

中华人民共和国国家计量技术规范

JJF 1836—2020

微量分光光度计校准规范

Calibration Specification for Micro-spectrophotometers

2020-07-02 发布

2021-01-02 实施



国家市场监督管理总局 发布

微量分光光度计校准规范

Calibration Specification
for Micro-spectrophotometers

JJF 1836—2020

归口单位：全国生物计量技术委员会

主要起草单位：中国计量科学研究院

上海市计量测试技术研究院

博奥生物集团有限公司

本规范委托全国生物计量技术委员会负责解释

本规范主要起草人：

高运华（中国计量科学研究院）

许 丽（上海市计量测试技术研究院）

武利庆（中国计量科学研究院）

王 东（博奥生物集团有限公司）

梁 文（上海市计量测试技术研究院）

李宝连（博奥生物集团有限公司）

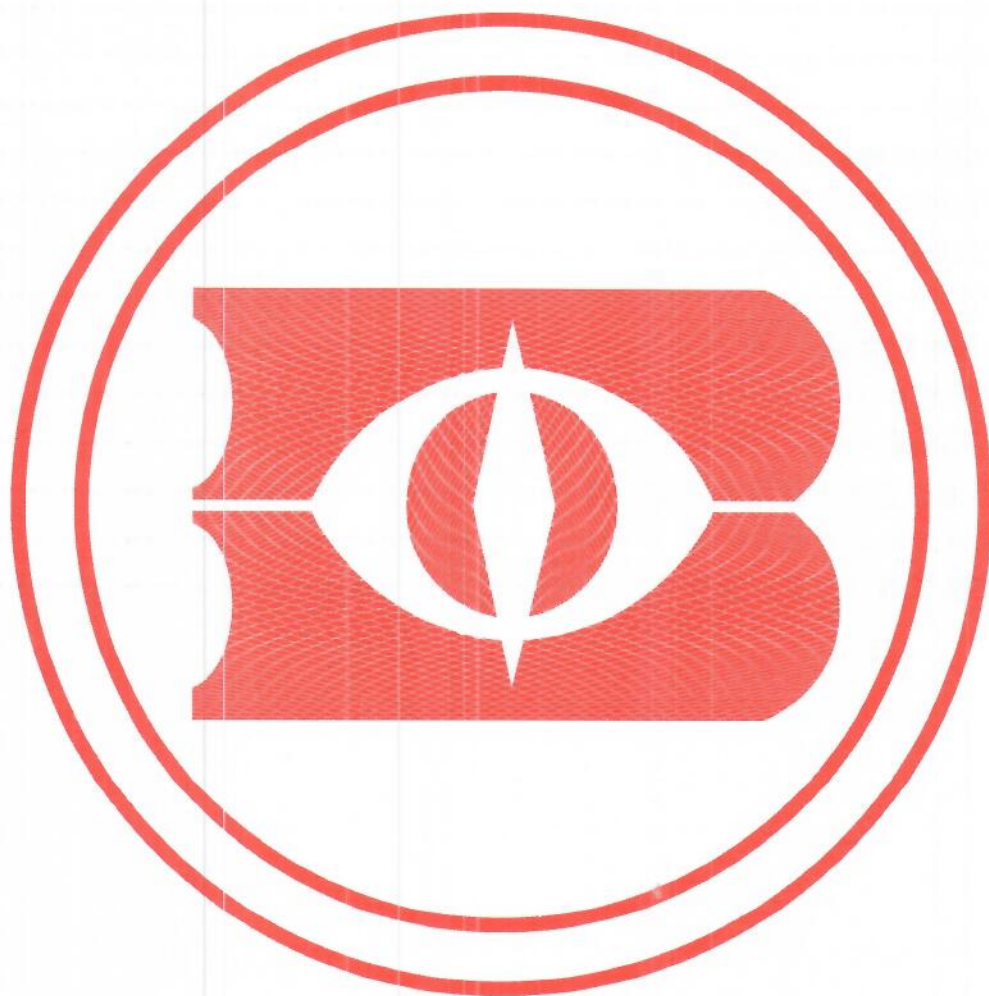
目 录

引言	(II)
1 范围	(1)
2 引用文件	(1)
3 概述	(1)
4 计量特性	(1)
5 校准条件	(2)
5.1 环境条件	(2)
5.2 校准用标准物质及试剂	(2)
6 校准项目和校准方法	(2)
6.1 示值误差	(2)
6.2 重复性	(2)
6.3 线性和线性范围	(3)
7 校准结果表达	(3)
8 复校时间间隔	(3)
附录 A 示值误差的不确定度评定示例	(4)
附录 B 校准原始记录参考格式	(6)
附录 C 校准证书 (内页) 参考格式	(7)

引 言

本规范依据 JJF 1071—2010《国家计量校准规范编写规则》的要求编制，起草中参考了 JJG 178—2007《紫外、可见、近红外分光光度计检定规程》、GB/T 26810—2011《可见分光光度计》。

