(19)中华人民共和国国家知识产权局

(12)发明专利

(10)授权公告号 CN 107003326 B
(45)授权公告日 2019.10.22

(21)申请号 201580067544.2

(22)申请日 2015.12.14

(65)同一申请的已公布的文献号
申请公布号 CN 107003326 A

(43)申请公布日 2017.08.01

(30)优先权数据
PA201400738 2014.12.18 DK

(85)PCT国际申请进入国家阶段日
2017.06.12

(86)PCT国际申请的申请数据
PCT/EP2015/079592 2015.12.14

(87)PCT国际申请的公布数据
WO2016/096725 EN 2016.06.23

(73)专利权人 雷迪奥米特医学公司
地址 丹麦布伦斯霍伊

(72)发明人 T.克亚尔 T.P.尼加尔

(74)专利代理机构 北京市柳沈律师事务所 11105
代理人 曹立莉

(51)Int.Cl.
G01N 33/70(2006.01)

(56)对比文件

CN 103748458 A,2014.04.23,说明书第23-25段,第48-50段,第56段,第64-81段,说明书附图图4C,4D.

US 2009119047 A1,2009.05.07,权利要求1-91,说明书第30-50段,第80-120段,第150段,说明书附图图30-31.

CN 103748459 A,2014.04.23,说明书第80-98段.

US 6233471 B1,2001.05.15,全文.

Chen,P等.Sensitive Electrochemical Detection of Creatinine at Disposable Screen-Printed Carbon Electrode Mixed with Ferrocenemethanol.《INTERNATIONAL JOURNAL OF ELECTROCHEMICAL SCIENCE》.2013,第8卷(第7期),第8931-8939页.

审查员 刘莉丹

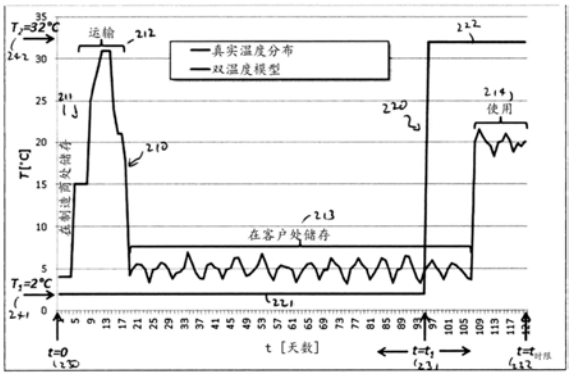
权利要求书2页 说明书13页 附图6页

(54)发明名称

对用于测量肌酸酐浓度的设备进行校准的方法

(57)摘要

本发明提供了一种使用一种或多种校准溶液对用于测量肌酸酐浓度的设备进行校准的方法,所述方法包括:接收初始时间时所述一种或多种校准溶液的肌酸Cr和/或肌酸酐Crn的浓度;接收结束时间时所述测量设备的输出;使用温度模型计算所述结束时间时所述校准溶液中的Cr和/或Crn的浓度,其中所述温度模型指示从所述初始时间到所述结束时间所述校准溶液的温度的估计值,并且其中所述温度模型包括变量参数;以及确定所述测量设备的所述输出与所述计算的Cr和/或Crn的浓度之间的关系。



CN 107003326 B

1.一种使用两种或多种校准溶液对用于测量肌酸酐浓度的设备进行校准的方法,所述方法包括:

接收初始时间时所述两种或多种校准溶液的肌酸Cr和/或肌酸酐Crn的浓度;

接收结束时间时所述测量设备的输出;

使用双温度模型计算结束时间时所述校准溶液中的Cr和/或Crn的浓度,其中所述温度模型指示从所述初始时间到所述结束时间所述校准溶液的温度的估计值,并且其中所述温度模型包括变量参数;以及

确定所述测量设备的所述输出与所述计算的Cr和/或Crn的浓度之间的关系。

2.根据权利要求1所述的方法,其中所述测量设备包括用于测量所述校准溶液一者或多者中的肌酸的传感器。

3.根据权利要求1所述的方法,其中所述测量设备包括用于测量所述校准溶液一者或多者中的肌酸酐的传感器。

4.根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述测量设备包括用于测量所述校准溶液一者或多者中的肌酸和肌酸酐的传感器。

5.根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述测量设备是安培测量设备。

6.根据前述权利要求中任一项所述的方法,还包括通过计算所述变量参数来确定所述温度模型,其中所述计算包括对包括速率方程、所述温度模型和来自所述测量设备的输出的解析式进行求解。

7.根据权利要求6所述的方法,其中所述解析式从所述速率方程对所述温度模型的积分导出,其中所述速率方程中的速率常数从阿仑尼乌斯方程导出。

8.根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述温度模型包括从所述初始时间到所述结束时间的平均温度,并且所述变量参数是所述平均温度。

9.根据权利要求1至7中任一项所述的方法,其中所述温度模型包括所述初始时间时的温度,和中间时间时的不同温度,并且其中所述变量参数是所述中间时间。

10.根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述确定所述测量设备输出与所述计算的Cr和/或Crn的浓度之间的关系包括:计算所述测量设备的传感器灵敏度。

11.根据权利要求10所述的方法,还包括基于所述测量设备的所述计算的传感器灵敏度和测量设备输出,来确定样品中的Cr和/或Crn的浓度。

12.根据前述权利要求中任一项所述的方法,其中所述结束时间大于所述初始时间之后的14天。

13.一种包含指令的计算机可读介质,所述指令在由电子设备的一个或多个处理器执行时,致使所述电子设备根据权利要求1至12任一项中要求保护的方法操作。

14.一种电子设备,包括:

一个或多个处理器;以及

包含指令的存储器,所述指令在由所述处理器中的一者或多者执行时,致使所述电子设备根据权利要求1至12任一项中要求保护的方法操作。

15.一种包含两种或多种校准溶液的包装,所述包装包含与根据权利要求1至12中任一项所述的方法或根据权利要求14所述的电子设备一起使用的指令。

16.根据权利要求15所述的包装,还包括所述初始时间以及所述初始时间时所述两种

或更多种校准溶液的Cr和Crn的浓度的指示。

对用于测量肌酸酐浓度的设备进行校准的方法

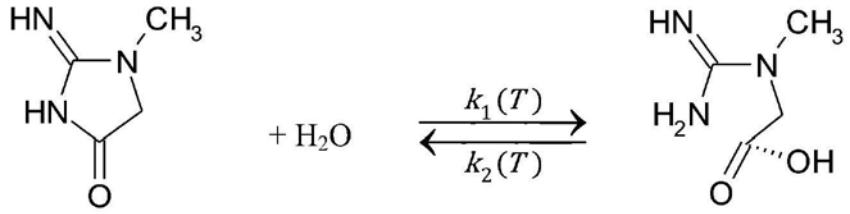
技术领域

[0001] 本发明涉及用于校准肌酸酐测量设备的方法，以及用于这些方法的校准溶液。

背景技术

[0002] 用于测量肌酸酐(Crn)和肌酸(Cr)的浓度的技术在医学上、例如在监测肾病方面是有用的。可通过安培测量法确定水溶液中Cr的浓度(cCr)和Crn的浓度(cCrn)。使用两个传感器测量cCrn：检测Cr的Crea A传感器；以及检测Cr和Crn两者的Crea B传感器。cCrn是基于Crea A与Crea B传感器测量值之间的差值。

[0003] 为了以足够精确度确定未知样品中的cCrn，必须定期校准Crea A和Crea B传感器以便确定其实际灵敏度。可使用已知cCrn和cCr的两种水性校准溶液来校准这些传感器。然而，有关此类校准溶液的一个问题是cCr和cCrn不固定。相反，当在水溶液中时，Crn和Cr可分别通过水解和消去相互转化，如方案1的反应方程中的双箭头所指示，其中T是发生反应时的温度，并且k_1和k_2分别是水解和消去反应的速率常数。

[0004] 

肌酸酐(Crn) 肌酸(Cr)

[0005] 方案1

[0006] 在恒温下足够长时间段之后，混合物将达到动态平衡，此时cCr和cCrn保持不变。然而，对溶液温度的改变会使平衡比发生移动，因此cCr和cCrn将改变。

[0007] 可通过以下方式生成具有处于平衡比的已知cCr和cCrn的校准溶液：将肌酸酐酰胺水解酶(CA)这种酶添加到已知总浓度的Cr和Crn的溶液中，然后将该溶液在特定温度下保持约一小时，让该溶液平衡。CA有利于平衡。一旦在给定温度下达到平衡，就可通过简单地参考该给定温度下的已知平衡常数来确定cCr和cCrn。

[0008] WO 2005/052596公开了用于对医疗分析仪进行质量控制的参比溶液以及用于盛装该参比溶液的试剂盒。该试剂盒包括具有第一隔室和第二隔室的容器，其中第一隔室和第二隔室可由薄壁隔开，该薄壁可在施加手动压力时破裂，从而将致使第一隔室和第二隔室的液体混合。第一隔室包含缓冲剂，而第二隔室包含两种化合物和催化剂。当催化剂和缓冲剂这两种化合物混合时，可在25℃下调节时在数小时内更快速地达到热力学平衡，从而允许溶液用作质量控制参比溶液，而在未使用催化剂的情况下，该溶液需调节长得多的时间。

