



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 02826167.4

[43] 公开日 2005 年 4 月 20 日

[11] 公开号 CN 1608200A

[22] 申请日 2002.12.25 [21] 申请号 02826167.4

[30] 优先权

[32] 2001.12.27 [33] JP [31] 395981/2001

[86] 国际申请 PCT/JP2002/013562 2002.12.25

[87] 国际公布 WO2003/056312 日 2003.7.10

[85] 进入国家阶段日期 2004.6.25

[71] 申请人 爱科来株式会社

地址 日本国京都府

[72] 发明人 福永悟志 中山真人

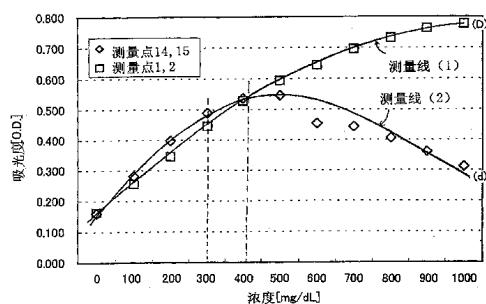
[74] 专利代理机构 北京纪凯知识产权代理有限公司
代理人 龙 淳

权利要求书 3 页 说明书 11 页 附图 8 页

[54] 发明名称 浓度测定方法

[57] 摘要

本发明涉及根据来自含有测量对象物质和反应物的反应体系的输出值，从多条测量线中选择最适用于计算测量对象物质浓度的最优测量线，并使用该最优测量线，根据输出值计算测量对象物质的浓度的浓度测定方法。各测量线是对含有已知浓度的标准试剂和反应物的标准反应体系的输出值，分别用浓度不同的多个标准试剂，以相同反应时间进行测定，根据此时得到的多个输出值制成的。多条测量线是以相互不同的反应时间为基础制成的。多条测量线分为根据已知浓度的标准物质和反应物进行反应的反应初期阶段测定的输出值制成的第一测量线，以及根据晚于测定第一测量线制作基础的输出值时测定的输出值制成的第二测量线。



1. 一种浓度测定方法，它根据来自含有测量对象物质和可与所述测量对象物质进行反应的反应物的反应体系的输出值，从多条测量线中选出最适于计算所述测量对象物质的浓度的最优测量线，并根据所述最优测量线和所述输出值，计算所述测量对象物质的浓度，其特征在于，
5 所述各测量线是对含有已知浓度的标准试剂和所述反应物的标准反应体系的输出值，分别用浓度不同的多个标准试剂，以相同反应时间进行测定，根据此时得到的多个输出值制成的，

10 所述多条测量线是以互不相同的反应时间为基准制成的。

2. 如权利要求 1 所述的浓度测定方法，其特征在于，
所述多条测量线分为预测所述测量对象物质的浓度大于预定的浓度用阈时选用的第一测量线，和预测小于所述浓度用阈值时选用的第
15 二测量线，并且

所述第一测量线根据已知浓度的标准物质和所述反应物进行反应的初期阶段测得的输出值制成，

所述第二测量线是根据晚于测量所述第一测量线制作基础的输出值时测得的输出值制成。

20

3. 如权利要求 2 所述的浓度测定方法，其特征在于，

预测使用所述第二测量线计算的第二浓度的计算值大于所述浓度用阈值时，将使用所述第一测量线计算的第一浓度计算值与所述第二浓度计算值进行比较，将较大的计算值用作最终计算值。

25

4. 如权利要求 2 所述的浓度测定方法，其特征在于，

预测使用所述第二测量线计算的第二浓度计算值小于所述浓度用阈值时，判断所述第二浓度计算值是否反映了所述测量对象物质的浓度，

30 当所述第二浓度计算值反映了测量对象物质的浓度时，将第二浓

度计算值用作最终计算值；

而当所述第二浓度计算值未能反映所述测量对象物质的浓度时，将使用所述第一测量线计算的第一浓度计算值用作最终计算值。

5 5. 如权利要求 2 所述的浓度测定方法，其特征在于，

当预测使用所述第一测量线计算的第一浓度计算值大于所述浓度用阈值时，将所述第一浓度计算值用作最终计算值；

而当预测所述第一浓度计算值小于所述浓度用阈值时，将使用所述第二测量线计算的第二浓度计算值用作最终计算值。

10

6. 如权利要求 2 所述的浓度测定方法，其特征在于，预测所述测量对象物质的浓度是大于还是小于所述浓度用阈值时，可根据所述输出值是大于还是小于预定的输出值用阈值来进行。

15

7. 如权利要求 2 所述的浓度测定方法，其特征在于，所述浓度计算用阈值设定在所述第二测量线的线性高的浓度范围内。

8. 如权利要求 2 所述的浓度测定方法，其特征在于，所述浓度计算用阈值设定在与所述第一测量线和所述第二测量线的交点相应的浓度。

20

9. 如权利要求 1 所述的浓度测定方法，其特征在于，所述多条测量线是分别根据浓度不同的多个标准试剂在每一段预定时间在多个测量点测定的结果，测定含有已知浓度的标准试剂和所述反应物的标准反应体系的输出值，根据每个测量点制成，

所述最优测量线的选择是根据所述测量对象物质和所述反应物在反应初期阶段的时间范围内测定的输出值进行。

25

10. 如权利要求 1 所述的浓度测定方法，其特征在于，所述输出值为向所述反应体系照射光时的光学响应值。

30

11. 一种浓度测定方法，它根据来自含有测量对象物质和能与所述

测量对象物质反应的反应物的反应体系的输出值，以及表示所述测量对象物质的浓度和输出值关系的测量线进行所述测量对象物质的浓度计算，其特征在于，

5 所述测量线是在特定时间范围内，分别对浓度不同的多个标准试剂测量含有已知浓度的标准试剂和所述反应物的标准反应体系随时间变化的输出值，根据使用各浓度的标准试剂时输出值的最大值的集合制成。

10 12. 如权利要求 11 所述的浓度测定方法，其特征在于，所述输出值为向所述反应体系照射光时的光学响应值。

15 13. 一种浓度测定方法，它根据来自含有测量对象物质和可与所述测量对象物质反应的反应物的反应体系的输出值，以及表示所述测量对象物质的浓度和输出值的关系的测量线计算所述测量对象物质的浓度，其特征在于，

所述测量线由根据已知浓度的标准物质和所述反应物进行反应的初期阶段测得的输出值制成的第一测量线，和根据晚于测定所述第一测量线制作基础的输出值时测得的输出值制成的第二测量线复合制成，

20 且所述测量线在大于相当于所述第一测量线和所述第二测量线交点的交点浓度的浓度区域，采用大于所述第二测量线中所述交点浓度的浓度区域部分；而在小于所述交点浓度的浓度区域，采用小于所述第一测量线中所述交点浓度的浓度区域部分。

