧化还原酶的反应时间例如为 0-60 秒, 优选为 1-30 秒, 更优选为 2-10 秒。步骤 2 中的施加电压例如为 0.05-1V, 优选为 0.1-0.8V, 更优选为 0.2-0.5V。施加电压的时间例如为 0.01-30 秒, 优选为 0.1-10 秒, 更优选为 1-5 秒。

[0135] 步骤 3 : 干扰物质量的测定

[0136] 将第 2 工作电极 57 作为工作电极, 将第 1 工作电极 53 作为对电极, 通过向第 2 工作电极 57 施加电压, 检出根据干扰物质的电解氧化反应的电流。根据此结果测定干扰物质量。此干扰物质量用于葡萄糖测定时的校正。此校正可以使用从预先作好的电流与干扰物质量的校准线中求得的干扰物质量, 也可直接使用检测出的电流。步骤 3 中的施加电压例如为 0.01-1V, 优选为 0.01-0.5V。施加电压的时间例如为 0.001-60 秒, 优选为 0.01-10 秒, 更优选为 0.01-5 秒。另外, 本实施例是将第 1 工作电极 53 作为对电极, 但本发明并不仅限于此。也可以是将单独的第 1 对电极 55、第 1 工作电极 53 和第 1 对电极 55 的组合作为对电极。

[0137] 另外, 使用第 1 工作电极 53 或第 1 工作电极 53 和第 1 对电极 55 的组合作为对电极的情况下, 此步骤 2 优选在测定血液成分量之后进行。将干扰物质量的测定在血液成分量测定之后进行的理由同实施例 3 中所述的理由。

[0138] 步骤 4 : 血细胞量的测定

[0139] 将第 2 工作电极 57 作为工作电极, 将第 1 工作电极 53 作为对电极, 通过向第 2 工作电极 57 施加电压, 检测出依赖于血细胞量的电解电流。根据此结果测定血细胞量。采用第 1 工作电极 53 作为对电极的理由同实施例 4。此血细胞量用于葡萄糖测定时的校正。此校正可以使用从预先作好的电解电流与血细胞量的校准线中求得的血细胞量, 也可直接使用检测出的电解电流。步骤 4 中的施加电压例如为 1-10V, 优选为 1-5V, 更优选为 2-3V。施加电压的时间例如为 0.001-60 秒, 优选为 0.01-10 秒, 更优选为 0.01-5 秒。本步骤 4 优选在一系列步骤的最后进行。另外, 本实施例中是将第 1 工作电极 53 作为对电极, 但本发明并不仅限于此。也可以是将单独的第 1 对电极 55、第 1 工作电极 53 与第 1 对电极 55 的组合作为对电极。

[0140] 血细胞量测定在最后进行的理由同实施例 2 中所述的理由。

[0141] 步骤 5 : 血液成分量的校正

[0142] 通过步骤 3 中测定的干扰物质量和步骤 4 中测定的血细胞量校正步骤 2 中得到的葡萄糖量。此校正优选基于预先作好的校准线(包括校准表)进行。校正后的葡萄糖量在测定装置上显示或被存储。

[0143] 实施例 6

[0144] 本实施例使用与实施例 5 同样的图 11 所示的传感器, 并进一步进行电极前处理。

[0145] 采用此传感器的血糖值测定例如如下进行。首先,用专用的刺血针穿刺指尖等,使其出血。另外,将上述传感器设置在专用的测定装置上。使流出的血液与设置在测定装置上的传感器的血液供给口接触,通过毛细管现象将血液导入至传感器内部。此传感器的分析按下述步骤进行。

[0146] 步骤 1 : 检体(血液)的检测

[0147] 通过在第 1 对电极 55 和液体检测电极 54 的两个电极间施加电压,检测血液的导入。但用于血液检测的电极组合决不仅限于此。确认血液导入以后,开始后续的步骤。步骤 1 中的施加电压例如为 0.05-1.0V,优选为 0.1-0.8V,更优选为 0.2-0.5V。

[0148] 步骤 2 : 电极前处理

[0149] 将第 2 工作电极 57 作为工作电极,将第 1 对电极 55 作为对电极,通过向第 2 工作电极 57 施加电压,清理第 2 工作电极 57 的表面。步骤 2 中的施加电压优选为 0.01-1V,更优选为 0.01-0.5V。施加电压的时间例如为 0.001-30 秒,优选为 0.01-10 秒,更优选为 0.01-5 秒。通过此前处理,上述第 2 工作电极 57 的表面被清理干净,可以更高精度测定干扰物质量。本步骤 2 和后述的步骤 4(葡萄糖的测定)可以同时进行,也可在步骤 4 之后进行。

[0150] 从简化工序和缩短全部测定时间的角度考虑,此步骤 2 如果在干扰物质量测定或血细胞量测定之前进行,是可实施的最有效的时机。

[0151] 步骤 3 : 干扰物质量的测定

[0152] 将第 2 工作电极 57 作为工作电极,将第 1 对电极 55 作为对电极,通过向第 2 工作电极 57 施加电压,检出根据干扰物质的电解氧化反应的电流。根据此结果测定干扰物质量。此干扰物质量用于葡萄糖测定时的校正。此校正可以使用从预先作好的电流与干扰物质量的校准线求得的干扰物质量,也可直接使用检测出的电流。步骤 3 中的施加电压例如为 0.01-1V,优选为 0.01-0.5V。施加电压的时间例如为 0.001-60 秒,优选为 0.01-10 秒,更优选为 0.01-5 秒。另外,本实施例是将第 1 对电极 55 作为对电极,但本发明并不仅限于此。也可以是将单独的第 1 工作电极 53、第 1 工作电极 53 和第 1 对电极 55 的组合作为对电极。

[0153] 另外,使用第 1 工作电极 53 或第 1 工作电极 53 和第 1 对电极 55 的组合作为对电极时,该步骤 2 优选在测定血液成分量之后进行。将干扰物质量的测定在血液成分量测定之后进行的理由同实施例 3 中所述的理由。但是,像本实施例 6 那样将第 1 对电极 55 单独用作对电极时,也可在血液成分量的测定之前实施此步骤 3,此时,在第 1 对电极 55 上生成的还原状态的介体(例如亚铁氰化钾)并不是向第 1 工作电极 53 扩散程度的量,所以很难成为背景噪音。

[0154] 步骤 4 : 葡萄糖的测定

[0155] 血液中的葡萄糖和氧化还原酶反应一定时间以后,将第 1 工作电极 53 作为工作电极,将第 1 对电极 55 作为对电极,向第 1 工作电极 53 施加电压。通过酶反应,将在第 1 工作电极 53 上生成的还原状态的介体氧化,检测出其氧化电流。上述葡萄糖与氧化还原酶的反应时间例如为 0-60 秒,优选为 1-30 秒,更优选为 2-10 秒。步骤 2 中的施加电压例如为 0.05-1V,优选为 0.1-0.8V,更优选为 0.2-0.5V。施加电压的时间例如为 0.01-30 秒,优选为 0.1-10 秒,更优选为 1-5 秒。