[0009] 对于对cCr和cCrn两者的变化作出线性响应的传感器而言，要求这两种校准溶液的所选组合物得出线性无关方程组，即，要求$cCr_{CalX} = m \cdot cCr_{CalY}$和$cCrn_{CalX} = n \cdot cCrn_{CalY}$，其中$m \neq n$。因此，除非储存在两种不同温度下，否则这些校准溶液中的仅一种可含有处于其

平衡浓度的Cr和Crn。然而，可通过使用一种基本上纯Cr的溶液和一种基本上纯Crn的溶液，获得最佳传感器校准。

[0010] 可通过将含有已知量的Cr和Crn的已知量的干燥粉末溶解于已知体积的水或其他水性介质中，制备具有处于非平衡比的已知cCr和cCrn的校准溶液。

[0011] 通常，将校准溶液保持在15℃至32℃之间，这允许对少于14天时长的溶液进行准确计算，即使当使其接近处于恒温时也是如此。因此，现有方法能够足够准确地计算具有短使用期(即，t时限<14天)的校准溶液的cCr和cCrn。

[0012] 另一种替代方案是制备酸性肌酸酐溶液，该溶液是热力学稳定的，因此可在储存期间保持。然后可先将该溶液与缓冲溶液混合，再立即用于获得具有已知pH和cCrn的、基本上纯Crn的校准溶液。该方法对应于US2004/0072277中公开的方法。有关该方法的一个问题是如果这两种溶液装于密封气密袋中，则难以制备均匀混合物。另外，如果需要自动混合和/或如果袋是封闭系统(诸如盒式溶液包)的一部分，则混合过程还将需要泵送装置。此外，不宜让溶液经过传感器室，因为例如CA酶可能会从肌酸酐传感器泄漏出来并进入溶液中，从而破坏非平衡条件。为防止这种现象，可能需要单独的通道进行液体输送。

[0013] 在两种情况下，为实现校准溶液的精确度而设定14天时间限制是不利的，因为需要频繁更换，这对于最终用户既不经济，也不方便。此外，该短使用期可甚至进一步缩短，因为最终用户可能必须等待数日，溶液才能从制造商运送过来。或者，最终用户可能不得不在使用点(例如，医院)制备校准溶液，这会给最终用户带来额外工作，并且会造成例如称量Cr和Crn粉末及测量溶剂的体积方面不精确或因不均匀混合而造成不精确的风险。对能够使用t时限>14天的校准溶液的方法存在尚未满足的需求。

发明内容

[0014] 在本发明的第一方面，申请人提供了使用一种或多种校准溶液对用于测量肌酸酐浓度的设备进行校准的方法，该方法包括：接收初始时间时所述一种或多种校准溶液的肌酸Cr和/或肌酸酐Crn的浓度；接收结束时间时测量设备的输出；使用温度模型计算结束时间时校准溶液中的Cr和/或Crn的浓度，其中该温度模型指示从初始时间到结束时间校准溶液的温度的估计值，并且其中该温度模型包括变量参数；以及确定测量设备的输出与所计算的Cr和/或Crn的浓度之间的关系。

[0015] 通过使用校准溶液的温度模型，可以精确地校准传感器，即使当溶液所经历的确切温度分布在14天或更长时间内为未知的时也是如此。客户不局限于在收到校准溶液之后的短时间跨度内利用校准溶液，因为温度模型允许客户将溶液储存在一系列温度下，同时仍能提供精确的校准。通过提供温度分布的模型，不必知道溶液所经历的实际温度，从而避免了对与校准溶液联用的不断记录的温度传感器的需求。

[0016] 在一些示例实施例中，测量设备包括用于测量校准溶液一者或多者中的肌酸的传感器。

[0017] 在一些示例实施例中，测量设备包括用于测量校准溶液一者或多者中的肌酸酐的传感器。

[0018] 在一些示例实施例中，测量设备包括用于测量校准溶液一者或多者中的肌酸和肌酸酐的传感器。

[0019] 在一些示例实施例中,测量设备是安培测量设备。

[0020] 在一些示例实施例中,该方法还包括通过计算变量参数来确定温度模型,其中所述计算包括对包括速率方程、温度模型和来自测量设备的输出的解析式进行求解。

[0021] 在一些示例实施例中,解析式从速率方程对温度模型的积分导出,其中速率方程中的速率常数从阿仑尼乌斯方程导出。

[0022] 在一些示例实施例中,温度模型包括从初始时间到结束时间的平均温度,并且变量参数是平均温度。

[0023] 在一些示例实施例中,温度模型包括初始时间时的温度,和中间时间时的不同温度,并且其中变量参数是中间时间。

[0024] 在一些示例实施例中,所述确定测量设备输出与所计算的Cr和Crn的浓度之间的关系包括:计算测量设备的传感器灵敏度。

[0025] 在一些示例实施例中,该方法包括基于测量设备的所计算的传感器灵敏度和测量设备输出,来确定样品中的Cr和/或Crn的浓度。

[0026] 在一些示例实施例中,结束时间大于初始时间之后的14天。

[0027] 根据本发明的另一个方面,提供了包含指令的计算机可读介质,所述指令在由电子设备的一个或多个处理器执行时,致使电子设备根据任何上述方法操作。

[0028] 根据本发明的另一个方面,提供了电子设备,其包括:一个或多个处理器;和包含指令的存储器,所述指令在由处理器中的一者或多者执行时,致使电子设备根据任何上述方法操作。

[0029] 根据本发明的另一个方面,提供了包括一种或多种校准溶液的包装,该包装适合与任何上述方法或上述电子设备一起使用。

[0030] 在一些示例实施例中,该包装还包括初始时间以及初始时间时所述两种或更多种校准溶液的肌酸(Cr)和肌酸酐(Crn)的浓度的指示。

附图说明

[0031] 现在将参照附图详细描述本发明提出的装置的示例,在附图中:

[0032] 图1是安培测量系统的示例的示意图;

[0033] 图2是示出校准溶液的温度变化以及估算温度变化的对应双温度模型的曲线图;

[0034] 图3是示出所提出的方法的推导的流程图;

[0035] 图4是概述所提出的方法的步骤的流程图;

[0036] 图5是一系列曲线图,它们将校准溶液中的浓度与根据所提出的方法的示例实施例计算的浓度进行比较;以及

[0037] 图6是一系列曲线图,它们将校准溶液中的浓度与根据所提出的方法的另一示例实施例计算的浓度进行比较。

具体实施方式

[0038] 现在将参照图1,其是三电极安培测量系统101的示意图。安培测量系统可具有至少两个电极:工作电极(WE)110及组合的反电极和参比电极(CE/RE)。对于三电极安培测量系统101而言,CE/RE电极的功能分成两个单独的电极:参比电极(RE)111和反电极(CE)112。

示例安培测量系统101还包括安培计120、伏特计121和电压源122及电解质溶液140。

[0039] WE 110是带正电的电极，此处发生氧化反应。RE 111通常由Ag/AgCl制成并且能够保持稳定电势(尤其是在没有电流流过其中的情况下)，因此需要CE 112使来自WE 110的电流往回流到电解质溶液140。电解质溶液140/样品150提供这三个电极之间的电流路径。膜130选择性地将分析物转化为选择性地允许从样品150穿过的物质。电压源122施加必要的电势以保持所需的还原或氧化反应，这受到伏特计121的控制。安培计120测量所产生的流过电路的电流。

[0040] 图1所示的安培测量系统是说明性的示例，可以设想到若干其他实施方式。例如，安培测量系统可为如上所述的双电极系统。

[0041] 流过电极链的电流的强度与在WE 110处氧化(或还原)的物质的浓度成比例。理想情况下，当获知将电流与浓度关联起来的比例常数时，任何给定样品中的浓度都可通过测量该特定样品所生成的电流来获得。

[0042] 为了说明安培测量系统中的测量过程，我们假定：样品150含有物质B，其在膜130中选择性地转化为物质A，后者可在WE 110(阳极)处氧化为A^+；并且电解质140含有物质X，其在CE 112(阴极)处还原为X^-。我们还假定，膜130仅允许物质A从样品穿过并进入电解质溶液140中。

[0043] 当在电极两端施加适当的电势时，A根据以下反应在WE 110处发生氧化：

[0044] $A \rightarrow A^+ + e^-$

[0045] A的氧化反应产生电子流。为了完成该电路，需要消耗电子的还原反应。因此，物质X根据以下反应在CE 112处发生还原：

[0046] $X + e^- \rightarrow X^-$

[0047] 流过电路的电流的强度与发生氧化的分析物的浓度成比例。因此，如果物质X过量，则分析仪可自动计算样品中的分析物的浓度。

[0048] 术语传感器是指完整的安培测量系统，如不包括样品150的图1中所示。

[0049] Crn在水溶液(例如，血液)中不稳定，它会在此可逆地转化为Cr(参见方案1)。为了测量cCrn，本发明利用双传感器系统，其中一个传感器(Crea A)仅检测Cr，而另一个传感器(Crea B)检测Cr和Crn两者。借助于差值测量，可以获得cCrn值。

