



中华人民共和国国家计量技术规范

JJF ××××-202×

蛋白质纯化分析仪校准规范

Calibration Specification of Protein purification analyzer

(征求意见稿)

202X-XX-XX 发布

202X-XX-XX 实施

国家市场监督管理总局 发布

蛋白质纯化分析仪校准规范

Calibration Specification of Protein
purification analyzer

JJF XXXX—202X

归口单位：全国生物计量技术委员会

主要起草单位：南京市计量监督检测院

中国计量科学研究院

中国计量测试学会

黑龙江省计量检定测试研究院

参加起草单位：上海市计量测试技术研究院

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：

参加起草人：

全国生物计量技术委员会

目 录

引 言.....	II
1 范围.....	1
2 引用文件.....	1
3 术语和计量单位.....	1
3.1 蛋白质 protein.....	1
4 概述.....	1
5 计量特性.....	1
6 校准条件.....	2
6.1 环境条件.....	2
6.2 校准用的设备.....	2
6.3 校准用的标准物质.....	2
7 校准项目和校准方法.....	3
7.1 输液系统.....	3
7.1.1 泵流量设定值误差和流量稳定性.....	3
7.1.2 泵梯度流量准确度测试.....	4
7.2 检测系统.....	5
7.2.1 pH 检测器示值误差和重复性.....	5
7.2.2 电导率检测器示值误差和重复性.....	6
7.2.3 紫外检测器波长示值误差和重复性.....	7
7.3 收集系统.....	7
7.3.1 收集系统温度准确性.....	7
7.3.2 收集系统加样准确性.....	8
7.4 整机性能测试.....	8
8 校准结果表达.....	9
8.1 校准结果处理.....	9
8.2 校准证书.....	9
8.3 校准结果的测量不确定度.....	9
9 复校时间间隔.....	9
附录 A 校准记录和校准证书的内容.....	10
附录 B 蛋白质纯化分析仪温度示值误差测量结果的不确定度评定示例.....	14
附录 C 国际温标纯水密度表.....	错误! 未定义书签。

引 言

本规范依据国家计量技术规范 JJF1071-2010《国家计量校准规范编写规则》、JJF1001-2011《通用计量术语及定义》、JJF1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》编制。

本规范的制定主要参考了 JJG 705—2014《液相色谱仪检定规程》及现行蛋白质纯化分析仪相关技术文件。

本规范为首次制定。

全国生物计量技术委员会

蛋白质纯化分析仪校准规范

1 范围

本规范适用于用于基于液相色谱技术的蛋白质纯化分析仪的计量性能的校准。

2 引用文件

本规范引用了下列文件：

JJG 705—2014 液相色谱仪检定规程

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 术语和计量单位

JJF 1001—2011、JJF 1265—2010 中界定的及以下术语和定义适用于本规范。

3.1 蛋白质 protein

生物体中广泛存在的一类生物大分子，由核酸编码的 α 氨基酸之间通过 α 氨基和 α 羧基形成的肽键连接和成的肽链，经翻译后加工而生成具有特定立体结构的、有活性的大分子。

4 概述

蛋白质纯化分析仪（以下简称分析仪）是基于液相色谱层析，可以分离和收集各种蛋白质和生物分子的仪器。

蛋白质纯化分析仪主要的纯化和分离原理包括凝胶过滤层析、离子交换层析、疏水层析、反相层析和亲和层析。分析仪的工作流程主要包括待测样品通过进样系统，由输液系统进入分析仪的分离系统，根据样品中各组分在层析柱内固定相和流动相间分配或吸附等特性的差异，达到分离效果，由检测器检测各组分的保留时间和响应值（峰面积或峰高）后由样品收集系统收集目标蛋白质。分析仪除了传统的紫外检测器外通常还配有 pH 检测器、电导检测器等多种检测器实时控制流路中各项理化参数，以确保蛋白质分离的效果。

分析仪主要由进样系统、输液系统、检测系统、分离系统、收集系统和数据处理系统组成。

5 计量特性

表 1 蛋白质纯化分析仪的计量性能指标

计量性能	计量性能指标
------	--------

泵流量示值误差	±5%
泵流量稳定性	3%
泵梯度流量准确度	±3%
pH 检测示值误差	±0.03
pH 检测重复性	2%
电导检测示值误差	2%
电导检测重复性	2%
电导检测温度示值误差	±0.3℃
紫外检测器波长示值误差	±2nm
紫外检测器波长重复性	≤2nm
收集器温度示值误差	±1.0℃
收集器加样示值误差	5%
收集器加样重复性	5%
整机定量重复性	3%
整机定性重复性	1%

