



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 106405078 A

(43)申请公布日 2017.02.15

(21)申请号 201610799198.3

(22)申请日 2016.08.31

(71)申请人 中山市创艺生化工程有限公司

地址 528400 广东省中山市火炬开发区国家健康基地康泰路8号

(72)发明人 何平 梁德智 陈润文

(74)专利代理机构 广州嘉权专利商标事务有限公司 44205

代理人 胡辉

(51) Int. Cl.

G01N 33/558(2006.01)

G01N 33/543(2006.01)

G01N 33/533(2006.01)

权利要求书1页 说明书7页 附图3页

(54)发明名称

一种D-二聚体免疫荧光定量试纸条及其制备方法

(57)摘要

本发明公开了一种D-二聚体免疫荧光定量试纸条及其制备方法。相对于普通储存液制备的试纸条,本发明所制备的D-二聚体免疫荧光定量试纸条存储稳定性更佳,精密度更好,检测样品的出峰具有更高的信号和较平整的基线,准确度较高。

1. 一种D-二聚体免疫荧光定量试纸条,包括吸水垫、硝酸纤维素膜、质控线、检测线、结合垫、样品垫、PVC底板;其中,所述的结合垫上喷有D-二聚体一抗-荧光微球偶联物;所述的检测线为D-二聚体一抗,所述的质控线为D-二聚体二抗,且检测线和质控线依次固定于硝酸纤维素膜上;所述的样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫依次搭接并承载于PVC底板;其特征在于:D-二聚体一抗-荧光微球偶联物使用储存液进行浸渍处理、保存和稀释;所述的储存液配方为:PB的质量浓度为15~25mM、BSA的百分浓度为1.6%~2%、Tween-80的百分浓度为0.4%~0.6%、葡萄糖的百分浓度为0.4%~0.6%、甘氨酸的百分浓度为1.5%~2.5%、PEG4000的百分浓度为0.8%~1.2%、PEG20000的百分浓度为1%~2%、Proclin300或叠氮钠的百分浓度为0.01%~0.1%。

2. 根据权利要求1所述的试纸条,其特征在于:所述的储存液配方为PB的质量浓度为20mM、BSA的百分浓度为1.8%、Tween-80的百分浓度为0.5%、葡萄糖的百分浓度为0.5%、甘氨酸的百分浓度为2%、PEG4000的百分浓度为1%、PEG20000的百分浓度为1.5%、Proclin300或叠氮钠的百分浓度为0.03%。

3. 根据权利要求1所述的试纸条,其特征在于:试纸条加样层析后,检测质控线和检测线的荧光信号强度,并以质控线荧光信号强度校正检测线的荧光信号强度,实现D-二聚体的定量检测。

4. 一种D-二聚体免疫荧光定量试纸条的制备方法,包括如下步骤:

(1) 将荧光微球活化后与D-二聚体一抗偶联,偶联完毕后加入封闭剂,保存于储存液中;

(2) 将D-二聚体一抗-荧光微球偶联物用储存液稀释后,喷于结合垫上,干燥保存;

(3) 将D-二聚体一抗固定于硝酸纤维素膜上作为检测线,将D-二聚体二抗固定于硝酸纤维素膜上作为质控线;

(4) 在PVC底板上依次搭接地粘贴:样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫,并剪切成适当宽度即成为D-二聚体免疫荧光定量试纸条,其中,样品垫材质为玻璃纤维素膜或滤血膜,结合垫材质为玻璃纤维素膜;

其特征在于:所述的储存液配方为:PB的质量浓度为15~25mM、BSA的百分浓度为1.6%~2%、Tween-80的百分浓度为0.4%~0.6%、葡萄糖的百分浓度为0.4%~0.6%、甘氨酸的百分浓度为1.5%~2.5%、PEG4000的百分浓度为0.8%~1.2%、PEG20000的百分浓度为1%~2%、Proclin300或叠氮钠的百分浓度为0.01%~0.1%。

5. 根据权利要求4所述的制备方法,其特征在于:所述的储存液配方为PB的质量浓度为20mM、BSA的百分浓度为1.8%、Tween-80的百分浓度为0.5%、葡萄糖的百分浓度为0.5%、甘氨酸的百分浓度为2%、PEG4000的百分浓度为1%、PEG20000的百分浓度为1.5%、Proclin300或叠氮钠的百分浓度为0.03%。

