

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：95112752

※ 申請日期：95.4.11

※IPC 分類：G01N 27/26, C12Q 1/00,
C09D 5/24

一、發明名稱：(中文/英文)

用於酶電化學式感測器之水可互溶的導電油墨

WATER-MISCIBLE CONDUCTIVE INK FOR USE IN ENZYMATICAL
ELECTROCHEMICAL-BASED SENSORS

二、申請人：(共1人)

姓名或名稱：(中文/英文)

來富肯蘇格蘭有限公司

LIFESCAN SCOTLAND LTD.

代表人：(中文/英文)

司圖爾特/PATERSON, STUART

住居所或營業所地址：(中文/英文)

英國恩佛尼斯市櫟木商業園北區

Beechwood Park North, Inverness, Inverness-shire IV2 3ED, UK

國籍：(中文/英文)

英國/U.K.

三、發明人：(共7人)

姓名：(中文/英文)

1. 羅格斯/RODGERS, JAMES IAIN

2. 劉最芳/LIU, ZUIFANG

3. 麥亞倫/MCNEILAGE, ALAN WATSON

4. 麥連恩/MACLENNAN, MARGARET

5. 摩夫特/MOFFAT, JAMES

6. 傑佛瑞/LILLIE, GEOFFREY

7. 馬嵐度/MACDONALD, MICHAEL

國 籍：(中文/英文)

1.3.-7.為英國/U.K.

2.為中國大陸/CHINA

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：

- 1.美國；西元 2005 年 04 月 12 日；60/671,026
- 2.美國；西元 2005 年 04 月 28 日；11/118,947
- 3.美國；西元 2005 年 04 月 28 日；11/118,507
- 4.美國；西元 2005 年 04 月 28 日；11/118,894

☐ 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。



五、中文發明摘要：

一種用於酶電化學式感測器的水可互溶導電油墨，其含有一導電材料、一酵素、一介質及一結合劑。該導電材料、酵素、介質及結合劑被配製成水可互溶之水性為主的分散體，其中該結合劑被乾燥後變成可實施地非水溶性。

六、英文發明摘要：

A water-miscible conductive ink for use in enzymatic electrochemical-based sensors includes a conductive material, an enzyme, a mediator and a binding agent. The conductive material, enzyme, mediator, and binding agent are formulated as a water-miscible aqueous-based dispersion wherein the binding agent becomes operatively water-insoluble upon drying.



七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第(5A)圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

5B	線
5C	線
5D	線
102	基板
104a	參考電極
104b	工作電極
108	導電層
112	絕緣層
114	參考油墨層

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

無

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

交互參照

本申請案主張 2005 年 4 月 12 日提申名稱為"用於酶電化學式感測器之水可互溶的導電油墨"之美國專利臨時申請案號 60/671,026 的利益。

本發明通常係關於感測器，以及更明確而言係關於酶電化學式感測器。

【先前技術】

使用如含氧化還原介質(如，二(環戊二烯)亞鐵)及氧化還原酶(如，葡萄糖氧化酶)之酶試劑協同一電極以測定液體樣本內分析物的酶電化學式感測器近年來已引起極大的興趣。此類酶電化學式感測器被認為最適合用於連續或半連續性地監控液體樣本(如，血液或間質液樣本)內的分析物(如，葡萄糖)。例如，利用氧化還原介質、氧化還原酶及一工作電極之酶電化學式葡萄糖感測器可利用較低的電位(如，低於 0.4 伏特對飽和甘汞電極(SCE))判定(即，測定)葡萄糖濃度，因而限制在工作電極的任何干擾反應。為進一步描述酶電化學式感測器請參見例如美國專利號 5,089,112 及 6,284,478，因而分別將其完整納入於此以供參考。

【發明內容】

用於根據本發明一具體例之酶電化學式感測器的水可互溶導電油墨包括一導電材料、一酵素、一介質以及一結合劑。此外，導電材料、酵素、介質及結合劑可被配製成水可互溶之水性為主的分散體，以及其中結合劑在乾燥後變成可實施的非水溶性。就此而論，熟習本技術之人士將瞭解分散體實質上係包含分散於不同材料(如，連續結合劑相)之連續相內之分開顆粒材料(如，導電材料的顆粒)的混合物。根據本發明各種舉例性具體例之用於酶電化學式感測器之水可互溶導電油墨的特性、效益及其他例示資料詳述如下。

根據本發明具體例之水可互溶導電油墨可極接近地被置於酵素、介質和導電材料之間，因而易於其間進行迅速的電子交換(即，電子傳遞)。此類迅速的電子交換具有增加集電效率的益處。

根據本發明具體例之水可互溶導電油墨易被應用於習知酶電化學式感測器的製造技術中舉例如網版印刷技術(screen printing)。再者，具體例中所述之水可互溶導電油墨適合在乾燥後被固定化於酶電化學式感測器的基板上作為導電層，因此在使用酶電化學式感測器的過程中可避免導電層之介質和/或酵素的損失。此外，與習知的分離式電極比較，此類導電層的導電材料可具有較大介質的接觸表面積。

由於根據本發明具體例之水可互溶導電油墨被配製成



以水性為主的分散體，因此易於和一般的酵素和介質相容。此外，根據本發明具體例之水可互溶導電油墨具有水可互溶性質的優點，其就酵素和介質的比例而言可被納入其中成為均質的分散體而具有廣泛的配製深度。

5 可輕易地製造根據本發明具體例之水可互溶導電油墨，並且極容易被塗佈至酶電化學式感測器的基板。因此，此水可互溶導電油墨具有適合迅速及低成本地製造酶電化學式感測器的優點。再者，由於根據本發明具體例之水可互溶導電油墨之具體例係將酵素、介質和導電材料結合入
10 單一組成物內，因此具有減少製造酶電化學式感測器所需步驟及成本的優點。

應注意者為根據本發明具體例之水可互溶導電油墨係一種可被溶解和/或被均勻分散於水或其他水溶液內的導電油墨，但水可互溶導電油墨亦可能含有不導致相分離的
15 有機溶劑(即，水可互溶有機溶劑)。

用於將導電材料、酵素、介質和結合劑配製入根據本發明具體例之水可互溶導電油墨的適合導電材料、酵素、介質和結合劑以及適當技術的說明將詳述如下。

20 導電材料

本發明之具體例可利用熟練本技術之人士所習知任何適當的導電材料(當本文中需要時亦可稱為顏料或碳墨)。例如，導電材料可為細粉導電顆粒材料如碳黑材料、石墨材料、白金顆粒材料、鉑碳材料、金顆粒材料、鉑/鈮合金顆



粒材料、鈦顆粒材料、鈦(ruthenium)顆粒材料，或鈰(cerium)顆粒材料。細粉導電顆粒材料之大小可為例如小於 100 微米以及，較佳為介於 1 奈米至 20 微米的大小範圍。此外，其可具有雙峰分佈的大小範圍。

5 當使用根據本發明具體例之水可互溶導電油墨製造酶電化學式感測器的導電層時，水可互溶導電油墨之導電材料可作為一電極以及與水可互溶導電油墨之介質的交換電子。就此而論，熟練本技術之人士一旦獲悉本發明揭示的內容將瞭解形成自根據本發明之水可互溶導電油墨的導電層含有存在於水可互溶導電油墨內之用於形成導電層的導電材料、酵素及介質。由於導電材料及介質(以及酵素和結合劑)可被配製成均勻的分散體，其獲得之導電層相較於分離式導電材料層(例如習知的電極)和獨立含介質層之間的電子交換於導電材料和介質之間具有較強的電子交換能力。

15 一旦獲悉本發明的揭示，熟練本技術的人士可選擇導電材料、結合劑、介質、酵素及視需要一可產生均勻分散體之水可互溶有機共溶劑的組合物以及，在乾燥後，產生一均勻的導電層(例如含實質上均勻分佈酵素、介質及導電材料的導電層)。可利用傳統及習知實驗技術(如目視及掃描電子顯微鏡(SEM)檢查及機械特性)測定分散體及導電層的均勻性。

20 可預設用於水可互溶導電油墨內之導電材料(及結合劑)的電特性以及導電材料的比例而使藉由乾燥水可互溶



導電油墨形成的導電層具有低於約 10 仟歐姆($k\Omega$)的導電率。就此而論，低於約 1 仟歐姆的導電率最適合形成一導電層。

5 酵 素

本發明之具體例可使用熟練本技術之人士所習知的任何適合的酵素。此酵素可為例如選擇性辨認液體樣本(如血液樣本)內被判定(即，偵測或測量)之分析物(如，葡萄糖)的酵素。如熟練酶電化學式感測器技術之人士所習知，此類參與電化學反應的酵素係藉由酶電化學式感測器電化學測定分析物的基礎。例如，酵素可利用一介質而穿梭電子至一電極(或其他導電材料)，因而使電極之準備測量的電流和分析物的濃度成比例。

此酵素可為例如一氧化還原酵素如葡萄糖氧化酶。在此情況下，使用含葡萄糖氧化酶之水可互溶導電油墨的酶電化學式感測器可被用於測定液體樣本(如，全血樣本)內的葡萄糖。葡萄糖氧化酵素的實施例包括，但不侷限於，葡萄糖氧化酶及吡咯喹啉醌(PQQ)葡萄糖去氫酶。

根據本發明具體例之水可互溶導電油墨的調配物可使此類水可互溶導電油墨之酵素被有效地固定至酶電化學式感測器的基板。有效地固定係指可使酵素在固定至基板時與分析物反應並經由介質將電子傳遞至導電材料。

介 質

任一技藝中具通常技術者所知之適當介質均可用於本發明之具體例中。介質基本上為可與導電材料與水可互溶之導電油墨之酶二者進行可實施性之電子交換的化學實體。

5 此介質可為，例如，鐵氰化物(ferricyanide)或二(環戊二烯)亞鐵(ferrocene)。此外，此介質可為一聚合介質例如意指氧化還原聚合物之述於美國專利申請案號 10/957,441、申請案號 10/931,724 及申請案號 10/900,511 的共同待審案中者。此類聚合介質可為水溶性並且具有高
10 分子量，例如乙烯基二亞鐵和丙烯醯胺的共聚合物。

在配製前藉由將介質分散或溶解入水可互溶共溶劑舉例如甲卡必醇(methyl carbitol)或甘醇醚溶劑內可製備根據本發明具體例之水可互溶導電油墨內含具有有限水溶性之適合介質舉例如二(環戊二烯)亞鐵或四硫富瓦烯
15 (tetrathiafulvalene)/四氰基醌甲烷(tetracyanoquinodimethane)(TTF/TCNQ)的調配物。此類水可互溶共溶劑即使在無共溶劑下介質水溶性有限的情況下仍可使介質有效地分散於水溶性導電油墨的導電材料、酵素及結合劑內。

根據本發明具體例之水可互溶導電油墨的調配物可使
20 介質有效地被固定至酶電化學式感測器的基板。有效地固定係指可使介質在固定至基板時與酵素反應並將電子傳遞至導電材料。