[0050] 传感器由多层膜130保护，该多层膜由至少三个功能层组成，即，可透过Crn和Cr的外膜层；中间酶层；以及可透过H_2O_2的内膜层。

[0051] Crn和Cr分子扩散穿越外膜层。肌酸酐酰胺水解酶、肌酸脒基水解酶和肌氨酸氧化酶这些酶固定在内膜层与外膜层之间。Crea A传感器仅含有肌酸脒基水解酶和肌氨酸氧化酶，因此仅检测Cr。在Crea A传感器中，酶级联反应按如下方式改变Cr：

[0052] 肌酸+H_2O→肌氨酸+脲 (肌酸脒基水解酶)

[0053] 肌氨酸+H_2O+O_2→甘氨酸+甲醛+H_2O_2 (肌氨酸氧化酶)

[0054] Crea B传感器含有肌酸酐酰胺水解酶、肌酸脒基水解酶和肌氨酸氧化酶所有三种酶，因此能检测Crn和Cr两者。在酶级联反应中，Crn/Cr按如下方式改变：

[0055] **肌酸酐+ H_2O ↔肌酸** **(肌酸酐酰胺水解酶)**

[0056] 肌酸+H_2O→肌氨酸+脲 (肌酸脒基水解酶)

[0057] 肌氨酸+H_2O+O_2→甘氨酸+甲醛+H_2O_2 (肌氨酸氧化酶)

[0058] 对于Crea A和Crea B传感器两者而言，这些酶反应产生相同的终产物，其中之一是H_2O_2，它可穿越内膜层扩散到WE 110(优选铂)。通过将足够高的电势施加到Crea A和Crea B传感器的电极链，H_2O_2可在WE110处发生氧化：

[0059] $H_2O_2 \rightarrow 2H^+ + O_2 + 2e^-$

[0060] 为了完成该电路，在CE 112处利用还原反应消耗电子，从而保持WE110与CE 112之间的电荷平衡。

[0061] H_2O_2的氧化反应产生与H_2O_2的量成比例的电流(I)，继而根据以下传感器响应模型，将电流(I)与Crea A传感器的Cr量及Crea B传感器的Cr和Crn量直接关联：

[0062] $$I^A = S_{Cr}^A \cdot cCr \qquad \text{方程 1}$$

[0063] $$I^B = S_{Cr}^B \cdot cCr + S_{Crn}^B \cdot cCrn \qquad \text{方程 2}$$

[0064] 其中I^A和I^B分别是在Crea A和Crea B传感器处产生的电流；S_{Cr}^A和S_{Cr}^B分别是Crea A和Crea B传感器中将电流(I)与Cr浓度关联起来的灵敏度常数，并且S_{Crn}^B是Crea B传感器中将电流(I)与Crn浓度关联起来的灵敏度常数。

[0065] 将电流与浓度关联起来的比例常数S通常称为灵敏度。通过校准传感器来确定这些常数。通过分析仪中的安培计120来测量每个传感器的电流(信号)。如果传感器灵敏度S为已知的，则易于由以上方程确定给定样品中的未知Crn浓度。

[0066] 可基于反应速率方程和由阿仑尼乌斯方程描述的速率常数，计算相对于cCr和cCrn的上次已知值而言cCr和cCrn的变化。为了进行该计算，需要知道自上次已知cCr和cCrn起经过的时间段(t时限)，以及在该时间段期间溶液所经历的温度。

[0067] 在校准溶液经历了一系列温度时对cCr和cCrn进行精确估算的一种方式是，记录自上一次浓度测量起温度的变化。例如，当运送校准溶液时，校准溶液包可包括温度测量设备以及用于记录温度变化的装置。

[0068] 一种示例实施方式将包括温度探针，该温度探针定期将溶液的温度记录到计算机存储器中，使得当溶液需要校准时，可访问该存储器以确定所经历的温度。温度探针与用于记录所记录的温度的存储器的组合在本文可称为温度记录仪。

[0069] 在获知温度的历史变化的情况下，可以精确地计算从记录的初始浓度到校准时所计算的浓度的浓度变化。例如，可以基于反应速率方程以及由阿仑尼乌斯方程描述并应用于随时间推移记录的温度的速率常数，计算cCrn和cCr随时间推移的变化。

[0070] 由于每种溶液包都将需要温度记录仪，因此为了降低成本，可能有利的是使用低成本的温度探针。虽然低成本的温度探针可导致温度测量不精确，但该温度探针可用更精确的温度探针进行校准。该校准可涉及比较低成本温度探针和参比温度探针对一个温度或一系列温度的测量值，以确定这些测量值之间是否存在差值。如果确定存在差值，则存储器中记录的温度可偏移该差值。所记录的温度的该偏移可应用于已经记录的读数，或可应用于温度的所有后续记录。

[0071] 与溶液包一起打包的温度记录仪可用于在储存和运输溶液包的同时提供温度变化的精确测量，并且最终可用于帮助校准传感器。一旦校准溶液已到达其目的地，就可使用附带的温度记录仪校准传感器，然后可由更精确的温度记录仪继续监测温度，以确保传感

器灵敏度保持最新。更精确的温度记录仪可为测量站的一部分，或可为最终用户的永久装设的一部分。

[0072] 令人惊奇的是，已发现，在一个实施例中，在与真实温度存在一定温度偏移量且热暴露不太类似于校准溶液所经历的温度分布的情况下，使用温度记录仪计算校准物中的转化率仍然能提供校准物中的Cr和Crn浓度的可接受估计值。因此，可能不需要对温度探针的这种校准，并且可以使用低成本的温度探针。使用温度记录仪作为对确切温度分布的估计，可以为估计校准物中的Cr和Crn浓度提供足够数据。

[0073] 虽然使用一种或多种温度测量设备并记录这些测量值可以得出非常精确的终浓度计算值，但可能有利的是，在不使用温度探针或存储器的情况下计算类似精确的结果，以便降低每包校准溶液的成本。一种这样的方法涉及使用温度模型估算所经历的温度变化。

[0074] 图2是示出校准溶液的示例温度分布以及估算温度变化的对应双温度模型的曲线图。真实温度分布210示出了从初始时间230(t＝0)到结束时间232(t＝t时限)的实际温度变化。在该示例中，温度以在制造商处储存的4天初始时间段内较低的4℃开始211。当运输校准溶液时，在大约14天的时间段内温度升高至31℃的较高温度212。在运输212校准溶液之后，它们由客户在较低温度(大约5℃)下储存大约76天的时间段213。在该示例中，客户从储存室取出校准溶液以便在14天时间段内使用214，在这段时间期间，校准溶液保持在大约20℃的较高温度下。

[0075] 虽然如果最终用户自行通过将已知温度的水性介质与Cr和Crn粉末混合来制备校准溶液的话，该用户将了解校准溶液的温度，但是如果由制造商制备的话，该用户将无法了解从生产时间点起一直到使用时的温度分布。如图2所示，真实温度分布210可非常复杂，在长时间段内出现大幅温度波动。以往，此类温度波动使得难以精确地计算校准溶液的浓度水平。

[0076] 申请人已令人惊奇地确认，虽然温度分布不一定为客户所知，但可通过简单得多的温度模型对复杂温度分布进行建模。图2中指出了示例温度模型，即双温度模型220。复杂温度分布被建模为在从初始时间t＝0 230到中间时间t＝t_1 231的第一时间段221内具有T_1＝2℃241的低温，然后在从中间时间t＝t_1 231到结束时间t＝t时限232的时间段222内具有T_2＝32℃242的高温。虽然图2中的双温度模型220并不完全匹配真实温度分布210，但其提供了温度变化的函数估计。

[0077] 可优化t_1的值以补偿真实温度分布210与双温度模型220之间的任何差异。例如，虽然真实温度分布210中最终的温度升高在约107天发生，但双温度模型220的对应温度升高在较早时间t＝t_1＝95天发生。该较早的t_1时间早于实际的温度升高，以补偿初始运输阶段212期间大幅的温度升高。类似地，如果温度值T_1和T_2被选择为太高或太低，则也可调节t_1的值以对此进行补偿。

[0078] 真实温度分布可被简化成多温度模型，因为肌酸酐/肌酸溶液的储存、运输和使用条件的模式遵照类似的模式。表1示出了支持cCrn测量的示例校准溶液的估计时间和温度范围。

[0079]

	最长时间[天]	温度[℃]
在制造商处储存	56	2-8

从制造商运输到客户	14	2-32
在客户处储存	108(约31/2个月)	2-8
使用	14	15-32

[0080] 表1

[0081] 可使用其他多温度模型。例如,可使用具有三种或更多种温度的温度模型。并非温度的离散阶跃变化,而是例如可使用简单指数函数将温度的逐步冷却和加热并入到模型中,或可使用正弦函数将波动并入到模型中。

[0082] 在所提供的示例实施例中,使用双温度模型,因为其提供了所提出的解决方案的简单说明。在该示例实施例中,以下校准物Cal2和Cal3用于校准Crea A和Crea B传感器:

[0083]