25 14. 如权利要求 13 所述的浓度测定方法，其特征在于，所述输出值为向所述反应体系照射光时的光学响应值。

浓度测定方法

技术领域

5 本发明涉及根据来自含有测量对象物质的反应体系的输出值和测量线（表示测量对象物质浓度和输出值的关系的曲线），进行测量对象物质的浓度计算的浓度测定方法。

背景技术

10 测定尿等试样中的抗原浓度的方法有将抗原抗体反应与光学方法组合使用的方法。在该方法中，是将试样和抗体混合引发抗原抗体反应，根据向该反应体系照射光时的吸光度，进行浓度计算。在该方法中，可以看到当反应体系的抗原浓度在较小范围内时，随着浓度增大，测得的吸光度也增大；反之，当反应体系的抗原浓度在较大范围时，
15 随着浓度的增大，测得的吸光度减小的现象（前带现象）。这种现象不仅出现在利用抗原抗体反应的情况下，就是在整个生化学领域也能观察到（下文中，包括生化学领域，将该现象称为“前带现象”）。

在产生前带现象的反应体系中，出现了尽管实际测量对象成分的浓度大，但因测定的吸光度小，使得计算结果小于实际浓度的问题。
20 为解决这种问题，例如需要在稀释试样的基础上重新测定吸光度。

但是，鉴于抗原价格高，不宜对同一检测试样反复进行测定，当然，考虑到操作性时，则操作次数越少越好。并且，测定尿中葡萄糖浓度等时，即使不产生前带现象，也有高浓度下分辨率降低的问题。因此，即使在未产生前带现象的反应体系中，也有高浓度区域中测定精度差的问题。
25

发明内容

本发明的目的在于简便而廉价地抑制因前带现象的影响和高浓度区域中的分辨率降低导致的高浓度试料液的测量精度下降。

30 由本发明第一方面提供的浓度测定方法是根据来自含有测量对象

物质以及能与该物质进行反应的反应物的反应体系的输出值，从多条测量线中选出最适于上述测量对象物质的浓度计算的最优测量线，并且根据该最优测量线和上述输出值进行上述测量对象物质浓度计算的浓度测定方法，其特征在于，上述各测量线是对含有已知浓度的标准试剂和上述反应物的标准反应体系的输出值分别用浓度不同的多个标准试剂，以相同反应时间进行测定，根据此时得到的多个输出值制成的，上述多条测量线是以相互不同的反应时间为基准制成的。

在优选实施方式中，上述多条测量线分为预测上述测量对象物质浓度大于预先设定的浓度用阈值时选用的第一测量线和预测小于上述浓度用阈值时选用的第二测量线。并且，上述第一测量线根据已知浓度的标准物质和上述反应物进行反应的反应初期阶段测定的输出值制成，上述第二测量线根据晚于测定上述第一测量线制作基础的输出值时测定的输出值制成。

此时，预测使用第二测量线计算的第二浓度计算值大于浓度用阈值时，优选为将使用第一测量线计算的第一浓度计算值与第二浓度计算值进行比较，将较大的计算值用作最终计算值。反之，预测第二计算值小于浓度用阈值时，优选为判断第二浓度计算值是否反映了测量对象物质的浓度。此时，当第二浓度计算值反映了测量对象物质的浓度时，优选为将第二浓度计算值用作最终计算值；而当第二浓度计算值未能反映测量对象物质的浓度时，将使用第一测量线计算的第一浓度计算值用作最终计算值。

另一方面，也可根据使用第一测量线计算的第一浓度计算值决定选择第一测量线还是第二测量线。例如，当预测第一浓度计算值大于浓度用阈值时，将第一浓度计算值用作最终计算值。反之，当预测第一浓度计算值小于浓度用阈值时，将使用第二测量线计算的第二浓度计算值用作最终计算值。

预测测量对象物质的浓度是大于还是小于浓度用阈值也可根据例如输出值是大于还是小于预定的输出值用阈值来进行。

浓度计算用阈值的浓度例如可设定在第二测量线的线性高的浓度范围内，或设定为对应于第一测量线和第二测量线的交点的浓度。

本发明中也可以准备 3 条以上的多条测量线，从中选择最优测量

线。即，多条测量线也可以分别根据不同浓度的多个标准试剂在每一段预定时间，在多个（3个以上）测量点测定的含有已知浓度的标准试剂和上述反应物的标准反应体系的输出值，由各个测量点制成。此时的最优测量线的选择，优选为根据测量对象物质和反应物在反应初期阶段的时间范围内测定的输出值进行。

本发明第二侧面是提供根据来自含有测量对象物质和能与该物质进行反应的反应物的反应体系的输出值，以及表示上述测量对象物质的浓度和输出值关系的测量线进行上述测量对象物质的浓度计算的浓度测定方法，其特征在于，上述测量线为分别对浓度不同的多个标准试剂在特定时间范围内按照时间测定含有已知浓度的标准试剂和上述反应物的标准反应体系的输出值，根据使用各浓度标准试剂时输出值的最大值的集合而制成。

本发明的第三侧面提供根据向含有测量对象物质以及可与该物质反应的反应物的反应体系照射光时的输出值，以及表示上述测量对象物质的浓度和输出值关系的测量线，进行上述测量对象物质的浓度计算的浓度测定方法，其特征在于，上述测量线由根据已知浓度的标准物质与上述反应物进行反应的初期阶段测得的输出值制成的第一测量线，和根据晚于测定上述第一测量线制作基础的输出值时测定的输出值制成的第二测量线复合制成，并且上述测量线，在大于相当于上述第一测量线和上述第二测量线交点的交点浓度的浓度区域，采用大于上述第二测量线中上述交点浓度的浓度区域部分；而在小于上述交点浓度的浓度区域，采用小于上述第一测量线中上述交点浓度的浓度区域部分。

本发明中的输出值，可由向反应体系照射光时的响应值（光学响应值）得到。当然，也可为给反应体系加电压或通电流时的电学响应值。在本发明中，“光学响应值”包括吸光度、浊度、渗透率等概念。吸光度除在反应容器内设定液相反应体系时，根据透过液相反应体系的光的光量决定外，还包括反应体系被固定形成于多孔质体等固相的情况，根据来自固相的反射光的光量决定。

30

附图说明

图 1A 和图 1B 为光学响应值测定方法的示意图。

图 2 为本发明实施方式 1 的浓度计算中所用的第一和第二测量线(1)、(2) 的示意图。

图 3 为不同浓度的多个标准反应液的吸光度随时间变化的示意图。

5 图 4 为标准反应液的动态范围的示意图。

图 5 为用于说明浓度计算程序的一例的流程图。

图 6 为用于说明浓度计算程序的其它例的流程图。

图 7 为本发明实施方式 2 的浓度计算所用多条测量线(A) ~ (H)的示意图。

10 图 8 为用于说明浓度计算程序的一例的示意图。

图 9 为用于说明测量线(α) 的示意图。

具体实施方式

下面，参照附图具体说明本发明的优选实施方式。

15 本发明涉及根据向反应体系照射光时的光学响应值和测量线，进行测量对象物质的浓度计算的方法。本文的测量线用于表示测量对象物质的浓度和光学响应值的关系，至少包括以函数表示的关系和以图表表示的关系。

20 反应体系含有测量对象物质和能与该物质反应的反应物。该反应体系根据测量对象物质与反应物反应生成的反应生成物的量，使色调和浊度等发生变化。结果，根据反应进行的情况和测量对象物质的量，反应体系的光学响应状态会发生变化。该反应体系除了如图 1A 所示，将反应液 11 保存在容器 10 内的结构之外，有时也会如图 1B 所示，采用将反应液保存在固相 20 中的结构。固相 20 由纸、似毛毡一样的物质等吸水性好的材料构成。