結合劑

25 本發明之具體例中可利用熟練本技術之人士所習知的



任何適合結合劑(當本文中需要時亦稱為樹脂或樹脂聚合物)。根據本發明具體例之水可互溶導電油墨的結合劑可有效將水可互溶導電油墨之導電材料、介質及酵素有效固定至酶電化學式感測器的基板。

5 結合劑可包含例如樹脂聚合物及一抗衡離子(counter ion)，其中抗衡離子藉由去質子或質子化樹脂聚合物的酸或鹼基使樹脂聚合物溶解於水中。此抗衡離子可被揮發而使其在水可互溶導電油墨被乾燥時實質上蒸發抗衡離子以及使形成之結合劑(即，乾燥樹脂聚合物)有效地變成水不可溶。例如，樹脂聚合物可具有衍自羧酸物種的一酸基，以及揮發性抗衡離子可衍自一揮發胺如氨、N',N'-二甲基乙醇胺，或一揮發性有機胺。當揮發性抗衡離子從水溶性導電油墨揮發時，樹脂聚合物可離子性地以水不可溶導電油墨之酵素、導電材料及介質被實質上固定的方式交聯在酶電化學式感測器的基板上。對具有負電荷酸基的樹脂聚合物而言，該負電荷酸基可離子性地與樹脂聚合物上的正電荷物種或與任何的導電材料、酵素及介質相結合。

15 或者，例如，聚合樹脂之酸或鹼基可為僅在預設 pH 範圍內被離子化的酸或鹼，因而使該聚合樹脂在該預設 pH 範圍內具有水溶性。在乾燥水可互溶導電油墨時，該經乾燥或乾燥油墨可藉由超過預設 pH 範圍外之適當 pH 溶液的處理而使其產生有效水不溶性的聚合樹脂。

20 可藉由共溶劑效應的作用加強結合劑的有效性，因此水可互溶導電油墨內若存在水可互溶有機共溶劑時可改善



結合劑的水溶解度。當水可互溶導電油墨被乾燥後此類有機共溶劑可藉由例如蒸發而被移除。明顯地，在使用酶電化學式感測器中當接觸液體樣本時，由於已無有機溶劑因此該樹脂聚合物具有效地水不溶性。適合的水可互溶有機共溶劑包括例如酒精、甘醇醚、甲卡必醇、丁卡必醇(bytyl carbitol)、乙二醇、乙二醇二醋酸酯、二丙酮醇(diacetone alcohol)及磷酸三乙酯。

一旦獲悉本發明的揭示，熟練本技術的人士將瞭解可從市面購得根據本發明之水可互溶導電油墨內的各種成分。例如，適合用於根據本發明水可互溶導電油墨之各種具體例中的導電石墨材料和結合劑之水可互溶組成物可購自英國貝斯 Midsomer Norton 省 Norton Hill 市 Sun Chemical Screen 公司之分公司 Coastes Electrographics 貨號為 66756 的導電石墨漿。其他的導電材料和結合劑之水可互溶組成物可購自美國密西根 Precisia 市之 Ann Arbor 的水溶性導電材料 LFW201-H。

藉由乾燥根據本發明之水可互溶導電油墨的各種具體例所形成之導電層的乾燥結合劑可與限制在乾燥下之介質、酵素和導電材料及有效水不可溶結合劑作為一透析膜並且，因而，可被固定至一酶電化學式感測器的基板。此類透析膜容許極小的分子如葡萄糖穿透其中以及與該受限酵素相互作用。

參考第 1、2、3 和 4 圖，用於根據本發明具體例之水可互溶導電油墨的適合結合劑包括具有羧酸功能基、酸酐

功能基，和/或磷酸基的聚合物。例如，此結合劑可為述於第 1 圖之聚苯乙烯-共聚-順丁烯二酐的共聚物 10、述於第 2 圖之聚苯乙烯-共聚-順丁烯二酐的水解共聚物 20、聚苯乙烯-共聚-順丁烯二酐的部分水解共聚物、述於第 3 圖之聚苯乙烯-共聚-順丁烯二酐的部分酯化共聚物 30，或來自如述於第 4 圖藉由磷酸 42 與環氧樹脂 44 之反應所衍生的磷酸功能基化聚合物 40。

再者，結合劑亦可被配製成含有共聚物或三共聚物，其係藉由混合適當的酸功能基化乙烯單體如丙烯酸單體、和/或甲基丙烯酸單體、和/或伊康酸(itaconic)單體、和/或順丁烯二酸單體，以及其他乙烯單體如甲基丙烯酸甲酯單體、和/或苯乙烯單體、和/或丙烯酸乙酯單體、和/或丙烯酸異丙酯單體、和/或丙烯酸丁酯單體、和/或丙烯腈單體、和/或甲基苯乙烯單體、和/或苯甲酸乙烯酯單體、和/或丙烯醯胺單體、和/或甲基丙烯酸羥基甲酯單體。此類結合水可混合性的聚合結合劑具有極佳的導電材料分散劑性質。

參考第 5A、5B、5C 和 5D 圖，根據本發明一具體例之酶電化學式感測器包括一基板 102、具有電極表面 106a 的一參考電極 104a、具有電極表面 106b 的一工作電極 104b，以及配置於電極表面 106b 上的一導電層 108。導電層 108 係藉由乾燥此處所述之根據本發明具體例的水可互溶導電油墨而形成。因此，導電層 108 包括一經乾燥的結合劑(其為有效地水不可溶性)、一介質、一酵素以及導電材料。描述中之導電層 108 雖然係配置於工作電極 104b 上，

但是形成自根據本發明具體例之水可互溶導電油墨的導電層 108 本身亦可作為一工作電極或作為酶電化學式感測器的其他適合的導電成分。

5 酶電化學式感測器 100 亦包括一參考油墨層 114 及一任選絕緣層 112。熟練本技術之人士將瞭解第 5A 至 5D 圖中僅描述完整酶電化學式感測器中的一部分並且省略酶電化學式感測器的其他元件(如，護罩、分析/微處理器模組，以及電傳導電路)以避免過度複雜化第 5A 至 5D 圖。

10 本技術具通常知識之人士亦將瞭解構成整合參考電極 104a 之電化學活性層的參考油墨層 114 被設定在“零電位”處開始施加工作電極 104b 一測量電位。熟練本技術之人士將進一步瞭解第 5A 至 5D 之酶電化學式感測器雖然係以二電極形式作為說明，但是本發明之具體例中亦可使用此領域中其他習知形式的酶電化學式感測器。

15 基板 102 可形成自例如聚對苯二甲酸乙二酯薄板 (polyethylene terephthalate)、聚對苯二甲酸丁二酯板(購自例如美國的 GE Plastic 公司)，或形成自延伸聚苯乙烯膠片 (購自例如德國的 NSW GmBH 公司)。

20 參考油墨層 114 可形成自例如 Ag/AgCl 糊(購自英國 Pontypool Wales 市的 Gwent 電子材料公司)或任何適合的電化學參考材料包括，但不侷限於，可形成部分水溶性鹽之金屬(例如，銀、銅、鈦和鋰)的材料。

任選絕緣層 112 可形成自例如介電網印墨漿(購自例如 Sericol Inks 有限公司)。參考電極 104a 及工作電極 104b 可

由任何技藝中具通常知識者所知之任一適當材料形成。

參考電極 104a、工作電極 104b、絕緣層 112 可具有任何適當的厚度。然而，各層的一般厚度係在從 1 微米至 100 微米的範圍內。

5 第 6 圖係製造根據本發明一舉例性具體例之酶電化學式感測器的流程圖。該製造部分可為任何的導電層舉例如一電極、一電導線或說明於第 5A 至 5D 圖的導電層。然而，
● 熟練本技術之人士將瞭解雖然可利用根據本發明之方法製造第 5A 至 5D 圖中所描述的酶電化學式感測器，但是此方法
10 法並不僅限用於第 5A 至 5D 圖中的酶電化學式感測器。

方法 600 包括將水可互溶導電油墨塗佈至酶電化學式感測器的基板，其說明於步驟 610。該水可互溶導電油墨含有一導電材料、一酵素、一介質，以及一結合劑，將導電材料、酵素、介質及結合劑配製成水可互溶水基分散體並且
15 當該結合劑被乾燥後變成可實施地非水溶性。

● 可利用例如包括網版印刷法、浸塗法、噴塗法和噴墨塗佈法之任何適合的塗佈技術完成步驟 610 的塗佈工作。
步驟 610 塗佈之水可互溶導電油墨在此處就水可互溶導電油墨以及根據本發明之酶電化學式感測器作進一步的說明。
20 明。

如第 6 圖之步驟 620 中所述，方法 600 進一步包括乾燥水可互溶導電油墨使其形成含可實施地非水溶性結合劑之基板上的導電層。

可在足夠固定經乾燥水溶性導電油墨至基板並形成導



電層但不致使酵素之活性明顯劣化的溫度及一段時間內進行乾燥過程。例如，可在約 75°C 下使水可互溶導電油墨乾燥約 20 分鐘。

【實施方式】

實施例 1

製備根據本發明一舉例性具體例的水可互溶導電油墨，其含有葡萄糖氧化酶、二(環戊二烯)亞鐵介質以及購自市面導電材料和結合劑的組成物(購自 Coates 公司貨號為 66756 的水可互溶石墨漿)。依如下方法配製水可互溶導電油墨：將 50 毫克葡萄糖氧化酶溶解於 0.7 毫升的 Analar 水中。將獲得的溶液加入 5 克水可互溶石墨漿 66756，接著與已溶解於 1 毫升甲卡必醇共溶劑內之 25 毫克二(環戊二烯)亞鐵相混合。

將上述一部分水可互溶導電油墨塗佈至玻碳電極上並在 75°C 烘箱內乾燥 20 分鐘而形成其上具有導電層的玻碳電極。熟練本技術的人士將瞭解其上具有導電層的電極相當於酶電化學式感測器的一部分。

在含經攪拌緩衝之葡萄糖溶液的燒杯內以 300 毫伏特的恒定電位測試其上具有導電層的電極。此測試利用一銀/氯化銀參考電極以及一白金線抗衡電極。可觀察到燒杯內增加葡萄糖濃度的安培反應。透過加入緩衝液和葡萄糖的連續變化在超過 12 小時的過程中進行安培測試。在延長測試中，該安培反應係降低。可推測其降低係由於從導電層

失去介質的結果。

實施例 2

利用 1.8 克之 97% 丙烯醯胺(AAM)、0.3 克之 97% 乙烯基二(環戊二烯)亞鐵(VFc)及 40 毫升二噁烷和乙醇(1/1 體積/體積)混合物內之 0.03 克 2,2'-偶氮二異丁腈(AIBN)的反應溶液藉由述於第 7 圖之自由基共聚合反應合成根據本發明一具體例之適合用於水可互溶導電油墨內的一親水性高分子量氧化還原聚合物(即，第 7 圖之氧化還原聚合物 700)。此反應係在一圓底燒瓶內進行。在乙烯基二(環戊二烯)亞鐵 5 克分子百分比及丙烯醯胺 95 克分子百分比下進行此反應。