在时间:t生产	Cal2	Cal3
cCr[μM]	0	500
cCrn[μM]	500	0
传感器	Crea B	Crea A和Crea B

[0084] 表2

[0085] 除Cr和Crn之外,校准物Cal2和Cal3还可含有缓冲剂、盐、防腐剂和洗涤剂。出于所提出的方法的目的,将回顾这些校准物中仅Cr和Crn的浓度。

[0086] 在本文给出的示例实施例中,通过使用两种校准溶液和两种传感器来确定Cr和Crn两者的浓度。然而,可以设想到,所提出的方法可用于仅计算Cr浓度或仅计算Crn浓度。如果确定了仅一种物质的浓度(Cr或Crn),则仅需要一种特定传感器(Cr或Crn)和两种校准溶液。

[0087] 如方案1所示,Crn与Cr可通过可逆反应中的水解和消去相互转化。该可逆转化反应在这两种物质中的任一者溶于水中时立即开始,并且将以较高速率朝一个方向继续进行,直到该体系达到热力学平衡,即,直到根据该反应的平衡常数($K_{eq}(T)$)达到其相互平衡浓度(cX_{eq}):

[0088] $$K_{eq}(T)=\frac{cCr_{eq}(T)}{cCrn_{eq}(T)}=\frac{k_1(T)}{k_2(T)}.$$ 方程 3

[0089] 平衡常数还可按照方案1中的转化反应中涉及的正向反应和逆向反应(单独的箭头)的速率常数$k_1(T)$和$k_2(T)$表示。这些速率常数是温度相关的,但不一定有同等程度的相关性。因此,转化反应的平衡常数$K_{eq}(T)$(及从而Crn和Cr的平衡浓度)也将是温度相关的。

[0090] 速率常数的温度相关性由阿仑尼乌斯方程决定:

[0091] $$k_i(T_t)=A_i\cdot\exp\left(\frac{\beta_i}{T_t}\right)=\exp\left(\alpha_i+\frac{\beta_i}{T_t}\right)\quad,\quad 其中\quad \alpha_i=\ln A_i$$ 方程 4

[0092] 温度T的下标此处用作速记符号,以指示其可为时间t的函数。α_i和β_i是所考虑的反应的相关阿仑尼乌斯参数,已知这些参数具有非常高的精确度。

[0093] 从在生产过程期间添加Cr和/或Crn的时刻开始,自发地在校准物Cal2和Cal3中发生上述反应。因此,溶液包的校准物中的Cr和Crn的实际浓度强烈取决于自生产起经过的时间,并且取决于在该时间跨度期间单独溶液包所经历的温度分布T分布(t)。表2示出了Cal2

和Cal3中的Cr和Crn的浓度随时间和温度分布的变化：

[0094]

在时间:t>t生产	Cal2	Cal3
cCr[μM]	$\Delta cCrn_{Cal2}$(t,T分布(t))	500-ΔcCr_{Cal3}(t,T分布(t))
cCrn[μM]	500-$\Delta cCrn_{Cal2}$(t,T分布(t))	ΔcCr_{Cal3}(t,T分布(t))

[0095] 表3

[0096] 在表3中，$\Delta cCrn_{Cal2}$是由于其一对一转化成Cr而出现的、截止到时间t的Cal2中Crn浓度的变化；并且ΔcCr_{Cal3}是由于其一对一转化成Crn而出现的、截止到时间t的Cal3中Cr浓度的变化。

[0097] 在无限小的时间跨度(dt)期间cCrn的浓度变化(dcCrn)遵守以下微分方程，也称为速率方程：

[0098] $$\frac{dcCrn}{dt} = k_2(T_t)\cdot cCr - k_1(T_t)\cdot cCrn, \qquad \text{方程 5}$$

[0099] 将反应速率方程(方程5)与阿仑尼乌斯方程(方程4)和双温度模型合并，得到解析式$cCr_{Cal\#}^{模型}(t_1)$和$cCrn_{Cal\#}^{模型}(t_1)$，它们分别是随初始温度T_1(通常为较低温度)下消耗的时间t_1而变化的校准物“Cal#”中的Cr和Crn浓度。

[0100] 如果真实温度分布(T_t=T分布(t))；上述反应的相关阿仑尼乌斯参数(α_i和β_i)；以及时间t=0时校准物Cal#中的Cr和Crn的起始浓度$cCr_{Cal\#}^{0}$和$cCrn_{Cal\#}^{0}$每一者都是已知的，则可通过速率方程的积分，获得随后任何时间的该校准物中的真实Cr和Crn浓度的非常精确估计值。

[0101] 如果没有提供温度变化的记录，则在储存、运输、客户处储存及使用期间校准溶液所经历的真实温度分布可能不为最终用户所知。虽然确切温度分布可能是未知的，但存在若干彼此独立的变量，可通过测量这些变量揭示这些条件的细节。因此，为了获得未知真实温度分布的足够精确估计值，我们在cCrn测量系统中利用了所有可用的自由度(DOF)，这些自由度未用于其他目的，例如未用于校准Crea A和Crea B传感器。

[0102] Crea A和Crea B传感器对两种校准溶液Cal2和Cal3进行测量，得到4种传感器信号，即4个可用DOF。根据表2及其支持文本，4个可用DOF之中有3个被分配用于传感器校准目的，留下一个未使用的多余DOF：Cal2上的Crea A信号。该单个DOF可用于确定“未知”实体的值，采用的方式与另3个DOF将用于确定3个“未知”传感器灵敏度的方式相同。

[0103] 图3是流程图，示出了所提出的确定校准物中的分析物水平且随后校准传感器的方法的逐步推导。

[0104] 如上所述，将速率方程310(方程5)与阿仑尼乌斯方程311(方程4)和温度模型320合并。为了选择适当的温度模型，需要了解预期之中的温度波动的一般模式。表1提供了该一般模式的示例，因为其指示了校准溶液可经历的不同条件(生产处储存、运输、客户处储存及使用)。该表还示出了校准溶液预期会经历的温度范围，并且其指示了这些溶液预期在这些条件下保持多久的时间段。

[0105] 所选择的温度模型可具有初始时间(t生产或t=0)时的初始温度(T_1)、校准时间(t时限)时的最终温度(T_2)以及温度从初始温度变化到最终温度的中间时间点(t_1)。虽然初

始时间和结束时间将为已知的，并且初始温度和最终温度为已知或估计的，但中间时间t_1可能完全未知。在这种情形下，可使用可用的DOF确定该中间时间t_1。

[0106] 技术人员可以查阅可用的数据，并相应地建立温度模型。在存在一个可用DOF的情况下，温度模型将被建立成使得仅存在一个未知数，诸如中间时间t_1。在存在超过一个可用DOF的情况下，可使用与可用DOF一样多的未知数建立温度模型。

[0107] 在上述实施例中，使用可用的DOF确定温度模型中的变量参数t_1，该温度模型包括两种已知的(或估计的)温度以及温度在这两种温度之间变化的时间t_1。可用DOF的另一种可能用途是确定温度模型中的在整个时间跨度t时限-t生产中使用的平均转化温度，该温度模型包括作为变量参数的单一未知温度。

[0108] 在同此提出的示例中，可通过双温度模型对真实温度分布T分布(t)进行建模，该双温度模型取决于初始温度T_1和最终温度T_2、结束时间t时限和中间时间t_1(且暗含初始时间$t_0=0$)。在给出所确认的一般模式的情况下，真实温度分布可被建模为中间时间t_1时从初始温度到最终温度的简单阶跃变化。该模型可表示为：

[0109] $$T_{\text{分布}}^{\text{模型}}(t;T_1,T_2,t_1,t_{\text{时限}})=\begin{cases}T_1 & , \quad 0\le t\le t_1\\ T_2 & , \quad t_1<t\le t_{\text{时限}}\end{cases}$$ 方程6

[0110] 原则上，温度T_1和T_2可任意选择。然而，为了确保该模型可涵盖所有可能的温度情形，可将温度T_1和T_2设定为匹配预期的温度范围。使用表2中所示的预期模式，可将温度设定为表2的三个初始温度间隔任一者中指定的最小温度(2℃)和最大温度(32℃)。初始温度T_1可表示校准溶液的预期冷藏温度，并且最终温度T_2可表示校准溶液预期在运输期间和/或在使用期间经历的温度。因此，初始温度和最终温度可能分别不是初始时间t_1和结束时间t时限时的实际温度。

[0111] 参数t_1是在温度T_1下消耗的未知时间量。参数t时限是相对于使用参考方法测量校准物中的分析物水平$(cCr^0_{Cal2}, cCrn^0_{Cal2}, cCr^0_{Cal3}, cCrn^0_{Cal3})$时的时间点t=0而言溶液包的时限。分析物水平及其测量时的绝对时间点可以电子方式存储在每个单独溶液包中，因此很容易在分析时输入。

[0112] 在步骤330处，对速率方程310(方程5)、阿仑尼乌斯方程311(方程4)和温度模型320的组合进行解析求解。这通过对所得的微分方程求解两次来进行，即，分别在具有对应时间跨度t_1和$t_2=$t时限$-t_1$的恒温T_1和T_2的线段中，通过在每个线段中使用适当的起始条件来进行。这得出了以下随t_1变化的给定校准物(“Cal#”)中的Cr和Crn浓度的方程：

