

電化學式連續監控型葡萄糖生物感測器之發展

Development of Electrochemical Biosensors for Continuous Glucose Monitoring

顏嘉德、吳靖宙

Jia-De Yan, Ching-Chou Wu

葡萄糖生物感測器是發展最成熟的生技產品之一，主要被廣泛應用於血糖監控、生物反應槽內細胞活性評估與飲料工業等領域，其中以糖尿病治療與人體血糖監控為最主要的應用。連續型的血糖監控 (continuous glucose monitoring, CGM) 感測器為近年來葡萄糖感測技術之發展趨勢，相較於傳統的自我血糖檢測，CGM 能減輕糖尿病患者扎針取血之苦，即時性地提供更完整的血糖訊息供醫生診斷。電化學 CGM 感測器可被分為侵入式與非侵入式之電極設計，侵入式 CGM 感測器主要採用針狀電極，刺入到皮下組織或是靜脈血管中，量測體內 (in vivo) 組織液或是血液中的葡萄糖；非侵入式 CGM 感測器則主要是量測排出體外的體液如尿液、唾液或是淚液中的葡萄糖，或是利用反向離子透入技術 (reverse iontophoresis)，將葡萄糖透過電滲流從皮膚中汲取出來，並加以量測。本文將對近十年上述之電化學 CGM 感測器的發展作介紹。

Glucose biosensors are one of the most successful biotechnical products, which are widely applied in the fields such as blood glucose detection, cellular activity estimation of bioreactor and beverage industry monitoring. Particularly, the blood glucose monitoring of diabetic patients is the most significant application. Recently, continuous glucose monitoring (CGM) has been the mainstream trend in the development of glucose biosensors. Compared with the traditional self-monitoring of blood glucose, CGM can reduce the pain of sampling finger blood and supply a real time signal of blood glucose to doctors for diagnosis. The electrochemical CGM biosensors can be divided into two categories, invasive or non-invasive biosensors. Invasive CGM biosensors were fabricated as needle-type electrodes, which were inserted into subcutaneous tissue or vein for in vivo glucose monitoring. Non-invasive CGM biosensors were used to measure the glucose concentration of excreted body fluid, such as urine, saliva and tear. Furthermore, the reverse iontophoresis technique was used to obtain the glucose-containing fluid from skin by electroosmotic flow. This review aims to introduce the development of electrochemical CGM biosensors in past decade.

一、前言

糖尿病是 21 世紀罹患率增加最快的慢性疾病，根據國際糖尿病聯盟 (International Diabetes Federation, IDF) 2006 年的統計，全球估計有兩億四千六百萬糖尿病人口，是十年前的兩倍以上；且預估到 2025 年全球罹患糖尿病人口將高達三億八千萬人。在台灣，依據衛生署 2015 年調查，糖尿病是國人十大死因之第五名，且年齡層逐漸下降。糖尿病患者若無法良好的控制血糖，常會使身體引發許多併發症如：腎臟病、中風、心血管疾病等，也因此糖尿病對於國人健康是一項重大的威脅。糖尿病患者須長期依靠血液中葡萄糖的量測來控制飲食，並給予胰島素藥物治療，才能穩定血糖濃度，減少併發症的發生機率。因此，葡萄糖感測器成為現今體外診斷 (in vitro diagnostics, IVD) 生物感測器市場最重要的生技產業之一。

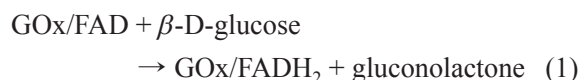
然而，傳統上的血糖量測，需要每天扎針，把指尖血滴到血糖試片上，此方法不僅對病人造成檢測上長期的痛苦，也無法隨時提供血糖的生理資訊。因此，有科學家開始研究以低侵入式的葡萄糖感測器 (Jiang Li et al., 2016)，植入到皮下或是微血管中，或是用非侵入式的方法 (Andrea Tura et al., 2007) 進行連續式葡萄糖監控 (continuous glucose monitoring, CGM)，以改善傳統血糖量測上的缺點。

對於電化學式 CGM 感測器而言，不論是侵入式還是非侵入式，都有兩大難題需要被克服。第一是專一性的問題，血液或組織液中有眾多電活性化合物、蛋白質以及葡萄糖的類似物 (半乳糖、果糖...等)，可能會影響血糖量測的訊號，進而導致量測誤差增大，或是需要時常進行校正等問題，使得 CGM 量測的可靠度降低。因此，如何避免干擾物的影響與確保葡萄糖訊號的精準度，是 CGM 量測的重大課題；第二是訊號的長期穩定度，侵入式的葡萄糖感測器必須在人體體溫的環境之下進行量測，並長時間在約 37 °C 的溫度中保存。因此，對於葡萄糖的檢測機制與保護膜材料的選擇，是侵入式 CGM 感測器最重要的關鍵點之一；而非侵入式的葡萄糖感測器，則需要經常面對外界環境的干

擾。若葡萄糖感測器的檢測微環境無法維持在一個穩定的狀態，將會使量測訊號可能隨著時間而具有時飄性，導致量測上的誤差。

二、葡萄糖生物感測器原理與發展

為了解決干擾物訊號的影響，必須從檢測的原理下手，了解各世代葡萄糖感測器的檢測機制，近一步地應用於 CGM 感測器。葡萄糖生物感測器可分成三個世代。最早被設計出來應用於血液中葡萄糖的檢測，是第一代的 Clark 式溶氧電極 (Clark et al., 1953)，也為生物感測器開啟了新的里程碑。Clark 式電極是用半透膜將葡萄糖氧化酵素 (glucose oxidase, GOx) 固定於氧氣穿透膜 (OPM) 外。由於氧氣是 GOx 催化葡萄糖的共基質 (co-substrate)，可讓 GOx 催化葡萄糖 (β -D-glucose) 形成葡萄糖酸內酯 (D-glucose-1,5-lactone) 並產生副產物過氧化氫 (H_2O_2)，其化學反應式如下：

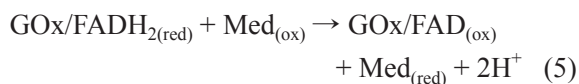


FAD (flavin adenine dinucleotide) 為 GOx 的活性中心，為催化葡萄糖時的主要反應區。當 GOx 對葡萄糖氧化時，FAD 可還原成 $FADH_2$ ，接著和氧氣反應生成 H_2O_2 。此時 $FADH_2$ 便氧化回復為 FAD，再進行下一次的催化。其化學反應式如下：