25 测量对象物质可以举出自蛋白、葡萄糖、淀粉酶、肌酸酐等。当然，本发明不仅适用于测定特定物质浓度的情况，也可适用于测定蛋白质、胆甾醇总量等时的测定多种类似物的合计量的情况。对此，反应物可使用显色指示剂，其种类可根据测量对象物质进行选择。

30 可将吸光度、浊度、或透光度等用作光学响应值。在图 1A 所示的反应体系中，来自发光元件 12 的光向反应体系照射后透过的光，由受

光元件 13 接受。在该反应体系中，根据受光元件 13 的受光量和射入反应体系的入射光量（例如，发光元件 12 的发光量）计算光学响应值。另一方面，在图 1B 所示的反应体系中，来自发光元件 21 的光向反应体系照射后的反射光，由受光元件 22 接受。在该反应体系中，根据受光元件 22 的受光量和射入反应体系的入射光量（例如，发光元件 21 的发光量）计算光学响应值。但在图 1B 所示的反应体系中无法测定透光度和浊度，而是测定吸光度，以此作为光学响应值。

本发明实施方式 1 的浓度测定方法，分别使用较高浓度试样的测量线和较低浓度试样的测量线进行浓度计算。对区别使用两种测量线（1）、（2）的浓度计算的具体方法将在后文阐述，而在说明该方法之前，先对使用上述两种测量线（1）、（2）的理由进行说明。

图 2 表示当测量对象物质为蛋白质（人体血清蛋白）时的两种测量线（1）、（2）。该测量线（1）、（2）用在测量例如人体尿液中的蛋白质浓度等情况时。

测量线（1）使用高浓度蛋白质反应液（1000mg/dL），并根据反应初期阶段测得的吸光度作成。本发明的反应初期阶段是指在高浓度反应液内的吸光度随时间变化时，吸光度最大或接近最大的状态下的反应阶段。

另一方面，测量线（2）使用低浓度蛋白质反应液（100mg/dL），并根据反应液中达到反应平衡、或在大致达到反应平衡后的反应平衡阶段测得的吸光度作成。本发明的反应平衡阶段是指在低浓度反应液内的吸光度随时间变化时，吸光度趋近一定值或近似于达到该状态的反应阶段。

图 3 表示蛋白质浓度分别在 0~1000mg/dL 范围内时，11 种蛋白质标准液各自的与反应物反应后的吸光度随时间的变化。在图 3 中，从反应开始每 21.5 秒测量吸光度时，将各测量点表示为测量点 1、测量点 2。如测量点 10 对应的反应时间为 215 秒（21.5 秒×10）。测量点这一用语也用于随后的说明或其它附图，此时，该用语与上述说明中具有同样意味。

测定吸光度随时间的变化时，测量对象物质和反应物的反应原理采用色素金属结合法。即，反应物使用溴邻苯三酚红（色素）和铟（金

属)结合形成的配位化合物。另一方面,蛋白质标准液使用的是在健康者尿液中添加人体血清蛋白(HAS),调制蛋白质浓度制成的试样。吸光度使用全自动尿液成分定量分析装置(Aution Master UM3410:爱科来(株)制),测量波长设定为600nm。

5 由图3可知,低浓度蛋白质标准液(100mg/dL)在测量点14、15时,吸光度渐趋于定值,使吸光度呈定值。即,当使用低浓度蛋白质标准液(100mg/dL)时,在测量点14、15呈趋于反应平衡的状态。反之,蛋白质标准液的蛋白质浓度越高、反应时间越长,则吸光度有可能越小。也即,当蛋白质标准液的蛋白质浓度是400mg/dL以上时,将产生前带现象。产生该现象的测量点随着蛋白质标准液的蛋白质浓度的增大而减小。例如,在中等浓度的蛋白质标准液(400mg/dL)的测量点7,吸光度达到峰值,而在高浓度蛋白质标准液(1000mg/dL)的测量点1、2,吸光度达到峰值。

15 由图3的结果可知:当反应液中的测量对象物(如蛋白质)的浓度大时,优选使用根据吸光度达到峰值前后的时间范围内测得的吸光度制成的测量线(1)(参照图2)。反之,当反应液中的测量对象物(如蛋白质)的浓度低时,优选使用根据反应达到平衡、或即将达到平衡前的时间范围内测得的吸光度制成的测量线(2)(参照图2)。

20 根据参照图3说明的理由足以理解为什么区别使用图2所示的两条测量线(1)、(2)。但是也有这样的疑问:不特地区别使用两条测量线(1)、(2),所有浓度范围中均采用测量线(1)难道不行么?即,会对使用较低浓度的试样用测量线的测量线(2)的使用意义产生疑问。该疑问可根据下述动态范围和重现性的讨论结果而得到解答。

25 动态范围使用HAS浓度为0或100mg/dL的蛋白质标准液,在测量点1、2和测量点14、15,与上述说明同样地测量了吸光度,以测量点1、2的平均值和测量点14、15的平均值的方式对其进行了讨论。其结果如下述表1和图4所示,与使用测量线(1)时相比,使用测量线(2)时的动态范围更大。

表 1

	标准液浓度		动态范围
	0 (mg/dL)	100 (mg/dL)	
测量点 1、2 的吸光度 (O.D.)	0.162	0.254	0.0916
测量点 14、15 的吸光度(O.D.)	0.160	0.282	0.122

另一方面，使用浓度不同的 3 名患者的尿液 A、B、C 测定吸光度，对根据其吸光度分别使用测量线（1）计算时和使用测量线（2）计算时的重现性进行了研究。根据浓度平均值、浓度标准偏差（S.D.）和浓度相对标准偏差（C.V.）3 项对重现性进行了研究。在研究重现性时，将各患者的尿液 A、B、C 的试样数设为 10，同上所述地测量了作为浓度计算基础的吸光度。

下述表 2 表示上述 3 项的计算结果。

10

表 2

	测量线 (1) 测量点 1、2			测量线 (2) 测量点 14、15		
	患者尿液A	患者尿液B	患者尿液C	患者尿液A	患者尿液B	患者尿液C
平均值(mg/dL)	11.5	24.6	107.8	12.6	29.9	111.6
S.D.	2.6	2.7	3.8	1.8	1.8	3.4
C.V. (%)	22.7	11.0	3.5	14.6	6.1	3.0

15

患者尿液 A、B、C 为相当低的浓度，与使用测量线（1）时相比，使用测量线（2）时的该低浓度试样中的标准偏差(S.D.)和相对标准偏差（C.V.）减小。即，在低浓度区域，使用测量线（2）的重现性好（测量误差小）。

所以，从动态范围和重现性的研究结果可知：在低浓度区域，使用测量线（2）比使用测量线（1）的效果好。

20

根据上述事实，在本实施方式中，相对浓度较高的反应液，使用根据测量点 1、2 的吸光度平均值制成的测量线（1）；相对浓度较低的反应液，使用根据测量点 14、15 的吸光度平均值制成的测量线（2）。另外，之所以根据两个测量点的平均值制成测量线，是为减少因测量误差带来的影响。