本规范为首次发布。



微量分光光度计校准规范

1 范围

本规范适用于微量分光光度计的校准，对于其他类型的分光光度计，可参照本规范执行。

2 引用文件

本规范引用了下列文件：

JJG 178—2007 紫外、可见、近红外分光光度计检定规程

GB/T 26810—2011 可见分光光度计

凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本规范；凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本规范。

3 概述

微量分光光度计体积小，样品用量少〔(1~2) μL 〕，由光源、单色器、吸收池、检测器以及信号指示系统五个部分组成。原理是基于物质对不同波长光的选择性吸收和朗伯-比尔（Lambert-Beer）定律对物质进行定量分析和定性鉴别，常用于核酸与蛋白质的定性、定量分析以及菌液浓度的定量。

朗伯-比尔定律的数学表达式为：

$$A = -\lg(I/I_0) = -\lg T = klc$$

式中：

A ——物质的吸光度；

I_0 ——入射的单色光强度；

I ——透射的单色光强度；

T ——物质的透射比；

k ——物质的吸光系数；

l ——被分析物质的光程；

c ——物质的浓度。

检测时，用移液器将(1~2) μL 样品滴加到检测平台上，仪器自动完成测试，显示吸光度值，给出样品（核酸、蛋白质和荧光染料）定性和定量结果。

4 计量特性

4.1 示值误差

4.2 重复性

4.3 线性和线性范围

5 校准条件

5.1 环境条件

仪器使用允许的环境条件，温度：(15~35)℃、相对湿度：(10~80)%，校准过程中测量并记录环境的温度、相对湿度。

5.2 校准用标准物质及试剂

5.2.1 校准用标准物质

校准时应采用有证标准物质，包括：DNA 标准物质，其特性量值 (10~2 000) ng/μL，相对扩展不确定度 ≤10% ($k=2$)；RNA 标准物质 (10~2 000) ng/μL，相对扩展不确定度 ≤10% ($k=2$) 或蛋白质标准物质 (50~2 000) ng/μL，相对扩展不确定度 ≤10% ($k=2$)。

5.2.2 试剂

电阻率达到 18 MΩ·cm (25℃) 的蒸馏水或三羟甲基氨基甲烷-乙二胺四乙酸 (TE) 缓冲溶液等，用于仪器空白校准用。

5.2.3 移液器

规格：最大量程 2 μL、2.5 μL、10 μL，需检定合格。

6 校准项目和校准方法

6.1 示值误差

选择 DNA、RNA 或蛋白质含量标准物质，用仪器自动设定的光程在仪器上分别测定 260 nm、280 nm 处吸光度值及对应的含量值，记录 260 nm (DNA 或 RNA) 处或 280 nm (蛋白质) 处 3 次含量值的算术平均数与标准值之差，按式 (1) 计算其示值误差。

$$\delta X = \left| \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n} - X_0 \right| \quad (1)$$

式中：

δX ——示值误差，ng/μL；

X_0 ——标准值，ng/μL；

X_i ——测定值，ng/μL；

n ——测定次数。

6.2 重复性

选择 DNA、RNA 或蛋白质含量标准物质，用仪器自动设定的光程在仪器上分别测定 260 nm、280 nm 处吸光度值及对应的含量值，记录 260 nm (DNA 或 RNA) 处或 280 nm (蛋白质) 处重复测定 6 次含量值，按式 (2) 计算含量值标准偏差。

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}} \quad (2)$$

式中：

s ——标准偏差；

\bar{X} ——6次含量测定值的算术平均值；

X_i ——单次测定值；

n ——测定的次数；

i ——测定的序号， $i=1\sim 6$ 。

6.3 线性 and 线性范围

选择不同含量的 DNA 标准物质，浓度范围在（10~2 000）ng/μL 及合适浓度的 RNA 或蛋白质标准物质，至少 5 个浓度梯度，用仪器自动设定的光程在仪器上测定（260 nm 处和 280 nm 处）空白和各标准物质的吸光度对应的含量值，每个浓度水平重复测定 3 次，计算其平均值。以系列标准物质的标称值和对应的吸光度值做标准曲线，按式（3）计算其相关系数 r ，根据测量结果与标准物质标准值的一致程度，给出其线性范围。

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n X_i Y_i - \frac{\sum_{i=1}^n X_i \sum_{i=1}^n Y_i}{N}}{\left[\sum_{i=1}^n X^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n X)^2}{N} \right] \left[\sum_{i=1}^n Y^2 - \frac{(\sum_{i=1}^n Y)^2}{N} \right]} \quad (3)$$

式中：

r ——相关系数；

X ——标准物质的标称值；

Y ——对应的吸光度值；

N ——测量次数。

7 校准结果表达

校准记录应尽可能详尽地记载测量数据和计算结果，推荐的校准记录格式见附录 B。微量分光光度计测量结果的测量不确定度应按 JJF 1059.1 的要求评定，不确定度评定示例见附录 A。经校准的微量分光光度计应出具校准证书，校准证书应符合 JJF 1071—2010 中 5.12 的要求。