在 Clark 式電極中，透氧膜內以 Ag 為陽極，Pt 為陰極進行溶氧的還原反應，溶氧的濃度可由溶氧的還原電流得知。藉由透氧膜隔開內部電解液及外部量測液，讓 GOx 催化時溶氧消耗能專一性的被量測，進而得知外部的葡萄糖濃度。此外，亦有直接量測催化副產物 H_2O_2 的氧化反應 (式 4 之逆反應) 來量化葡萄糖濃度。此時不使用 Clark 式電極，而是將 GOx 與選擇膜一同固定到電極

表面，如 Bohari 等人將 GOx 與蛋殼膜 (eggshell) 一同固定在 ZnO 電極表面進行量測 (Bohari et al., 2015)；或是利用對 H₂O₂ 高專一性的奈米金屬粒子進行量測，如 Danfeng 等人將 GOx 固定到修飾普魯士藍 (Prussian blue, PB) 的網版印刷電極，利用 PB 對 H₂O₂ 的高催化性進行量測 (Danfeng et al., 2016)。由於 H₂O₂ 的過電壓較大，在碳電極上需要 +0.8V (vs. Ag/AgCl) 才能產生擴散限制氧化電流 (Takahashi et al., 2013)，容易受到血液中其他電活性物質如 ascorbic acid (AA), uric acid (UA), acetaminophene (AP) 等的干擾。此外，溶氧的量測亦會受到血液中溶氧分壓的改變而有所變化，使得量測訊號受到影響。因此，有研究團隊開始開發以電子傳遞物 (mediator, Med) 取代氧氣為檢測標的物，是為第二代葡萄糖感測器，其反應機制如下：



氧化態的 Med_(ox) 取代氧氣分子使還原態的 FADH₂ 被氧化 (式 5)，並生成還原態的 Med_(red)，再由電極設定 Med 的氧化電位，即可藉由氧化電流推算葡萄糖的濃度 (式 6)。利用電位選擇性的方式，使用反應電位低於干擾物的 Med，即可達到專一性的檢測。目前有數種 Med 被使用在葡萄糖感測器中，如 ferrocene, ferricyanide, ferrocene carboxylic acid 等，配合 GOx 或葡萄糖脫氫酶 (glucose dehydrogenase, GDH) 去檢測葡萄糖。由於第二代葡萄糖感測器中的 Med 必須先和酵素一起噴塗於感測電極上，當滴上血液 Med 回溶時，會受到不同人有不同血容積比 (hematocrit) 的影響，導致再現性與精準度不佳。此外，Med 大都具有生物毒性，較不適合發展成持續型葡萄糖監測系統，因此開始有了第三代葡萄糖感測器的發展。

第三代葡萄糖感測器無需使用 Med，而是利用奈米導電材料連結 GOx 的活性中心 FAD 與電極，進行直接式電子交換 (direct electron transfer, DET) (Vaze et al., 2009)，此方法可以提高酵素對分析物的專一性，降低檢測電位，以避免其他電活性物質的干擾。目前有相當多的研究採用奈米碳

材與奈米金屬如 rGO/magnetic nanoparticles (Saithip et al. 2017), Au/ZnO (Fang, et al., 2016), CNT (Hyun et al., 2015) 等與 GOx 混合製成第三代葡萄糖感測器。第三代葡萄糖感測器利用 DET 的現象檢測葡萄糖濃度，電極在血液中較不受血容積比干擾，且具有高生物相容性，在 CGM 系統的應用中，有很大的潛力。目前商業化的自主血糖量測 (self-monitoring of blood glucose) 試片是採用第二代葡萄糖感測器，並不適合開發成侵入式葡萄糖感測器，因為 Med 溶於血液中很快就會被帶走，且大多 Med 具有毒性，該特性不利於 CGM 感測器的發展。因此，以第一代與第三代葡萄糖感測器的原理而論，可分別藉由量測 H₂O₂ 或 DET 電流，應較易發展成 CGM 感測器。目前除電化學式 GOx-based CGM 感測外，其餘還有非酵素型以及光學法檢測的葡萄糖感測器等，以下會依照不同型態的電化學 CGM 感測器進行介紹。

三、電化學 CGM 感測器之發展

電化學安培法是在工作電極上給一特定電壓，使得反應物靠近電極時產生氧化或還原，藉由其電子的傳遞速率來推知標的物之濃度。目前大多 CGM 感測器的發展，主要以量測 GOx 催化葡萄糖後產生之副產物 H₂O₂ 作為量測的訊號來源。然而，H₂O₂ 的氧化電位相對較高，此電位也容易引起其他物質的氧化，因此電極外部的選擇性保護層對感測器來說尤為重要。因為 CGM 感測器都會和生物體有長時間接觸，該保護層除須具有選擇性外，還須注意生物相容性的問題。目前使用在葡萄糖感測器上之生物相容性的保護層主要分為兩大類，第一類是天然生物分子 (biomolecules)，例如 collagen (Liao et al., 2008)、cellulose (Cai and Kim, 2010)、chitosan (Zhang et al., 2014) 以及 heparin (Sung et al., 2004) 等；第二類為合成聚合物 (Synthetic polymers)，例如 Nafion (Lu et al., 2015)、polyurethane (PU) (Wang et al., 2013)、poly-o-phenylenediamine (POPD) (Wang et al., 2017) 和 poly-L-lactic acid (Ju et al., 2010) 等。以下將電化學 CGM 感測器分為侵入式與非侵入式兩種，逐一介紹近十年國際團隊的相關研究。

1. 侵入型感測器

侵入型 CGM 感測器是指將電極插入血管或是皮下組織，用電極量測血液或是組織液的葡萄糖含量，來判定人體的血糖等級。依侵入程度的不同，又能分成低侵入式 (low invasive type) ($< 3\text{ mm}$) 與針狀侵入式 ($> 3\text{ mm}$)。低侵入式的電化學葡萄糖感測器是以短小的針頭侵入皮下，常見的有板狀平台上含有許多微小的針狀尖頂 (Lee et al., 2016)，或是單一針頭狀的電極 (David et al., 2008)；針狀侵入式的電化學葡萄糖感測器則是侵入到皮下較深的組織，甚至是血管中進行葡萄糖量測 (Paek et al., 2013)。而不論是何種侵入式感測器，都需要讓針頭外具有一層保護膜，此保護膜需要是高生物相容性的，以避免引起發炎反應。例如材料 polyetheretherketone (PEEK)，其具有耐磨、富有彈性與抗衝擊性之特性 (Teoh et al., 1998；Abu Bakar et al., 2003；Kurtz and Devine, 2007)，或是 PU 材料，都具有很高的生物相容性 (Yu et al., 2006)，常被用於生物感測器的外部保護層 (Wang et al., 2013)，適合作為侵入式感測器的第一線防護。以