[0156] 步骤 5 : 血细胞量的测定

[0157] 将第 2 工作电极 57 作为工作电极, 将第 1 工作电极 53 作为对电极, 通过向第 2 工作电极 57 施加电压, 检测出依赖于血细胞量的电解电流。根据此结果测定血细胞量。此血细胞量用于葡萄糖测定时的校正。此校正可以使用从预先作好的电解电流与血细胞量的校准线中求得的血细胞量, 也可直接使用检测出的电解电流。步骤 4 中的施加电压例如为 1-10V, 优选为 1-5V, 更优选为 2-3V。施加电压的时间例如为 0.001-60 秒, 优选为 0.01-10 秒, 更优选为 0.01-5 秒。本步骤 4 优选在一系列步骤的最后进行。另外, 本实施例中是将第 1 工作电极 53 作为对电极, 但本发明并不仅限于此。也可以是将单独的第 1 对电极 55、第 1 工作电极 53 与第 1 对电极 55 的组合作为对电极。

[0158] 血细胞量的测定在最后进行的理由同实施例 2 中所述的理由。

[0159] 步骤 6 : 血液成分量的校正

[0160] 通过步骤 3 中测定的干扰物质量和步骤 5 中测定的血细胞量校正步骤 4 中得到的葡萄糖量。此校正优选基于预先作好的校准线(包括校准表)进行。校正后的葡萄糖量在测定装置上显示或被存储。

[0161] 实施例 1-6 作为血液成分测定的一个例子叙述了血中葡萄糖浓度的测定, 但本发明并不仅限于此, 如前上述, 本发明也可用于乳酸、胆固醇等其它血液成分的测定。

[0162] 另外, 实施例 1-6 描述了几种电极图案, 但本发明也并不仅限于此, 可以根据用途、条件进行适当的变更。

[0163] 参考例 1

[0164] 制作如图 1、图 2 和图 3 所示构造的传感器。将葡萄糖脱氢酶 (1-5U)、铁氰化钾 (60mM)、牛磺酸 (80mM) 溶解于 CMC 水溶液 (0.1wt%) 制得的试剂溶液向圆形切口部 20 中滴加, 并使其干燥, 由此制作第 1 试剂层 23, 另外, 将铁氰化钾 (60mM)、牛磺酸 (80mM) 溶解于 CMC 水溶液 (0.1wt%) 制得的试剂溶液向各圆形切口部 18、19 上滴加后, 使其干燥, 由此制作上述第 2 试剂层 21 和上述第 3 试剂层 22。

[0165] 使用此传感器, 将相对于干扰物质量的响应电流进行测定。作为易氧化性干扰物质的一例, 使用抗坏血酸, 准备添加有 0、5、10、20mg/dL 的抗坏血酸的血液试样, 使用这三个血液试样, 测定第 3 电极系统中流过的电流。在向第 3 工作电极 12 施加的电压为 0.5V、施加电压时间为 3 秒的条件下进行测定。

[0166] 接下来, 使用同一传感器, 测定相对于血细胞量的响应电流。准备血细胞量调整为 25%、45%、65% 的三种血液试样。使用这三种血液试样, 测定在第 2 电极系统中流过的电解电流, 以第 3 工作电极 32 作为对电极, 在向第 2 工作电极 17 的施加电压为 2.5V、施加电压时间为 3 秒的条件下进行测定。

[0167] 参考例 2

[0168] 制作如图 4、图 5 和图 6 所示构造的传感器。将葡萄糖脱氢酶 (1-5U)、铁氰化钾 (60mM)、牛磺酸 (80mM) 溶解于 CMC 水溶液 (0.1wt%) 制得的试剂溶液向圆形切口部 40 中滴加后, 使其干燥, 由此制作第 1 试剂层 43, 另外, 将铁氰化钾 (60mM)、牛磺酸 (80mM) 溶解于 CMC 水溶液 (0.1wt%) 制得的试剂溶液向各圆形切口部 39 上滴加后, 使其干燥, 由此制作上述第 3 试剂层 42。

[0169] 使用此传感器, 将相对于干扰物质量的响应电流进行测定。作为易氧化性干扰物

质的一例,使用抗坏血酸,准备添加有 0、5、10、20mg/dL 的抗坏血酸的血液试样,使用这三个血液试样,测定第 3 电极系统中流过的电流。在向第 3 工作电极 32 施加的电压为 0.5V、施加电压时间为 3 秒的条件下进行测定。

[0170] 接下来,使用同一传感器,测定相对于血细胞量的响应电流。准备血细胞量调整为 25%、45%、65% 的三种血液试样。使用这三种血液试样,测定在第 2 电极系统中流过的电解电流,在向第 2 工作电极 37 的施加电压为 2.5V、施加电压时间为 3 秒的条件下进行测定。

[0171] 参考例 3

[0172] 制作如图 7 所示构造的传感器。将葡萄糖脱氢酶 (1-5U)、铁氰化钾 (60mM)、牛磺酸 (80mM) 溶解于 CMC 水溶液 (0.1wt%) 制得的试剂溶液向圆形切口部 40 中滴加后,使其干燥,由此制作第 1 试剂层 43,另外,将铁氰化钾 (60mM)、牛磺酸 (80mM) 溶解于 CMC 水溶液 (0.1wt%) 制得的试剂溶液向各圆形切口部 39 上滴加后,使其干燥,由此制作上述第 3 试剂层 42。

[0173] 使用此传感器,对相对于干扰物质量的响应电流进行测定。作为易氧化性干扰物质的一例,使用抗坏血酸,准备添加有 0、5、10、20mg/dL 的抗坏血酸的血液试样,使用这三个血液试样,测定第 3 电极系统中流过的电流。以第 1 工作电极 33 作为对电极,在向第 3 工作电极 32 施加的电压为 0.5V、施加电压时间为 3 秒的条件下进行测定。

[0174] 接下来,使用同一传感器,测定相对于血细胞量的响应电流。准备血细胞量调整为 25%、45%、65% 的三种血液试样。使用这三种血液试样,测定在第 2 电极系统中流过的电解电流,以第 3 工作电极 32 作为对电极,在向第 2 工作电极 37 的施加电压为 2.5V、施加电压时间为 3 秒的条件下进行测定。

[0175] 参考例 4

[0176] 制作如图 8、图 9 和图 10 所示构造的传感器。将葡萄糖脱氢酶 (1-5U)、铁氰化钾 (60mM)、牛磺酸 (80mM) 溶解于 CMC 水溶液 (0.1wt%) 制得的试剂溶液向圆形切口部 60 上滴加后,使其干燥,由此制作第 1 试剂层 63。

[0177] 使用此传感器,将相对于干扰物质量的响应电流进行测定。作为易氧化性干扰物质的一例,使用抗坏血酸,准备添加有 0、5、10、20mg/dL 的抗坏血酸的血液试样,使用这三个血液试样,测定第 3 电极系统中流过的电流。以第 1 工作电极 53 作为对电极,在向第 3 工作电极 52 施加的电压为 0.5V、施加电压时间为 3 秒的条件下进行测定。