在開始反應之前，上述反應溶液藉由通過氣泡氮 1 小時以進行脫氧。然後將此反應溶液在油浴內加熱至 70°C 並且在氮氣下連續電磁攪拌 24 小時。濾除形成的聚合物沈澱物然後以丙酮重複清洗以產生聚合物沈澱物的純化樣本。接著將此純化樣本在 50°C 烘箱內乾燥。

然後利用具 13 公斤/莫耳之分子量臨界值的纖維素膜管以去離子水通過透析從乾燥純化樣本除去相對低分子量的部分。所獲得之組成物為一親水性高分子量氧化還原聚合物(即，第 7 圖之氧化還原聚合物 700)。

實施例 3

利用述於實施例 2 中之氧化還原聚合物 700 配製根據本發明一具體例的水可互溶導電油墨。此調配物含有相互混合的 30 毫克葡萄糖氧化酶(取自 *Aspergillus Niger* 公司)、160 毫克之 5%氧化還原聚合物 700 的水溶液、1 毫升之 Anlar 水、3 克之水可互溶石墨糊(購自 Sun 化學公司之分公司 Coastes Screen, 貨號為 66756)所形成以水為主的均質分散體。

將上述的水可互溶導電油墨塗佈至一電化學式感測器的基板上(即, 具有導電路線和參考(網印銀/氯化銀)電極之 3.75 平方毫米的感測器工藝)。經塗佈之基板在 75°C 下乾燥 20 分鐘。然後將經乾燥塗佈的基板置入流動槽內, 並連接至一電位儀。在白金線插入槽內作為一抗衡電極之下將 300 毫伏特電壓施予至工作電極(形成自上述的水可互溶導電油墨)。

將含 0~20 毫莫耳/升葡萄糖之生理濃度範圍內的磷酸鹽緩衝溶液(PBS)以 0.7 毫升/分鐘流動通過酶電化學式感測器。如舉例於第 8A 圖的數據, 其所產生的電流反應與該時間流經已知點之分析物的葡萄糖濃度成比例, 並且其穩定期間超過 20 小時。藉由第 8B 圖的數據說明其穩定性, 其具有 11 小時的穩定性。

根據第 8A 和 8B 圖的數據, 此實施例的酶電化學式感測器在一連續作業模式下極適合用於生理相關濃度之葡萄糖的檢測。可推測應用於酶電化學式感測器內的水可互溶導電油墨係結合經固定高分子量介質及經固定酵素的優

點，其可改善酵素、介質和導電材料之間的電化學連繫。

實施例 4

製備類似實施例 3 的水可互溶導電油墨，但另外添加
5 流變改性劑(即，Cabosil LM150 親水性燐矽)。加入流變改
性劑(如 Cabosil LM150 親水性燐矽或 Cabosil TS610 親水性
燐矽)可改善用於網版印刷之水可互溶導電油墨的適合度。

此水可互溶導電油墨的配製係混合 540 毫克取自黑麴
菌(*Aspergillus Niger*)的葡萄糖氧化酶、8.14 克之氧化還原
10 聚合物 700 的 5%水溶液、60 克之 Coates 66756 水可互溶
石墨糊，以及 1.6 克之 Cabosil LM150 親水性燐矽。此組成
物在高切變率(即 2000 rpm)下混合 5 分鐘直至形成均質高
黏度墨糊為止。然後將此高黏度墨糊利用 DEK 248 網版印
刷機在酶電化學式感測器之基板上透過篩孔進行印刷並乾
15 燥而形成一導電層。形成之酶電化學式感測器基本上描繪
於第 5D 圖中。

然後以依此形成之酶電化學式的構造配合一微流體測
試系統進行測試。當以數種葡萄糖濃度進行測試時，此酶
電化學式感測器的反應大致上穩定並且在 300 毫伏特的線
20 性範圍為 20 毫莫耳葡萄糖濃度，其期間超過 10 小時。

在更進一步的測試中，以 200 奈升/分鐘的速率將磷酸
鹽緩衝液內之各種濃度的葡萄糖流經微流體測試系統。電
流反應(描繪於第 9 圖的數據)與所使用之葡萄糖濃度成比
例。第 9 圖的數據顯示在超過 10 小時的期間可進行持續穩

定的測試，其不需重校準或作基線校正。

實施例 5

製備述於實施例 4 之更進一步的酶電化學式感測器構造和微流體測試系統及以藉由混合 1:2 比例之新鮮抽取人類血漿和磷酸鹽緩衝液而使獲得液體更接近人類生理間質液的分析物進行測試。以葡萄糖加入此液體內而產生可代表糖尿病患者的一般生理葡萄糖範圍的樣本。

將獲得之樣本液體在 5 分鐘的區間以 300 奈升/分鐘的速率置入微流體測試系統內，在此期間以 0 伏特電壓施予酶電化學式感測器構造的工作和抗衡電極之間。接著為分析物不流動的 10 分鐘間隔時間。在分析物不流動的該 10 分鐘間隔時間內，以 300 毫伏特電壓施予至工作電極，而因此可測得一短暫的電流反應。重複多次此過程，每次以含不同葡萄糖濃度的樣本液體。每次測量循環所產生的電流反應描繪於第 10 圖。

第 10 圖的數據代表在超過 20 小時期間於 10~15 分鐘間隔時間的測量結果。第 10 圖的數據顯示葡萄糖濃度的測定可藉由從電流在選定時間之電流反應的安培測定值或在一已知測量時間藉由取電流反應之累積或部分累積而獲得的庫倫測定值。例如第 11 圖係代表示於第 10 圖之各瞬態電流的累積庫倫，其顯示被供應之分析物的葡萄糖濃度以及進行測量的時間。第 12 圖描繪衍自第 11 圖之數據的校準曲線。第 13 圖的數據顯示酶電化學式感測器以上述方法

時可在超過 20 小時的期間呈現其穩定性。

實施例 6

在測試前將述於實施例 4 的水可互溶導電油墨在 5°C 冰箱內儲藏 21 天。當如實施例 4 中所述之方法進行測試時，在 5°C 下儲藏 21 天的水可互溶導電油墨與已被製造、印刷和連日測試的水可互溶導電油墨之間比較其所獲得的電流反應並無明顯的差異。

實施例 7

藉由混合 83 克之 Precisia LFW201-H 水溶性導電材料及結合劑、8.7 克氧化還原聚合物 700 之 5% 溶液(如上所述)，以及取自黑麴菌之 0.5 克葡萄糖氧化酶配製根據本發明一具體例的水可互溶導電油墨。在混合之後，將獲得之水可互溶導電油墨如實施例 4 中所述塗佈至(即塗抹至)一網印碳電極上。此獲得之酶電化學式當暴露於 10 毫莫耳之葡萄糖時可產生約 10 奈安培的信號。此信號維持 1 小時的測試期間，因此顯示水可互溶導電油墨的各種成分可有效地被固定。

實施例 8

將具有分子量(Mw)2300 之異丙苯端蓋的 5 克聚苯乙烯-共聚-順丁烯二酐部分異辛酯細粉末(取自 Aldrich 公司)溶

解於 20 克之 2-丁氧乙醇所形成的一聚合樹脂糊配製根據本發明之水可互溶導電油墨。接著，將 12 克之石墨粉末(2 微米粒徑，取自 Aldrich 公司)和 2 克之碳黑(黑珍珠級 3700，取自 Cabot 化學公司)在三滾軸研磨機上與聚合樹脂糊相混合 10 分鐘。接著取 10 克部分獲得之混合物進一步與 0.5 克之 N',N'-二甲基乙醇胺(一種揮發性抗衡離子，取自 Aldrich 公司)相混合。接著，加入 3 毫升的水使其形成中間混合物。以 3 號仔巴(K-bar)塗佈至聚酯基板上之一部分此中間混合物的電阻約為每平方 300 歐姆。

將 1.3 克之中間混合物與 0.56 克氧化還原聚合物 700 之 5%水溶液及取自黑麴菌之 30 毫克葡萄糖氧化酶相混合而產生根據本發明一具體例之水可互溶導電油墨。

將此水可互溶導電油墨塗佈至一碳電極上(如第 5A 至 5D 圖中所示)然後在 0.7 毫升每分鐘的微流體測試系統內以含葡萄糖的溶液於約 5 小時的期間在 0.7 毫升每分鐘下進行測試。在測試期間 10 毫莫耳葡萄糖溶液可獲得之電流反應為 80 奈安培。

實施例 9

根據本發明一具體例之水可互溶導電油墨的配製係藉由混合 120 毫克之葡萄糖去氫酶-PQQ 加成物(購自 Toyobo 公司，大於 500 IU/毫克)和 6.1 克氧化還原聚合物 700 之 3.5%水溶液。將 65 克之 Coates 66756 水可互溶石墨漿加入獲得之混合物內。然後加入 930 毫克之 Cabosil LM150 矽

並且以 2000 rpm 的攪拌機將獲得之組成物混合 10 分鐘。

將水可互溶導電油墨印刷於具有銀/氯化銀參考電極之 3.75 平方毫米的電極上然後在 75°C 下乾燥 20 分鐘而形成酶電化學式感測器。在如實施例 4 所述之流動槽內施予 300 毫伏特電壓下測試酶電化學式感測器，以及利用流速為 0.7 毫升/分鐘之磷酸鹽緩衝溶液內的葡萄糖。獲得之電流反應示於第 14 圖的數據。第 14 圖顯示在感測器連續作業和測試的 2.5 小時期間具有穩定的電流反應。

應瞭解本發明之具體例所描述的各種替代物可運用於本發明的實作上。下列申請專利範圍係界定本發明的範圍，因而涵蓋該申請專利範圍內的方法和構造及其相等物。

【圖式簡單說明】

藉由參考下述依據本發明原理之舉例性具體實施例的詳細說明以及附圖可更瞭解本發明的特徵和優點，其附圖為：

第 1 圖係說明根據本發明一例示性具體例可被用於水可互溶導電油墨之結合劑內的共聚物；

第 2 圖係說明根據本發明一例示性具體例可被用於水可互溶導電油墨之結合劑內的另一種共聚物；

第 3 圖係說明根據本發明又另一例示性具體例可被用於水可互溶導電油墨之結合劑內的又另一種共聚物；

第 4 圖係說明根據本發明明進一步例示性具體例產生可被用於水可互溶導電油墨之結合劑內之共聚物的反應順

序；

第 5A 圖係根據本發明一例示性具體例說明一部分酶電化學式感測器的簡單頂視圖；

第 5B 圖係第 5A 圖之酶電化學式感測器沿著線 5B-5B 的簡單剖面圖；

第 5C 圖係第 5A 圖之酶電化學式感測器沿著線 5C-5C 的簡單剖面圖；

第 5D 圖係第 5A 圖之酶電化學式感測器沿著線 5D-5D 的簡單剖面圖；

第 6 圖係根據本發明一例示性具體例用於製造一部分酶電化學式感測器之方法的流程圖；

第 7 圖說明可被應用於根據本發明一例示性具體例之水可互溶導電油墨的結合劑內用於合成丙烯醯胺和乙烯二(環戊二烯)亞鐵之高分子量氧化還原共聚物的一簡單反應順序；

第 8A 圖係說明以連續流動模式獲得根據本發明一例示性具體例之酶電化學式葡萄糖感測器的校正數據；

第 8B 圖係說明根據本發明一例示性具體例之酶電化學式葡萄糖感測器在時間上的電流穩定性；

第 9 圖係說明運用微流體測試系統獲得根據本發明一例示性具體例之酶電化學式感測器的校正數據；

第 10 圖係根據本發明一酶電化學式感測器具體例對各種葡萄糖濃度的瞬態反應；

第 11 圖係根據本發明一酶電化學式感測器具體例對

各種葡萄糖濃度的累積瞬態反應；

第 12 圖係根據本發明一具體例之酶電化學式感測器的一校準曲線；

第 13 圖係說明根據本發明一具體例之酶電化學式感測器的反應穩定性的圖；

第 14 圖係說明根據本發明一具體例之酶電化學式葡萄糖感測器的校正數據的圖。

【主要元件符號說明】

10	10	聚苯乙烯-共聚-順丁烯二酐的共聚物
	20	聚苯乙烯-共聚-順丁烯二酐的水解共聚物
	30	聚苯乙烯-共聚-順丁烯二酐的部分酯化共聚物
	40	磷酸功能基化聚合物
	42	磷酸
15	44	環氧樹脂
	100	酶電化學式感測器
	102	基板
	104a	參考電極
	104b	工作電極
20	106a	電極表面
	106b	電極表面
	108	導電層
	112	絕緣層
	114	參考油墨層