下以 Li 等人在 2016 年發表的低侵入式感測器 (Li et al., 2016) 為其代表；以及 Fang 等人在 2017 年發表的針狀侵入式感測器 (Fang et al., 2017) 為代表進行介紹。

(1) 低侵入式 CGM 感測器

Li 等人在 2016 年發表的低侵入式感測器結合 GOx 進行 CGM 量測 (Li et al., 2016)。低侵入式感測器是以 PEEK 為針狀電極之外部材料，在 PEEK 的尖端空洞處置入鉑銱合金線 (Pt-Ir wire)，將 GOx 沉積在 Pt-Ir wire，並採用了被廣泛應用在生物感測器保護層之 POPD 作為選擇性滲透膜 (Kirwan et al., 2007；Dixon et al., 2002)，最後在 PEEK 外側塗上 Ag/AgCl ink 作為參考電極，其示意圖如圖 1 所示。

當電極製作完成之後，將電極放在 PBS (pH 7.4, $40\text{ }^{\circ}\text{C}$) 中滴定葡萄糖，用安培法進行葡萄糖濃度的測定。隨著葡萄糖的濃度增加， H_2O_2 氧化電流也隨之增加，低侵入式感測器線性範圍可到 21 mM (375 mg/mL)，此線性範圍已足以涵蓋糖尿病

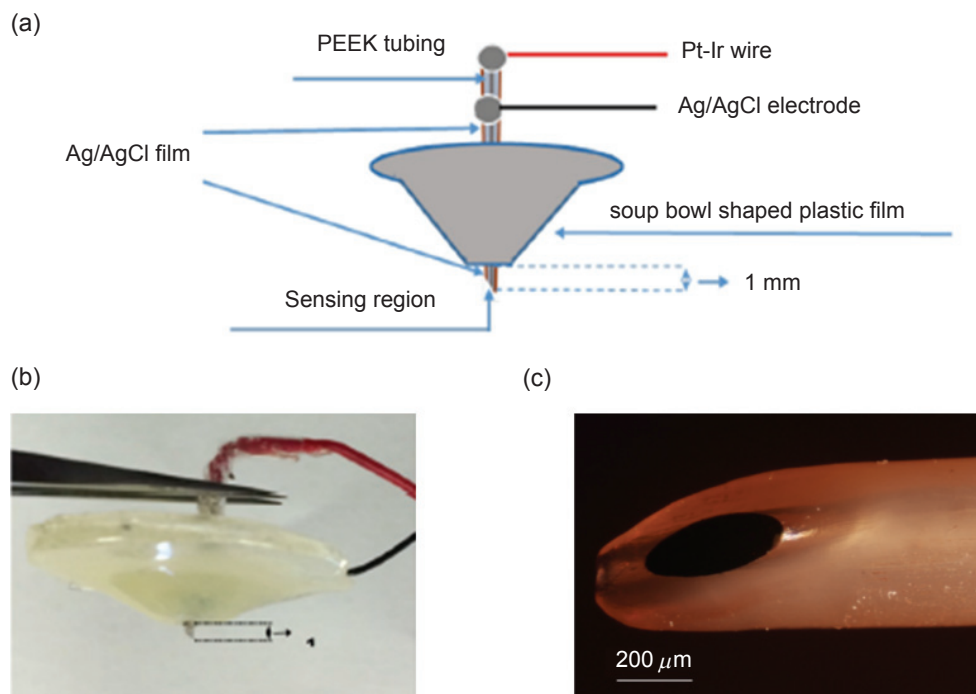


圖 1. (a) 低侵入式 CGM 感測器結構示意圖，(b) 感測器成品照片，針頭部分為 1 mm ，(c) 為針頭部分放大圖 (Li et al., 2016)。

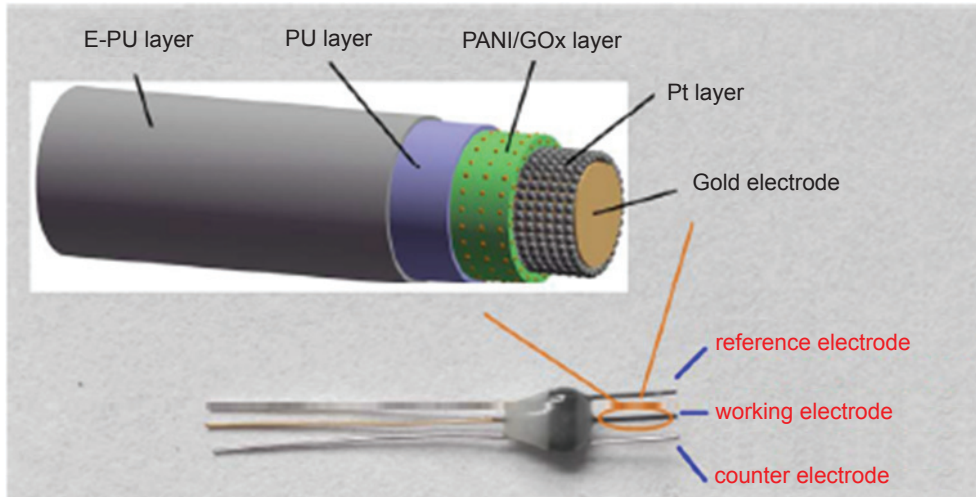


圖 2. A needle type glucose biosensor 的型態與工作電極示意圖 (Fang et al., 2017)。

人的低與高血糖。然而，在血液或是組織液中有許多電化學活性物質，可能會影響量測訊號，例如 AP, AA 與 UA 等，因此必須確保量測訊號不受其他物質所影響，針對這些干擾物的影響，低侵入式感測器在 PBS 中受到 0.1 mM AP、0.11 mM AA 與 0.48 mM UA 之訊號干擾分別為 UA < 1%、AP < 10% (高血糖情況下) 和 AA 5%。電極的量測訊號干擾皆在 10% 以下，顯示 POPD 保護膜有良好的葡萄糖通透選擇性。該製作好的 CGM 電極也進行低侵入式量測，藉由插入兔子後頸皮膚之皮下 1 mm 處，進行體內 (in-vivo) CGM 量測。透過餵食葡萄糖的方式改變血糖濃度，並與血糖量測儀同時進行量測比較，所測得之結果雖然其葡萄糖濃度改變量，不如標準血糖儀測到的改變量大，但血糖變化趨勢十分接近。顯示該感測器已具有提供葡萄糖濃度變化讀取之能力。而該差異可能源自於血糖濃度與組織細胞間質中葡萄糖濃度的差別 (Cengiz and Tamborlane, 2009)。