下面，参照图 2、按照图 5 所示的流程说明本实施方式的浓度计算程序。首先，测量位于测量点 1、2 的吸光度（A）和（B）(S1)，同

时，测量位于测量点 14、15 的吸光度 (a) 和 (b) (S2)。当然，也可每隔一定时间（如每隔 21.5 秒）测量吸光度，从其测量值集合中选取相当于测量点 1、2 和测量点 14、15 的测量值（吸光度）。

然后，计算测量点 1、2 的吸光度 (A)、(B) 的平均值 (C) (S3)，
5 根据该平均值 (C) 和测量线 (1) 计算第一浓度 (D) (S4)。另外，
计算测量点 14、15 的吸光度 (a)、(b) 的平均值 (c) (S5)，根据该
平均值 (c) 和测量线 (2) 计算第二浓度 (d) (S6)。

接着，判断第二浓度 (d) 是否大于浓度计算用阈值 (S7)。即，
预测测量对象物质的浓度是相对较大还是相对较小。在本实施方式中，
10 浓度计算用阈值设定在例如两条测量线 (1)、(2) 均为线性高浓度范
围 (200~300mg/dL 的范围) 内，或设定为相当于测量线 (1) 和测量
线 (2) 交点的浓度 (约 400mg/dL)。对测量对象物质的浓度是大于还
是小于浓度用阈值的预测，也可不通过计算第二浓度 (d)，而是可根
据光学响应值（如吸光度）是大于还是小于预定的光学响应值用阈值
15 来进行。

当判断第二浓度 (d) 浓度大于计算用阈值时 (S7:YES)，则比较
第一浓度 (D) 和第二浓度 (d) 的大小 (S8)，采用值较大的计算值 (S9，
S10)。即，当第一浓度 (D) 大于第二浓度 (d) 时 (S8:YES)，取第
一计算浓度 (D) 为最终计算结果 (S10)；而当第二浓度 (d) 大于第
20 一计算浓度 (D) 时 (S8:NO)，取第二浓度 (d) 为最终计算结果 (S9)。

如图 2 所示，测量线 (2) 是根据产生类前带现象时的吸光度制成的，而测量线 (1) 是根据未产生类前带现象时的吸光度制成的。因此，
当比较测量线 (1) 的计算结果和测量线 (2) 的计算结果后采用较大
25 值时，由于类前带现象，当使用测量线 (2) 时，在出现的计算结果低
于实际浓度值的浓度区域，采用由测量线 (1) 得到的计算值。由此，
计算就可避免类前带现象的影响。

另一方面，当判断第二浓度 (d) 低于浓度计算用阈值时 (S7:NO)，
判断是由于产生类前带现象还是仅由于浓度低导致第二浓度 (d) 低
(S11)。当是由于产生类前带现象导致第二浓度 (d) 低时 (S11:YES)，
30 采用测量线 (1) 计算值的第一浓度 (D) 为最终计算结果 (S10)。而
当未产生类前带现象，仅是第二浓度 (d) 低时 (S11:NO)，则就用第

二浓度 (d) 为最终计算值 (S9)。

按照如上所述的程序, 当使用测量线 (2) 时, 对于受类前带现象影响较大的相对较高浓度范围, 采用测量线 (1) 的计算结果。因此, 根据区别使用测量线 (1)、(2) 这种简单方法, 就可尽可能避免类前带现象的影响, 可在不用再次测定的情况下就能恰当地进行高浓度区域的计算。此外, 在低浓度区域, 因采用由测量线 (2) 计算的第二浓度 (d), 正如上述重现性研究结果所述, 低浓度区域的重现性提高。

这种效果也适用于按照图 6 所示程序进行计算的情况。根据该浓度计算程序, 首先与图 5 所示流程 S1~S6 一样, 计算第一浓度 (D) 和第二浓度 (d) (S20~S25)。然后判断第一浓度 (D) 是否大于浓度计算用阈值 (S26)。即, 以第一浓度 (D) 为基准, 将其与浓度计算用阈值比较, 判断测量对象物质的浓度是相对较大还是较小。在这点上, 不同于图 5 所示的判断使用测量线 (2) 计算的第二浓度 (d) 是否大于浓度计算用阈值的浓度计算程序。

当 S26 的判断结果为第一浓度 (D) 大于浓度计算用阈值时 (S26:YES), 即判断浓度相对较高时, 以测量线 (1) 计算结果的第一浓度 (D) 为最终计算结果 (S27)。另一方面, 当第一浓度 (D) 小于浓度计算用阈值时 (S26:NO), 即判断浓度相对较低时, 以重现性高的测量线 (2) 的计算结果的第二浓度 (d) 为最终计算结果 (S28)。该浓度计算程序的优点是无需检测类前带现象。

另外, 在图 6 所示的浓度测定程序中, 浓度计算用阈值也设定在两条测量线 (1)、(2) 均为线性高的浓度范围 (200~300mg/dL) 内, 或设定为相当于测量线 (1) 和测量线 (2) 交点的浓度 (稍高于 400mg/dL)。当在后者情况下确定浓度计算用阈值时, 结果, 在 S27 和 S28 中, 在测量线 (1)、(2) 的计算结果中, 将较大值用作最终计算结果。也即, 比较第一浓度 (D) 和第二浓度 (d) 的大小, 与将较大值用作最终计算结果的结果相同。与此类似的计算手法, 可举出下述使用测量线的方法。此时的测量线以测量线 (1) 和测量线 (2) 的交点为界, 在较高浓度区域, 采用测量线 (1) 的对应部分, 而在较低浓度区域, 采用测量线 (2) 的对应部分。在此情况下, 优点是无需将第一浓度 (D) 和第二浓度 (d) 与浓度计算用阈值比较, 也无需将第一浓

度 (D) 和第二浓度 (d) 进行比较。

下面说明本发明实施方式 2 的浓度测定方法。在该浓度测定方法中，区别使用图 7 所示的多条测量线 (A) ~ (H) 计算浓度。这些测量线 (A) ~ (H) 是根据制成图 3 图表时测定的多个吸光度测定值制成的。具体而言，多条测量线 (A) ~ (H) 是将多条吸光度测定值按同样的测量点分成各组，按各组（各测量点）制成的。换言之，多条测量线 (A) ~ (H) 是按不同的反应时间（多个测量点）分别制成的。

用这些测量线 (A) ~ (H) 计算浓度时，如图 8 所示，首先在上述各测量点测量吸光度 (S30)。然后根据测量点 1 的吸光度，从多条测量线 (A) ~ (H) 中选择最适于进行浓度计算的测量线 (S31)。为此，参照图 3 可知：测量对象物质的浓度越大，初始吸光度（测量点 1 的吸光度）就越大。因此，根据初始测量值，可以恰当地预测测量对象物质的浓度。所以，在 S31 中，可根据其预测值选择最优测量线。具体而言，根据预测值越大、测量点越小（反应时间短）时的吸光度选择测量线。当测量点 1 的吸光度大、预测浓度 900mg/dL 以上时。选择测量线 (A)；当测量点 1 的吸光度小、预测浓度 150mg/dL 以下时，选择测量线 (H)。