注 1: 以上技术指标不是用于合格性判别, 仅供参考, 计量特性也可参照分析仪制造厂商给出的技术要求。

6 校准条件

6.1 环境条件

6.1.1 环境温度 (10~30)℃, 相对湿度不大于 80%。

6.1.2 室内应防潮、避光、防热、无腐蚀性物品, 通风良好。

注: 6.1 中的条件与制造商的产品规定不一致时, 以产品规定为准。

6.2 校准用的设备

6.2.1 数字温度计: 测量范围: (-10.0~100.0)℃, 最大允许误差±0.1℃。

6.2.2 分析天平: 最大称量不小于 100g, 最小分度值不大于 1mg。

6.3 校准用的标准物质

6.3.1 pH 标准物质: pH 测量范围 (3~10), 不确定度应小于等于 0.01 ($k=2$)

6.3.2 电导率标准物质: 相对不确定度应小于或等于 0.25% ($k=2$)。

6.3.3 紫外分光光度计溶液标准物质: 参考波长为 235nm, 257nm, 313nm 和 350nm。

6.3.4 蛋白质标准物质: 使用纯品蛋白质标准物质, 相对扩展不确定度小于等于 8% ($k=2$)。

7 校准项目和校准方法

7.1 输液系统

7.1.1 泵流量设定值误差和流量稳定性

用专用管路连接仪器的出口、入口，以脱过气的水做流动相，通过管路冲洗系统，使系统中充满水。将温度计插入流动相内，测量试验温度。设定适当的流量，当输液泵运行稳定后，在泵测量范围中均匀取三个测量点，用合适的干燥的容量瓶（事先清洗、干燥后称重）分别接收规定时间流出的流动相。测量次数、时间、使用容量瓶规格如下表所示。将测量得到的容量瓶分别在分析天平上称重，重复三次，按公式(1)计算流量的实测值，按公式(2)计算流量设定值误差 SS ，按公式(3)计算流量稳定性误差 SR 。

表 1 泵流速测定参数表

泵流速设定值 (mL/min)	0.2~1.0	1.0~10	10~100
测量次数	3	3	3
流动相收集时间 (min)	5~10	2~5	1
使用容量瓶大小(ml)	25	100	1000

$$F_m = (W_2 - W_1) / (\rho_t \times t) \quad (1)$$

式中：

F_m ——流量实测值，mL/min；

W_2 ——容量瓶加流动相的质量，g；

W_1 ——容量瓶的质量，g；

ρ_t ——实验温度下流动相的密度，g/cm³，(不同温度下流动相的密度参见附录

C)：

t ——收集流动相的时间，min。

$$S_s = \frac{\overline{F_m} - F_s}{F_s} \times 100\% \quad (2)$$

式中：

S_s ——流量示值误差，%；

$\overline{F_m}$ ——同一设定流量 3 次测量值的算术平均值，mL/min；

F_s ——流量设定值，mL/min。

$$S_R = \frac{F_{\max} - F_{\min}}{\overline{F_m}} \times 100\% \quad (3)$$

式中：

S_R ——流量稳定性，%；

F_{\max} ——同一设定流量 3 次测量值的最大值，mL/min；

F_{\min} ——同一设定流量 3 次测量值的最小值，mL/min；

$\overline{F_m}$ ——同一设定流量 3 次测量值的算术平均值，mL/min。

7.1.2 泵梯度流量准确度测试

将仪器连接好，不接色谱柱，设定检测波长为 254nm。按表 2 设置梯度参数，如果系统不支持自动变化梯度，则每隔 30s 手动设置梯度参数。开始测试前，先用水平衡系统至少 10 分钟，等待基线平稳后开始执行梯度程序。设置流速为 1.0ml/min，采集梯度曲线，测量各溶液配比时的输出信号值，重复测量两次，用公式（4）计算每一阶梯对应的响应信号值的变化值 $\overline{L_i}$ 。按公式(5)计算五段阶梯响应信号值的总平均值 $\overline{\overline{L_i}}$ ；按公式（6）计算每一段的梯度误差 G_i ，取最大者作为仪器的梯度误差。

$$\overline{L_i} = \frac{(L_{1i} - L_{1(i-1)}) + (L_{2i} - L_{2(i-1)})}{2} \quad (4)$$