此外，感測電極的穩定性 (stability) 對 CGM 感測器更顯得重要，代表著感測器的使用期限與訊號的可靠度。低侵入式感測器在含有 0.1 M NaCl 的 0.1 M PBS (pH7.4) 中，在 40 °C 的環境下，電極仍可以保持 8 天的訊號穩定 (95%)，如此小的變異度，顯示 POPD 保護層有助於維持電極的穩定度與抗汗能力。

(2) 針狀侵入式 CGM 感測器

以 Fang 等人的針狀式葡萄糖感測器 (needle type glucose biosensor, NTGB) 為例，該電極結合 GOx 使用安培法進行侵入式 CGM 量測 (Fang et al., 2017)。NTGB 之工作電極是將白金 (Pt) 電鍍在圓柱狀金電極上，利用電聚合的方式在白金層外產生 polyaniline (PANI) 層，接著浸入 GOx (10 mg/mL) 溶液中，使 GOx 能吸附在 PANI nanofiber 之中，再以 glutaraldehyde 進行交聯 (cross-linking)。並使用一圓環控制電極修飾面積，將電極浸入含有 PU 之 tetrahydrofuran 與 dimethylformamide 混合溶液中，在電極外部製成一均勻的 PU 保護層。最後在該電極外部再修飾 epoxy-enhanced PU (E-PU)。E-PU 層能有效的提高工作電極的穩定性與生物相容性 (Yu et al., 2006)。將做好的工作電極結合參考電極 (Ag/AgCl) 與對極 (Pt) 整合在一起，便完成了 NTGB，其示意圖如圖 2 所示。

將 NTGB 置於 PBS 與牛血清中，使用安培法量測 H₂O₂ 氧化電流進行葡萄糖濃度的測定，其線性範圍可達到 20 mM，足以涵蓋糖尿病患者高血糖與低血糖的情況。而在其他電活性物質之干擾測試中，NTGB 所受到的訊號干擾分別為 UA: 4%、AP: 9.5% 和 AA: 7.5%，顯示 PU/E-PU 保護膜有著良好的保護性，讓電極可以準確的量測 H₂O₂ 的訊號。作者也將該 NTGB 植入老鼠的後頸皮膚，進

表 1. 侵入式 CGM 葡萄糖感測器比較表。

Sensor structure	Lifetime	Linear range	Reference
Nafion/PU/GOx/Pt ^a	4 days (in buffer)	0–200 mg/dL	Ribet et al., 2017
Pt-Ir/GOx/E-PU ^a	56 days (in vivo)	1–20 mM	Yu et al., 2006
Pt-Ir/GOx/POPD ^a	7 days (in buffer)	0–20 mM	Li et al., 2016
Pt/GOx/PCBMA ^{b,c}	12 days (in serum)	4–20 mM	Yang et al., 2011
Pt/(PANI/Pt)/GOx/PVDF-Nafion ^{b,d}	21 days (in serum)	0–20 mM	Chen et al., 2015
Pt-Ir/Sol-gel/GOx/Nitric oxide/PU ^b	7 days (in serum)	1–30 mM	Koh et al., 2013
Pt/PANI/GOx/PU/E-PU ^{b,e}	26 days (in vivo)	0–20 mM	Fang et al., 2017

^aLow-invasive

^bNeedle-type invasive

^cPCBMA: poly(carboxybetaine) methacrylate

^dPVDF: polyvinylidene fluoride

^ePC: polycarbonate

行 in-vivo 血糖量測。並藉由在老鼠腹部注入 50% 的葡萄糖液作為血糖濃度改變的控制方法。採取尾部靜脈血以標準血糖量測儀所測得的濃度值，以比較 NTGB 的數據。其結果發現在葡萄糖液注入後約 5 分鐘葡萄糖濃度即開始上升，約 20 分鐘達到最高峰，該趨勢與標準血糖量測儀所得結果一致，但兩者間的訊號延遲大約為 8 分鐘。顯示以植入式 CGM 感測器量測的方法，會與血糖濃度波動週期產生延遲效應，此原因可能來自於血液從動脈血管經微血管到週邊組織植入處的質傳 (mass transport) 現象與植入部位局部生理現象所影響，這些訊號延遲的現象，在其他的論文中也有提及 (Boyne et al., 2003; Gough et al., 2010)。在訊號穩定度方面，NTGB 在牛血清 (37 °C) 中可以維持 53 天，訊號量測上並無統計上的變化。在老鼠體內 in-vivo 的量測，可維持 26 天的量測穩定。此結果顯示著 PU/E-PU 保護層在 NTGB 的 CGM 量測中，具有關鍵性的抗污染與防干擾作用，提供 GOx 一個優良催化環境，才能有如此長時間的訊號穩定。

目前主要的侵入式 CGM 感測器都是以量測 H₂O₂ 為標的，而 H₂O₂ 的氧化又容易受到其他電活性物質的影響。因此，感測器所使用的材料是最為重要的。包含了和身體組織接觸的最外層保護膜，

需要抗污染以及具有高生物相容性的材料；以及內層的酵素保護膜，需要有選擇性通透的能力。保護膜的材料可以說是主宰了侵入式 CGM 感測器的訊號穩定度、抗干擾能力以及長期穩定性。然而，若能將第三代葡萄糖感測器，不以量測 H₂O₂ 的氧化電流作為訊號，而是以 DET 方式量測葡萄糖濃度，即可用較低電位進行 CGM 量測，相信應能降低其他電活性物質的干擾，使得訊號的準確度提高。其他還有數種侵入式 CGM 葡萄糖感測器，相關資訊整理如表 1。

