

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

## 血糖濃度感測電極之設計與開發

### The Design and Development of Blood Glucose Sensing Electrode

計畫編號：NSC 87-2218-E-002-036

執行期限：86 年 8 月 1 日至 87 年 7 月 31 日

主持人：林啟萬 國立台灣大學醫學工程學研究所

cwlin@cbme.mc.ntu.edu.tw

#### 一、中文摘要

本計畫嘗試設計積體化電極電路，並簡化製程、以穩定品質、降低成本，並嘗試引進微機電系統(MEMS)與半導體技術，試圖創新血糖濃度量測感測器之研製。這個系統包含了微感測器(Microsensor)、單晶片微處理器(80C196KC)以及液晶顯示器(LCD)這些可攜帶元件。微感測器包含有兩電極(WE, RE)、電流電壓轉換和 OP 放大器。微感測器的大小是 1.0 mm × 1.0 mm 且是藉由 UMC 0.5 μ CMOS 技術來完成，電極的面積為 600 μ × 800 μ。

**關鍵詞：**血糖濃度、生物感測器、微電極

#### Abstract

In this project, we proposed and implemented an integrated microsensor by using MEMS and IC technologies to improve the quality of sensor chip and minimize the cost by possible mass production. The system contains a microsensor, a single chip microprocessor (80C196KC) and a LCD for portable instrument prototype. The microsensor is designed and fabricated with a two-electrode electrochemical cell, a current-to-voltage converter and operational amplifiers. The microsensor is implemented by using the UMC 0.5μ CMOS technology with die size of 1.0 mm × 1.0 mm. The electrode area is 600μ × 800μ.

**Keywords:** Blood Glucose, Biosensor, Microelectrode

#### 二、緣由與目的

由於經濟快速的發展，人民生活的富裕，以及飲食，生活習慣的改變，糖尿病已隱然成為全體健康之慢性殺手。依據行政院衛生署的報告，全國糖尿病患者已高達五十萬人之巨；其病患之發生率高居各慢性疾病之冠，高達 178%，且一旦罹患此疾病將可能引發視網膜疾病、高血壓、心臟血管方面致命之疾病。糖尿病患者雖然可依患病之型態，借助藥物、飲食、以及生活習性的改變，以控制病情之進程；但病患將因必須長期就醫追蹤與各種限制，導致其活動性及生活品質之下降。

本計畫主要目的在於簡化電極的製程、穩定品質、降低成本之外，並嘗試引進微機電系統(MEMS)與半導體技術，試圖創新血糖濃度量測感測器之研製，以及為了要改善糖尿病患資訊之收集與分析整理系統，所以必須設計一台可傳輸資料的血糖。

本研究在發展上，電極量測系統係採用二電極組態，其中包括工作電極(Working Electrode, WE)及參考電極(Reference Electrode, RE)。因為使用二電極系統可能會產生過電壓(Overpotential)的不良影響，但目前電極已朝微小化進行，所以電流很小，且工作電極與參考電極之間的溶液所造成的阻抗相對的變小，固因溶液阻抗所引起的電壓降低，因此過電壓的現象應可避免。將電極微小化是希望利用微電子製造技術，製造出重現性高之微型電極，一方面可大量製造降低成本，一方面以微電子現有之技術、設備提高其重現性及多樣性。

在完成微電極原型設計之後，本研究就利用單晶片製成一簡易的 Potentiostat，能產生不同的驅動波型以進行測量。

進行之項目包括有：

1. 電流式微感測器的設計製作：薄膜沈積的應用，微影，蒸鍍。
2. 血糖儀的製作：電極訊號放大部分，訊號輸入部分，單晶片部分。
3. 巨電極的製作
4. 固定酵素的方法：物理性吸附法，交聯法，高分子包埋法。
5. 市售試片的測試