[0113]

$$cCr_{Cal\#}^{\text{模型}}(t_1;t_{\text{时限}},T_1,T_2)=$$
$$\frac{k_1(T_2)}{K(T_2)}\cdot c_{Cal\#}^{tot}+\left(\left(\frac{k_2(T_1)}{K(T_1)}-\frac{k_2(T_2)}{K(T_2)}\right)\cdot c_{Cal\#}^{tot}-\left(cCr^0_{Cal\#}-\frac{k_1(T_1)}{K(T_1)}\cdot c_{Cal\#}^{tot}\right)\cdot e^{-t_1K(T_1)}\right)\cdot e^{-(t_{\text{时限}}-t_1)K(T_2)}$$

方程7

[0114]

$$cCrn_{Cal\#}^{模型}(t_1;t_{时限},T_1,T_2)=$$
$$\frac{k_2(T_2)}{K(T_2)}\cdot c_{Cal\#}^{tot}+\left(\left(\frac{k_2(T_1)}{K(T_1)}-\frac{k_2(T_2)}{K(T_2)}\right)\cdot c_{Cal\#}^{tot}+\left(cCrn_{Cal\#}^{0}-\frac{k_2(T_1)}{K(T_1)}\cdot c_{Cal\#}^{tot}\right)\cdot e^{-t_1K(T_1)}\right)\cdot e^{-(t_{时限}-t_1)K(T_2)}$$

方程 8

[0115] 其中 $c_{Cal\#}^{tot}=cCr_{Cal\#}^{0}+cCrn_{Cal\#}^{0}$ 和K(T)＝k_1(T)+k_2(T)是常数。方程7给出了结束时间t时限时的Cr浓度。方程7和8的参数340中有多个是已知的，并且未知变量是t_1。值k_1、k_2和K可由阿仑尼乌斯方程确定，其中α和β是已知为高精确度的良态值。浓度 $cCr_{Cal\#}^{0}$，$cCrn_{Cal\#}^{0}$ 和 $c_{Cal\#}^{tot}$ 是测量时间t＝0时的溶液而获知的浓度。温度T_1和T_2根据所使用的温度模型而获知，并且t时限根据自校准溶液生产起的时间而获知。因此，方程7和8是步骤331处的表达式，但在可以计算实际浓度之前，需要根据方框350中的步骤确定未知变量t_1。

[0116] 根据方程1中的传感器响应模型351，可容易针对在给定时间例如t＝t时限时未经校准的Crea A传感器对两种校准物的测量值导出以下普遍有效的关系式：

[0117] $$\frac{I_{Cal2}^{A}(t_{时限})}{cCr_{Cal2}(t_{时限})}=\frac{I_{Cal3}^{A}(t_{时限})}{cCr_{Cal3}(t_{时限})}$$

方程 9

[0118] 方程9的关系式对于未经校准的Crea A传感器是有效的，因为校准参数(即，Cr灵敏度 S_{Cr}^{A} 未输入该方程。方程9指出，在给定时间，Crea A传感器信号与对一种校准溶液测量的Cr浓度之间的比率具有与其他校准溶液相同的值。

[0119] 现在可将方程7和8中的 $cCr_{Cal\#}^{模型}$ 和 $cCrn_{Cal\#}^{模型}$ 的解析式插入方程9中，从而形成“Cr-恒等式”332方程10。

[0120] $$\frac{I_{Cal2}^{A}(t_{时限})}{I_{Cal3}^{A}(t_{时限})}=\frac{cCr_{Cal2}^{模型}(t_1;t_{时限},T_1,T_2)}{cCr_{Cal3}^{模型}(t_1;t_{时限},T_1,T_2)}$$

方程 10

[0121] 可将在结束时间时Crea A传感器对于这两种校准溶液的原始输出输入到方程10的左手边。方程的右手边是剩余一个未知变量t_1的非线性函数，并且是最现实的温度和时间范围内的单调函数。作为单调函数，仅存在t_1的一个解，因此可在步骤333处通过数值方法求解方程10以解出t_1。因此，Crea A传感器的原始信号之间的比率得出t_1的一个可能值，从而得出逼近真实温度分布的一个可能温度分布。

[0122] 一旦获知t_1的值且因此获知温度模型，就可以对校准溶液的浓度的方程7和8进行求解334。具体地讲，可在结束时间时对校准溶液确定Cr浓度cCr_{Cal2}和cCr_{Cal3}以及Crn浓度$cCrn_{Cal2}$和$cCrn_{Cal3}$。

[0123] 一旦已在结束时间时对校准溶液估计Cr和Crn的浓度，就可以将这些浓度与校准溶液的原始传感器读数进行比较以确定灵敏度，从而校准360传感器。

[0124] 方程1和2分别提供了Crea A和Crea B传感器的传感器响应模型。在步骤361处，可使用这些传感器响应模型导出以下关系式：

[0125] $$S_{Cr}^{A}=\frac{I_{Cal3}^{A}}{cCr_{Cal3}}$$ 方程 11

[0126] $$S_{Cr}^{B}=\frac{I_{Cal2}^{B}\cdot cCrn_{Cal3}-I_{Cal3}^{B}\cdot cCrn_{Cal2}}{cCr_{Cal2}\cdot cCrn_{Cal3}-cCr_{Cal3}\cdot cCrn_{Cal2}}$$ 方程 12

[0127] $$S_{Crn}^{B}=\frac{I_{Cal3}^{B}\cdot cCr_{Cal2}-I_{Cal2}^{B}\cdot cCr_{Cal3}}{cCr_{Cal2}\cdot cCrn_{Cal3}-cCr_{Cal3}\cdot cCrn_{Cal2}}$$ 方程 13

[0128] 校准浓度可由步骤334确定，并且Cal3处Crea A传感器的原始信号以及Cal2和Cal3处Crea B传感器的原始信号可在步骤362处确定。可在步骤363处将这些值代入方程11、12和13，从而计算Crea A传感器对于Cr的灵敏度以及Crea B传感器对于Cr和Crn的灵敏度。利用这些灵敏度，可以精确地测量任何给定样品中的Cr或Crn的浓度。

[0129] 虽然图3概述了用于推导所提出的方法的步骤，但图4总结了用于执行所提出的方法的示例实施例的步骤。所提出的方法不限于图4所示的步骤的次序，可以设想所述方法也不仅仅限于所提供的该示例实施例。

[0130] 在步骤410处，在初始时间时测量并记录校准溶液中的Cr和Crn的浓度。初始时间可刚好在溶液生产之后，和/或处于校准溶液派送之前的任何适当时间。可使用一系列技术和已知的传感器，诸如通过高效液相色谱法(HPLC)来测量浓度。可通过任何装置来记录浓度，这些装置允许最终用户在后续计算中使用这些所记录的浓度。例如，浓度可以书面形式存储在校准包上，或可以电子方式存储在服务器，或可以电子方式存储在校准包自身，使得校准机器可自动读取所存储的变量。类似地，这些包可带有时间戳，使得在执行后续的计算时初始时间将为已知的。

[0131] 在步骤420处，将校准溶液派送给最终消费者。从这时起，存储校准溶液的实际温度可能无法获知。

[0132] 方框430示出了最终用户试图校准Cr和Crn传感器而可采取的步骤，从收到校准溶液开始并在结束时间(也称为t时限)时开始校准过程440。

[0133] 在步骤450处，通过传感器测量校准溶液中的原始Cr和Crn信号。这些原始信号是传感器的电流输出 $I_{Cal2}^{A}(t_{时限})$，$I_{Cal3}^{A}(t_{时限})$，$I_{Cal2}^{B}(t_{时限})$ 和 $I_{Cal3}^{B}(t_{时限})$。

[0134] 在步骤460处，确定温度模型。在双温度模型的示例中，这涉及通过求解方程10的 t_1 来计算中间时间 t_1。为了进行该计算，需要知道相关反应的阿仑尼乌斯值，以及在步骤410处记录的初始时间和初始浓度。

[0135] 在步骤470处，使用步骤460处确定的温度模型求解方程7和8，从而计算校准溶液中的Cr和Crn的实际浓度。

[0136] 在步骤480处，将步骤450中计算的传感器输出(具体地讲，$I_{Cal3}^{A}(t_{时限})$、$I_{Cal2}^{B}(t_{时限})$ 和 $I_{Cal3}^{B}(t_{时限})$)和步骤470处计算的浓度代入方程11至13以确定传感器灵敏度，从而校准传感器。

[0137] 在方框430处执行的步骤可由最终用户手动地执行。或者，方框430处的一些或所有步骤可由系统自动进行。例如，校准系统可处理校准包并自动读取指示初始浓度和初始

时间的电子数据。校准系统可测量如步骤450和470中指示的所有原始传感器输出。校准系统可包含电子设备，该电子设备具有用于执行步骤460、470和480的计算的处理器。计算机软件可提供于计算机可读介质中，用户可将该计算机软件安装到自己的计算机上，以便自动执行该方法的任何计算。