6. 根据权利要求4所述的制备方法,其特征在于:D-二聚体一抗-荧光微球偶联物在储存液中的保存浓度为0.1~10mg/mL。

一种D-二聚体免疫荧光定量试纸条及其制备方法

技术领域

[0001] 本发明涉及免疫学检测领域,更具体地涉及一种D-二聚体免疫荧光定量试纸条及其制备方法。

背景技术

[0002] D-二聚体是血液中的纤维蛋白原受凝血酶等作用而凝固形成的聚合物,是交联纤维蛋白的特异性降解产物。在正常生理状态下,机体保持着凝血与纤溶动态平衡,以保证纤维蛋白及时形成和清除。当这一平衡遭到破坏,血管内凝血倾向增强,纤维蛋白聚集,纤维蛋白降解产物增加,D-二聚体含量增加。因此,D-二聚体水平的升高反映体内凝血和纤溶系统的双重激活,可作为体内高凝状态和纤溶亢进的分子标志物之一,用于多种疾病的病程检测,如深静脉血栓、弥漫性血管内凝血、心肌梗死、重症肝炎、肺栓塞等。

[0003] 目前,D-二聚体检测方法主要有:乳胶凝集法、酶联免疫法、荧光抗体检测法、金标法和胶乳免疫比浊法。乳胶凝集法只能定性检测,不能测定血浆中D-二聚体含量的变化;酶联免疫法操作容易受到酶活性变化的影响,结果不太准确;金标法容易受类风湿因子、肝素及血脂的影响,结果准确性差;胶乳比浊法反应特异性不好,所需试剂比较复杂。

[0004] 荧光抗体检测技术能够实现样品中D-二聚体的定量检测,且具有检测仪器精巧轻便、操作简单迅速、结果精准等优点,因此,制备和生产D-二聚体免疫荧光定量试纸条非常有市场价值。然而,要实现D-二聚体免疫荧光定量试纸条的制备和长期保存,储存液是关键之一。储存液的好坏关乎试纸条的准确度和保存期,因此,通过改进储存液,开发高准确度的D-二聚体免疫荧光定量试纸条非常有现实意义。

发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种D-二聚体免疫荧光定量试纸条及其制备方法。

[0006] 本发明所采取的技术方案是:

[0007] 一种D-二聚体免疫荧光定量试纸条,包括吸水垫、硝酸纤维素膜、质控线、检测线、结合垫、样品垫、PVC底板(7);其中,结合垫上喷有D-二聚体一抗-荧光微球偶联物;所述的检测线为D-二聚体一抗,质控线为D-二聚体二抗,且检测线和质控线依次固定于硝酸纤维素膜上;样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫依次搭接并承载于PVC底板;D-二聚体一抗-荧光微球偶联物使用储存液进行浸渍处理、保存和稀释;所述的储存液配方为:PB的质量浓度为15~25mM、BSA的百分浓度为1.6%~2%、Tween-80的百分浓度为0.4%~0.6%、葡萄糖的百分浓度为0.4%~0.6%、甘氨酸的百分浓度为1.5%~2.5%、PEG4000的百分浓度为0.8%~1.2%、PEG20000的百分浓度为1%~2%、Proclin300或叠氮钠的百分浓度为0.01%~0.1%。

[0008] 作为优选的储存液配方,PB的质量浓度为20mM、BSA的百分浓度为1.8%、Tween-80的百分浓度为0.5%、葡萄糖的百分浓度为0.5%、甘氨酸的百分浓度为2%、PEG4000的百分浓度为1%、PEG20000的百分浓度为1.5%、Proclin300或叠氮钠的百分浓度为0.03%。

[0009] 试纸条加样层析后,检测质控线和检测线的荧光信号强度,并以质控线荧光信号强度校正检测线的荧光信号强度,实现D-二聚体的定量检测。

[0010] 一种D-二聚体免疫荧光定量试纸条的制备方法,包括如下步骤:

[0011] (1) 将荧光微球活化后与D-二聚体一抗偶联,偶联完毕后加入封闭剂,保存于储存液中;

[0012] (2) 将D-二聚体一抗-荧光微球偶联物用储存液稀释后,喷于结合垫上,干燥保存;

[0013] (3) 将D-二聚体一抗固定于硝酸纤维素膜上作为检测线,将D-二聚体二抗固定于硝酸纤维素膜上作为质控线;

[0014] (4) 在PVC底板上依次搭接地粘贴:样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸水垫,并剪切成适当宽度即成为D-二聚体免疫荧光定量试纸条,其中,样品垫材质为玻璃纤维素膜或滤血膜,结合垫材质为玻璃纤维素膜;

[0015] 上述的储存液配方为:PB的质量浓度为15~25mM、BSA的百分浓度为1.6%~2%、Tween-80的百分浓度为0.4%~0.6%、葡萄糖的百分浓度为0.4%~0.6%、甘氨酸的百分浓度为1.5%~2.5%、PEG4000的百分浓度为0.8%~1.2%、PEG20000的百分浓度为1%~2%、Proclin300或叠氮钠的百分浓度为0.01%~0.1%。