式中：

$\overline{L_i}$ ——第 i 段阶梯响应信号值的平均值；

L_{1i} ——第 i 段阶梯第 1 组响应信号值；

$L_{1(i-1)}$ ——第 (i-1) 段阶梯第 1 组响应信号值；

L_{2i} ——第 i 段阶梯第 2 组响应信号值；

$L_{2(i-1)}$ ——第 (i-1) 段阶梯第 2 组响应信号值。

$$\overline{\overline{L_i}} = \frac{\sum_{i=1}^n \overline{L_i}}{n} \quad (5)$$

式中：

$\overline{\overline{L_i}}$ ——5 段阶梯响应信号值得总平均值；

n ——梯度的阶梯数， $n=5$ 。

$$G_i = \frac{\overline{L_i} - \underline{L_i}}{\underline{L_i}} \quad (6)$$

式中：

G_i ——第 i 阶段的梯度误差。

表 2 梯度参数表

序号	通道 A(%)	通道 B(%)
1	100	0
2	80	20
3	60	40
4	40	60
5	20	80
6	0	100
7	100	0

7.2 检测系统

7.2.1 pH 检测器示值误差和重复性

使用温度计测量 pH 标准溶液温度，对于 pH 标准溶液的标准值进行修正。使用 pH 值相邻两种标准物质（如 4.01、6.86 的组合或 6.86、9.18 的组合）仪器自带的 pH 校准功能对仪器的 pH 检测器进行校准，确认 pH 检测器的校准功能完好可用。

使用另一种 pH 标准缓冲溶液平衡系统，使用 pH 检测器检测标准溶液连续测量 6 次，取平均值作为仪器示值，按公式(7)计算仪器 pH 检测器示值误差，按公式 (8)计算 pH 检测器测量重复性。

$$\Delta pH_{\text{仪器}} = \overline{pH_{\text{仪器}}} - pH_{\text{标准}} \quad (7)$$

式中：

$\Delta pH_{\text{仪器}}$ ——pH 检测器示值误差，pH；

$\overline{pH_{\text{仪器}}}$ ——3 次 pH 检测器测量的平均值，pH；

$pH_{\text{标准}}$ ——pH 溶液标准值的修正值，pH。

$$S_{PH} = \sqrt{\frac{\sum (pH_i - \overline{pH})^2}{5}} \times \frac{1}{\overline{pH}} \times 100\% \quad (8)$$

式中：

S_{PH} ——pH 检测器测量重复性，%。

7.2.2 电导率检测器温度示值误差、示值误差和重复性

使用纯水对于分析仪进行平衡，在仪器电导传感器前端收集流动相，使用温度测量仪器检测流动相温度，重复测量 3 次得到 $\overline{T_1}$ 。将流路恢复在电导传感器后端收集流动相，使用温度测量仪器检测流动相温度得到 $\overline{T_2}$ ，同时读取仪器温度显示值，按公式(9)计算测量温度误差。

$$T = T_s - \frac{\overline{T_1} + \overline{T_2}}{2} \quad (9)$$

式中：

T ——电导检测器温度示值误差，单位摄氏度（℃）；

T_s ——电导检测器显示温度，单位摄氏度（℃）；

$\overline{T_1}$ ——3 次电导检测器前端流动相温度测量的平均值，单位摄氏度（℃）；

$\overline{T_2}$ ——3 次电导检测器后端流动相温度测量的平均值，单位摄氏度（℃）。

温度测量结束后，使用电导率溶液平衡系统，使用电导率检测器检测标准溶液 6 次，取平均值作为仪器示值，按公式(10)计算仪器电导率检测器示值误差，按公式 (11)计算电导率检测器测量重复性。

$$\Delta\sigma_{\text{仪器}} = \overline{\sigma_{\text{仪器}}} - \sigma_{\text{标准}} \quad (10)$$