2. 非侵入型感測器

非侵入型感測器主要是利用人體排出體外的體液如：尿液、淚液和唾液等，進行葡萄糖濃度的測定。而這些排出體外的液體，必須先進行收集才能量測，如此一來便只能進行單點量測，使得 CGM 量測變得不可行。然而，隨著製程技術的進步，現在已經有將電化學感測器製備在平坦的塑膠基材上之技術，如：微製程加工技術 (Iguchi et al., 2007) 以及網版印刷技術 (Kagie et al., 2008)。或者整合光學感測元件，以螢光指示劑結合隱形眼鏡的設計，可測得淚液中葡萄糖濃度與血糖變化曲線間的相關性 (March et al., 2004)，顯示 CGM 感測器有機會被

整合在隱形眼鏡上，進行經時性的量測。

以 Yao 等人發表在接觸型隱形眼鏡 (contact lens glucose sensor, CLGS) 嵌入電化學感測器進行淚液中葡萄糖量測 (Yao et al., 2011) 為例。該 CLGS 以厚度 $100\ \mu\text{m}$ 的 polyethylene terephthalate (PET) 為基材，利用黃光微影技術在 PET 上生成同心圓的工作電極 (面積約為 $0.22\ \text{mm}^2$)，其材料為 Ti/Pd/Pt 三層金屬層 (Ti: $10\ \text{nm}$, Pd: $10\ \text{nm}$, Pt: $100\ \text{nm}$)，Pd 作為金屬擴散障礙層 (metal diffusion barrier layer)，有助於增進訊號的穩定度 (Cheng et al., 2006)，並在鏡片上最外側作一長方型的 Ag/AgCl 參考電極。在製作好電極的 PET 滴上 $30\ \mu\text{L}$ GOx ($10\ \text{mg/mL}$)，自然陰乾後，再將 PET 垂直浸泡到異丙氧化鈦 (titanium isopropoxide) 溶液內，使之形成 GOx/titanium sol-gel 的感測膜，最後再滴上 nafion 做為保護膜，其電極樣式如圖 3 所示。

為了確認量測訊號的靈敏度，依據不同的製程步驟，在緩衝溶液中進行葡萄糖的滴定測試。相較於純 GOx 固定後的量測，GOx/titanium sol-gel 的訊號量增加了近 30 倍，顯示著 titanium sol-gel 對於 GOx 的活性以及保護起到良好的作用，其原因是因為 titanium isopropoxide 的大量羥基能和 GOx 形成強力的氫鍵結合 (Yu et al., 2003)。Nafion 保護膜的塗佈亦可使量測訊號進一步增加，起因於 Nafion 具有更佳的酵素保護能力。該感測器在緩衝容液中所測得的葡萄糖檢測線性範圍為 $0.1 - 0.6\ \text{mM}$ ，符合淚液中一般的葡萄糖濃度範圍 (Sen and Sarin, 1980)。同樣地，CLGS 使用電化學法量測 GOx 催化後的副產物 H_2O_2 時，仍須考量生物基質中其他電活性物質的干擾。一般而言，淚液的葡萄糖濃度約在 $0.1 - 0.6\ \text{mM}$ ，遠小於血糖濃度等級的 $4 - 6\ \text{mM}$ (Berman, 1991)，然而其干擾物質如 AA 與 UA 等，其濃度和血液幾乎是相同的 (AA $40\ \mu\text{M}$, UA $6\ \text{mM}$) (Berman, 1991)。因此，相較於血糖感測器，淚糖感測器需要有更好的抗干擾保護層，來確保訊號的準確度。相對而言，該 CLGS 的抗干擾能力較侵入式 CGM 感測器差，以 $50\ \mu\text{M}$ AA, $10\ \text{mM}$ lactate 和 $10\ \text{mM}$ UA 進行干擾測試，在低糖濃度 $0 - 0.1\ \text{mM}$ glucose 時訊號干擾為 93%，在 $> 0.3\ \text{mM}$ 的葡萄糖濃度訊號干擾可降至 20%。

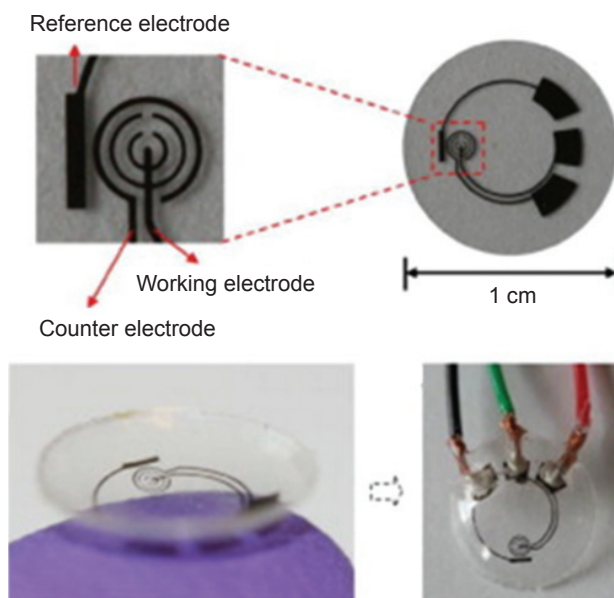


圖 3. Contact lens glucose sensor 之電極設計與實際尺寸 (Yao et al., 2011)。

在長期穩定度方面，該 CLGS 存放於 $4\ ^\circ\text{C}$ 的 PBS 中，可以保持一周的活性。此特性歸因於 titanium sol-gel 能有效避免 GOx 的外洩以及影響其活性 (Yu et al., 2003; Liang et al., 2008)。然而在動物實驗中顯示，此 CLGS 一旦使用後，再放置於 PBS 標準測試液中測得的電流響應即開始大幅下降，顯示淚液中其他物質的吸附，會導致葡萄糖在感測膜中滲透率的下降，使此類結合隱形眼鏡的感測器壽命大幅受限，此點仍須生物材料學家共同努力精進。隨著微型運算電路、無線充電與無線傳輸技術的發展，此類感測器整合電路也越做越微型化，如 2012 年 Liao 等人 (Liao et al., 2012) 改良 Yao 的設計 (2011)，開發出整合無線充電、量測與傳輸的 CLGS，該團隊的主持人 Prof. Parviz 更被 Google 公司網羅往產業發展了。