[0138] 虽然用于校准传感器的温度模型仅是校准溶液的真实温度分布的估计，但所提出的解决方案提供了非常精确的结果。图5示出了多个曲线图，它们将校准溶液的实际浓度(例如使用HPLC)与使用所提出的方法计算的浓度进行比较。

[0139] 对在不同温度下储存多种时间跨度的Cal2和Cal3溶液执行测试，这些时间跨度和温度不仅对应于溶液包的现实时间/温度情形，而且对应于超出表1中的指定时间/温度范围的极端情形。

[0140] 数据点511、521、531和541适用于在10℃下储存53天的校准溶液。数据点512、522、532和542适用于在10℃下储存53天、在32℃下储存15天和在10℃下储存34天的校准溶液。数据点513、523、533和543适用于在10℃下储存53天、在6℃下储存15天、在10℃下储存29天和在6℃下储存20天的校准溶液。数据点514、524、534和544适用于在10℃下储存53天、在25℃下储存15天、在10℃下储存29天和在25℃下储存20天的校准溶液。数据点515、525、535和545适用于在10℃下储存53天、在32℃下储存32天、在10℃下储存29天和在32℃下储存20天的校准溶液。

[0141] 曲线图510示出了在不同温度条件下Cal2溶液中的计算和实际Cr浓度。线性趋势线516(公式y＝1.0317x+2.0703)指示计算浓度与实际浓度之间的线性关系，其中R^2值为0.98。曲线图520示出了在不同温度条件下Cal2溶液中的计算和实际Crn浓度。线性趋势线526(公式y＝0.9466x+24.0)指示计算浓度与实际浓度之间的线性关系，其中R^2值为0.9786。曲线图530示出了在不同温度条件下Cal3溶液中的计算和实际Cr浓度。线性趋势线536(公式y＝0.9522x+17.951)指示计算浓度与实际浓度之间的线性关系，其中R^2值为0.97。曲线图540示出了在不同温度条件下Cal3溶液中的计算和实际Crn浓度。线性趋势线546(公式y＝0.9621x+5.5329)指示计算浓度与实际浓度之间的线性关系，其中R^2值为0.97。

[0142] 这些曲线图表明，尽管温度模型仅是真实温度分布的估计，但使用所提出的方法计算的浓度始终接近实际浓度。

[0143] 图6示出了多个曲线图，它们将校准溶液的实际浓度(例如使用HPLC)与由使用温度记录仪生成温度模型的示例实施例计算的浓度进行比较。

[0144] 对在不同温度下储存多种时间跨度的Cal2和Cal3溶液执行测试，这些时间跨度和温度不仅对应于溶液包的现实时间/温度情形，而且对应于超出表1中的指定时间/温度范围的极端情形。

[0145] 曲线图610示出了与实际浓度相比Cal2溶液中的计算Cr浓度。线性趋势线611(公式y＝1.0395x-0.24446)指示计算浓度与实际浓度之间的线性关系，其中R^2值为0.9899。曲线图620示出了与实际浓度相比Cal2溶液中的计算Crn浓度。线性趋势线621(公式y＝0.9681x+15.401)指示计算浓度与实际浓度之间的线性关系，其中R^2值为0.992。曲线图630示出了与实际浓度相比Cal3溶液中的计算Cr浓度。线性趋势线631(公式y＝0.931x+32.896)指示计算浓度与实际浓度之间的线性关系，其中R^2值为0.9656。曲线图640示出了

与实际浓度相比Cal3溶液中的计算Crn浓度。线性趋势线641(公式y＝0.9465x+1.5862)指示计算浓度与实际浓度之间的线性关系,其中R^2值为0.9707。

[0146] 这些曲线图表明,使用温度探针记录温度的历史变化可得到Cr和/或Crn浓度的非常精确计算。

[0147] 应当理解,本公开包括上述实施例中陈述的任选特征的组合排列。具体地讲,应当理解,所附从属权利要求中陈述的特征与可提供的任何其他相关独立权利要求联合公开,并且该公开内容不限于仅仅是这些从属权利要求的特征与它们初始从属的独立权利要求的组合。

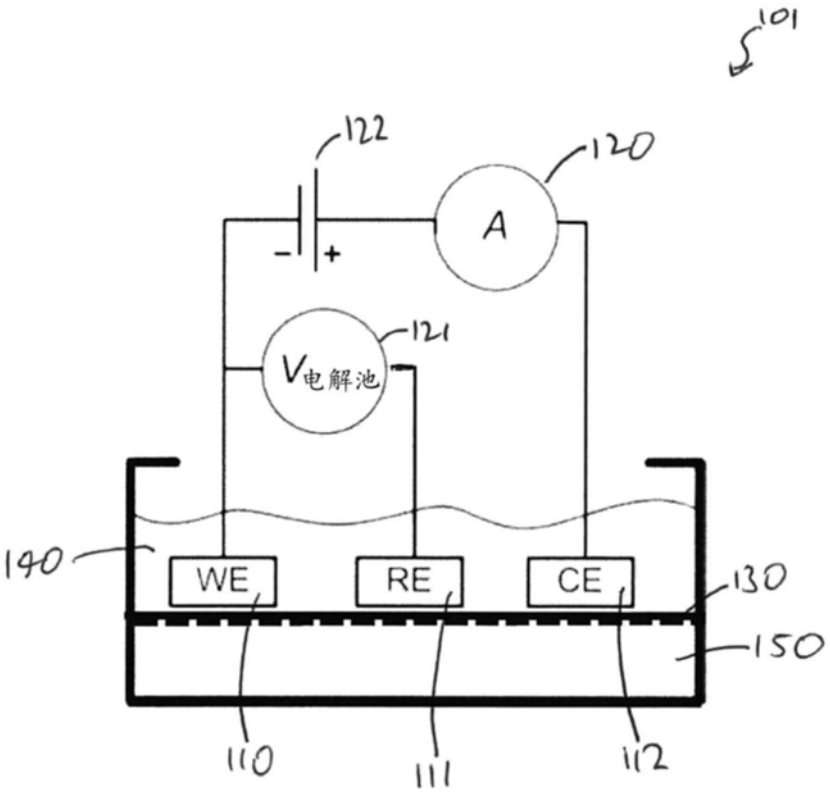


图1

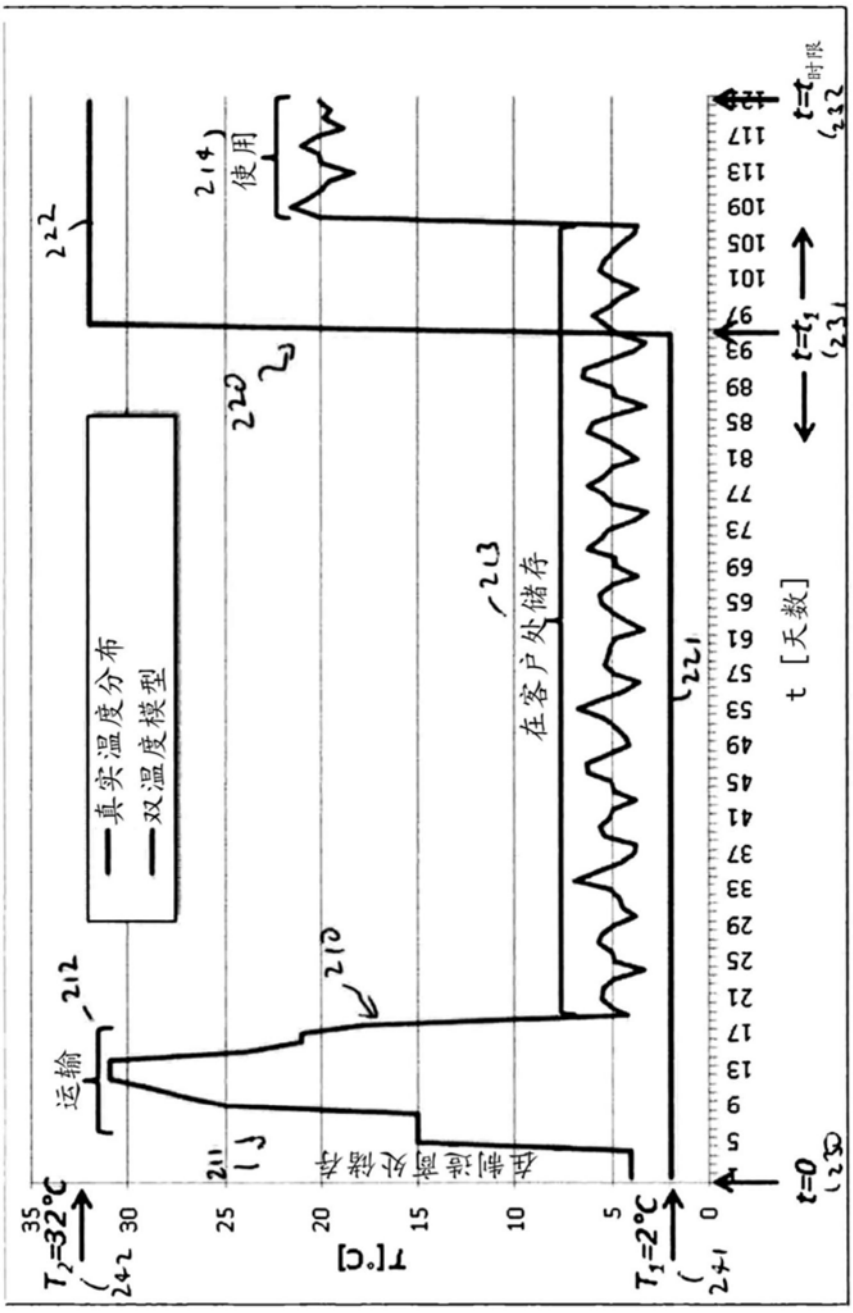

真实温度分布
双温度模型
运输
212
在制造商处储存
211
210
220
使用
214
222
在客户处储存
213
221
T_2=32°C
242
T_1=2°C
241
t=0
231
$t=t_1$
232
$t=t_{时限}$
T[°C]
t [天数]