式中：

$\Delta\sigma_{\text{仪器}}$ ——电导率检测器示值误差， $\mu\text{S}/\text{cm}$ ；

$\overline{\sigma_{\text{仪器}}}$ ——6 次电导率检测器测量的平均值， $\mu\text{S}/\text{cm}$ ；

$\sigma_{\text{标准}}$ ——电导率溶液标准值的修正值， $\mu\text{S}/\text{cm}$ 。

$$S_{\sigma} = \sqrt{\frac{\sum (\sigma_i - \overline{\sigma})^2}{5}} \times \frac{1}{\overline{\sigma}} \times 100\% \quad (11)$$

式中：

S_{σ} ——电导率检测器测量重复性，无量纲（%）。

7.2.3 紫外检测器波长示值误差和重复性

将检测器和数据处理系统连接好，通电预热稳定后，用注射器将纯水注入检测池内进行冲洗后，充满检测池。待仪器稳定后，从检测器入口注入紫外分光光度计用溶液标准物质（空白），待检测器示数稳定后，在（200~350）nm 波长下选择三个用户常用的检测点，将检测器示数回零。然后，从检测器入口注入紫外波长标准物质，待示值稳定后，调节检测器波长进行测量。例如测试 235nm 时，从 230nm 开始到 240nm，每 0.5 分钟改变 1nm，记录每个波长下的吸收值。有波长扫描功能的仪器可画出紫外分光光度计用溶液标准物质光谱曲线。测得的最大或最小吸收值对应的波长即为特征波长实际测量值，重复测量 3 次，3 次测量值的平均值与参考波长之差为波长示值误差，3 次测量值中的最大值与最小值之差为波长重复性。按此方法依次测试各测试的波长示值误差和重复性。

7.3 收集系统

7.3.1 收集系统温度准确性

将温度计探头固定在试剂仓和反应仓中试剂相应的位置，将分析仪通电，设置为常用的储存和反应温度。待温度稳定后，记录下温度计温度读数并开始计时，每隔 2min 记录一次读数，共计 15 次，求出平均值。根据公式（12）计算温度示值误差。根据公式（13）计算温度稳定性。

$$\Delta T = T_d - \bar{T} \quad (12)$$

式中：

ΔT ——温度示值误差，单位摄氏度（℃）；

T_d ——分析仪设置温度，单位摄氏度（℃）；

\bar{T} ——15 次测量的平均值，单位摄氏度（℃）。

$$\Delta T_f = T_{0\max} - T_{0\min} \quad (13)$$

式中：

ΔT_f ——温度稳定性，单位摄氏度（℃）；

$T_{0\max}$ ——15 次测量中的最高温度，单位摄氏度（℃）；

$T_{0\min}$ ——15 次测量中的最低温度，单位摄氏度（℃）。

7.3.2 收集系统加样准确性

首先将可密封容器（如 500 μL 带盖离心管，可以防止容器内的水分挥发）在的电子天平上称量质量；然后将去盖容器放到分析仪加样模块的合适位置，通过分析仪命令控制收集器往该容器中加入 200 μL 平衡至室温的除气纯水，立即盖上容器在电子天平上称量质量；用温度计测量纯水温度并从附录 C 中查找到对应的密度，根据公式（14）计算加液体积；重复测量 6 次，取后 3 次测量结果根据公式（15）计算加液体积示值误差；根据公式（16）计算加液体积重复性。

$$V = \frac{m - m_0}{\rho} \quad (14)$$

式中： V ——加液体积，单位微升（ μL ）；
 m ——容器和纯水的总质量，单位毫克（ mg ）；
 m_0 ——容器质量，单位毫克（ mg ）；
 ρ ——室温下水的密度，单位克每毫升（ g/mL ）。

$$E_V = \frac{V_0 - \frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 V_i}{V_0} \times 100\% \quad (15)$$

式中： V_0 ——体积设定值，单位微升（ μL ）；
 V_i ——后三次加液体积测量值，单位微升（ μL ）；
 E_V ——加液体积示值误差，无量纲（%）。

$$RSD_V = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (V_i - \bar{V})^2}{(n-1)}} \times \frac{1}{\bar{V}} \times 100\% \quad (16)$$

式中： RSD_V ——加液体积重复性，无量纲（%）；
 V_i ——第 i 次加液体积测量结果，单位微升（ μL ）；
 \bar{V} ——6 次加液体积测量结果平均值，单位微升（ μL ）；
 n ——测量次数， $n=6$ 。