量測淚液中葡萄糖濃度仍有臨床實證上的疑慮，因為當眼睛受到外界刺激時，淚液中葡萄糖濃度就會和血糖沒有直接的關聯性 (LeBlanc et al., 2005)，而使 CLGS 的使用時機與準確性受到限制。因此有科學家利用反向離子透入 (reverse iontophoresis) 技術 (Rao et al., 1993)，將組織液先汲取到皮膚表面，再進行葡萄糖量測 (Ching et al., 2010)。其原理皮膚在正常生理的 pH 值狀況下帶

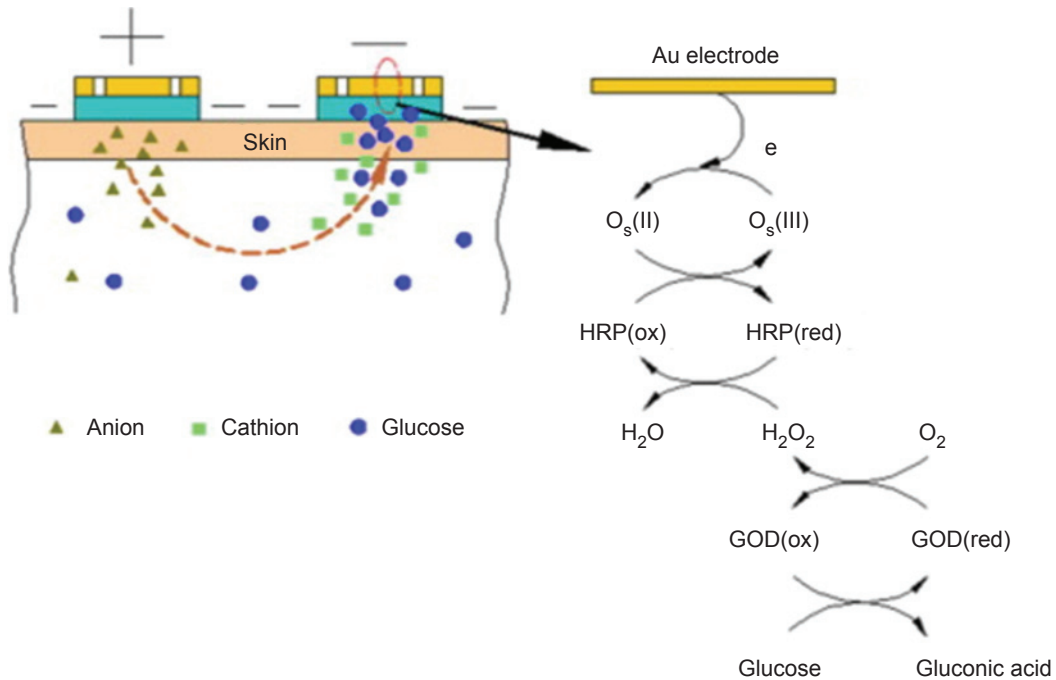


圖 4. Reverse iontophoresis glucose biosensor之量測原理示意圖 (Liu et al., 2011)。

負電，可做為陽離子的選擇通透膜，透過施加一電流於皮膚上，產生離子泳動，同時引發電滲流 (electroosmotic flow)，通過電滲流將中性分子從皮膚中提取到離子電滲流的陰極，以進行量測。Liu 等人在 2011 年發表的利用反向離子透入技術來進行皮下組織間的葡萄糖量測 (Liu et al., 2011)，其電極設計是在 polycarbonate 基材上，建構三極式電化學檢測電極，結合 GOx、horseradish peroxidase (HRP)、交聯劑與 Os complex mediator 組成的多層感測膜，進行第二代葡萄糖感測器的設計。並在電極上沉積 polyethylene oxide 水膠，作為汲取出來的葡萄糖收集器，其電化學感測原理如圖 4 所示。當葡萄糖被 GOx 催化後，所產生的 H_2O_2 再被 HRP 催化，接著 HRP 從 Os-complex mediator 中搶得電子，最後量測 Os complex mediator 還原電流，以推測葡萄糖濃度。將小鼠的皮膚覆蓋在擴散池 (chamber of diffusion cell) 上，模擬人體的皮膚生理狀態，並進行反向離子透入流的葡萄糖量測，其線性範圍 0–18 mM，足以涵蓋糖尿病患者的高血糖與低血糖情況。該電極經每天測定 $50 \mu M$ 葡萄糖 5 次，在一個月後仍能保持 90% 的響應電流

訊號，顯示電極的製作法可獲得高的穩定度。目前已有利用反向離子透入技術量測葡萄糖的商品，如 Medgadget 公司市售的產品 GlucoWatch，其如圖 5 所示。

雖然非侵入式的葡萄糖感測器聽起來十分誘人，但是其面臨到的問題也相當多。反向離子透入技術在進行非侵入式 CGM 量測時，會受皮膚厚度與生理狀態而影響，例如出汗以及體溫的變化，皆會大大影響量測訊號，也因此限制了 CGM



圖 5. 商業化商品 GlucoWatch 之照片 (Tierney et al. 2001)。

的應用。目前的非侵入式 CGM 感測器，除上述方法外，大多以光學量測法為主，且量測方式相當多元。例如在隱形眼鏡鏡片材料聚合過程中，將兩種類型的螢光指示劑固定在鏡片材料上 (March et al., 2004)。在沒有葡萄糖的情況下，指示劑會彼此接合，使發射的螢光會被淬滅；當有葡萄糖的情況下，指示劑就會分離並和葡萄糖結合，然後發出螢光訊號。此方法須在眼前放置感光的元件來接收螢光訊號。或者使用 near-infrared (NIR) spectroscopy 來量測葡萄糖濃度 (Hu et al., 2013)，利用特殊材料的折射光因葡萄糖濃度的不同而有波長變化 (Alexeev et al., 2004) 進行檢測。光學法的缺點是環境控制要求較高，且靈敏度較電化學法差。因此若能改善電化學法的訊號傳輸以及抗干擾的能力，相信現有之非侵入式 CGM 感測器發展中，電化學法會是發展 CGM 感測器的最佳潛力技術。目前也已有整合線圈發電、恆電位儀電路與轉發器 (transponder) 電路的積體電路晶片，將該晶片置於眼瞼下方，可量測淚液中葡萄糖濃度 (Hennig et al., 2014)。此種微型化電化學檢測技術，在未來應能在非侵入式葡萄糖感測器中有著更好的應用。其他還有數種非侵入型的感測器，其特性整理如表 2 所示。