[0016] 作为优选的储存液配方,PB的质量浓度为20mM、BSA的百分浓度为1.8%、Tween-80的百分浓度为0.5%、葡萄糖的百分浓度为0.5%、甘氨酸的百分浓度为2%、PEG4000的百分浓度为1%、PEG20000的百分浓度为1.5%、Proclin300或叠氮钠的百分浓度为0.03%。

[0017] D-二聚体一抗-荧光微球偶联物在储存液中的保存浓度为0.1~10mg/mL。

[0018] 本发明的有益效果是:

[0019] 相对于普通储存液制备的试纸条,本发明所制备的D-二聚体免疫荧光定量试纸条存储稳定性更佳,精密度更好,检测样品的出峰具有更高的信号和较平整的基线,准确度较高。

附图说明

[0020] 图1:优选的储存液制备的D-二聚体免疫荧光定量试纸条检测希森美康D-二聚体标准曲线;

[0021] 图2:优选的储存液制备的D-二聚体免疫荧光定量试纸条检测D-二聚体重组抗原的检测值与理论值散点图;

[0022] 图3:不同储存液制备的试纸条检测含不同浓度D-二聚体的病人血清样本的荧光检测折线图;

[0023] 图4:不同储存液制备的试纸条检测含D-二聚体的病人血清样本检测值与希森美康-CA7000检测值的相关图;

具体实施方式

[0024] 实施例1

[0025] D-二聚体免疫荧光定量试纸条的制备过程如下:

[0026] (1) 优选储存液的制备:PB的质量浓度为20mM、BSA的百分浓度为1.8%、Tween-80的百分浓度为0.5%、葡萄糖的百分浓度为0.5%、甘氨酸的百分浓度为2%、PEG4000的百分

浓度为1%、PEG20000的百分浓度为1.5%、Proclin300百分浓度为0.03%，按上述配方配制混匀后过滤除菌，制得储存液；

[0027] (2) 样品垫的制备：用样品垫处理液浸泡玻璃纤维膜10min，置于干燥间37℃湿度30%，烘干3h，制得样品垫，备用；

[0028] (3) 结合垫的制备：用结合垫处理液浸泡玻璃纤维膜10min，浸泡处理后，置于干燥间37℃湿度30%，烘干3h，制得结合垫，备用；

[0029] (4) 将1mg的200nm聚苯乙烯荧光微球先后加入20μL的0.5mg/mL的EDC和0.5mg/mL的NHS，在活化缓冲液37℃活化1h；

[0030] (5) 加入0.1mgD-二聚体一抗（鼠源D-二聚体单克隆抗体），在200μL偶联缓冲液中与荧光微球偶联，完毕后加入封闭液20μL，制得D-二聚体一抗-荧光微球偶联物，18000rpm离心15min后，加入200μL储存液，制得D-二聚体一抗-荧光微球偶联物浓度为5mg/mL，2~8℃保存；

[0031] (6) 用储存液将D-二聚体一抗-荧光微球偶联物稀释到0.5mg/mL，用喷金划膜仪喷于经结合垫处理液处理后的结合垫上，用鼓风干燥箱干燥7h。铝箔袋密封置于20-25℃、湿度约30%的条件下存放备用；

[0032] (7) 将1mg/mL D-二聚体二抗（羊抗鼠IgG多克隆抗体）和1mg/mL D-二聚体一抗分别用包被液包被，以条带状1.0mm用喷金划膜仪分别固定于硝酸纤维素膜上分别作为质控线和检测线；

[0033] (8) 在PVC底板上依次搭接地粘贴：样品垫、结合垫、硝酸纤维素膜、吸水滤纸，并剪切成宽度4.1mm即成为D-二聚体免疫荧光定量试纸条；

[0034] (9) 将切好的试纸条装卡，过压壳机，准备检测；

[0035] (10) 样品垫处理液：100mMPBS、1% Triton、0.75% BSA、0.5% PVA、0.9% NaCl、0.3% 葡聚糖、0.05% Proclin300, pH7.8；

[0036] (11) 结合垫处理液：2% Tween-80、1.5% PVA、0.5% BSA、1% 海藻糖, PH7.05-7.10；

[0037] (12) 活化缓冲液为75mM MES, pH5.5；

[0038] (13) 偶联缓冲液：20mM PB, pH7.5；

[0039] (14) 封闭液：20% BSA；

[0040] (15) 包被液：20mMPBS, 1.2% 异丙醇、0.4% 葡聚糖20000、1.5% BSA、0.5% Tween-80、0.03% Proclin300, pH7.0。

[0041] 实施例2

[0042] 将实施例1制备的D-二聚体免疫荧光定量试纸条建立标准曲线并进行检测，实施方法如下：

[0043] (1) 建立标准曲线：用希森美康D二聚体浓度为高低值校准品混合稀释至200ng/mL、500ng/mL、900ng/mL、1800ng/mL、3600ng/mL、6000ng/mL、8000ng/mL七个浓度。用制备好的试纸条加样80μL上免疫荧光分析以检测，每个浓度重复3次取平均值。以检测线所出的T峰面积和质控线所出的C峰面积的比值为纵坐标，标准品理论值为横坐标。