[0178] 接下来,使用同一传感器,测定相对于血细胞量的响应电流。准备血细胞量调整为 25%、45%、65% 的三种血液试样。使用这三种血液试样,测定在第 2 电极系统中流过的电解电流,以第 1 工作电极 53 作为对电极,在向第 2 工作电极 57 的施加电压为 2.5V、施加电压时间为 3 秒的条件下进行测定。

[0179] 参考例 5

[0180] 制作如图 11 所示构造的传感器。将葡萄糖脱氢酶 (1-5U)、铁氰化钾 (60mM)、牛磺酸 (80mM) 溶解于 CMC 水溶液 (0.1wt%) 制得的试剂溶液向圆形切口部 60 上滴加后,使其干燥,由此制作第 1 试剂层 63。

[0181] 使用此传感器,将相对于干扰物质量的响应电流进行测定。作为易氧化性干扰物质的一例,使用抗坏血酸,准备添加有 0、5、10、20mg/dL 的抗坏血酸的血液试样,使用这三个血液试样,测定第 3 电极系统中流过的电流。以第 1 工作电极 53 作为对电极,在向第 3

工作电极 52 施加的电压为 0.5V、施加电压时间为 3 秒的条件下进行测定。

[0182] 接下来, 使用同一传感器, 测定相对于血细胞量的响应电流。准备血细胞量调整为 25%、45%、65% 的三种血液试样。使用这三种血液试样, 测定在第 2 电极系统中流过的电解电流, 以第 1 工作电极 53 作为对电极, 在向第 2 工作电极 57 的施加电压为 2.5V、施加电压时间为 3 秒的条件下进行测定。

[0183] 参考例 1-5 的相对于干扰物质量的响应电流的测定结果如图 12 所示。由图 12 可知, 可以检出反映干扰物质量的响应电流。

[0184] 参考例 1-5 的相对于血细胞量的响应电流的测定结果如图 13-17 所示。图 13-17 中, (a) 为表示响应电流值 (μA) 相对于施加电压 (V) 的随时间变化的图; (b) 为灵敏度差相对于施加电压 (V) 的随时间变化的图。如图所示, 根据参考例 1-5 的传感器, 其灵敏度差不依赖于电压施加时间, 可以明确检出反映血细胞量的响应电流。

[0185] 本发明的血液成分的测定方法以高精度和高可靠性测定干扰物质量和血细胞量, 并基于此对血液成分量进行校正, 因此能够以高精度和高可靠性进行血液成分的测定。因此, 本发明对葡萄糖等血液成分的测定是有用的。