图2

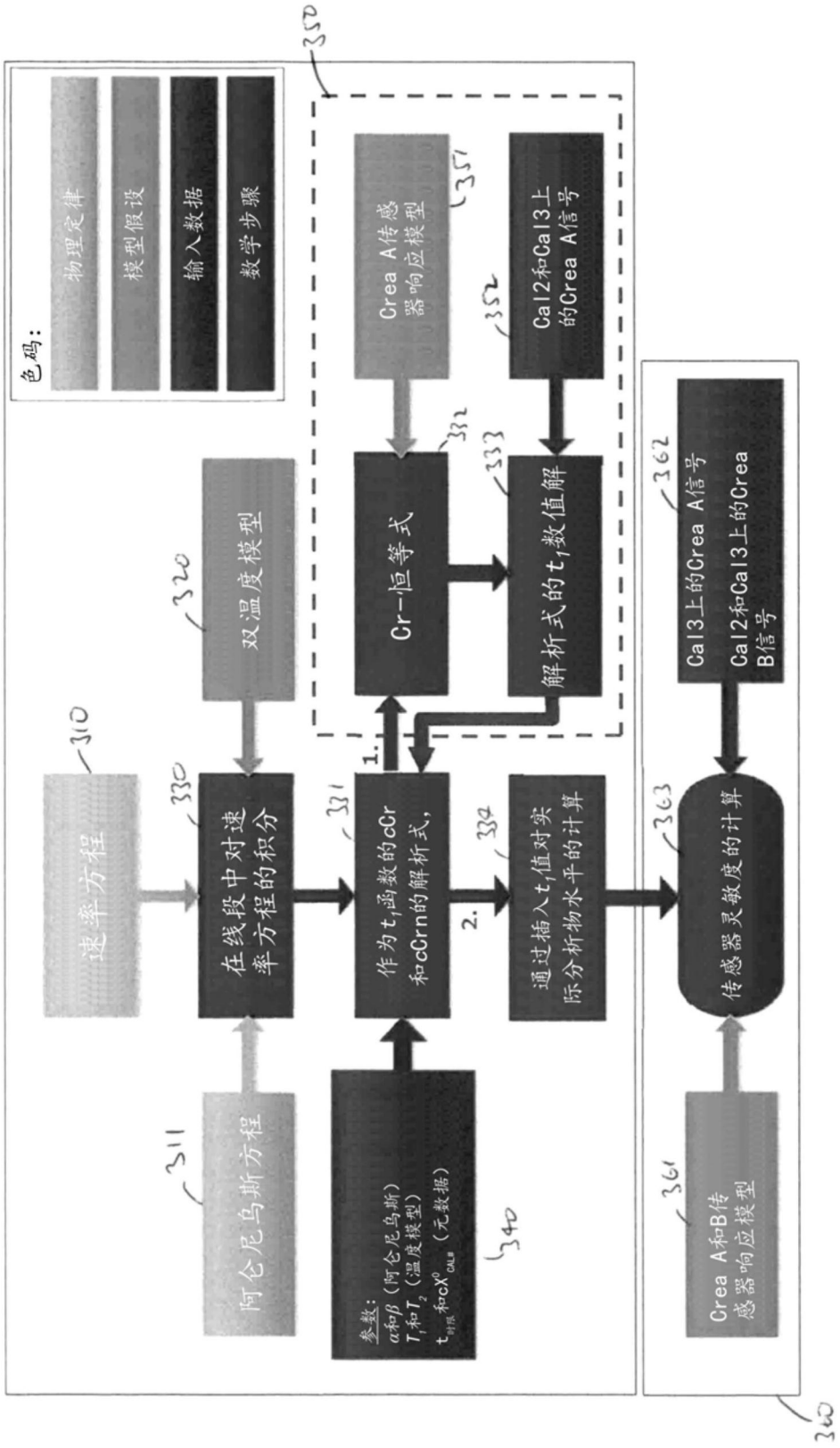

色码:
物理定律
模型假设
输入数据
数学步骤
速率方程
阿仑尼乌斯方程
参数:
α和β(阿仑尼乌斯)
T1和T2(温度模型)
t时序和cX0 CALB(无数据)
在线段中对速率方程的积分
双温度模型
作为t1函数的cCr和cCrn的解析式,
Cr-恒等式
Crea A传感器响应模型
Cal2和Cal3上的Crea A信号
解析式的t1数值解
通过插入t1值对实际分析物水平的计算
Cal3上的Crea A信号
Cal2和Cal3上的Crea B信号
传感器灵敏度的计算
Crea A和B传感器响应模型
1.
2.

图3

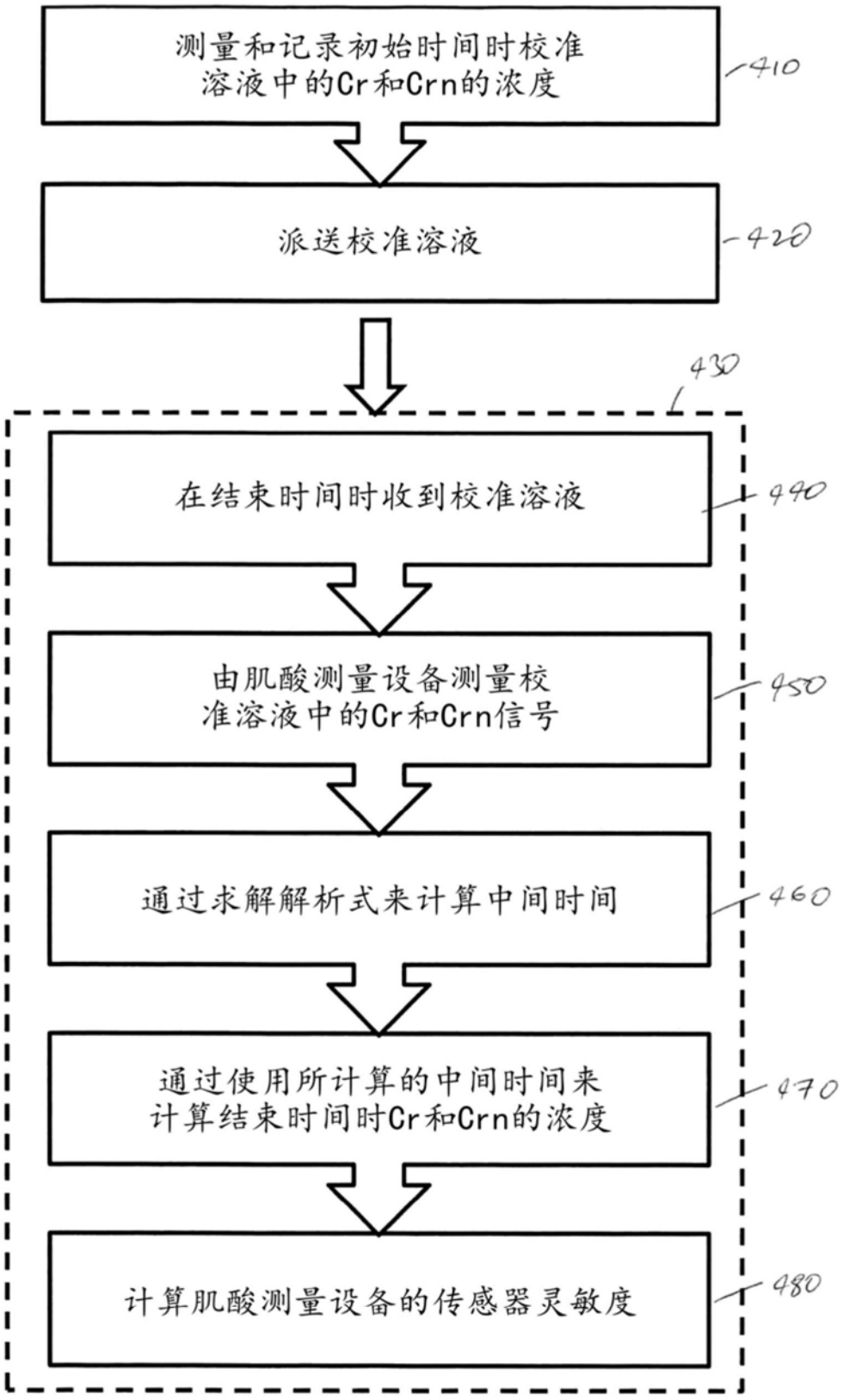

测量和记录初始时间时校准溶液中的Cr和Crn的浓度
410
派送校准溶液
420
430
在结束时间时收到校准溶液
440
由肌酸测量设备测量校准溶液中的Cr和Crn信号
450
通过求解解析式来计算中间时间
460
通过使用所计算的中间时间来计算结束时间时Cr和Crn的浓度
470
计算肌酸测量设备的传感器灵敏度
480