8 复校时间间隔

根据实际使用情况，用户可自行确定仪器复校时间间隔，建议不超过 1 年。

附录 A

示值误差的不确定度评定示例

A.1 测量模型

$$\delta X = \left| \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n} - X_0 \right| \quad (\text{A.1})$$

式中：

δX ——示值误差，ng/ μL ；

X_0 ——标准值，ng/ μL ；

X_i ——单次测定值，ng/ μL ；

n ——测定次数。

A.2 不确定度来源

不确定度主要来源于以下两方面：

- a) 重复性引入的不确定度；
- b) 标准物质引入的不确定度。

A.3 不确定度分量的评定

A.3.1 重复性引入的标准不确定度 $u(\bar{X}_i)$

用重复性实验数据计算标准偏差 SD，测量数据及计算结果见表 A.1。

表 A.1 重复性引入的不确定度

ng/ μL

标称值	标准值 X_0	测量值 X_i							平均值	标准偏差 SD
		1	2	3	4	5	6	7		
10	10.7	10.7	9.8	10.5	10.1	10.3	10.8	10.4	10.4	0.4
100	103.9	98.2	99.7	99.3	103.1	102.9	104.6	103.1	101.3	2.6
500	508.1	515.3	512.4	519.7	510	509.3	512.8	510	513.2	3.8
1 000	1 048	1 073.2	1 069	1 070.8	1 091	1 083.8	10 82.7	1 091	1 078	8.7
2 000	2 163	2 036.3	2 042.3	2 044.2	2 042.3	2 046.6	2 053.4	2 042.3	2 044	5.7

重复性引入的标准不确定度 $u(\bar{X}_i)$ 为

$$u(\bar{X}_i) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}}$$

A.3.2 标准物质引入的标准不确定度 $u(\bar{X}_s)$

标准物质引入的标准不确定度由标准物质证书得到， $u(\bar{X}_s) = u_c/k$ ($k=2$)，见表 A.2。

表 A.2 标准物质引入的标准不确定度

ng/ μ L

标称值	特性量值	扩展不确定度 X_i	标准不确定度 $u(\bar{X}_s)$
10	10.7	0.4	0.8
100	103.9	4.8	9.6
500	508.1	25	49
1 000	1 048	54	108
2 000	2 163	95	190

A.4 标准不确定度一览表

标准不确定度一览表见表 A.3。

表 A.3 标准不确定度一览表

ng/ μ L

标称值	测量重复性引入的不确定度 $u(\bar{X}_i)$	标准物质引入的不确定度 $u(\bar{X}_s)$
10	0.4	0.4
100	2.6	4.8
500	3.8	25
1 000	8.7	54
2 000	5.7	95

A.5 合成标准不确定度

合成标准不确定度用公式 $u(\Delta X) = \sqrt{u^2(\bar{X}_i) + u^2(\bar{X}_s)}$ 计算得到, 结果见表 A.4。

A.6 扩展标准不确定度

扩展不确定度用公式 $U = 2u(\Delta X)$ 计算得到, 结果见表 A.4。

表 A.4 合成标准不确定度和扩展不确定度

标称浓度	合成标准不确定度 $u(\Delta X)$ (ng/ μ L)	扩展不确定度 U (ng/ μ L)	包含因子 k
10	0.6	1.2×10^0	2
100	5.5	1.1×10^1	2
500	24.7	5.0×10^1	2
1 000	54.7	1.1×10^2	2
2 000	95.2	1.9×10^2	2

附录 B

校准原始记录参考格式

送检单位：_____ 校准日期：_____年____月____日
 仪器名称：_____ 制造厂：_____
 型 号：_____ 出厂编号：_____
 证书编号：_____
 环境温度：_____℃ 相对湿度：_____%

1. 仪器外观

2. 示值误差、重复性和线性测试数据

标准物质	标准值	1		2		3		备注
		测量值	OD 值	测量值	OD 值	测量值	OD 值	
								线性范围在 0 ng/ μ L ~100 ng/ μ L 的仪器， 采用此组数据计算示 值误差和重复性
								线性范围在 0 ng/ μ L ~2 000 ng/ μ L 的仪 器，采用此组数据计 算示值误差和重复性

校准员：_____ 核验员：_____

附录 C

校准证书（内页）参考格式

1. 示值误差

标准值/ (ng/ μ L)	测量值/ (ng/ μ L)	示值误差/ (ng/ μ L)	不确定度/ (ng/ μ L) ($k=2$)

2. 重复性

3. 线性范围：

以下空白。

校准员：_____ 核验员：_____

中华人民共和国
国家计量技术规范
微量分光光度计校准规范

JJF 1836—2020

国家市场监督管理总局发布

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238

读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

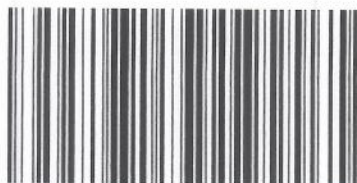
*

开本 880×1230 1/16 印张 1 字数 14 千字
2020年12月第一版 2020年12月第一次印刷

*

书号: 155066·J-3766 定价 18.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



JJF 1836-2020