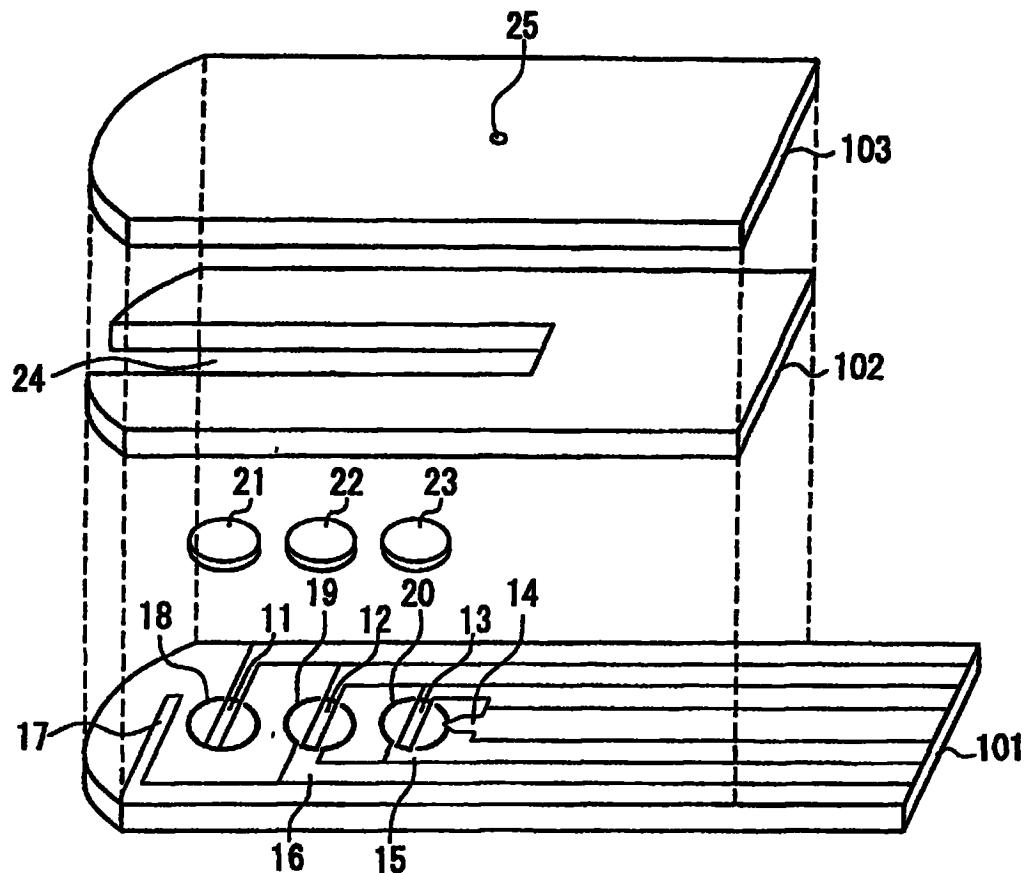


图 1

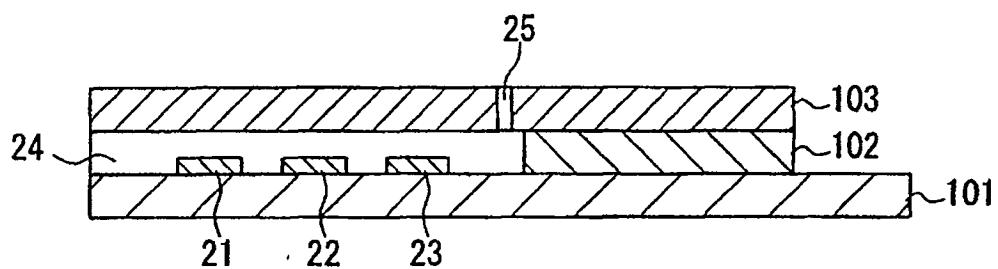


图 2

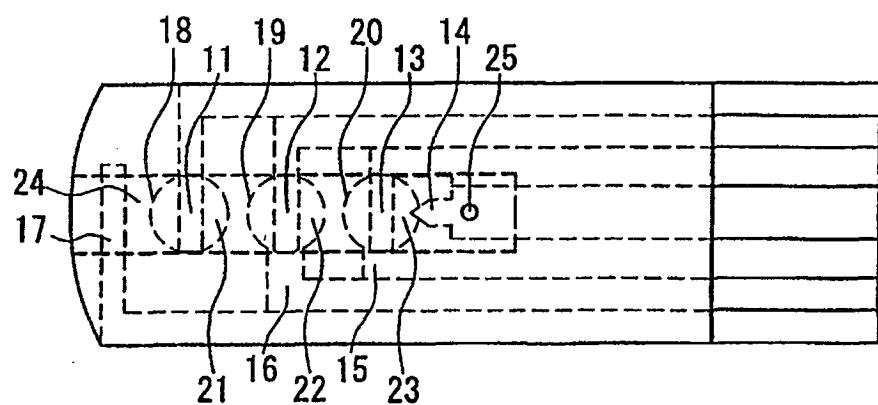


图 3

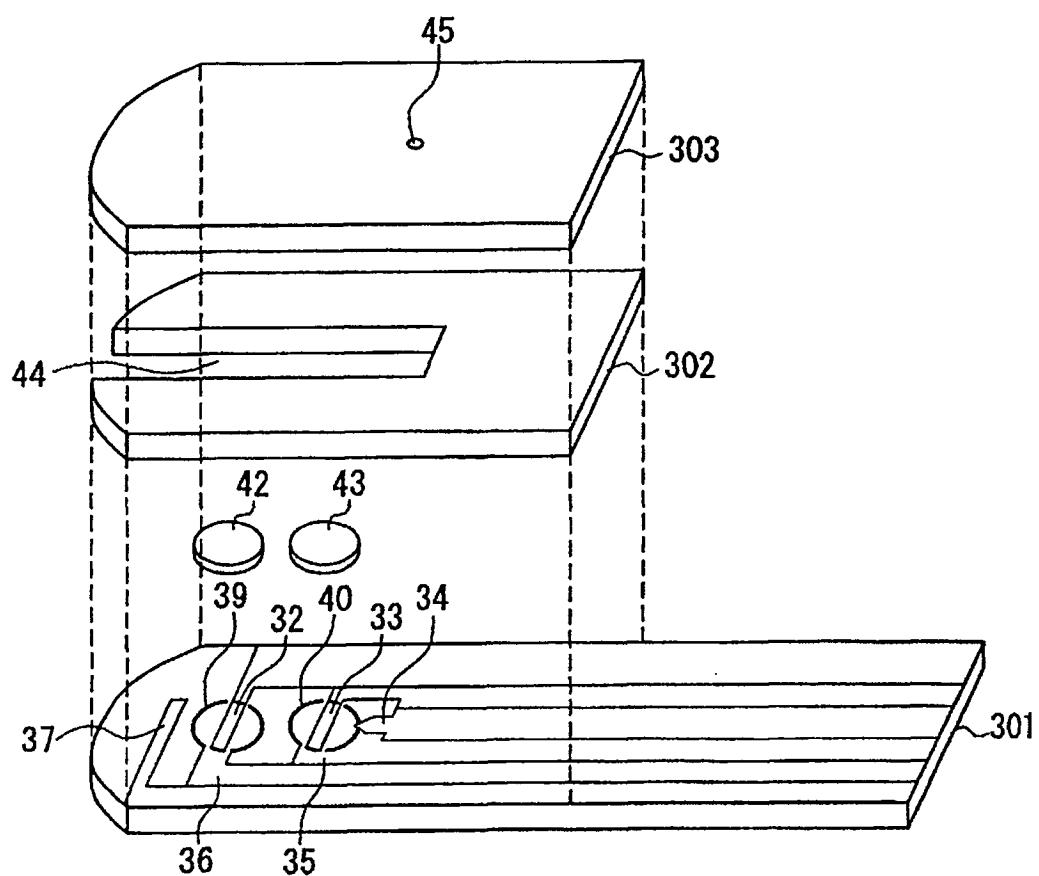


图 4

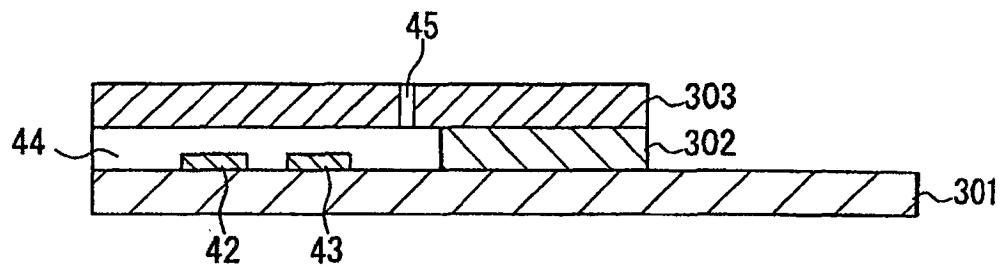