### 三、結果與討論

#### 微電極系統的設計

系統包含工作電極及參考電極。其中工作電極是選用鉑電極，參考電極是選用銀/氯化銀電極。圖 1 為微感測器的設計圖。其中在這晶片中心的金屬電極為工作電極，而環繞在工作電極四周的電極為參考電極，由於這晶片的金屬電極材料均為鋁鈦合金，所以就必須要對這晶片的兩個電極表面做修正，本研究是採用半導體製程當中的微影及蒸鍍的方法來對晶片的電極表面做修正。

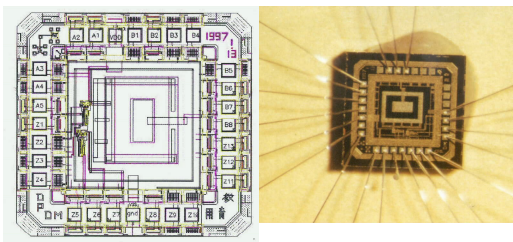


圖 1 微感測器之設計與成品圖

其製作流程如下：

1. 將晶片表面清潔乾淨，將晶片放入丙酮溶劑中加溫，也可以利用超音波將晶片表面的髒物質給清潔乾淨，然後再做去水的步驟，以增加晶片表面與光阻的附著性。
2. 上光阻：採用正光阻當塗覆材料，首先，將晶片的轉速加速到 1000 rpm 的

低轉速 10 秒，適量的光阻才覆在晶片的表面，接著轉速增加到 3500 rpm 的高轉速 40 秒。

3. 軟烤：此步驟是將上完光阻後的晶片放入 120 的烤箱中 20 分鐘，將原來液態光阻變成為固態薄膜，並增加光阻層對晶片表面的附著能力。
4. 曝光：曝光是要將光罩上的圖樣轉移到晶片表面的光阻層上。本實驗是採用接觸式曝光法而且曝光時間為 60 秒。
5. 顯影：此步驟是要讓光阻層受光照射的部分會被顯影劑溶解，以便將光罩上的圖樣轉移到光阻層上，而且本實驗顯影的時間為 10 秒。
6. 蒸鍍：利用蒸鍍法在晶片的電極上鍍上一層金屬薄膜，在工作電極上鍍金鉑，參考電極上鍍上銀。
7. 去光阻：是讓光阻溶於丙酮中，此時光阻上的金屬就會脫離，只有受光照射的位置上會殘留金屬。
8. 重複步驟，然後將銀金屬鍍在參考電極上。
9. 將銀金屬製作成銀/氯化銀電極。將鍍好的晶片放入含氯離子的溶液例如 NaCl 溶液，並在銀金屬上加一正電壓，就可製作成銀/氯化銀電極。

#### 血糖計的製作

血糖計構造包括電極訊號放大部分、訊號輸入部分、單晶片部分。本研究係利用單晶片處理器所產生的 PWM 訊號來做訊號輸入，將此訊號做數位類比轉換後可產生一固定電位或一掃描電位，此電位施加在放大器端，會使微電極兩端產生電流，然後經由放大器線路將此電流訊號轉換成電壓訊號，接著由單晶片接收這類比訊號並作類比數位轉換，然後由單晶片處理完後，並由液晶顯示器 (LCD) 顯示和經由 RS232 傳送。血糖計軟體架構流程圖，其流程為：

1. 程式開始後，程式會呼叫輸入鍵副函式，讓使用者利用鍵盤輸入其 ID，共五碼，並將鍵入值 ID 傳送至 LCD 上。
2. 軟體會問使用者是否要做校正，如果選 NO，軟體就直接跳到步驟 5

3. 如果選 yes，則分別插入兩不同濃度的試片，此時軟體會產生一訊號輸入到試片上，導致試片會分別產生一訊號。
4. 利用這兩個訊號來做校正，找出方程式  $y=ax+b$  之 a,b。
5. 插入待測物之試片，同步驟 3 會產生一訊號
6. 利用此訊號判斷出待測物之濃度。