最后，根据最优测量线和对应该最优测量线的测量点实测吸光度计算浓度 (S32)。

按照如 (S31) 所述的方法选择最优测量线时，对应于该最优测量线的测量点的吸光度，如图 3 所预测，为吸光度随时间变化的最大值或接近最大值。所以，用本实施方式的计算方法，就可抑制类前带现象，进行恰当的浓度计算。

在本实施方式中，需制作多条测量线，但另一方面，却无需检测类前带现象，也无需设定浓度计算用阈值，也无需在与该阈值比较的基础上选择测量线，所以其优点是可简化浓度测定程序。并且，对于低浓度试样，由于选择的是根据测量点大（反应时间长）时的吸光度制成的测量线，所以测定低浓度物质时的重现性好。

另外，在本实施方式中，对使用 8 个测量点制成的测量线 (A) ~ (H) 进行浓度计算的情况进行了说明。而测量线的数量既可多于 8 个，也可少于 8 个。且如实施方式 1 的浓度测定方法所述，还可以制成多

条测量线，取两个测量点的平均值，用其以同样程序计算浓度。

在本实施方式中，以每个测量点制成多条测量线，根据吸光度随时间变化的最大值或接近最大值进行浓度计算。与此类似的计算方法，可举出使用图 9 的实线所示的测量线（ α ）的方法。该测量线（ α ）是将图 3 中的同浓度的多个离散点的最大吸光度为一集合而制成的。图 9 中同时表示了本发明实施方式 1 中所用的测量线（1）和测量线（2）。

由图 9 可知：在相对较高浓度区域，测量线（ α ）与不产生类前带现象的测量线（1）相关，而在相对较低浓度区域，则与重现性高的测量线（2）相关。因此，当使用测量线（ α ）时，则可取得与本发明实施方式 1 同样的效果。并且，无需检测类前带现象，也无需选择测量线的程序。

在上述实施方式中，举例说明了根据光学响应值计算浓度的情况，而本发明随着反应体系的种类不同，也可适用于根据给反应体系加电压或通电流时的电响应值、随反应进行的波数变化、向反应体系照射光和使之波动时的热响应等进行计算的情况。

在实施方式 1 和 2 中，举例说明了产生类前带现象的情况，但本发明也可适用于高浓度区域中分辨率低的情况。即，可适用于使用高浓度区域中吸光度趋进定值的反应体系进行浓度测定时，在高浓度区域下恰当地进行浓度测定的情况。