图 5

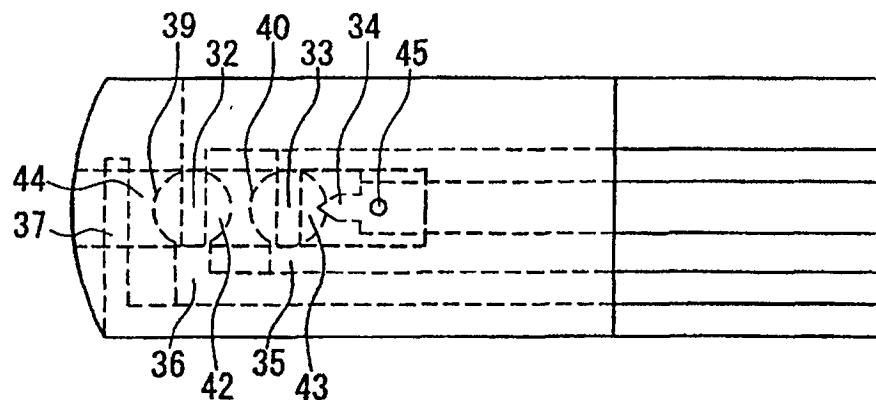


图 6

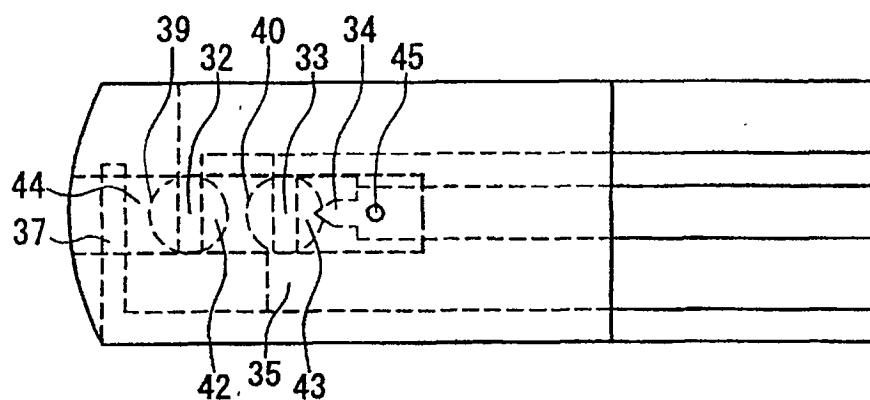


图 7

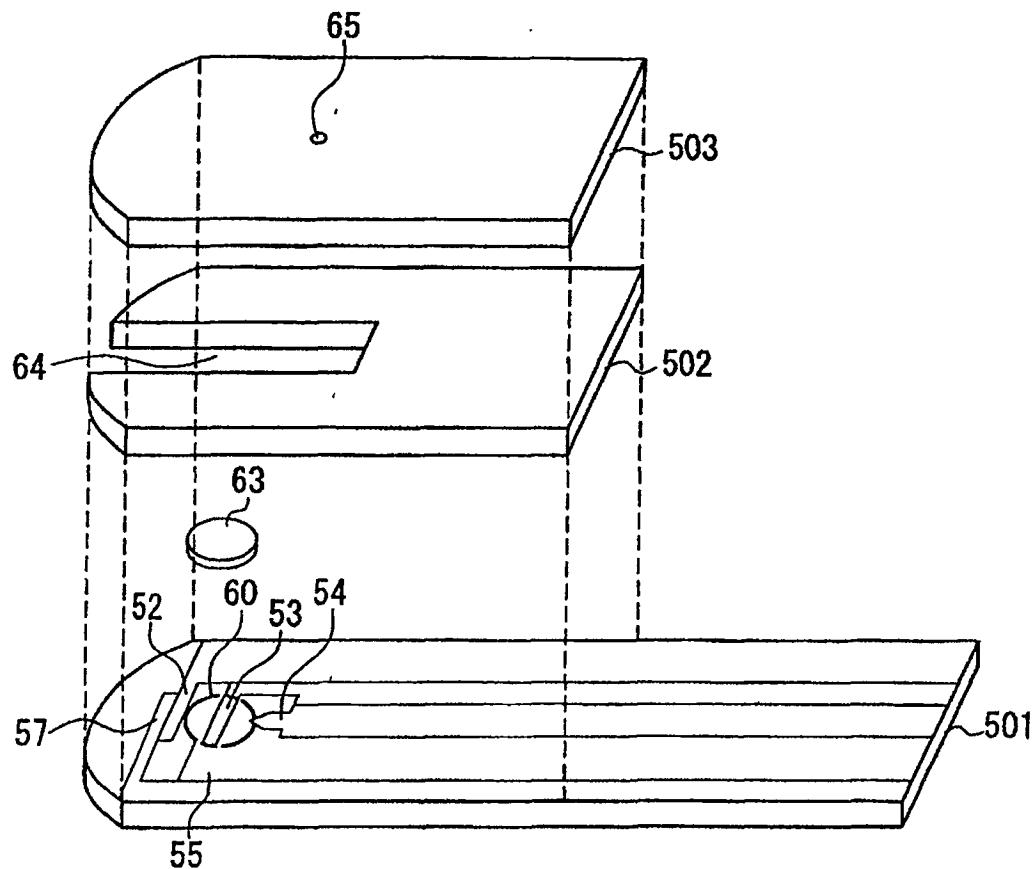


图 8

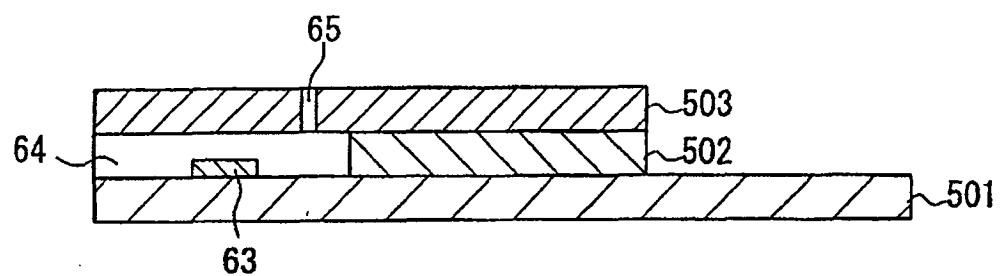


图 9

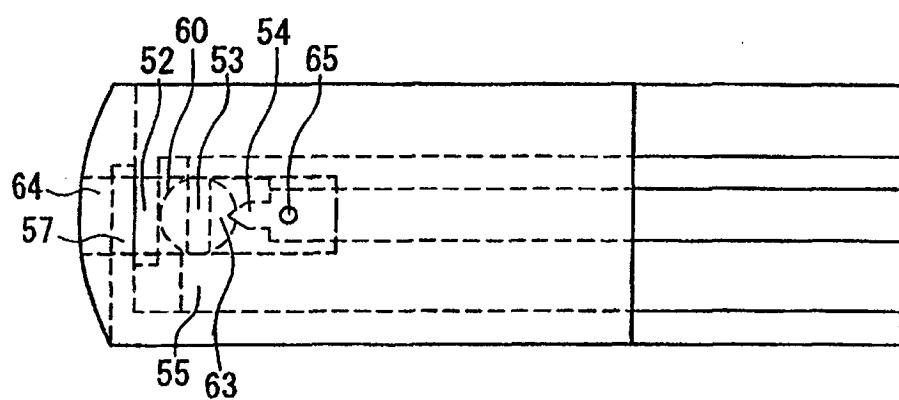