7.4 整机性能测试

将仪器各部分联接好，选用用户指定的色谱柱和相适应的流动相和测量参数，检测波长设置为 215nm，基线稳定后由注射器注入 50 μL 的 1mg/mL 的 C 反应蛋

白标准物质进行测试。连续测量 6 次，分别记录色谱图中相应的保留时间和峰面积，根据式 17，以峰面积的相对标准偏差计算定量重复性，以保留时间的相对标准偏差计算定性重复性。

$$RSD_{\text{定性(定量)}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{(n-1)}} \times \frac{1}{\bar{X}} \times 100\% \quad (17)$$

式中：

$RSD_{\text{定性(定量)}}$ ——定性（定量）测量重复性相对标准偏差；

X_i ——第 i 次测得的保留时间或峰面积；

\bar{X} ——6 次测量结果的算术平均值；

i ——测量序号；

n ——测量次数。

8 校准结果表达

8.1 校准结果处理

经校准后的蛋白质纯化分析仪应填发校准证书，校准证书应符合 JJF 1071—2010 中 5.12 的要求，并给出各校准项目名称和测量结果以及扩展不确定度。校准原始记录格式见附录 A。

8.2 校准证书

经校准的蛋白质纯化分析仪应出具校准证书。校准证书应包括的信息及推荐的校准证书的内页格式见附录 A。

8.3 校准结果的测量不确定度

蛋白质纯化分析仪校准结果的不确定度按 JJF 1059.1—2012 的要求评定，示值误差的不确定度及评定示例见附录 B。

9 复校时间间隔

建议蛋白质纯化分析仪复校准间隔一般不超过 1 年。由于复校时间间隔的长短是由仪器的使用情况、使用者、仪器本身质量等诸因素所决定的，因此，送校单位可根据实际使用情况自主决定复校时间间隔。如果在使用过程中对仪器测量结果产生怀疑或更换主要部件应及时校准。

附录 A

校准记录和校准证书的内容

校准记录																																																																										
(推荐性表格)			共 2 页, 第 1 页																																																																							
仪器名称			型号																																																																							
制造厂商			出厂编号																																																																							
委托单位	名称		联系人																																																																							
	地址		电话																																																																							
温度			湿度																																																																							
大气压			试剂和校准品批号																																																																							
记录编号			证书编号																																																																							
校准员			核验员																																																																							
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th style="width: 25%;">本次使用的主要 计量标准器具</th> <th style="width: 15%;">规格型号</th> <th style="width: 25%;">不确定度/准确度等 级/最大允许误差</th> <th style="width: 15%;">器具编号</th> <th style="width: 20%;">有效性确认</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </tbody> </table>					本次使用的主要 计量标准器具	规格型号	不确定度/准确度等 级/最大允许误差	器具编号	有效性确认																																																																	
本次使用的主要 计量标准器具	规格型号	不确定度/准确度等 级/最大允许误差	器具编号	有效性确认																																																																						
一、泵流量示值误差及泵流量稳定性误差 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th style="width: 15%;">F_s (mL/min)</th> <th style="width: 10%;">F_{S1}=</th> <th style="width: 10%;">t₁=</th> <th style="width: 10%;">F_{S2}=</th> <th style="width: 10%;">t₂=</th> <th style="width: 10%;">F_{S3}=</th> <th style="width: 10%;">t₃=</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>W₁ (g)</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>W₂ (g)</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>W₂-W₁ (g)</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>(W₂-W₁)/ρ (mL)</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>F_m (mL/min)</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>\bar{F} (mL/min)</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>S_S (%)</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>S_R (%)</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>					F _s (mL/min)	F _{S1} =	t ₁ =	F _{S2} =	t ₂ =	F _{S3} =	t ₃ =	W ₁ (g)							W ₂ (g)							W ₂ -W ₁ (g)							(W ₂ -W ₁)/ρ (mL)							F _m (mL/min)							\bar{F} (mL/min)							S _S (%)							S _R (%)													
F _s (mL/min)	F _{S1} =	t ₁ =	F _{S2} =	t ₂ =	F _{S3} =	t ₃ =																																																																				
W ₁ (g)																																																																										
W ₂ (g)																																																																										
W ₂ -W ₁ (g)																																																																										
(W ₂ -W ₁)/ρ (mL)																																																																										
F _m (mL/min)																																																																										
\bar{F} (mL/min)																																																																										
S _S (%)																																																																										
S _R (%)																																																																										
二、梯度准确度 <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th style="width: 20%;">A 溶液</th> <th colspan="3"></th> <th style="width: 20%;">B 溶液</th> <th colspan="2"></th> </tr> <tr> <td>B 溶液比例</td> <td>0%</td> <td>20%</td> <td>40%</td> <td>60%</td> <td>80%</td> <td>100%</td> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>L_i</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>L_{1i}-L_{1(i-1)}</td> <td style="border: 1px solid black; width: 20px;"></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>L_{2i}</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>L_{2i}-L_{2(i-1)}</td> <td style="border: 1px solid black; width: 20px;"></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>\bar{L}_i</td> <td style="border: 1px solid black; width: 20px;"></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>\bar{L}_i</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>$\bar{L}_i - \bar{L}_j$</td> <td style="border: 1px solid black; width: 20px;"></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>G_i</td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>					A 溶液				B 溶液			B 溶液比例	0%	20%	40%	60%	80%	100%	L _i							L _{1i} -L _{1(i-1)}							L _{2i}							L _{2i} -L _{2(i-1)}							\bar{L}_i							\bar{L}_i							$\bar{L}_i - \bar{L}_j$							G _i						
A 溶液				B 溶液																																																																						
B 溶液比例	0%	20%	40%	60%	80%	100%																																																																				
L _i																																																																										
L _{1i} -L _{1(i-1)}																																																																										
L _{2i}																																																																										
L _{2i} -L _{2(i-1)}																																																																										
\bar{L}_i																																																																										
\bar{L}_i																																																																										
$\bar{L}_i - \bar{L}_j$																																																																										
G _i																																																																										
三、pH 示值误差和重复性																																																																										