[0044] 标准曲线如图1所示： $y=0.0023x-0.2779$, $R^2=0.9966$ ，用该方程可计算样品中的D二聚体含量，实现定量，且相关性好。

[0045] (2) 样品检测：用抗原稀释液对D二聚体重组抗原倍比稀释至250ng/mL、500ng/mL、

1000ng/mL、2000ng/mL、4000ng/mL、8000ng/mL六个浓度。抗原稀释液：20mMPBS,0.5%BSA,0.5%Tween-20,PH7.2;将求得T/C峰面代入 $y=0.0023x-0.2779$ 中Y,求得X为所测抗原值,

[0046] 如图2所示,可以看出实施例2制备的试纸条检测值与理论值偏差小($R^2=0.9988$),检测的准确率高。

[0047] 实施例3

[0048] 配制对照储存液,具体配方为:PB的质量浓度为50mM、BSA的百分浓度为1%、Tween-80的百分浓度为1%、葡萄糖的百分浓度为1%、甘氨酸的百分浓度为0.5%、PEG4000的百分浓度为2%、Proclin300百分浓度为0.3%。

[0049] 采用实施例1制备的优选储存液(以下简称储存液2)与对照储存液(以下简称储存液1)进行助稳性能和精密度对比,实施方法和结果如下:

[0050] 用储存液1和储存液2,对相同工艺标记的D二聚体(D-Dimer)一抗-荧光微球进行喷膜干燥,分别组装成40个试纸条,放铝箔袋、干燥剂封口。一袋放置冰箱4℃保存7天(对照组),另外一袋放置温箱37℃加速7天。完整7天后,取出卡条,分别加入浓度为50ng/mL和500ng/mL的D-Dimer重组抗原检测。根据理论37℃加速7天相当于4℃保存1年,模拟1年后的抗原检测情况,结果如下表1、表2所示。

[0051] 表1、2种储存液制得的试纸条测试1.9ng/mL D-Dimer重组抗原的效果对比

[0052]

储存液 1			储存液 2		
测试浓度	50ng/mL		测试浓度	50ng/mL	
测试样	测试值 ng/mL		测试样	测试值 ng/mL	
	4°C	37°C		4°C	37°C
测试 1	45.384532	39.386349	测试 1	39.614557	41.281237
测试 2	40.368531	35.941613	测试 2	53.536697	45.731381
测试 3	49.732891	25.952348	测试 3	58.147119	51.673239
测试 4	50.843473	33.268473	测试 4	55.838289	52.463854
测试 5	41.126843	34.754983	测试 5	49.863338	47.652384
测试 6	39.235418	30.926764	测试 6	45.263565	46.265124
测试 7	55.965124	32.746183	测试 7	47.675219	40.216403
测试 8	48.231581	20.853468	测试 8	51.27623	49.312513
测试 9	50.332132	28.763219	测试 9	50.989652	45.556612
测试 10	47.238925	34.147312	测试 10	43.526477	40.863239
测试 11	53.445443	31.825145	测试 11	49.768523	44.265746
测试 12	51.394731	32.523145	测试 12	47.967361	53.254966
测试 13	45.951735	21.657321	测试 13	52.267431	40.369547
测试 14	46.822538	30.845384	测试 14	52.674623	41.685239
测试 15	42.751684	26.523864	测试 15	50.168762	45.238799
测试 16	48.362372	41.483238	测试 16	49.232768	46.657563
测试 17	47.953586	37.314135	测试 17	46.763888	48.526265
测试 18	50.276823	30.326117	测试 18	53.526843	49.268729
测试 19	51.982384	29.467416	测试 19	50.276568	42.268521
测试 20	45.228474	23.762846	测试 20	45.95216	50.666746
AVE	47.631461	31.123466	AVE	49.716504	46.160905
SD	4.4140131	5.5030022	SD	4.2800695	4.1633528
CV	9.27%	17.68%	CV	8.61%	9.02%
下降比例	34.66%		下降比例	7.15%	

[0053]

表2、2种储存液制得的试纸条测试500ng/mL D-Dimer重组抗原的效果对比

[0054]