- 600 方法
- 610 塗佈水可互溶導電油墨至酶電化學式感測器
的基板
- 620 乾燥水可互溶導電油墨使形成含有效地水不
可溶結合劑的導電層
- 700 氧化還原聚合物

(102年2月23日修(更)正本)

專利申請案第 95112752 號
ROC Patent Appln. No. 95112752
修正之中文申請專利範圍替換頁- 附件(四)
Amended Claims in Chinese - Encl. (IV)
(民國 102 年 2 月 23 日送呈)
(Submitted on February 23, 2013)

102 年 2 月 23 日修正

1-5 頁

公告本

十、申請專利範圍：

1. 一種用於酶電化學式感測器之水可互溶導電油墨，此水可互溶導電油墨包括：

一導電材料；
一酵素；
一介質；以及
一結合劑，

其中導電材料、酵素、介質及結合劑可被配製成水可互溶之水溶液為主的分散體，以及其中結合劑在乾燥後變成可實施的非水溶性；且

其中該結合劑包含一樹脂聚合物及一抗衡離子。

2. 如申請專利範圍第 1 項之水可互溶導電油墨，其中該導電材料係細分導電顆粒材料。
3. 如申請專利範圍第 2 項之水可互溶導電油墨，其中該細分導電顆粒材料為碳黑材料、石墨材料、白金顆粒材料、鉑碳材料、金顆粒材料、鉑/鈦合金顆粒材料、鈦顆粒材料、鈦顆粒材料，或鈦顆粒材料中至少之一。
4. 如申請專利範圍第 1 項之水可互溶導電油墨，其中該酵素係葡萄糖氧化酵素。
5. 如申請專利範圍第 4 項之水可互溶導電油墨，其中該葡萄糖氧化酵素係葡萄糖氧化酶。
6. 如申請專利範圍第 4 項之水可互溶導電油墨，其中該

葡萄糖氧化酵素係吡咯喹啉醌
(pyrrolo-quinoline-quinone)(PQQ)葡萄糖去氫酶。

7. 如申請專利範圍第 1 項之水可互溶導電油墨，其中該介質係二(環戊二烯)亞鐵。
8. 如申請專利範圍第 1 項之水可互溶導電油墨，其中該介質係鐵氰化物。
9. 如申請專利範圍第 1 項之水可互溶導電油墨，其中該介質係一聚合介質。
10. 如申請專利範圍第 1 項之水可互溶導電油墨，其中該抗衡離子係一揮發性抗衡離子。
11. 如申請專利範圍第 1 項之水可互溶導電油墨，其中該結合劑包含一樹脂聚合物及水可互溶導電油墨乾燥後可從水可互溶導電油墨被移除的一水可互溶有機共溶劑。
12. 如申請專利範圍第 11 項之水可互溶導電油墨，其中該水可互溶有機共溶劑為醇、甘醇醚、甲卡必醇、丁卡必醇、乙二醇、乙二醇二醋酸酯、二丙酮醇及磷酸三乙酯中至少之一。
13. 如申請專利範圍第 1 項之水可互溶導電油墨，其進一步含有水可互溶共溶劑。
14. 如申請專利範圍第 1 項之水可互溶導電油墨，其中該

介質係四硫富瓦烯(tetrathiafulvalene)/四氰基醌甲烷(tetracyanoquinodomethane)(TTF/TCNQ)。

15. 一種酶電化學式感測器，其包括：

一基板；以及

一形成自經乾燥的水可互溶導電油墨的導電層
其含有

一導電材料；

一酵素；

一介質；以及

一結合劑，

其中該水可互溶導電油墨係水可互溶之水溶液為主的分散體，以及該結合劑在乾燥後變成可實施的非水溶性。

16. 如申請專利範圍第 15 項之酶電化學式感測器，其中該導電層的經乾燥結合劑係作為透析膜。

17. 如申請專利範圍第 15 項之酶電化學式感測器，其中該介質係一聚合介質。

18. 如申請專利範圍第 15 項之酶電化學式感測器，其中該導電層係作為酶電化學式感測器的一電極。

19. 如申請專利範圍第 18 項之酶電化學式感測器，其中該導電層係作為酶電化學式感測器的一工作電極。

20. 如申請專利範圍第 15 項之酶電化學式感測器，其中該酵素、介質、結合劑及導電材料係實質上均勻地分佈於導電層之中。
21. 一種製造一部分酶電化學式感測器的方法，此方法包括：

將水可互溶導電油墨塗佈至一酶電化學式感測器的基板，其中該水可互溶導電油墨含有：

- 一導電材料；
- 一酵素；
- 一介質；以及
- 一結合劑，

其中該導電材料、酵素、介質及結合劑被配製成水可互溶之水溶液為主的分散體，以及其中該結合劑在乾燥後變成可實施之非水溶性；以及

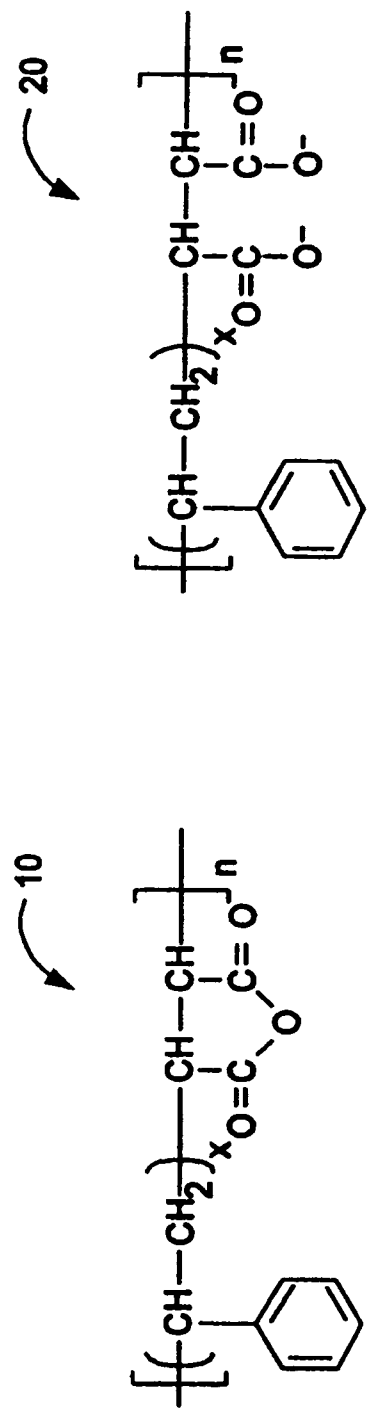
乾燥該水可互溶導電油墨而使其於包括可實施之非水溶性結合劑之基板上形成導電層。

22. 如申請專利範圍第 21 項之方法，其中該塗佈步驟係利用網版印刷技術而完成。
23. 如申請專利範圍第 21 項之方法，其中該乾燥步驟係在約 75°C 的溫度下乾燥約 20 分鐘而完成。
24. 如申請專利範圍第 21 項之方法，其中該乾燥步驟係將該水可互溶導電油墨固定至該基板而因此形成該

導電層。

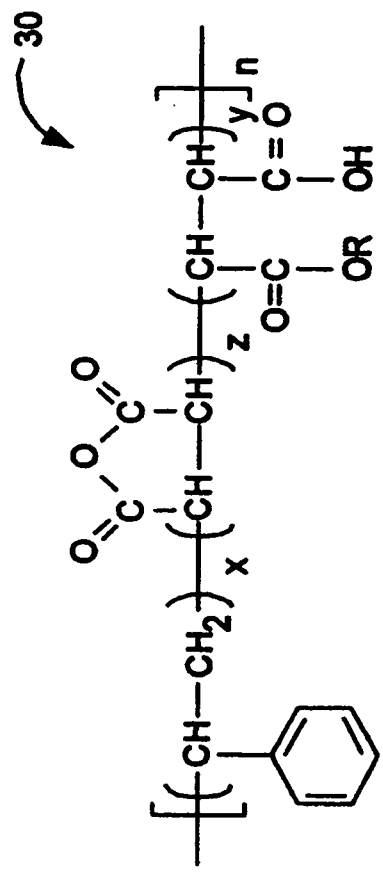
25. 如申請專利範圍第 21 項之方法，其中該塗佈步驟係塗佈含有一聚合介質的水可互溶導電油墨。
26. 如申請專利範圍第 21 項之方法，其中該乾燥步驟係形成作為酶電化學式感測器之電極的一導電層。
27. 如申請專利範圍第 26 項之方法，其中該乾燥步驟係形成作為酶電化學式感測器之工作電極的一導電層。
28. 如申請專利範圍第 21 項之方法，其中該塗佈步驟係塗佈水可互溶導電油墨其中該酵素係葡萄糖氧化酶。
29. 如申請專利範圍第 21 項之方法，其中該塗佈步驟所塗佈之水可互溶導電油墨係配製成一均質的分散體。
30. 如申請專利範圍第 29 項之方法，其中該乾燥步驟係形成含有均勻分佈之酵素、介質、結合劑及導電材料的導電層。
31. 如申請專利範圍第 21 項之方法，其中該塗佈步驟係塗佈含有粒徑小於 100 微米細粉導電顆粒之導電材料的水可互溶導電油墨。