图4

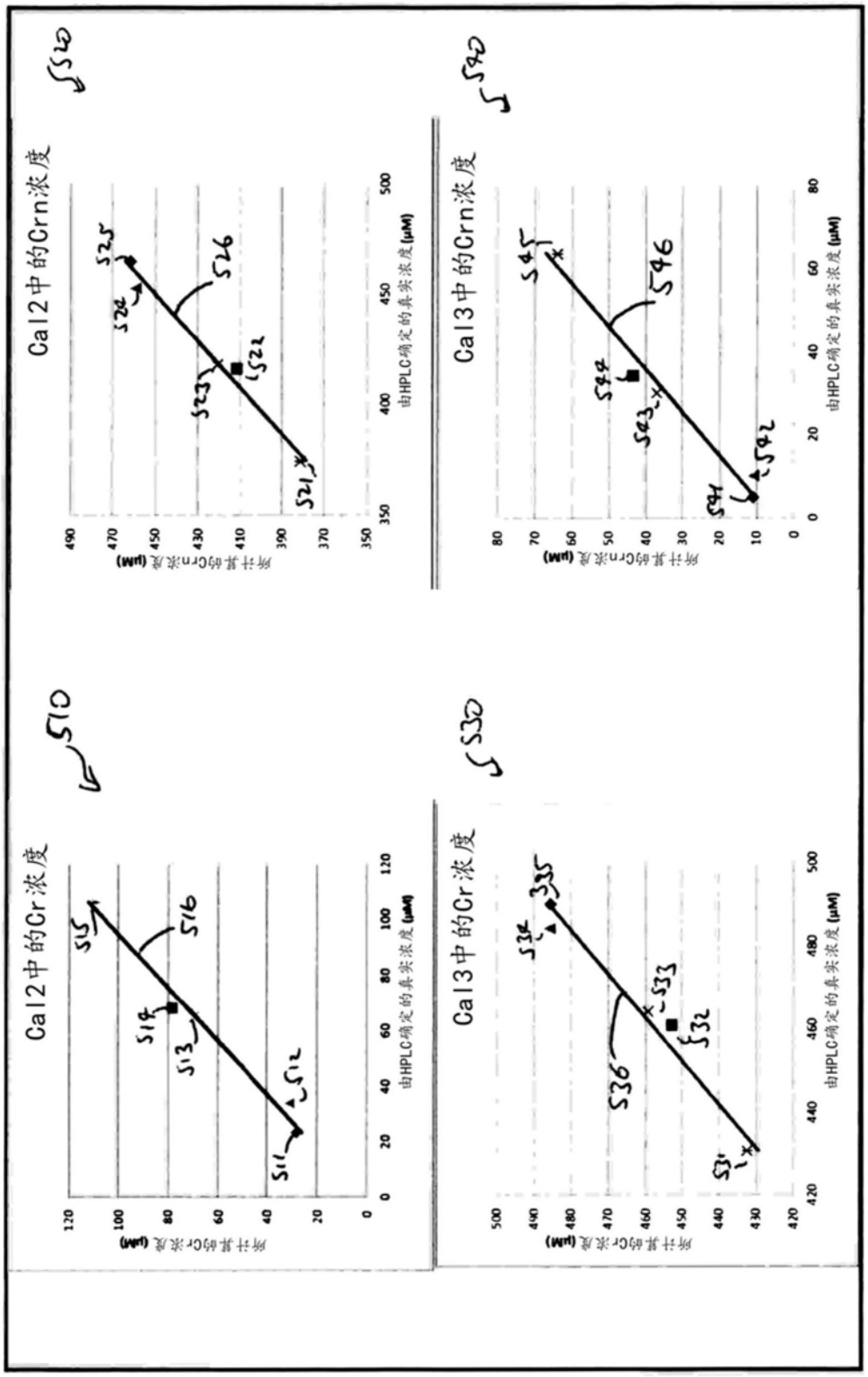

Cal2中的Cr浓度
Cal3中的Cr浓度
Cal2中的Crn浓度
Cal3中的Crn浓度
由HPLC确定的真实浓度(μM)
所计算的Cr浓度(μM)
所计算的Crn浓度(μM)
510
520
530
540

图5

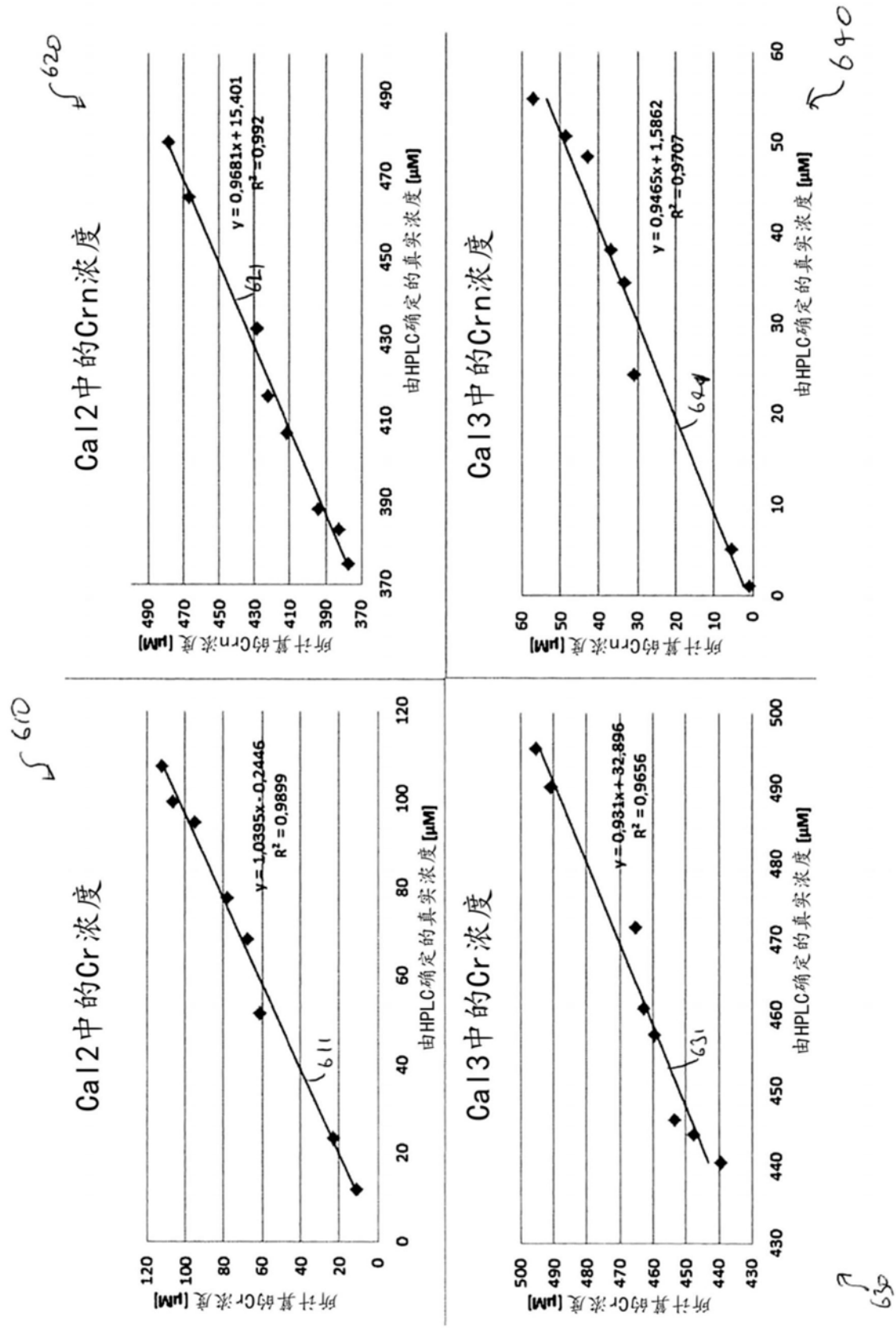

Cal2中的Cr浓度
所计算的Cr浓度 [μM]
由HPLC确定的真实浓度 [μM]
y = 1,0395x - 0,2446
R² = 0,9899
611
Cal3中的Cr浓度
所计算的Cr浓度 [μM]
由HPLC确定的真实浓度 [μM]
y = 0,931x + 32,896
R² = 0,9656
631
Cal2中的Crn浓度
所计算的Crn浓度 [μM]
由HPLC确定的真实浓度 [μM]
y = 0,9681x + 15,401
R² = 0,992
621
Cal3中的Crn浓度
所计算的Crn浓度 [μM]
由HPLC确定的真实浓度 [μM]
y = 0,9465x + 1,5862
R² = 0,9707
641
610
620
630
640

图6