图 10

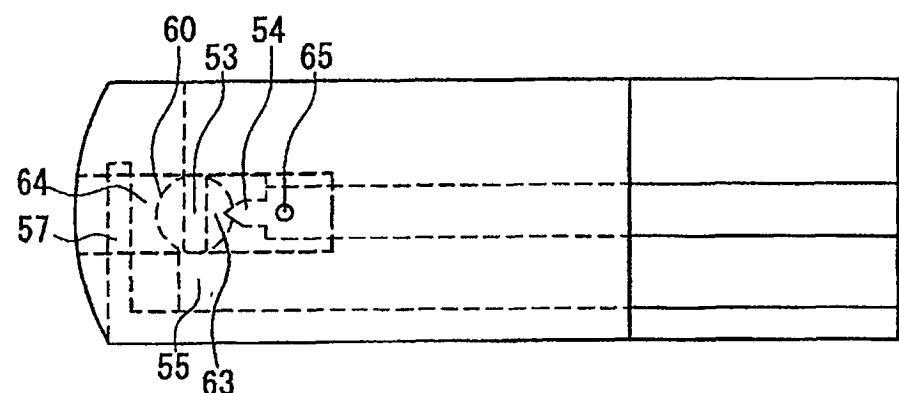


图 11

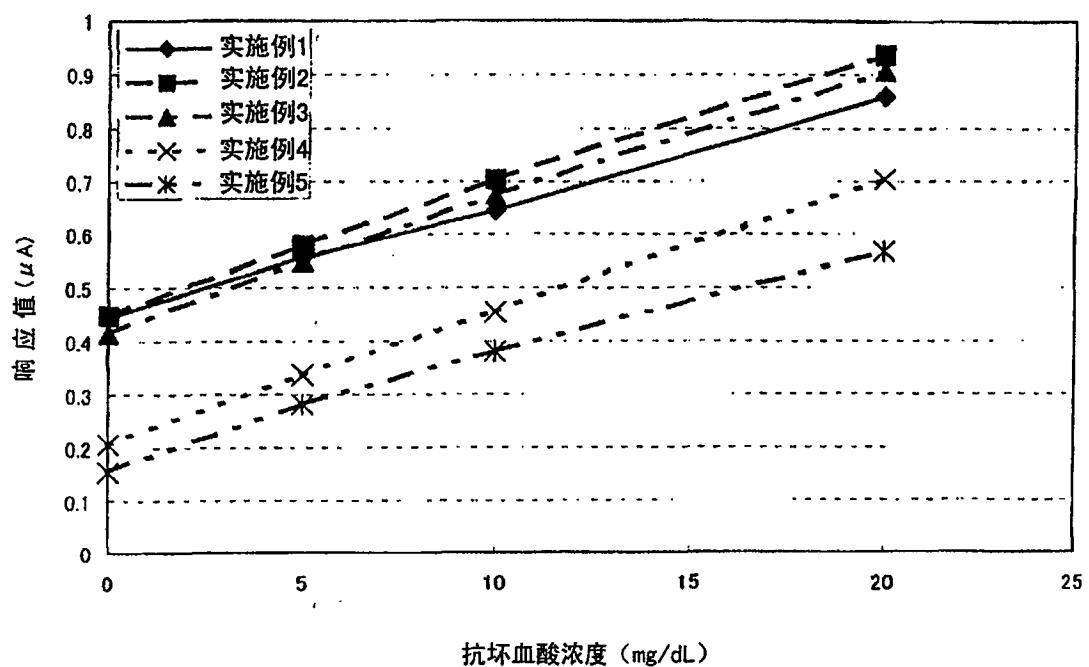
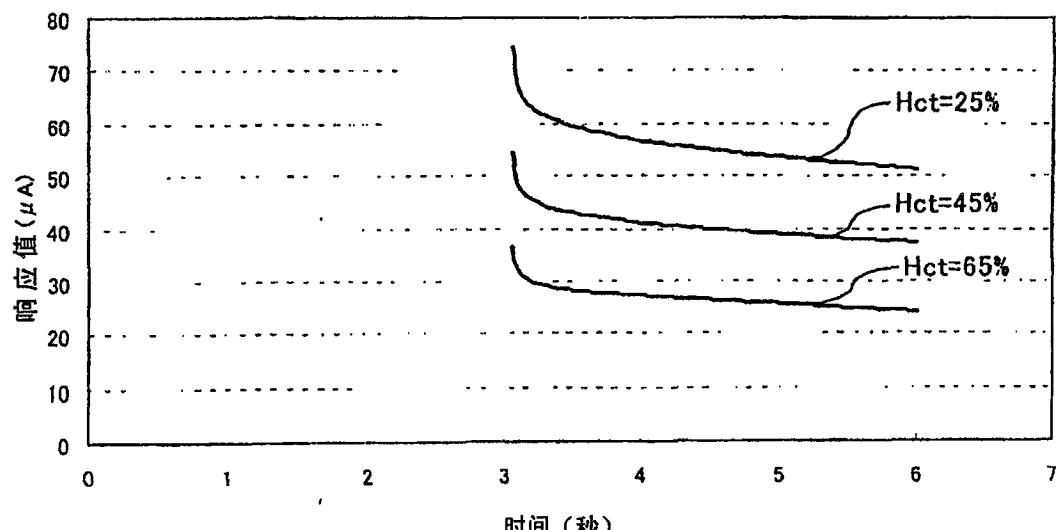
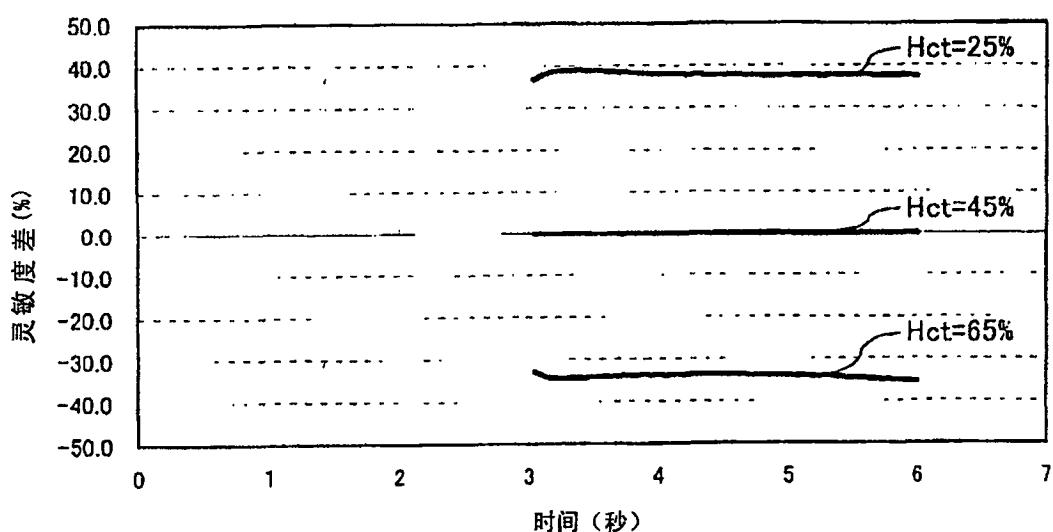


图 12

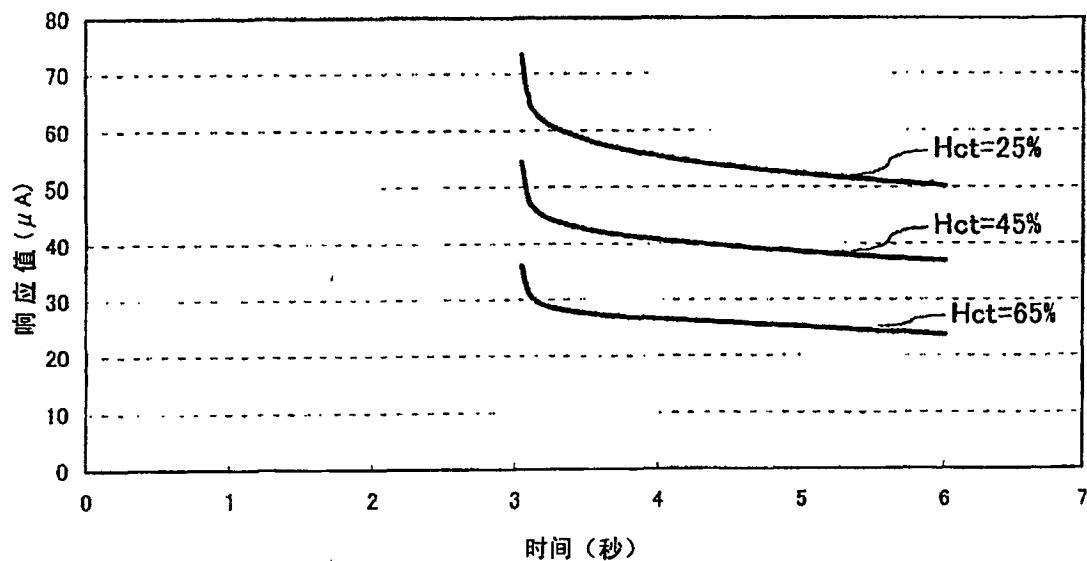


(a)