十一、圖式：

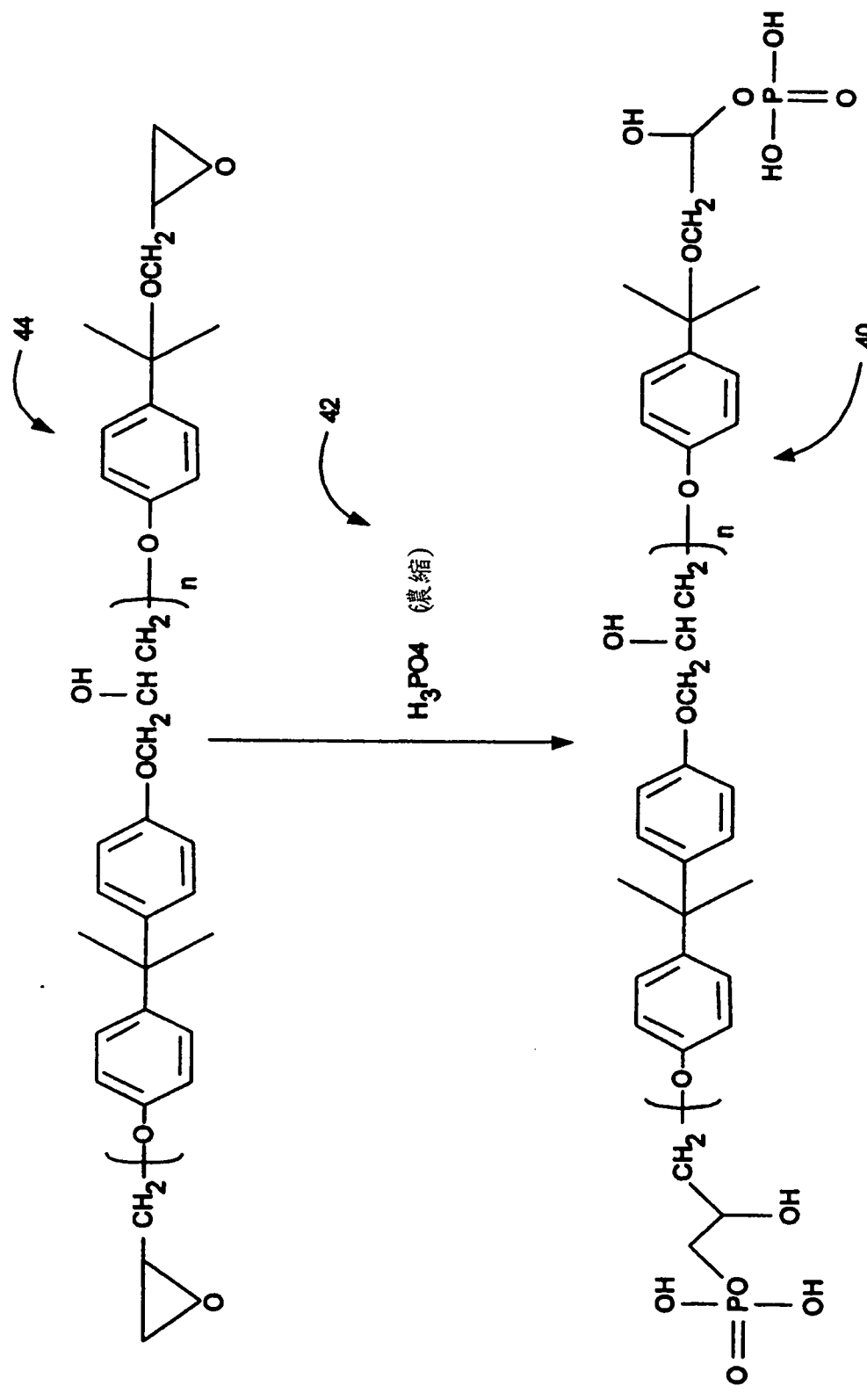


第 1 圖

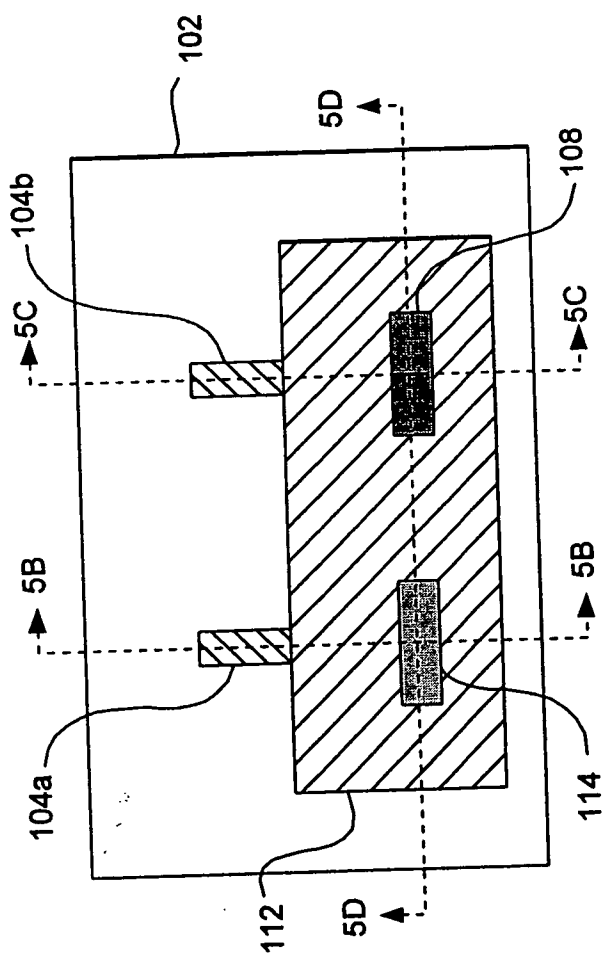
第 2 圖



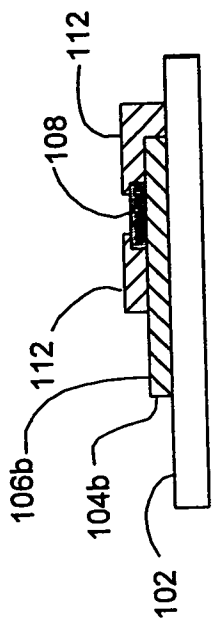
第 3 圖



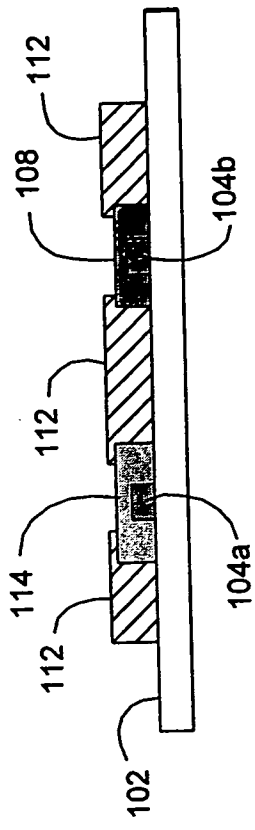
第 4 圖



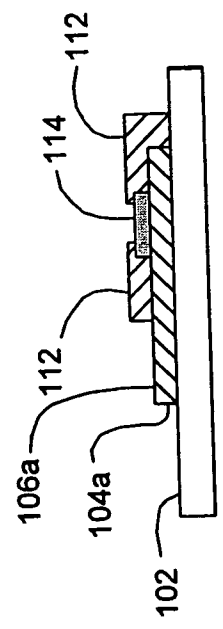