储存液 1			储存液 2		
测试浓度	500ng/mL		测试浓度	500ng/mL	
测试样	测试值 ng/mL		测试样	测试值 ng/mL	
	4℃	37℃		4℃	37℃
测试 1	519.36852	291.73616	测试 1	514.77314	459.37626
测试 2	526.52368	369.48951	测试 2	467.22672	468.46521
测试 3	495.62528	353.09497	测试 3	516.02347	483.29235
测试 4	482.71615	148.91267	测试 4	516.39211	504.66638
测试 5	477.26476	237.9147	测试 5	485.58457	476.72592
测试 6	503.69523	350.6731	测试 6	490.41267	489.85224
测试 7	506.55923	321.96971	测试 7	498.12622	461.14323
测试 8	460.9236	336.79814	测试 8	507.1644	453.68462
测试 9	492.66329	337.41267	测试 9	515.91561	473.28687
测试 10	496.26287	225.82463	测试 10	493.26761	472.85264
测试 11	499.85321	340.09673	测试 11	500.44463	489.23985
测试 12	508.63682	247.94316	测试 12	487.6346	457.85216
测试 13	493.29846	342.42864	测试 13	496.26843	499.63623
测试 14	498.82623	439.4617	测试 14	499.76513	502.32698
测试 15	516.65284	192.16475	测试 15	504.24186	467.23266
测试 16	512.92363	428.87461	测试 16	501.74362	479.47942
测试 17	489.36268	361.76134	测试 17	510.3685	458.23894
测试 18	488.92683	335.81416	测试 18	493.2358	456.65833
测试 19	497.47264	299.46178	测试 19	490.44731	460.96953
测试 20	495.38492	334.64524	测试 20	498.82562	463.75263
AVE	498.14704	314.82392	AVE	499.3931	473.93662
SD	15.087237	73.057873	SD	12.349345	16.160624
CV	3.03%	23.21%	CV	2.47%	3.41%
下降比例	36.80%		下降比例	5.10%	

[0055] 从表1、2得出,优选的储存液2制备的试纸条在37℃加速七天后,检测值仅下降7%左右,且精密度较好;而对照储存液1制备的试纸条在37℃加速七天后,检测值下降35%左右,精密度相对较差。

[0056] 实施例4

[0057] 用储存液1和储存液2(同实施例3),对相同工艺标记的D-二聚体一抗-荧光微球进行喷膜干燥,组装好试纸条,分别用浓度为120ng/mL、270ng/mL、310ng/mL、430ng/mL、460ng/mL、1920ng/mL的含D-二聚体的希森美康CA7000赋值的病人血清样本对两种试纸条加样检测,随后用配套检测仪器对试纸条窗口信息进行读取。通过仪器激光对窗口的荧光微球进行激发,再采集窗口300个位置(作横坐标)的发射荧光强度(作纵坐标),利用荧光分析软件将300个点按顺序连在一起形成折线图。

[0058] 如图3所示,折线图可反映荧光微球在NC膜上的跑膜情况,图中有两个峰,左边为T峰(对应肉眼视卡条为检测线),右边为C峰(对应肉眼视卡条为质控线)。使用储存液2的整

体出峰效果较好,说明储存液2对抗体-荧光微球偶联物从结合垫释放到NC膜效果较好。使用储存液1的则出峰信号不高,基线不平整,前段抬起较明显,影响软件对峰面积的计算,进而影响读值的准确度。

[0059] 实施例5

[0060] 用储存液1和储存液2(同实施例3),对相同工艺标记的D-二聚体一抗-荧光微球进行喷膜干燥,分别组装15个试纸条,用15个不同浓度的含D-二聚体抗原的病人血清样本同时对两种试纸条加样检测。用配套检测仪器对试纸条窗口信息进行读取,用荧光分析软件计算T峰面积与C峰面积,同时用血凝方面权威公司希森美康旗下的CA7000全自动血凝仪检测的结果值。

[0061] 以希森美康CA7000评价2种储存液制备的试纸条检测结果的临床诊断准确性。如图4所示,纵坐标为T峰面积/C峰面积,横坐标希森美康CA7000结果值,储存液2制备的试纸条检测结果与希森美康公司的CA7000仪器检测结果较吻合($R^2=0.991$),而储存液1的血清线性相关较差($R^2=0.965$),重复性也不好。这与前述储存液2让抗体-荧光微球偶联物释放效果更好,软件计算面积更加准确有关。