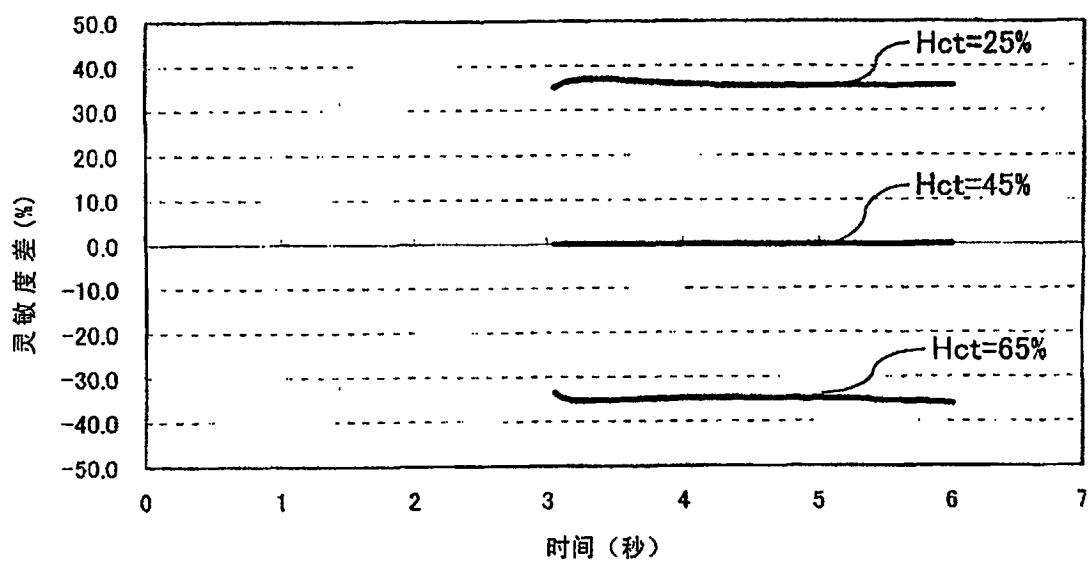


(b)

图 13

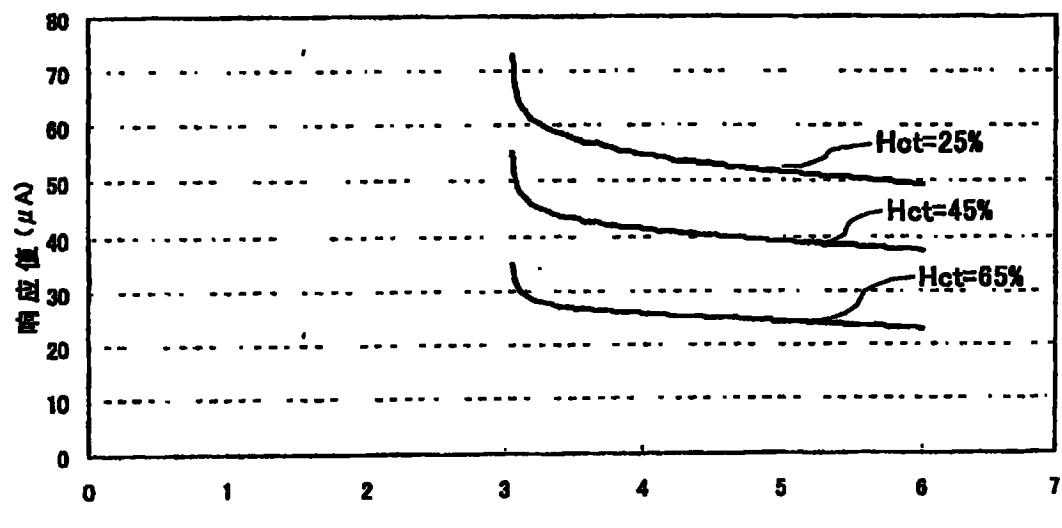


(a)

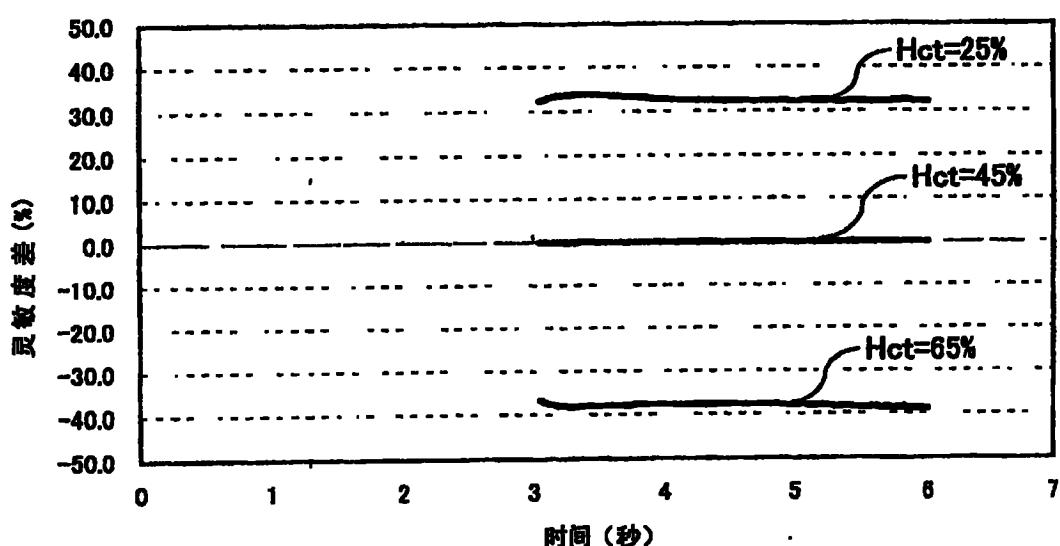


(b)

图 14

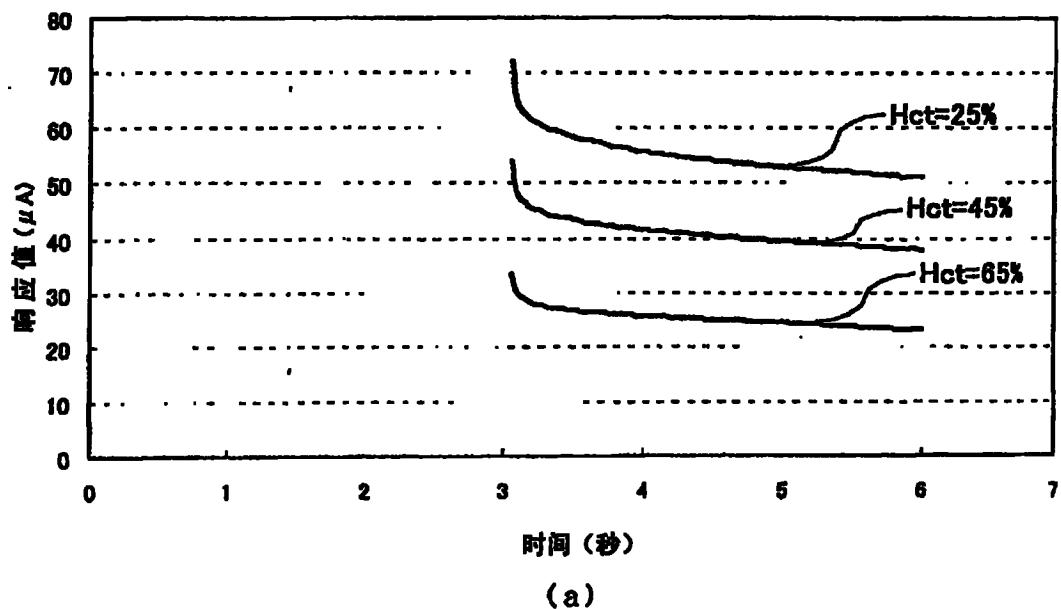


(a)