第 5A 圖



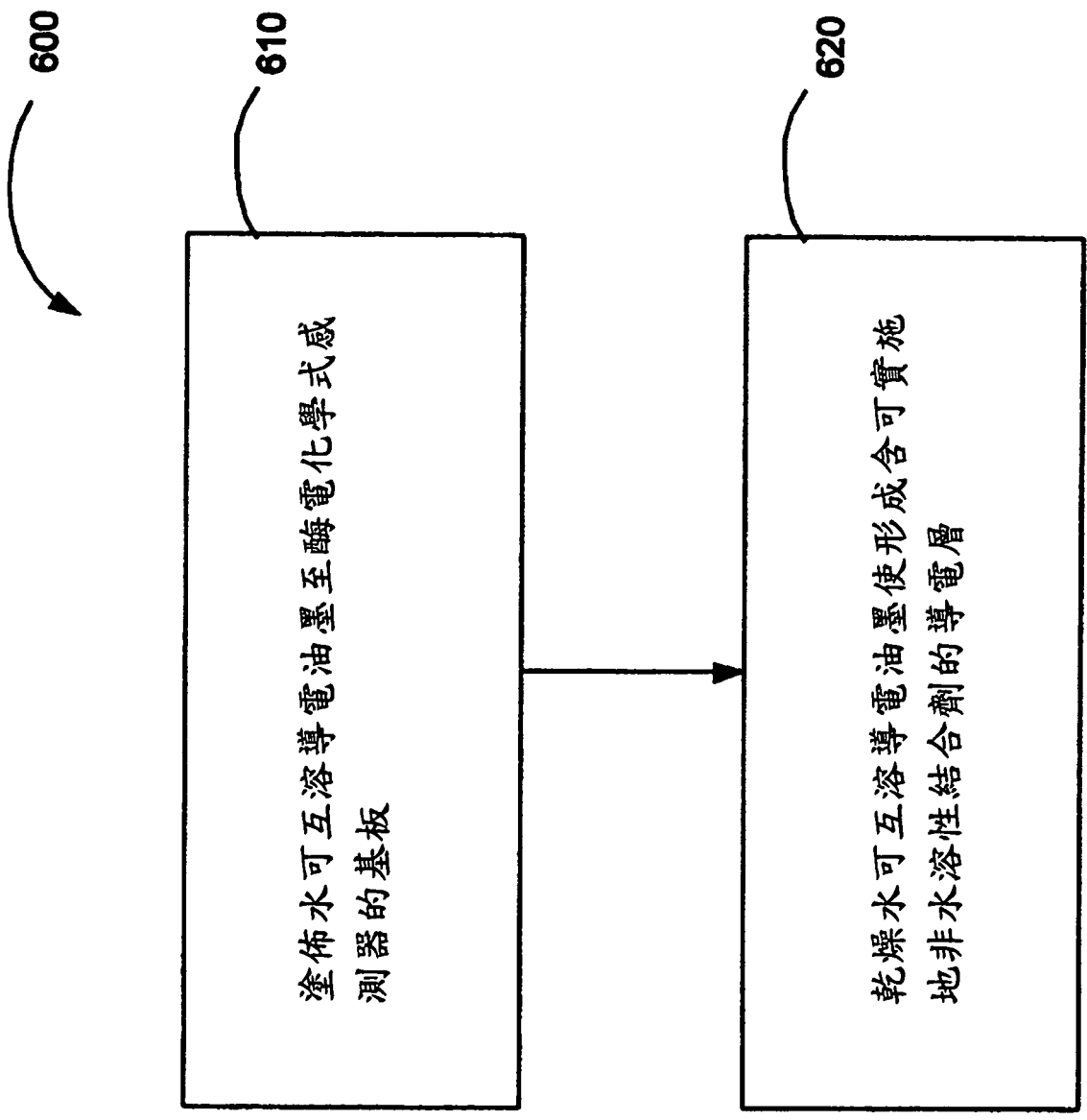
第 5C 圖



第 5D 圖



第 5B 圖



第 6 圖

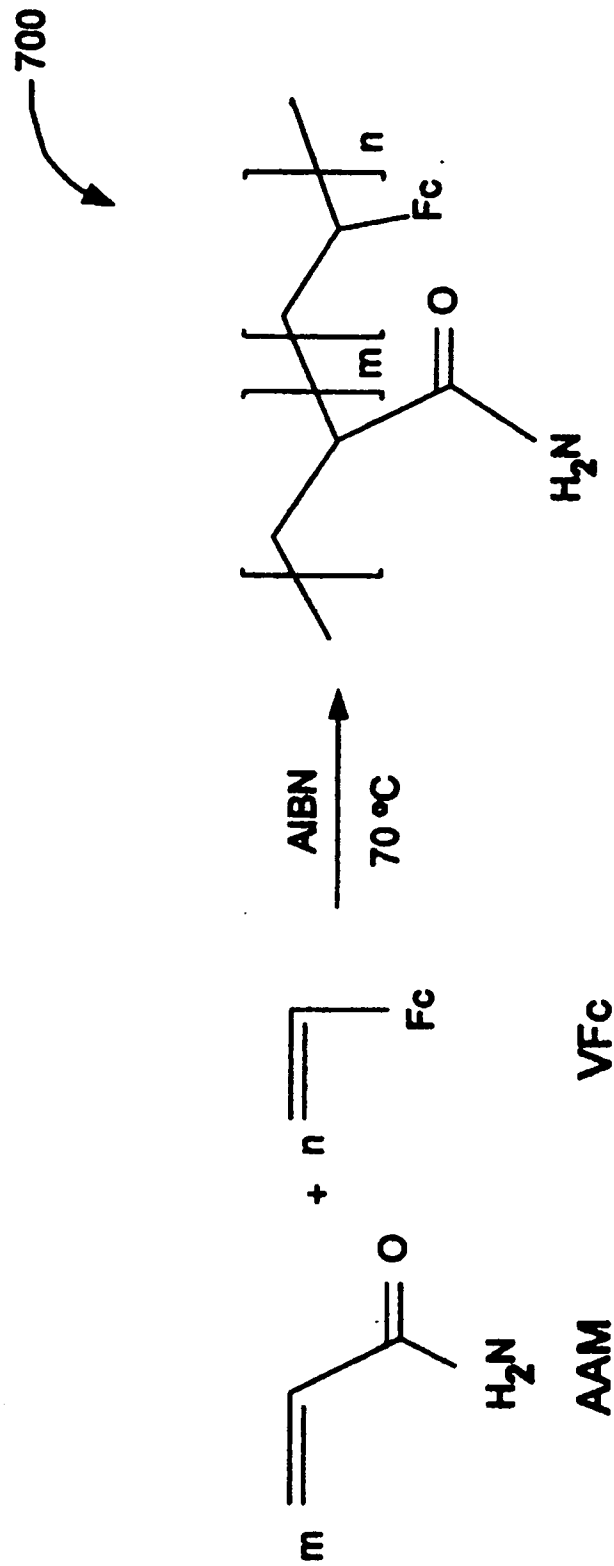
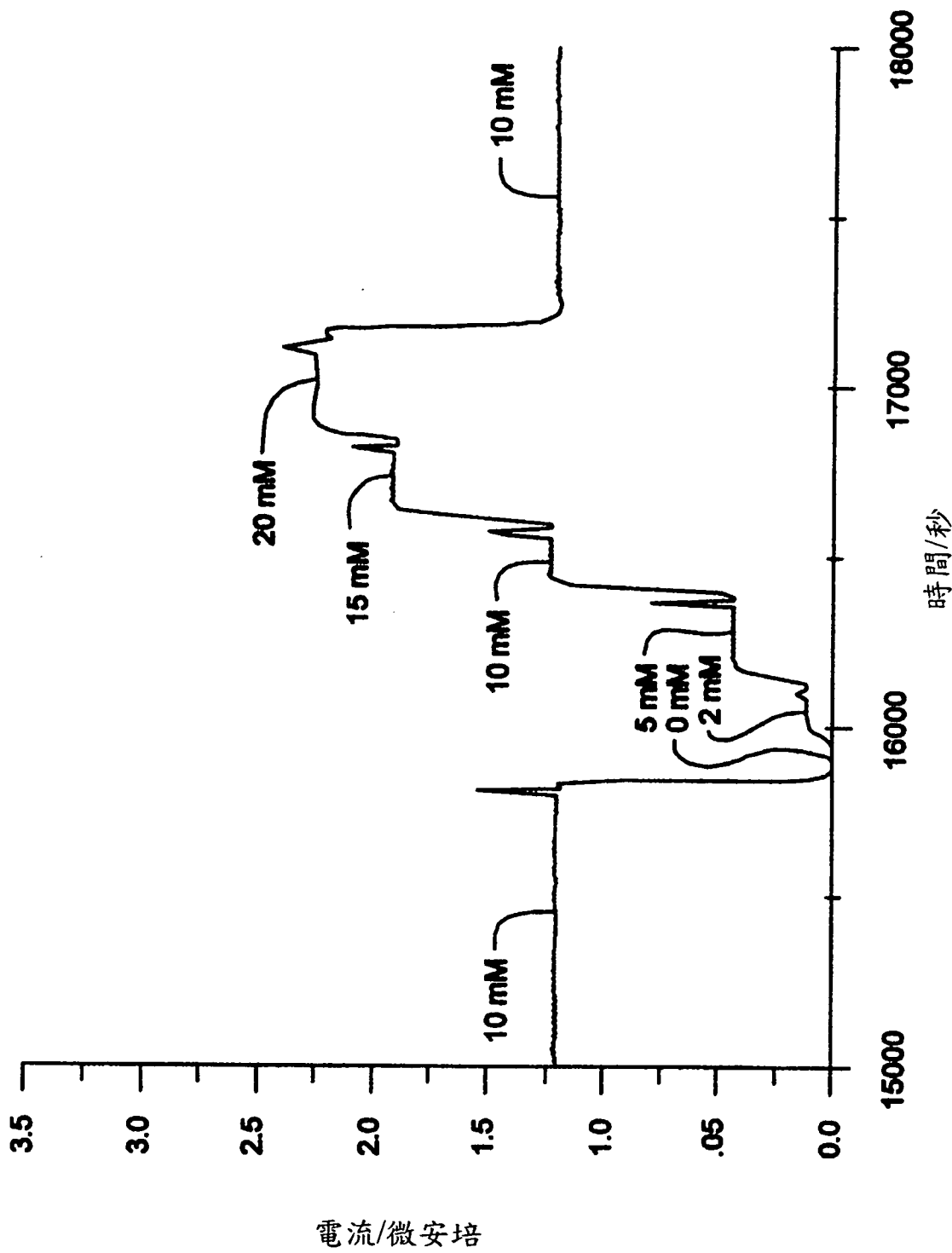
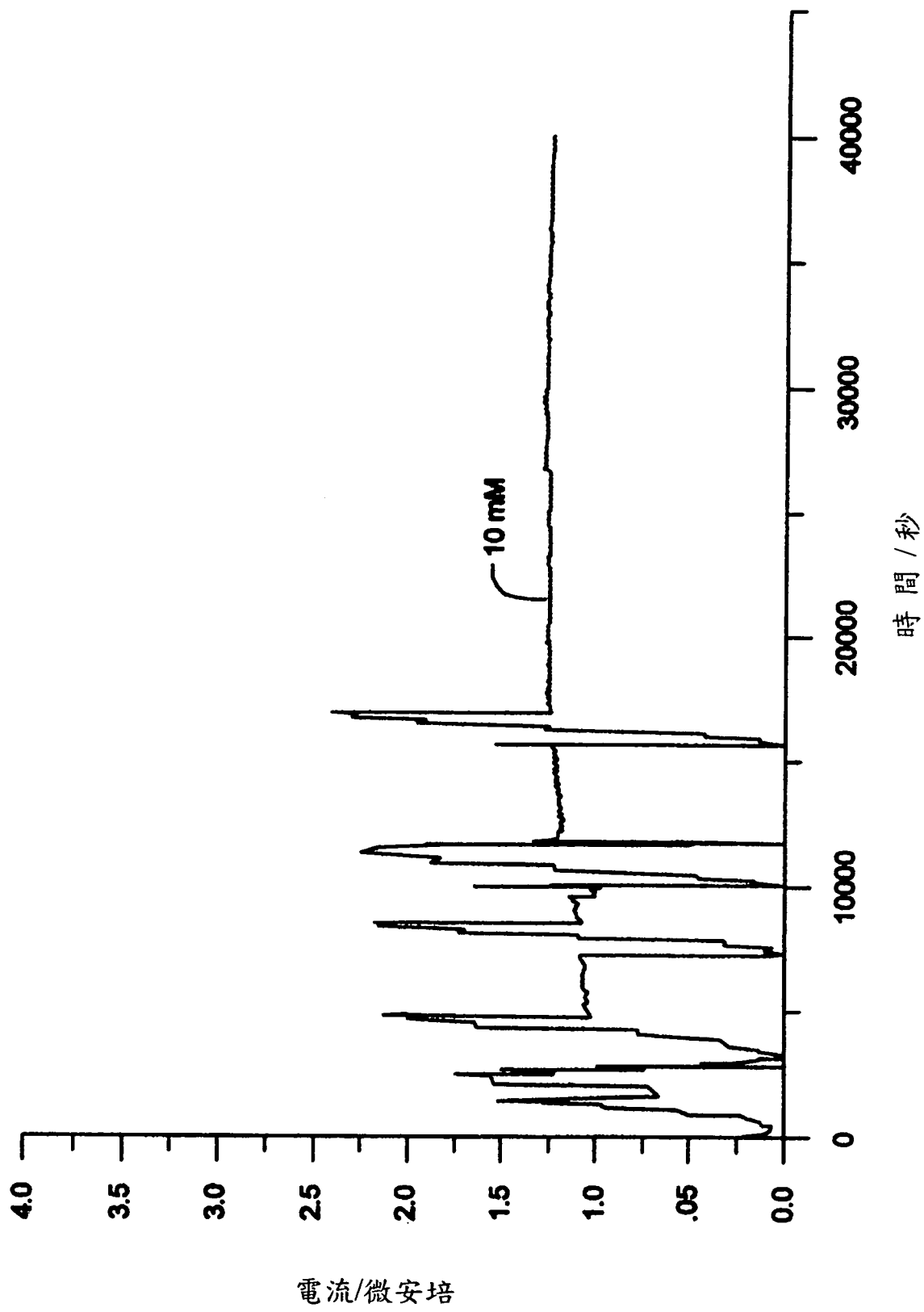