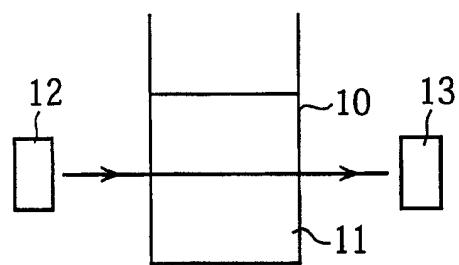


图1A

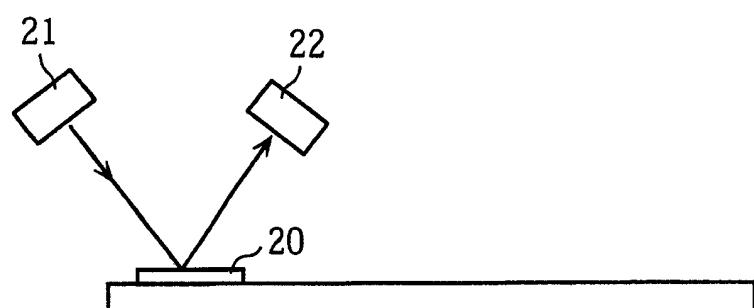


图1B

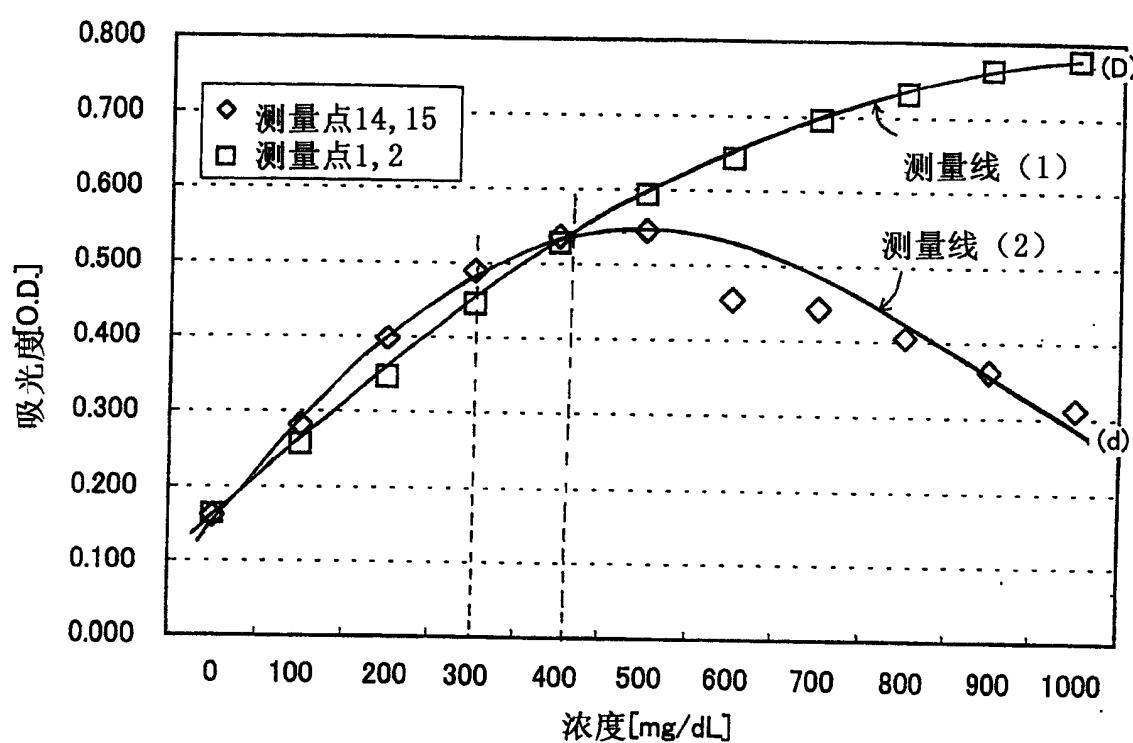


图2