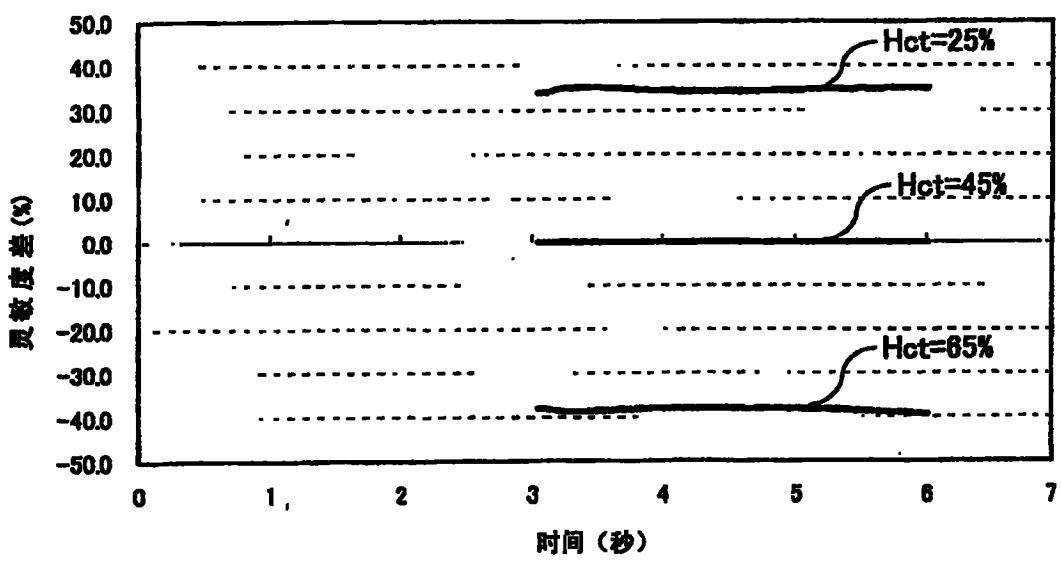


(b)

图 15

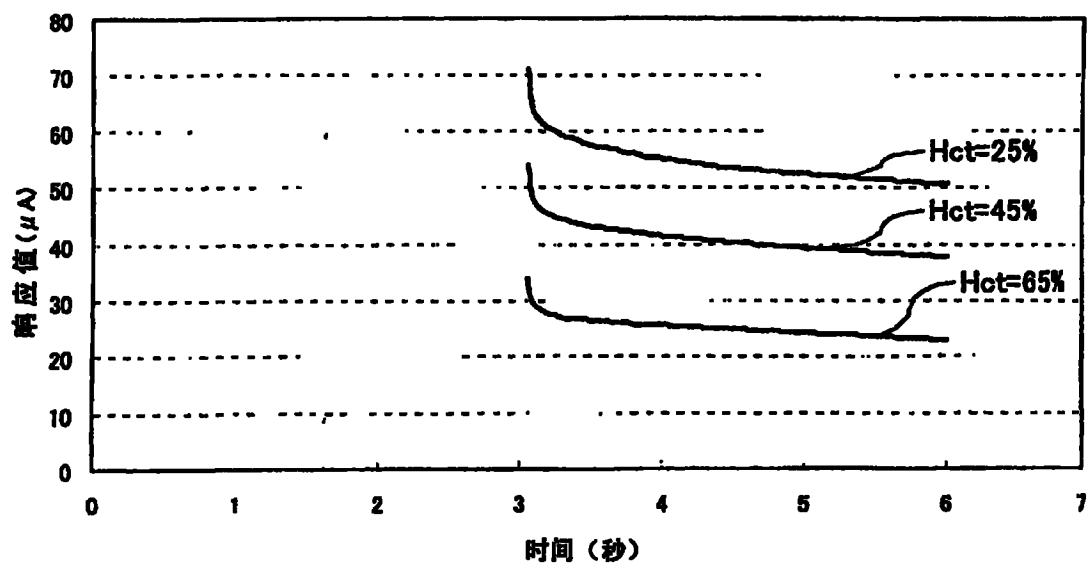


(a)

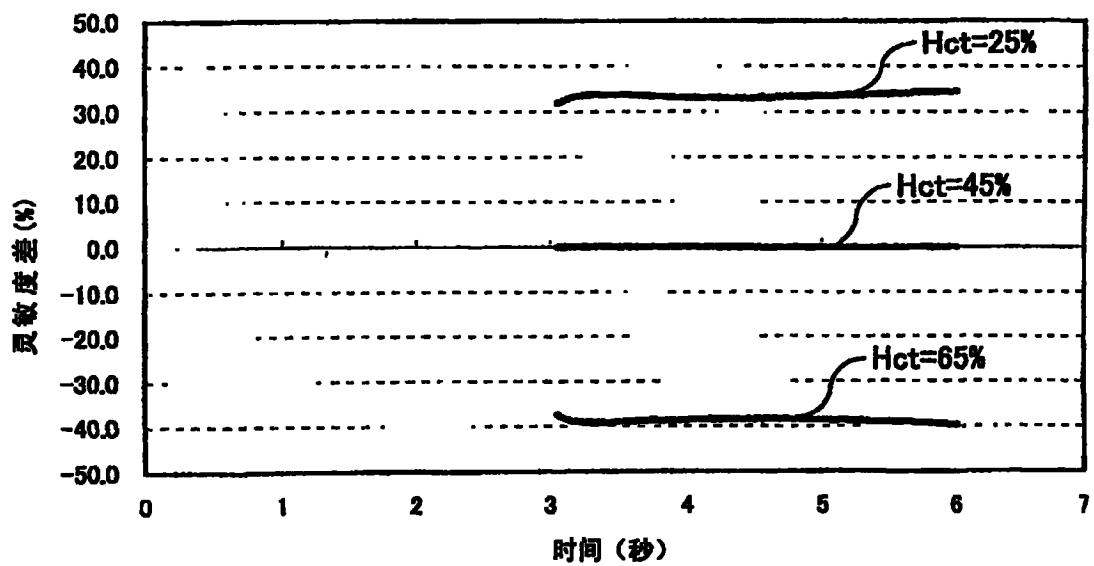


(b)

图 16



(a)



(b)

图 17