圖 7 第

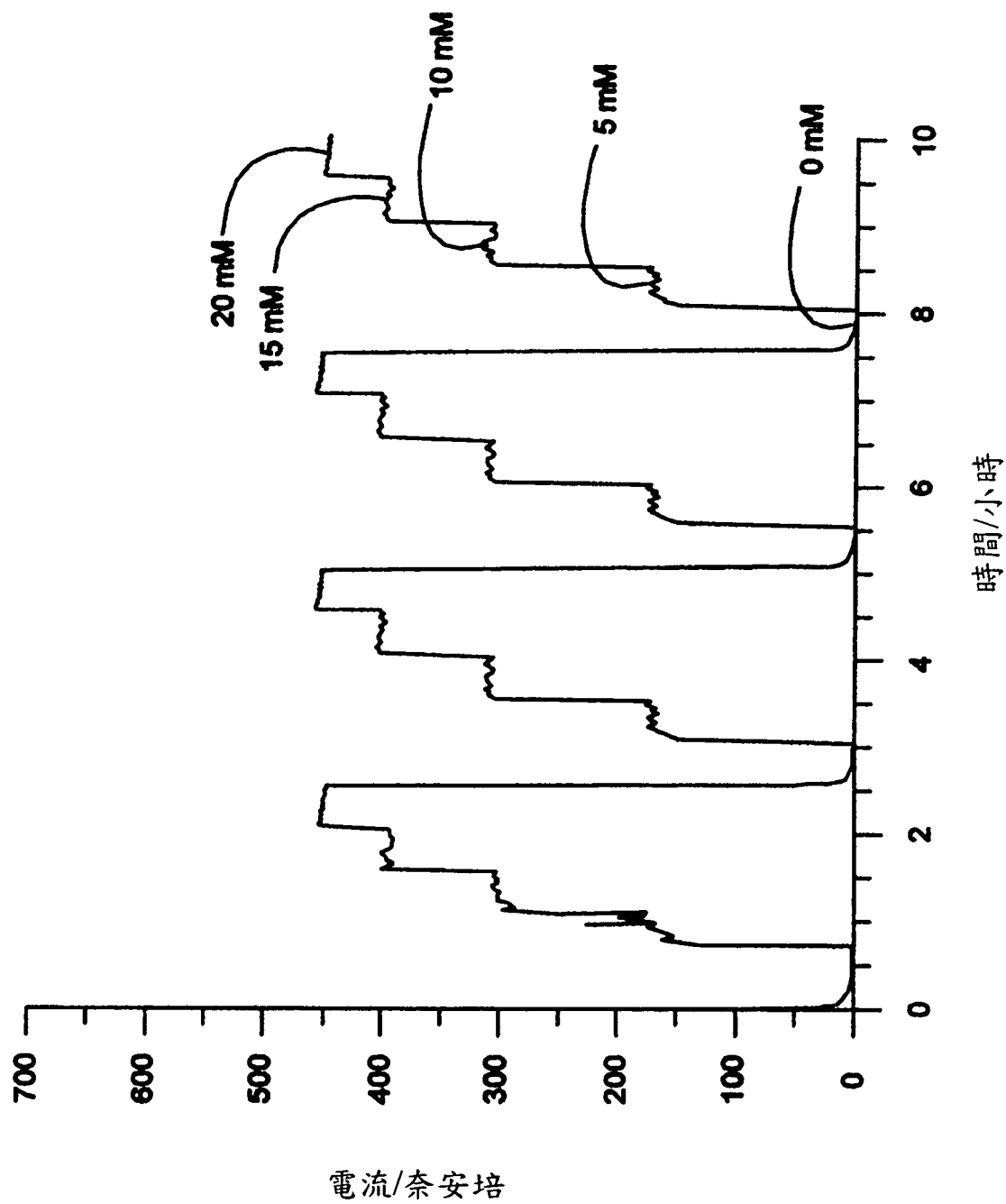


第 8A 圖

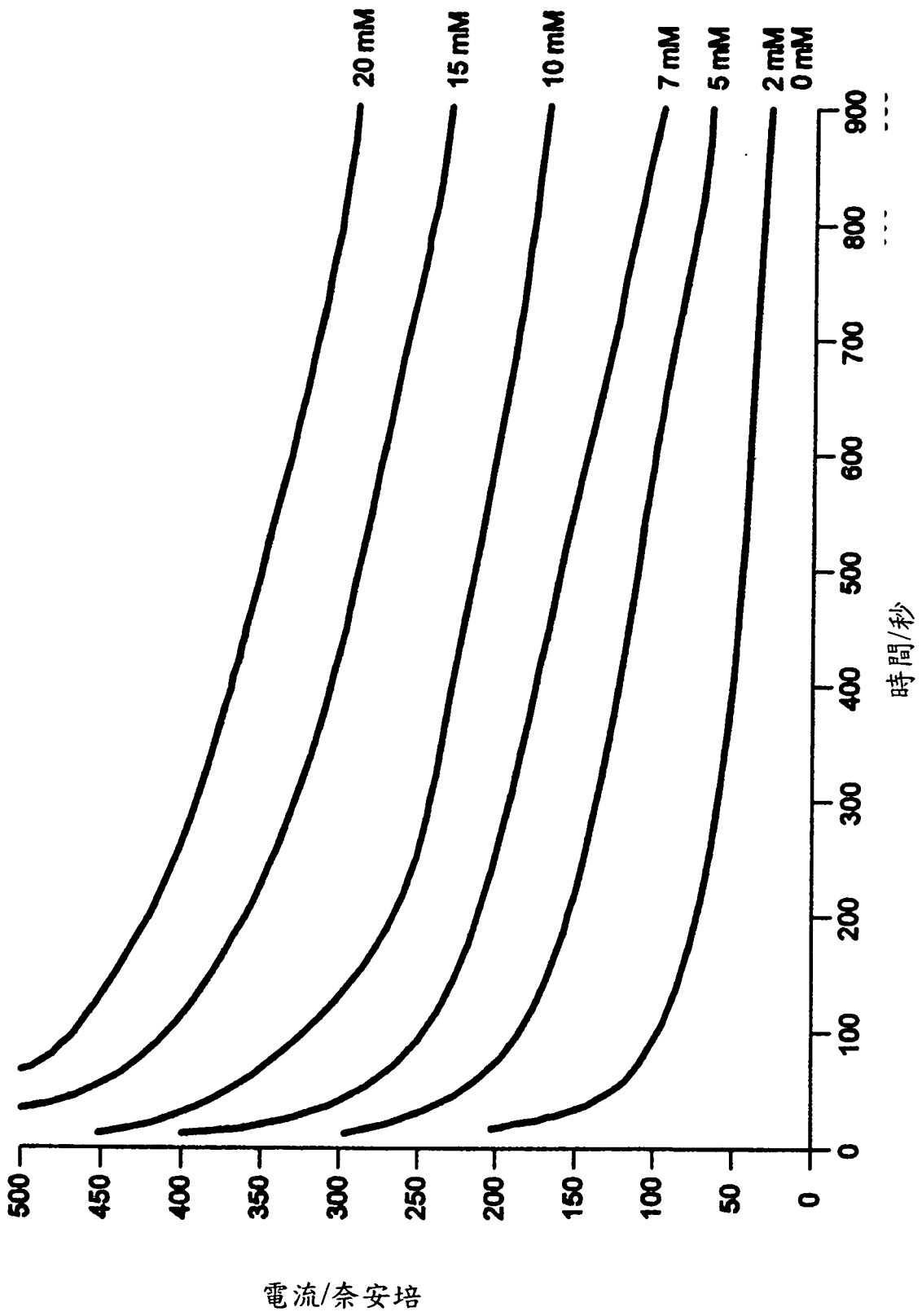
7/13



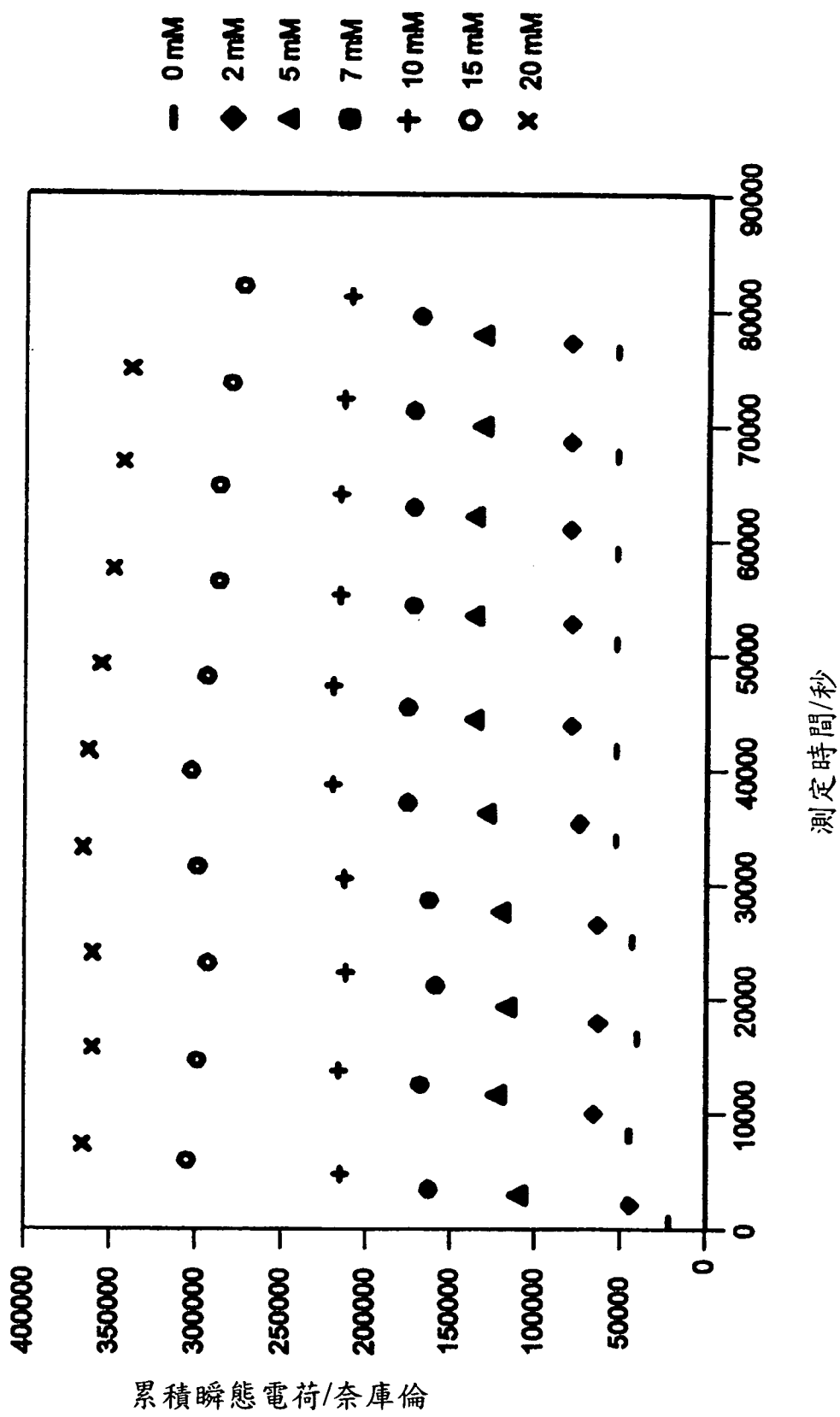
第 8B 圖



第 9 圖