四、結論

糖尿病可以說是 21 世紀最嚴重的慢性病之一，並正以每年百萬以上的患者數持續增加，且年齡層不斷的下降，目前糖尿病已被世界衛生組織 (WHO) 宣布為全球重大疫情。在尚未出現有效的治療方法之前，頻繁的監測血糖是糖尿病患者每日課題，因為需將血糖穩定控制在正常生理範圍內，才能保障病人的身體健康。而目前拋棄式商業化自主血糖量測試片，因需取指尖血進行量測，對每日需多次監控之重症患者已無法滿足其需求，因此開發 CGM 型感測器越來越受到科學家的重視。

在對葡萄糖的量測中，電化學法和光學法是兩大主要的檢測方式。電化學法因較不受環境的限制、量測精準度與靈敏度較高等優勢，在侵入式的 CGM 感測器中，為最主要的檢測方法。隨著製程技術的進步，電化學法所需要的儀器，已經可以透過微製程的方式被加工在隱形眼鏡上，透過整合無線傳輸技術，使得電化學法也能實施非侵入型的 CGM 量測。因此，微型化離線式電化學 CGM 感測器在製作技術層面上，未來將不是問題。電化學 CGM 感測器未來實驗臨床化最大的挑戰仍有兩點需克服：(1) 檢測專一性，使葡萄糖檢測具有高

表 2. 非侵入型葡萄糖感測器比較表。

Sensor structure	Technology	Lifetime	Linear range	References
CdSe/ZnS/ZnO/ silicone hydrogel	Fluorescence resonance quenching	—	0—0.03 & 0.03—3 mM in tears	Chen et al., 2017
MPC/PDMS/Pt/GOx ^a	Electrochemical	—	0.03—5 mM in tears	Chu et al., 2011
Pt/GOx/PE film	Electrochemical	—	0.01—0.1 mM in tears	Hennig et al., 2014
CCA ^b	Near-infrared	—	0—300 mg/mL in tears	Hu et al., 2013
GOx/quartz glass	Fluorescent oxygen interaction	7 days	0—5 mM in tears	Su et al., 2017
2-APB/ EPG/ ATMA / AETA ^c	holographic	—	0—23.35 mM in tears	Yang et al., 2008
Au/HRP/GOx	Reverse iontophoresis	30 days	0—20 mM in interstitial fluid	Liu et al., 2011

^aMPC: 2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine; PDMS: polydimethyl siloxane

^bCCA: poly(styrene-co-acrylamide-co-3-acrylamidophenylboronic acid)

2-APB: acrylamidophenylboronic acid

^cEPG: poly (ethylene glycol) acrylate; ATMA: (3-acrylamidopropyl) trimethyl- ammonium chloride; AETA: [2-(acryloyloxy)ethyl]-trimethylammonium chloride

度專一性，不受血液或組織液中其他物質干擾；(2) 穩定性：讓葡萄糖的檢測訊號維持穩定而不隨著時間的流逝而衰減。因此，選擇一種甚至多種的保護膜，有利於電極表面的穩定，能增進訊號的穩定度，降低干擾，提高長期穩定性。其他還有訊號遲滯性、患者舒適度與安全性等問題，也需要被克服。若能將 CGM 感測器的精準度與靈敏度，達到目前商業化血糖儀的等級，那麼一個輕便靈巧的可攜式 CGM 感測器，將不只限於臨床病人的應用，而是可以讓自我健康管理的模式，運用在每個人的生活當中。