图 A.1 校准记录的内页格式及内容

液温	pH 有证标准物质(pH)		认定值 (pH)	仪器测量值(pH)	平均值 (pH)	示值误差 (pH)	重复性(pH)
____℃	校准点 1	CRM 编号					
		批号					
	校准点 2	CRM 编号					
		批号					
待测溶 液	CRM 编号						
	批号						

四、电导温度示值误差、示值误差和重复性

电导检测器前 端流动相温度 测量值(℃)			前端流动相 温度测量平 均值 \bar{T}_1 (℃)	电导检测器后端 流动相温度测量 值(℃)			后端流动相 温度测量平 均值 \bar{T}_2 (℃)	电导检测 器显示温 度 T_s (℃)	电导检测 器温度示 值误差 (℃)
1	2	3	(℃)	1	2	3	(℃)	(℃)	

仪器测量值($\mu\text{S}/\text{cm}$)						电导率溶 液标准值 的修正值 ($\mu\text{S}/\text{cm}$) $\sigma_{\text{标准}}$	测量平 均值 $\sigma_{\text{仪器}}$ ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	示值误 差 $\Delta\sigma_{\text{仪器}}$ ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	重复性 S_{σ} (%FS)
1	2	3	4	5	6				

五、紫外检测器波长重复性和准确性

波长示值误差 及重复性(nm)	标准值 (nm)	测量值 (nm)			平均值 (nm)	示值误差 (nm) (nm)	重复性
	235						
	257						
	313						
	350						

六、收集器温度

温度测量次数	1	2	3	4	5	6	7
测量值(℃)							
8	9	10	11	12	13	14	15
设定值(℃)		平均值 (℃)		示值误差 (℃)		稳定性 (℃)	

七、收集器加样误差及重复性

	1	2	3	4	5	6
空管质量 (mg)						

加样后重量 (mg)						
计算体积 (μL)						
加样示值误差		加样重复性				

八、定量定性重复性

标物名称	浓度		g/mL		进样量	μL	波长	nm
流动相	流量		mL/min		灵敏度		波长范围	nm
序号	1	2	3	4	5	6	平均值	RSD%
保留时间								
峰面积								

图 A.1 校准记录的内页格式及内容 (续)