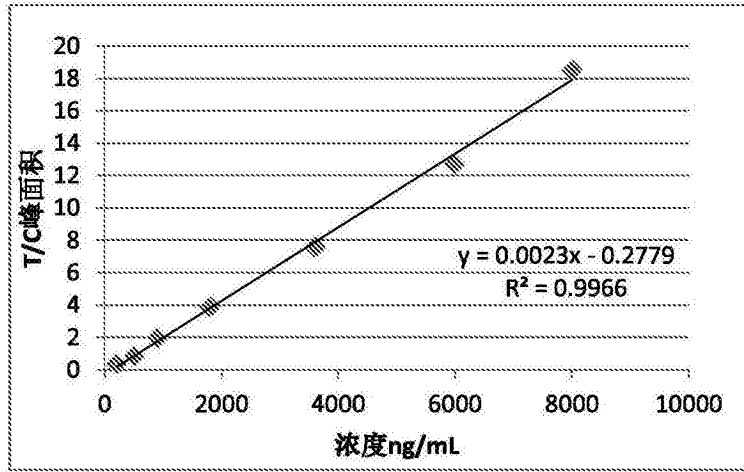


图1

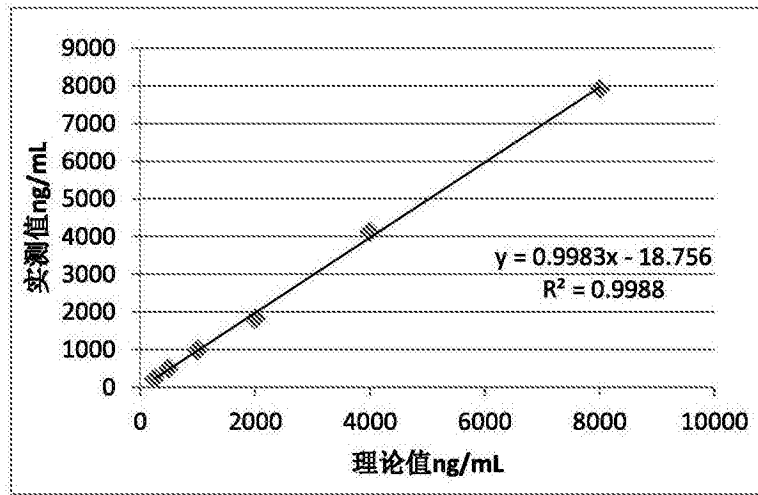