### 固定酵素法

利用巨感測器來測試不同的固定酵素法，包括有：

#### 物理性吸附法

1. 將 0.2g CA 溶於 3 ml acetone 與 1 ml 的水中
2. 將 Pt, Ag wire 放入管中且用 epoxy 使之固定
3. 放入 NaCl 溶液中將 Ag wire 製成 Ag/AgCl
4. 將 CA solution 放入管中且在室溫中風乾
5. 將 GOD 溶解於 phosphate buffer 中且濃度為 500 units/ml
6. 取 25  $\mu$ l，放入 CA 膜上端在室溫中風乾
7. 然後在管的頂端覆蓋一透析膜且用 O-ring 固定
8. 依不同葡萄糖濃度測試 CV，作校正曲線

#### 交聯法：

1. 將 GOD 溶解於 0.1M、pH 7.2 的 phosphate buffer 中，直到濃度為 500 units/ml
2. 用相同的 phosphate buffer 配置成濃度為 50mg/dl 的 BSA 溶液
3. 分別取 10 $\mu$ l 的 GOD 及 BSA 溶液並混合後放入 cellulose acetate membrane 上
4. 1-2 分鐘後加入 10 $\mu$ l、2.5% 的 glutaraldehyde 溶液
5. 1 小時之後在巨電極的頂端加上一層透析膜

#### 高分子包埋法：

1. 先用真空蒸餾法在 70°C 下將

Pyrrole 純化。

2. 將 Pt wire 及 Ag/AgCl 電極放入 10 mM 的 KCl 溶液中，且此溶液含有 0.4M 的 pyrrole 及 500 units/ml 的 GOx，並施加 0.7 V v.s. Ag/AgCl 的電壓於 Pt wire 上，製作成 Pt/PPy/GOx 電極。
3. 將 Pt/PPy/GOx 電極放入 phosphate buffer (I=0.1M, pH 7.0) 溶液中，且施加 0.7 V v.s. Ag/AgCl，將 Pt/PPy/GOx 電極過氧化。

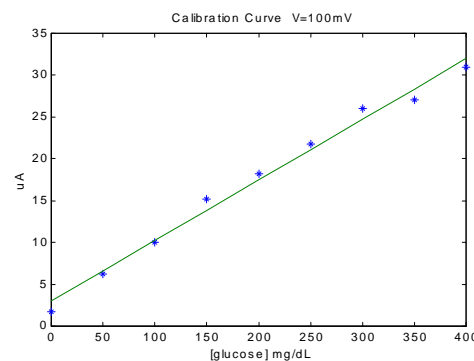
### 市售試片之測試

本研究所使用的量血糖試片廠牌為 Advantage 的市售試片，其試片主要使用的試劑為 Glucose dehydrogenase (0.9%)。

### 校正區線

分別在不同濃度的葡萄糖溶液中施加 100 mV 的電壓，量測 30~40 之間電流的平均值，並記錄其電流值，然後做線性迴歸曲線

圖 2 試片葡萄糖濃度的校正曲線。其斜率為 0.0497，間距為 1.7413，相關係數  $r=0.9967$ 。線性響應可到達 400 mg/dL



### 電極反應特性

1. CV：利用自製系統所得到的電流電壓特性。
2. 暫態時間反應：施加固定電壓之電流時間反應區線。

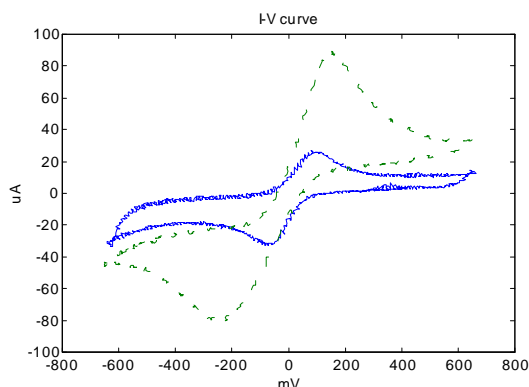


圖 3. 葡萄糖溶液之循環伏安圖；實線為 0.1M 含有 0.15M NaCl 及 pH=7.2 的磷酸鈉鹽緩衝溶液中，掃描速率為 100 mV/sec，虛線為含 100 mg/dL 的葡萄糖濃度。