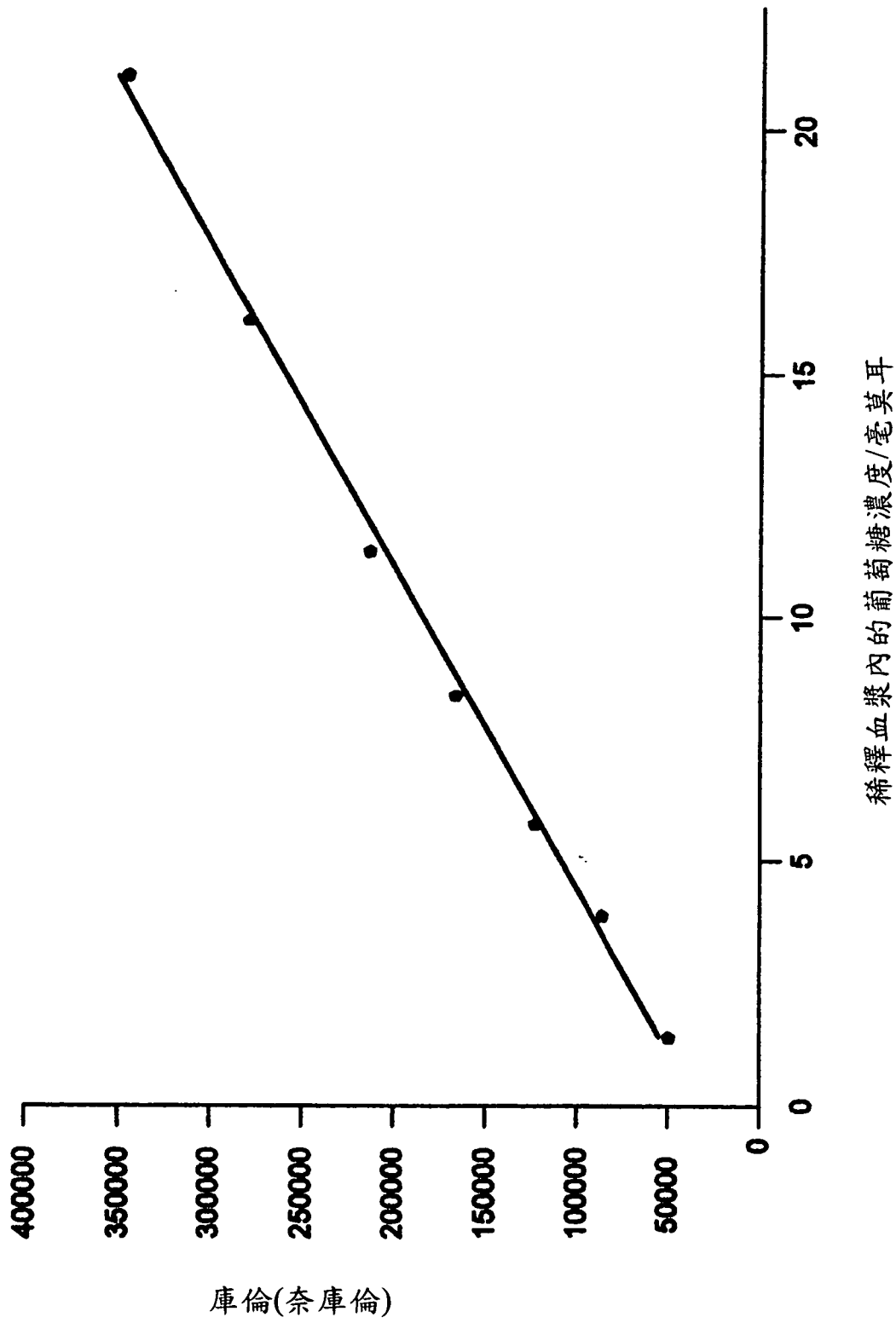


第 10 圖

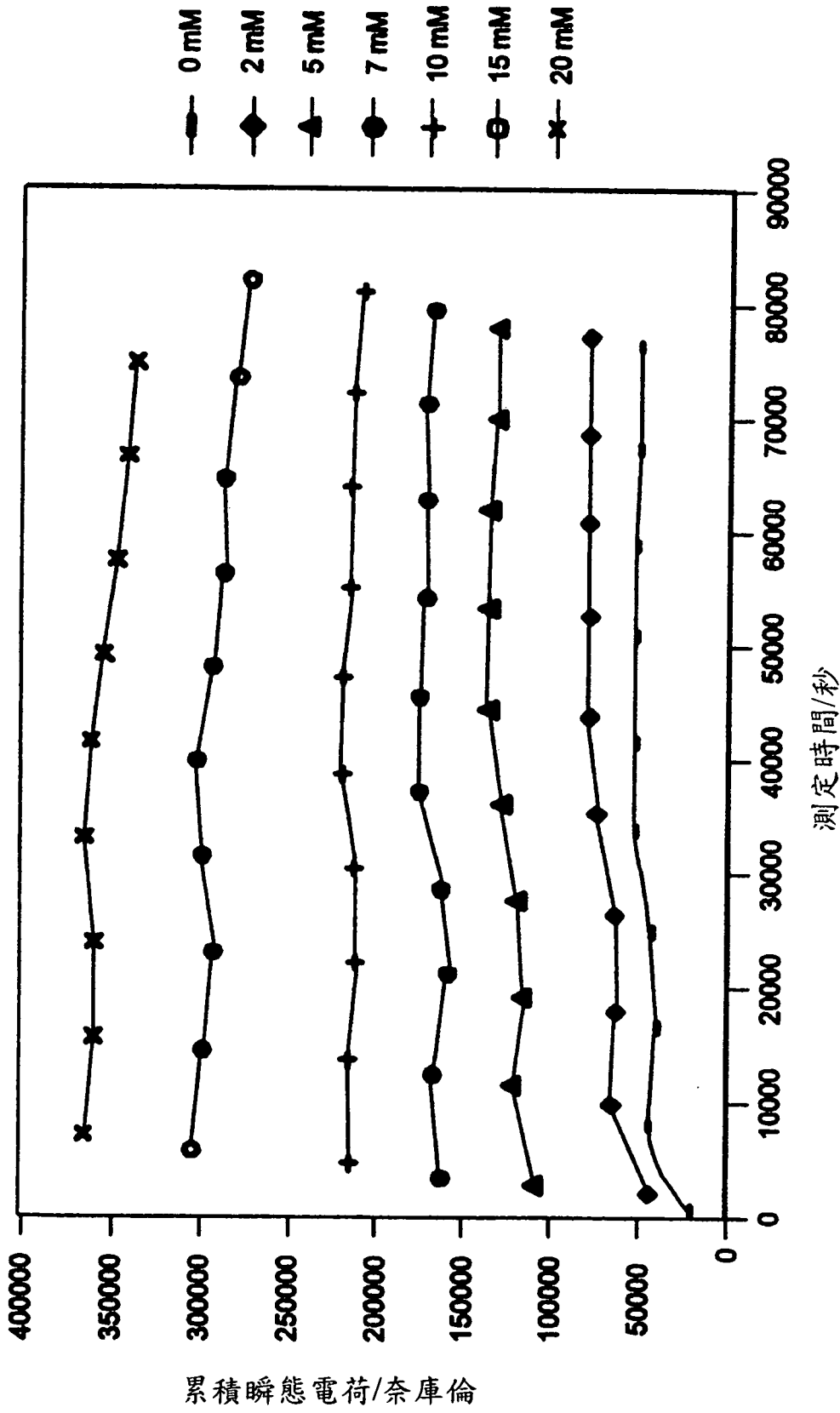


第 11 圖

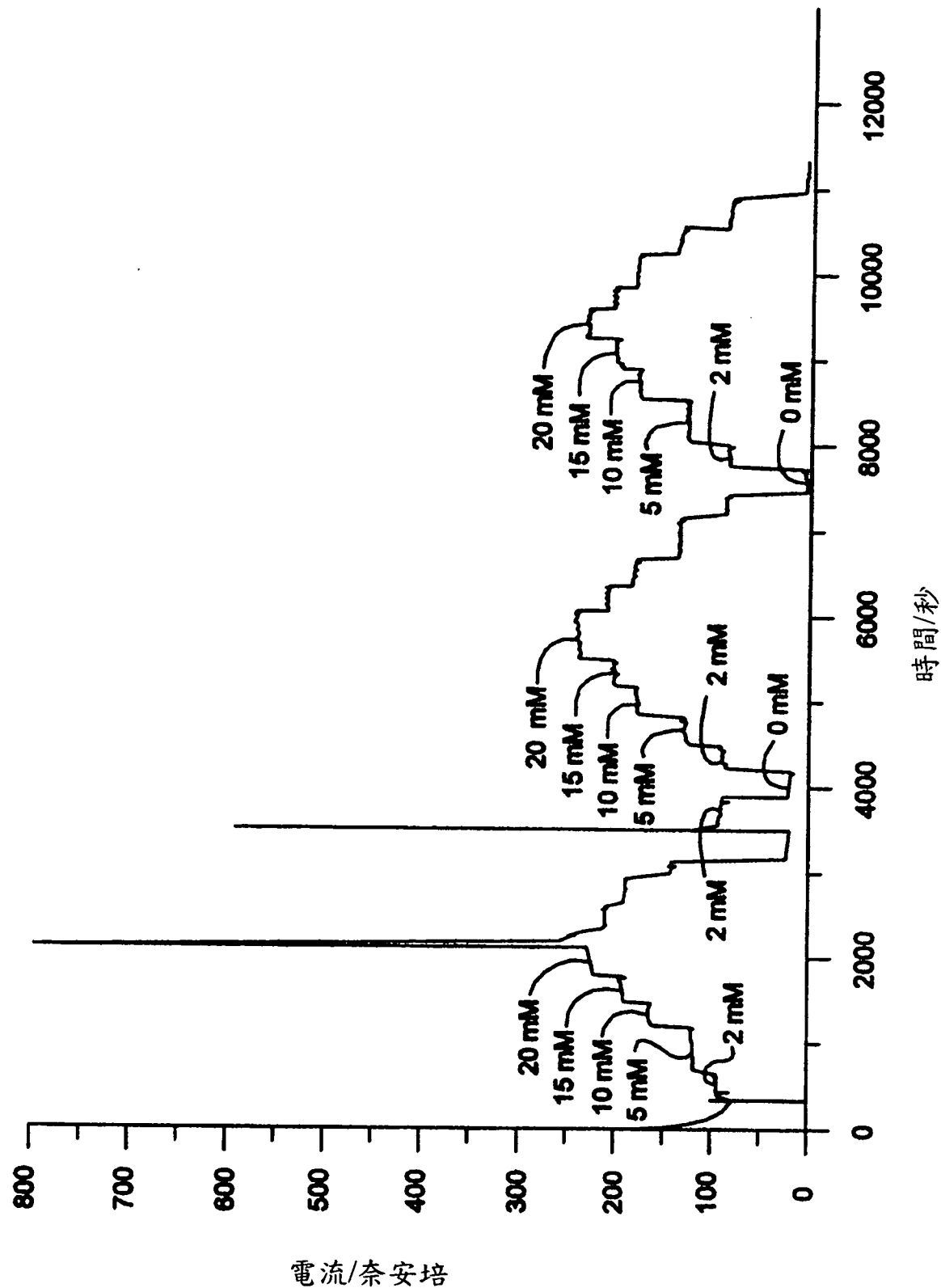
根據累積葡萄糖電流值之感測器校準



第 12 圖



第 13 圖



第 14 圖