參考文獻

1. J. Li, P. Loinkar, Y. Fuchiwaki, *Biosens Bioelectron.*, **86**, 90 (2016).
2. A. Tura, A. Maran, G. Pacini, *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **77**, 16 (2007).
3. L. Clark, C. R. Wolf, D. Granger, Z. Taylor, *J Appl Physiol*, **6**, 189 (1953).
4. B. N. Aini, S. Siddiquee, K. Ampon, K. F. Rodrigues, S. Suryani, *Sens. Bio-Sens.*, **4**, 46 (2015).
5. A. Vaze, N. Hussain, C. Tang, D. Leech, J. Rusling, *Electrochem. Commun.*, **11**, 2004 (2009).
6. S. Pakapongpan, R. P. Poo-arporn., *Mater. Sci. Eng. C Struct. Mater.*, **76**, 398 (2017).
7. L. Fang, B. Liu, L. Liu, Y. Li, K. Huang, *Sens. Actuators. B Chem.*, **222**, 1098 (2016).
8. K. Hyun, S. W. Han, W. G. Koh, Y. Kwon, *Int. J. Hydrogen Energy*, **40**, 2199 (2015).
9. K. C. Liao, H. E. Thieo, J. R. Frances, L. Marcu, C. William, G. E. Loeb, *Biosens Bioelectron.*, **23**, 1458 (2008).
10. Z. Cai, J. Kim, *Cellulose*, **17** (1), 83 (2010).
11. Y. Zhang, Y. Li, W. Wu, Y. Jiang, B. Hu., *Biosens Bioelectron.*, **60**, 271 (2014).
12. W. J. Sung, K. Na, Y. H. Bae, *Sens. Actuators. B Chem.*, **99**, 393 (2004).
13. P. Lu, J. Yu, Y. Lei, S. Lu, C. Wang, D. Liu, Q. Guo, *Sens. Actuators. B Chem.*, **208**, 90 (2015).
14. N. Wang, K. Burugapalli, W. Song, J. Halls, F. Moussy, A. Ray, Y. Zheng, *Biomaterials*, **34**, 888 (2013).
15. J. Wang, M. Wang, J. Guan, C. Wang, G. Wang, *Mater. Sci. Eng. C Struct. Mater.*, **71**, 844 (2017).
16. Y. M. Ju, B. Yu, L. West, Y. Moussy, F. Moussy, *J. Biomed. Mater. Res. Part A*, **93A** (1), 200 (2010).
17. S. J. Lee, H. S. Yoon, X. Xuan, J. Y. Park, S. J. Paik, M. G. Allen, *Sens. Actuators. B Chem.*, **222**, 1144 (2016).
18. D. P. Burt, P. R. Unwin, *Electrochem. Commun.*, **10** (6), 934 (2008).
19. S. H. Paek, I. H. Cho, D. H. Kim, J. W. Jeon, G. S. Lim, S. H. Paek, *Biosens Bioelectron.*, **40** (1), 38 (2013).
20. S. H. Teoh, Z. G. Tang, G. W. Hastings, *Handb. Biomater.*, **270**, 270 (1998).
21. A. Bakar, M. S. Cheng, M. H. W. Tang, S. M. Yu, S. C. Liao, K. Tan, C. T. Khor, K. A., Cheang P, *Biomaterials*, **24** (3), 2245 (2003).
22. S. M. Kurtz, J. N. Devine, *Biomaterials*, **28** (32), 4845 (2007).
23. B. Yu, N. Long, Y. Moussy, F. Moussy, *Biosens Bioelectron.*, **21** (12), 2275 (2006).
24. J. Li, P. Koinkar, Y. Fuchiwaki, M. Yasuzawa, *Biosens Bioelectron.*, **86**, 90 (2016).
25. L. Fang, B. Liang, G. Yang, Y. Hu, Q. Zhn, X. Ye, *Biosens Bioelectron.*, **97**, 196 (2017).
26. S. M. Kirwan, G. Rocchitta, C. P. McMahon, J. D. Craig, S. J. Killoran, K. B. O'Brien, P. A. Serra, J. P. Lowry, R. D. O'Neill, *Sensors*, **7**, 420 (2007).
27. B. M. Dixon, J. P. Lowry, R. D. O'Neill, *Neurosci. Methods*, **119**, 135 (2002).
28. E. Cengiz, W. V. Tamborlane, *Diabetes Technol. Ther.*, **11** (s1), S-11-S-16 (2009).
29. M. S. Boyne, D. M. Silver, J. Kaplan, C. D. Saudek, *Diabetes*, **52** (11), 2790 (2003).
30. F. Ribet, G. Stemme, N. Roxhed, *Biosens Bioelectron.*, **90**, 577 (2017).
31. W. Yang, H. Xue, L. R. Carr, J. Wang, S. Jiang, *Biosens Bioelectron.*, **26** (5), 2454 (2011).
32. D. Chen, C. Wang, W. Chen, Y. Chen, J. X. J. Zhang, *Biosens Bioelectron.*, **74**, 1047 (2015).
33. A. Koh, Y. Lu, H. Mark, *Anal. Chem.*, **85** (21), 10488 (2013).
34. S. Iguchi, H. Kudo, T. Saito, M. Ogawa, H. Saito, K. Otsuka, *Biomed Microdevices.*, **4**, 603 (2007).
35. A. Kagie, D. K. Bishop, J. Burdick, J. T. La Belle, R. Dymond, R. Felder, J. Wang, *Electroanalysis*, **20**, 1610 (2008).
36. W. F. March, A. Mueller, P. Herbrechtsmeier, *Diabetes Technol. Ther.*, **6**, 782 (2004).
37. H. Yao, A. J. Shum, M. Cowan, I. Lahdesmaki, B. A. Parviz, *Biosens Bioelectron.*, **26** (7), 3290 (2011).
38. W. Cheng, N. Klauke, H. Sedgwick, G. L. Smith, J. M. Cooper, *Lab. Chip*, **6**, 1424 (2006).
39. J. Yu, S. Liu, H. Ju, *Biosensors and Bioelectronics*, **19** (4), 401 (2003).
40. D. K. Sen, G. S. Sarin, *Br J Ophthalmol.*, **64** (9), 693 (1980).
41. E. R. Berman, *Biochemistry of the Eye*, 1nd ed., New York: Plenum Publishing Corporation, 70 (1991).
42. R. Liang, J. Jiang, J. Qiu, *Anal. Sci.*, **24**, 1425 (2008).
43. Y. T. Liao, H. Yao, A. Lingley, B. Parviz, B. P. Otis, *IEEE J. Solid-State Circuits*, **47** (1), 335 (2012).
44. J. M. LeBlanc, C. E. Haas, G. Vicente, L. A. Colon, *Intensive*

- Care Med.*, **31**, 1442 (2005).
45. G. Rao, P. Glikfeld, R. H. Guy, *Pharm Res.*, **10** (12), 1751 (1993).
46. C. T. Ching, T. P. Sun, S. H. Huang, H. L. Shieh, C. Y. Chen, *Ann Biomed Eng.*, **38** (4), 1548 (2010).
47. J. Liu, L. Jiang, H. Liu, X. Cai, A bifunctional biosensor for subcutaneous glucose monitoring by reverse iontophoresis, *J. Electroanal. Chem.*, **660** (1), 8 (2011).
48. Y. Hu, X. Jiang, L. Zhang, J. Fan, W. Wu, *Biosens Bioelectron.*, **48**, 94 (2013).
49. M. J. Tierney, J. A. Tamada, R. O. Potts, L. Jovanovic, S. Garg, Cygnus Research Team, *Biosens Bioelectron.*, **16**, 621 (2001).
50. V. L. Alexeev, S. Das, D. N. Finegold, S. A. Asher, *Clin Chem*, **50** (12), 2353 (2004).
51. A. Hennig, J. Lauko, A. Grabmaier, C. Wilson, *Procedia Engineering*, **87**, 66 (2014).
52. L. Chen, W. H. Tse, Y. Chen, M. W. McDonald, J. Melling, J. Zhang, *Biosens Bioelectron.*, **91**, 393 (2017).
53. M. X. Chu, K. Miyajima, D. Takahashi, T. Arakawa, K. Sano, S. Sawada, H. Kudo, Y. Iwasaki, K. Akiyoshi, M. Mochizuki, K. Mitsubayashi, *Talanta*, **83** (3), 960 (2011).
54. F. Su, L. Zhang, X. Kong, F. Lee, Y. Tian, D. R. Meldrum, **14**, 1 (2017).
55. X. Yang, X. Pan, J. Blyth, C. R. Low, *Biosens Bioelectron.*, **23** (6), 899 (2008).
56. J. Liu, L. Jiang, H. Liu, X. Cai, *J. Electroanal. Chem.*, **660** (1), 8 (2011).



顏嘉德先生為國立中興大學組織工程與再生醫學博士學位學程博士生。

Jia-De Yan is currently a Ph.D. student in the Ph.D. Program of Tissue Engineering and Regenerative Medicine at National Chung Hsing University.



吳靖宙先生為國立成功大學醫學工程博士，現任國立中興大學生物產業機電工程學系教授兼系主任。

Ching-Chou Wu received his Ph.D. in biomedical engineering from National Cheng Kung University. He is currently a professor and a department chair in the Department of Bio-industrial Mechatronics Engineering at National Chung Hsing University.