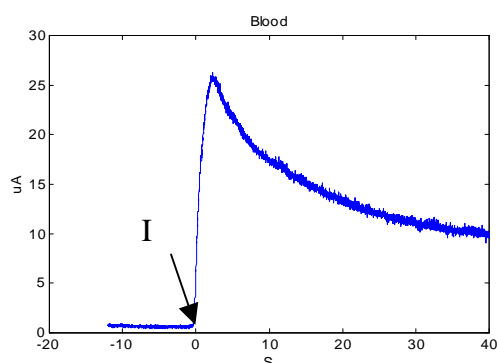


圖 4 葡萄糖溶液之時間響應圖

本研究已找出利用微影技術將微感測器的電極材料做修改的參數，以及血糖計的製作。其電極材料修改的製作程序參數如下：

1. 將晶片放入丙酮加熱至沸點約 15 分鐘，接著再將晶片放入甲醇溶液中約 5 分鐘，然後再泡去離子水，泡完之後就用氮氣將晶片上的水分給吹乾。
2. 上光阻，其轉速分為兩個階段，先讓旋轉器在轉速為 1000 rpm 的低轉速時旋轉 10 秒，然後再設轉速為 3500 rpm 的高轉速旋轉 40 秒。
3. 軟烤的條件參數為在 120 的烤箱中 20 分鐘。
4. 接觸式曝光法曝光 60 秒。
5. 顯影時間 10 秒。
6. 蒸鍍鉑與銀之前必須要先蒸鍍上鉻金屬，主要是增加蒸鍍源的金屬與晶片表面電極之附著性。
7. 蒸鍍好後就放入丙酮溶液中加溫，直到

光阻去除為止。

在血糖計的製作中，其已經完成了下列幾項功能：

1. 可在 LCD 上顯示。
2. 能經 RS232 傳輸。
3. 有鍵盤輸入的功能。
4. 能做類比/數位，數位/類比轉換。
5. 完成二電極工作原理之簡易型的 Potentiostat。
6. 能提供一穩定電壓且有 cyclic voltammetry 的功能，以進行測量。
7. scan rate = 50 mV/s ~ 1200 mV/s
8. 可量測 0.5 mA ~ 50 nA 範圍的電流值。
9. 有校正的功能。

將來改進的方向包括有：傳輸的方式 (RS232、Modem、TCP/IP)。在電極的製作上，希望將 potentiostat circuit 與電極製作在同一晶片上，目前中正大學電機系所的陳自強陳老師以在設計這微感測器。希望將這研究成果可以推展國內醫療儀器微電極再設計製造方面的不足，達到產業昇級之目的，另外對於相關技術之持續探討將有助於第二代產品之後續發展。

#### 四、計畫成果自評

目前本研究所設計出的血糖計與微感測器已獲得具體成果，因原定進行三年的計畫在第三年未獲核准繼續執行，故暫時中斷，但是在儀表本身已有微型 CV 儀的商業價值，尤其是將來在對活體實驗的應用上，可利用 CV 圖形的判斷提供更準確的量測結果，將進一步整理資料申請專利。部份研發的結果也已陸續發表於國內外的會議與論文，其中主要的興趣在於精微機電技術與固定化酵素的研發結果，此部份應可提供國內相關發展的資料交流。

#### 五、參考文獻

- [1] O. T.-C. Chen, S. Wang, C.-W. Lin and Y.-C. Lu, A medical microsensor for blood glucose monitoring. ISCAS'97, Hong Kong (1997).
- [2] 詹前煜 電流式電極與血糖儀之研製碩士論文，陽明大學，1998