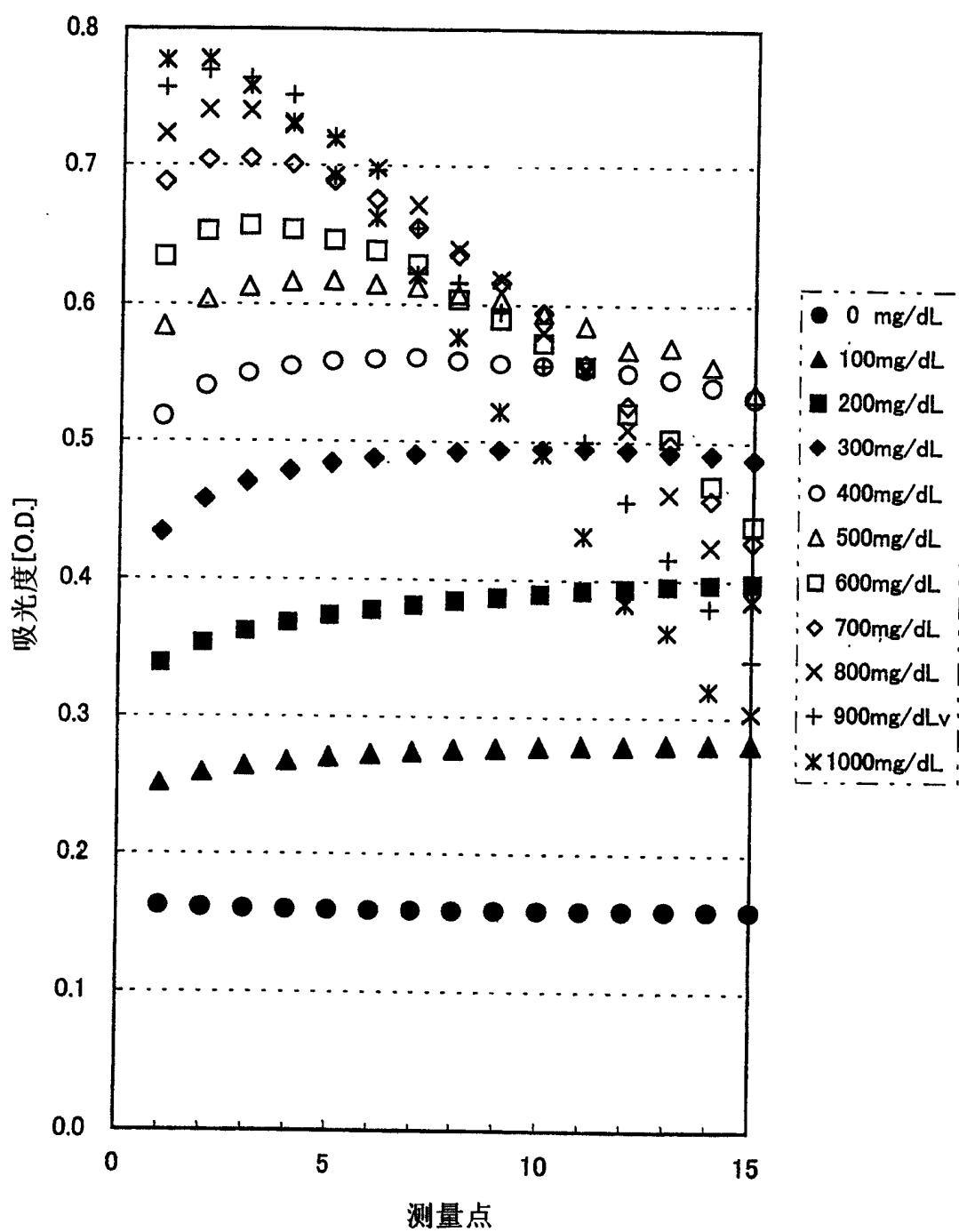


图3

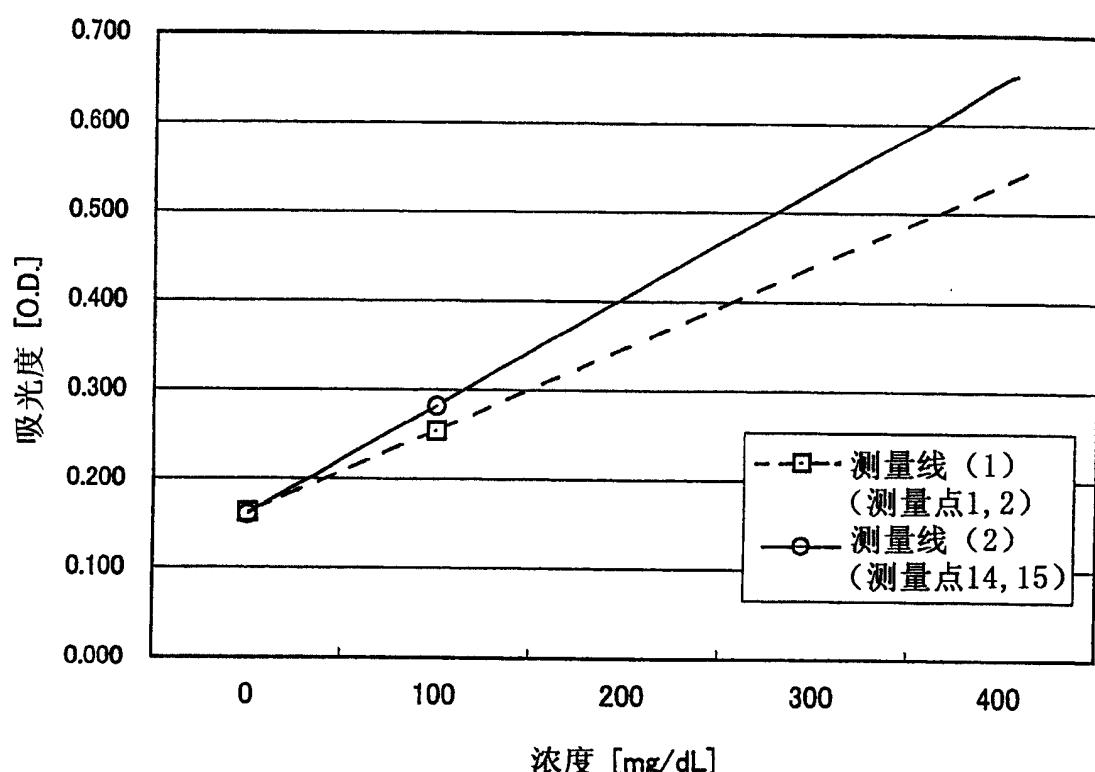


图4

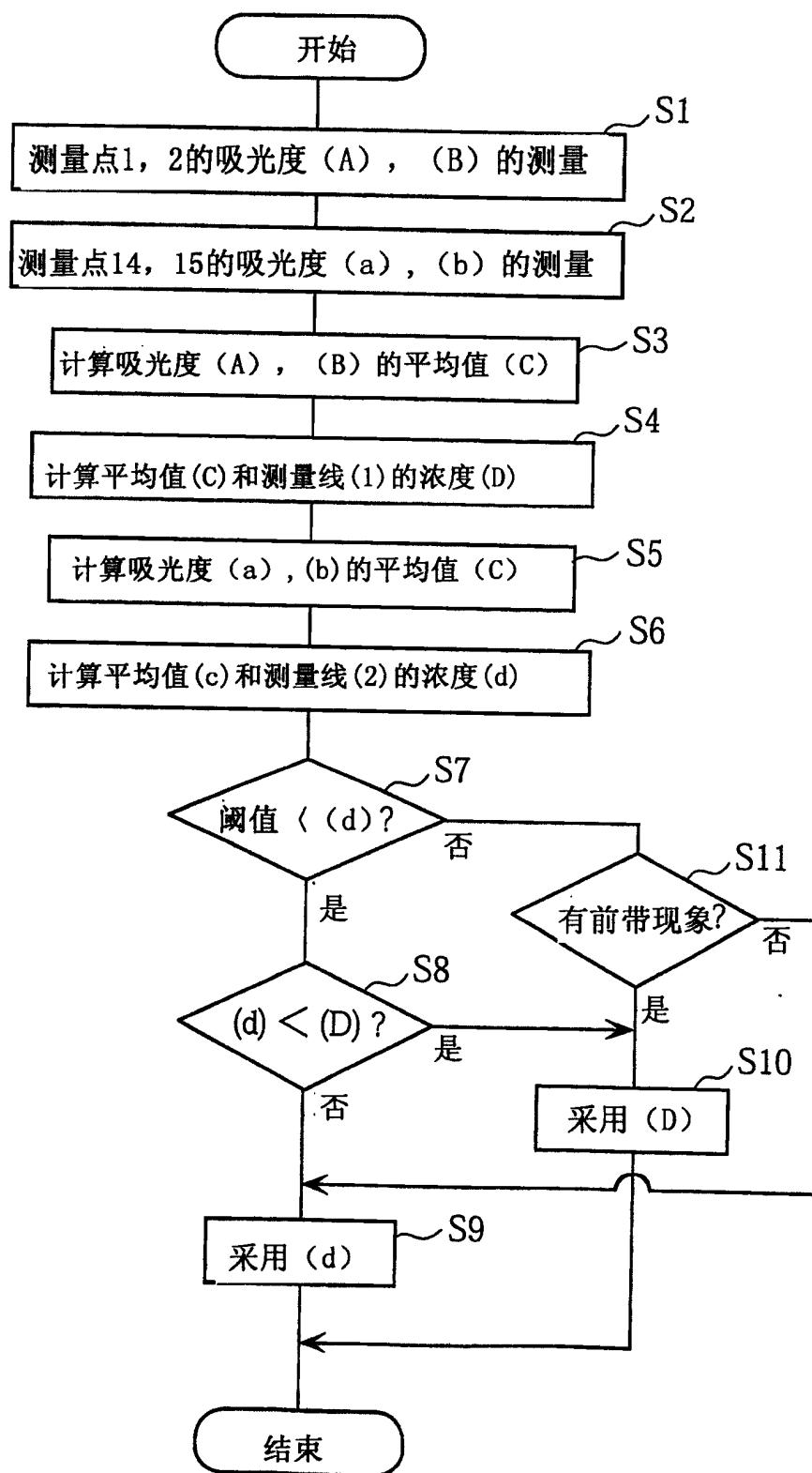


图5

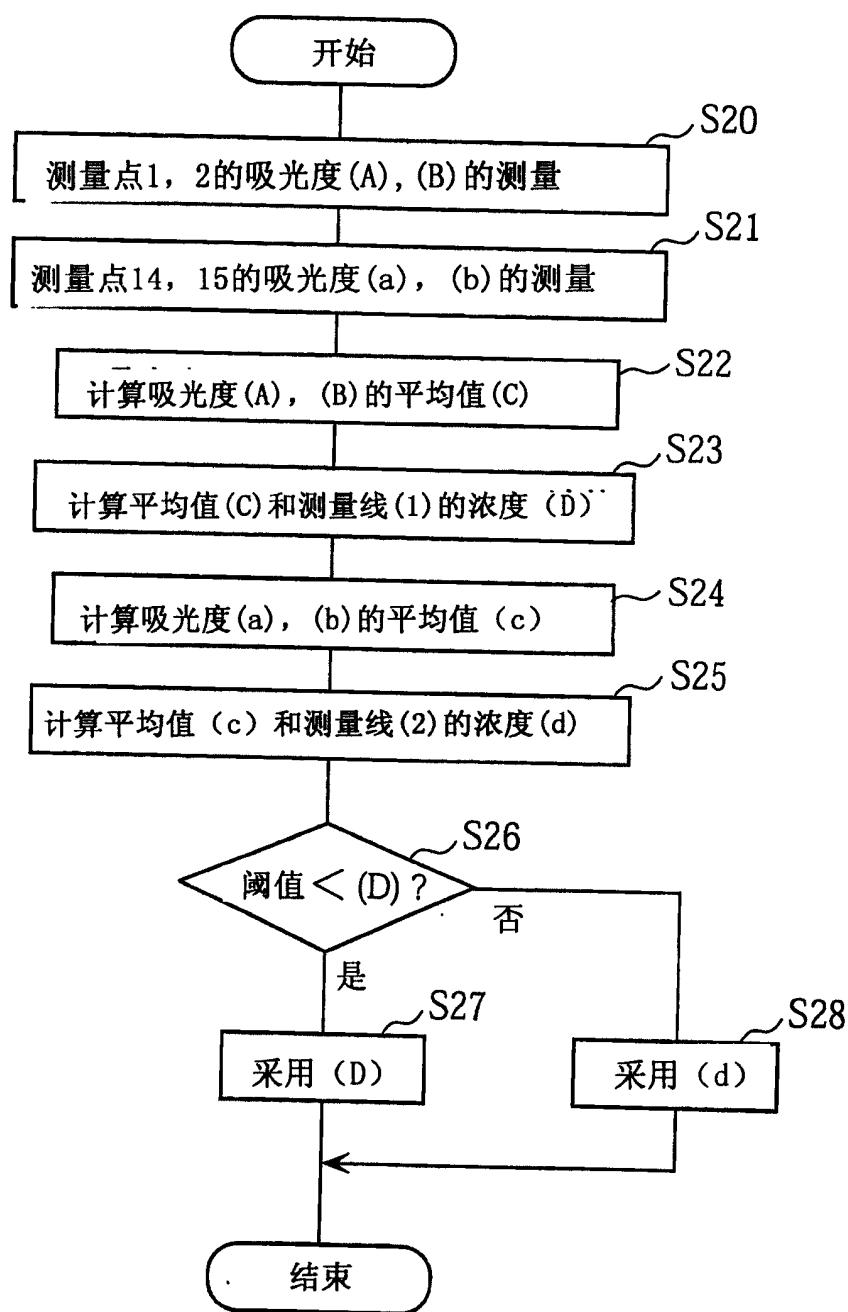