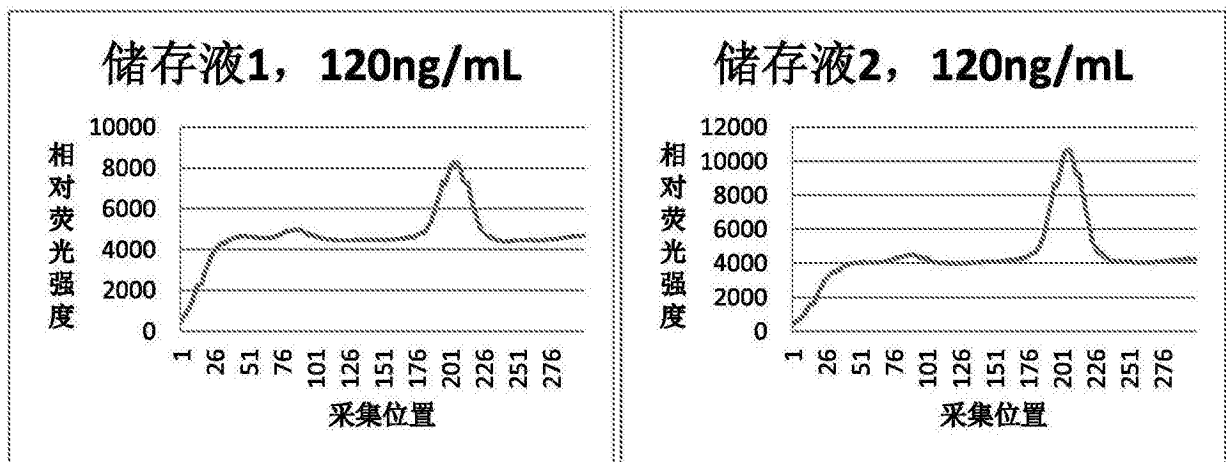
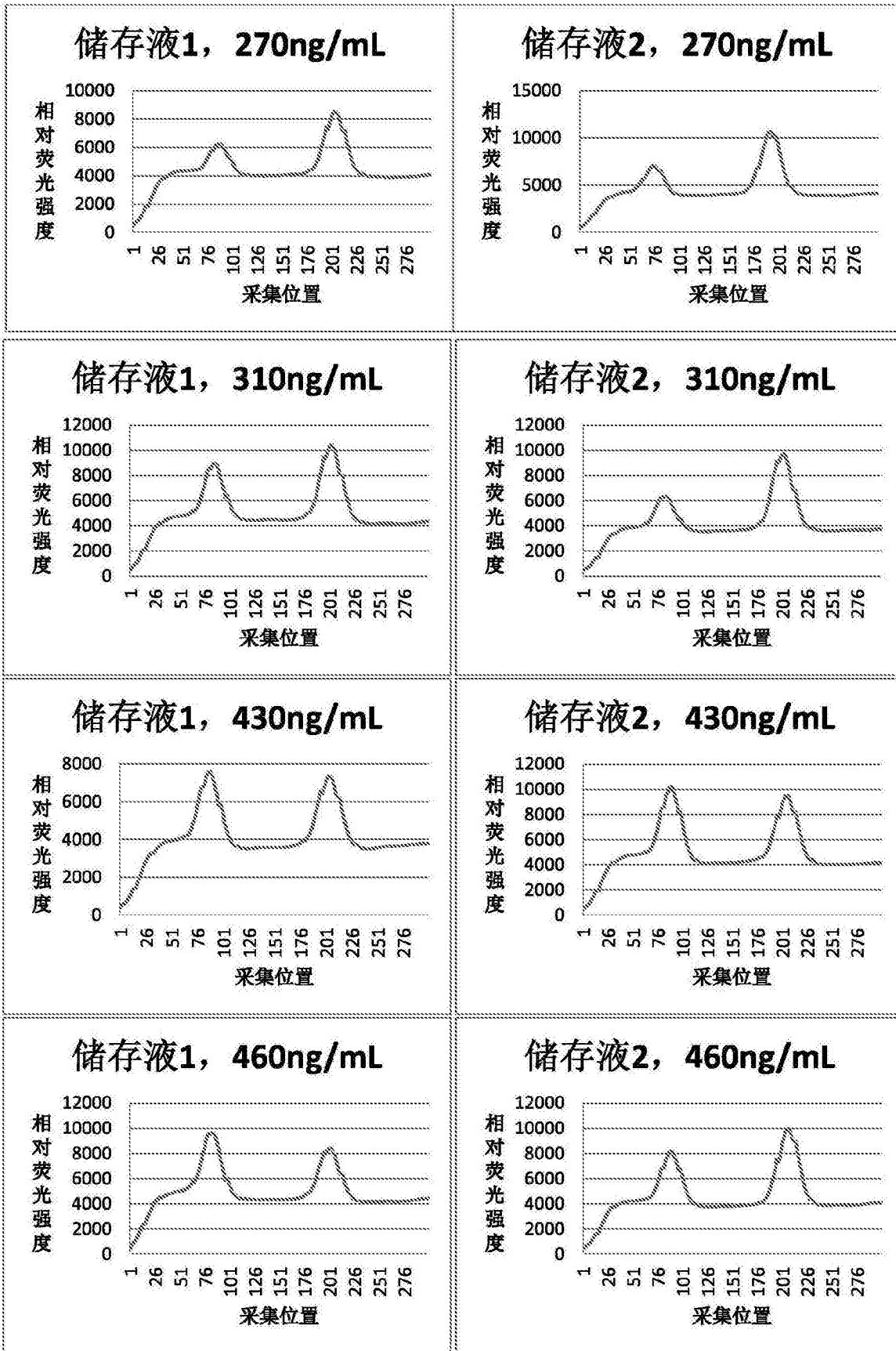


图2





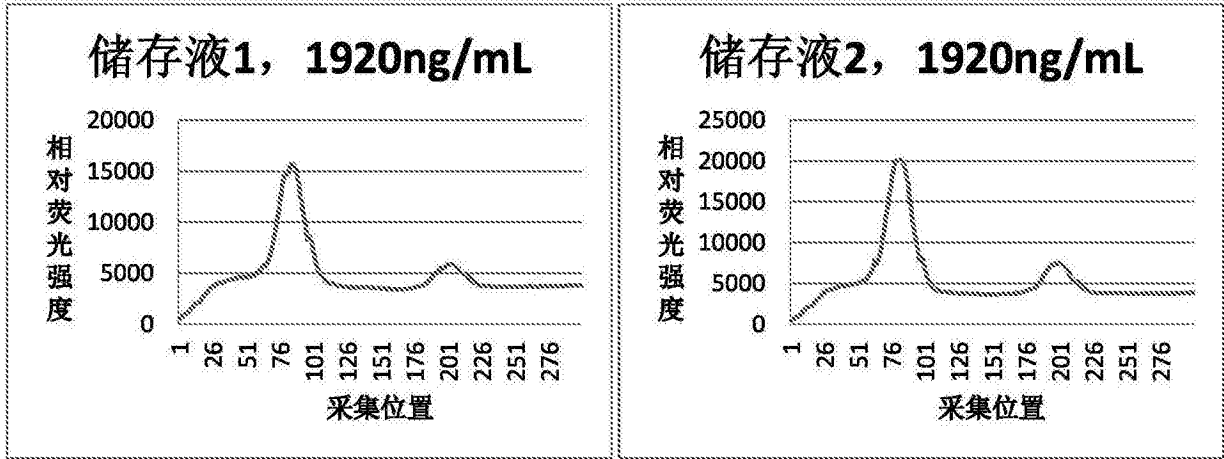


图3

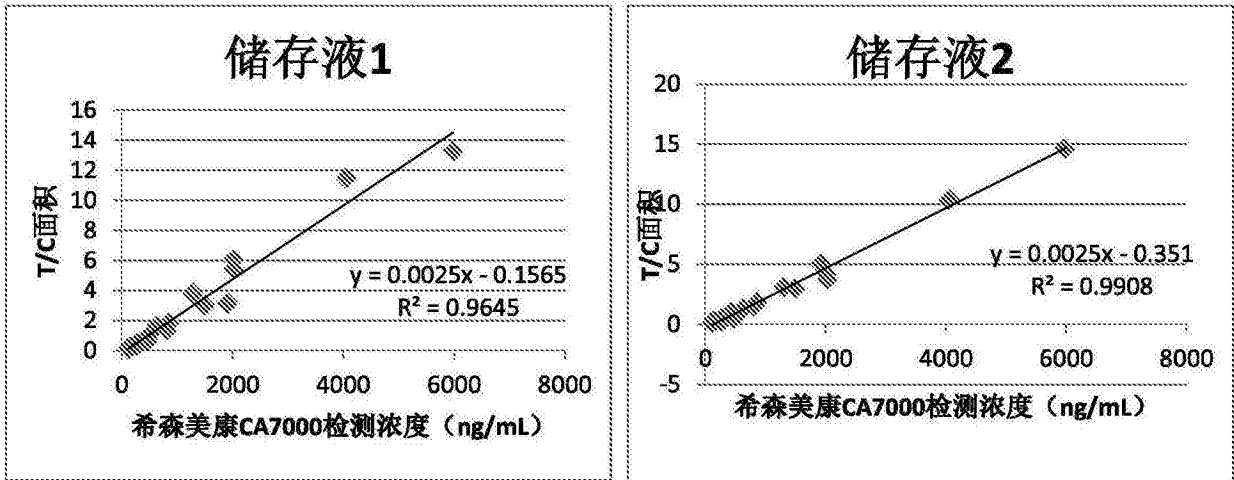


图4

专利名称(译)	一种D-二聚体免疫荧光定量试纸条及其制备方法		
公开(公告)号	CN106405078A	公开(公告)日	2017-02-15
申请号	CN201610799198.3	申请日	2016-08-31
[标]申请(专利权)人(译)	中山市创艺生化工程有限公司		
申请(专利权)人(译)	中山市创艺生化工程有限公司		
当前申请(专利权)人(译)	中山市创艺生化工程有限公司		
[标]发明人	何平 梁德智 陈润文		
发明人	何平 梁德智 陈润文		
IPC分类号	G01N33/558 G01N33/543 G01N33/533		
CPC分类号	G01N33/533 G01N33/54393 G01N33/558		
代理人(译)	胡辉		
其他公开文献	CN106405078B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种D-二聚体免疫荧光定量试纸条及其制备方法。相对于普通储存液制备的试纸条，本发明所制备的D-二聚体免疫荧光定量试纸条存储稳定性更佳，精密度更好，检测样品的出峰具有更高的信号和较平整的基线，准确度较高。

测试浓度	储存液 1		测试浓度	储存液 2	
	50ng/mL			50ng/mL	
	测试值	ng/mL		测试值	ng/mL
测试 1	45.384532	39.386349	测试 1	39.614557	41.281237
测试 2	40.368531	35.941613	测试 2	53.536697	45.731381
测试 3	49.732891	25.952348	测试 3	58.147119	51.673239
测试 4	50.843473	33.268473	测试 4	55.838289	52.463854
测试 5	41.126843	34.754983	测试 5	49.863338	47.652384
测试 6	39.235418	30.926764	测试 6	45.263565	46.265124
测试 7	55.965124	32.746183	测试 7	47.675219	40.312513
测试 8	48.231581	20.853468	测试 8	51.27623	49.312513
测试 9	50.332132	28.763219	测试 9	50.989652	45.556612
测试 10	47.238925	34.147312	测试 10	43.526477	40.863239
测试 11	53.445443	31.825145	测试 11	49.768523	44.265746
测试 12	51.394731	32.523145	测试 12	47.967361	53.254966
测试 13	45.951735	21.657321	测试 13	52.267431	40.369547
测试 14	46.822538	30.845384	测试 14	52.674623	41.685239
测试 15	42.751684	26.523864	测试 15	50.168762	45.238799
测试 16	48.362372	41.483238	测试 16	49.232768	46.657563
测试 17	47.953586	37.314135	测试 17	46.763888	48.526265
测试 18	50.276823	30.326117	测试 18	53.526843	49.268729
测试 19	51.982384	29.467416	测试 19	50.276568	42.268521
测试 20	45.228474	23.762846	测试 20	45.95216	50.666746
AVE	47.631461	31.123466	AVE	49.716504	46.160905
SD	4.4140131	5.5030022	SD	4.2800695	4.1633528
CV	9.27%	17.68%	CV	8.61%	9.02%
下降比例	34.66%		下降比例	7.15%	