图6

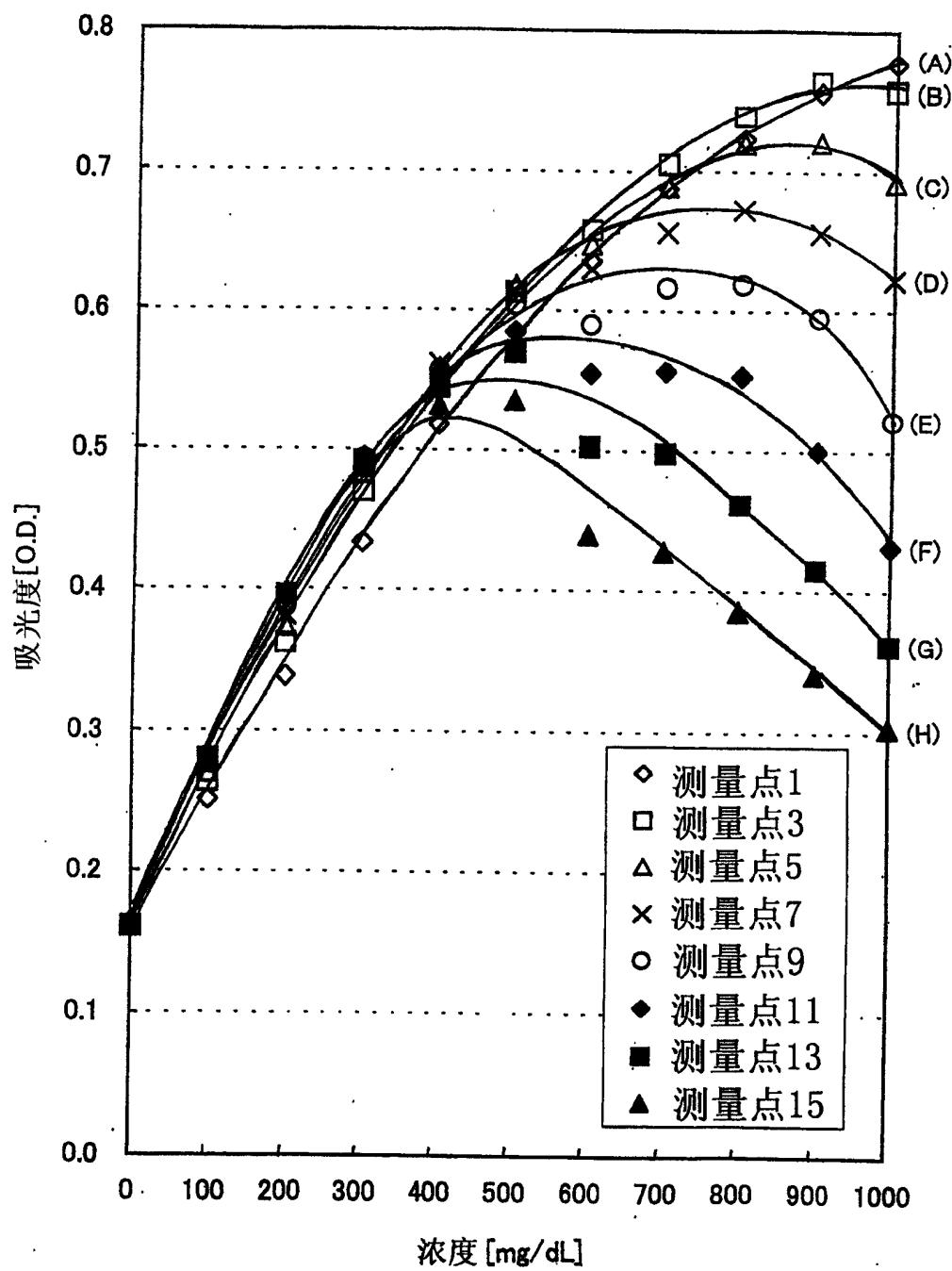


图7

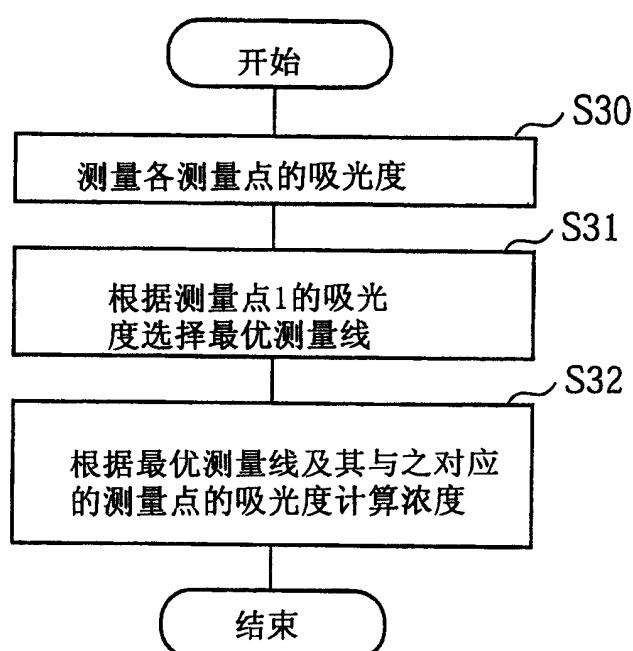


图8

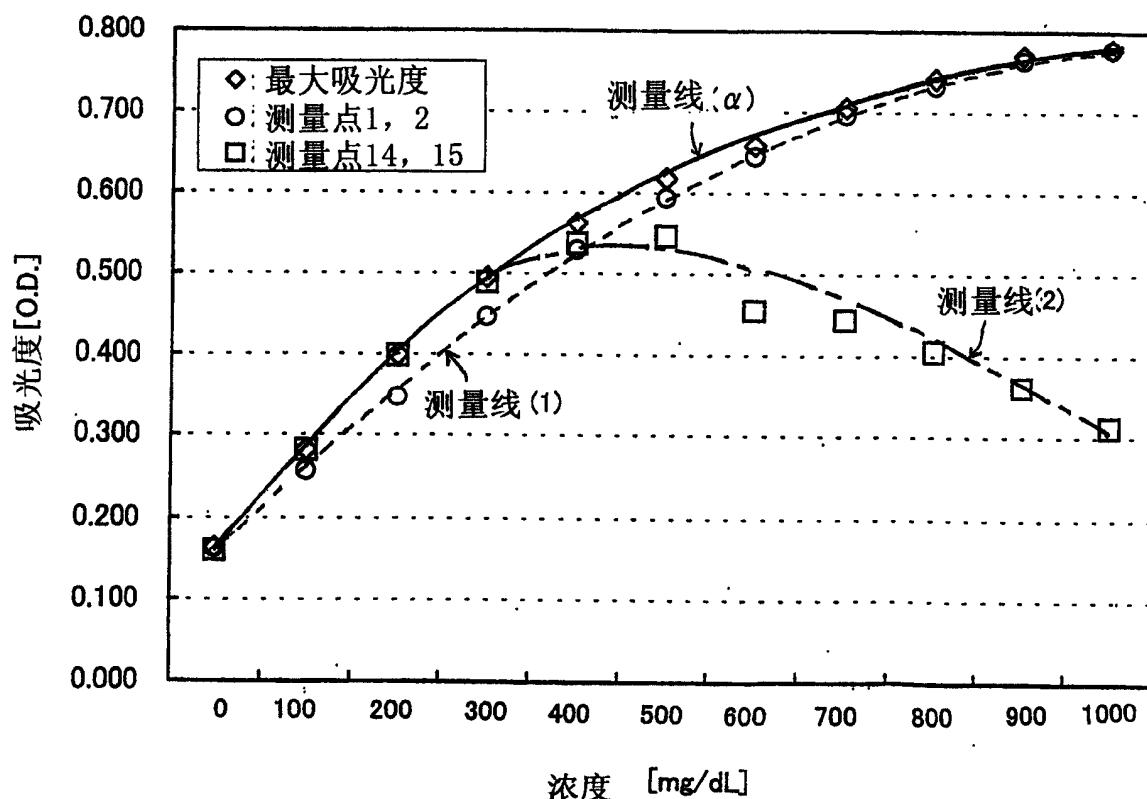


图9