共 2 页, 第 2 页

校准证书

共 页，第 页

序号	校准项目	校准结果
1	泵流量示值误差	
2	泵流量稳定性	
3	泵梯度流量准确度	
4	pH 检测示值误差	
5	pH 检测重复性	
6	电导检测示值误差	
7	电导检测重复性	
8	电导检测温度示值误差	
9	紫外检测器波长示值误差	
10	紫外检测器波长重复性	
11	收集器温度示值误差	
12	收集器加样示值误差	
13	收集器加样重复性	
14	整机定量重复性	
15	整机定性重复性	

附注：

1: 温度测量不确定度:

校准员: _____

核验员: _____

图 A.2 校准证书的内容及格式

附录 B

蛋白质纯化分析仪

温度示值误差测量结果的不确定度评定示例

B.1 测量方法

采用温度测量装置对蛋白质纯化分析仪的温度进行测量，并与振荡箱设置温度进行比较。

B.2 测量模型

温度上偏差公式可由公式 (B.1) 给出

$$\Delta t_{\max} = t_{\max} - t_s \quad (\text{B.1})$$

式中：

Δt_{\max} —— 温度上偏差，单位摄氏度 (°C)；

t_{\max} —— 各测量点规定时间内测量的最高温度，单位摄氏度 (°C)；

t_s —— 设备设定温度，单位摄氏度 (°C)。

B.3 不确定度来源

- (1) 蛋白质纯化分析仪测量重复性引入的不确定度。
- (2) 温度测量标准器引入的不确定度。

B.4 不确定度分量的估算

- (1) 蛋白质纯化分析仪测量重复性引入的不确定度 u_c

选定一台蛋白质纯化分析仪，使用温度测量装置在 22°C 校准点，连续测量 10 次，得到一组测量值：22.3°C，22.2°C，22.1°C，22.3°C，22.4°C，22.2°C，22.3°C，22.1°C，22.4°C，22.3°C，。

则单次测量结果的实验标准差 $s(x_i)$ ：

$$s(x_i) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \approx 0.11 \text{ } ^\circ\text{C}$$

$$\text{则 } u_1 = \frac{s(x_i)}{\sqrt{10}} = 0.04 \text{ } ^\circ\text{C}$$

- (2) 温度测量标准器引入的不确定度分量 u_c 。

由标准物质引入的不确定度分量 u_c 主要由标准器温度分辨力引入的不确定度，标准器修正值引入的不确定度，标准器稳定性引入的不确定度组成。

标准器分辨力为 0.01°C ，不确定度区间半宽 0.005°C ，服从均匀分布，则分辨率引入的标准不确定度分量：

$$u_2 = \frac{0.005}{\sqrt{3}} \approx 0.003^{\circ}\text{C}$$

标准器温度修正值的不确定度 $U=0.04^{\circ}\text{C}$ ， $k=2$ ，则标准器温度修正值引入的标准不确定度分量：

$$u_3 = U / k = 0.04 / 2 = 0.02^{\circ}\text{C}$$

标准器稳定性引入的标准不确定度分量，本标准器相邻两次校准温度修正值最大变化为 0.10°C ，由此引入的标准不确定度分量为：

$$u_4 = \frac{0.10}{\sqrt{3}} \approx 0.06^{\circ}\text{C}$$

B.5 标准不确定度一览表

标准不确定度一览表见表 B.1。

表 B.1 蛋白质纯化分析仪温度测定结果标准不确定度一览表

标准不确定度分量 $u(x_i)$	不确定度来源	标准不确定度值
u_1	温度测量重复性	0.04°C
u_2	标准器分辨力	0.003°C
u_3	标准器修正值	0.02°C
u_4	标准器稳定性	0.06°C

B.6 合成标准不确定度 u_c

由于各不确定度输入量不相关，故

$$u_c = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2 + u_4^2} = 0.08^{\circ}\text{C}$$

B.7 扩展不确定度

取 $k=2$ ，则仪器示值误差的扩展不确定度为 $U=2u_c=0.16^{\circ}\text{C}$ 。

附录 C

国际温标纯水密度表

表 C.1 1990 年国际温标纯水密度表 (kg/m^3)

$t_{90}(\text{°C})$	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
15	999.099	999.084	999.069	999.053	999.038	999.022	999.006	998.991	998.975	998.959
16	998.943	998.926	998.910	998.893	998.876	998.860	998.843	998.826	998.809	998.792
17	998.774	998.757	998.739	998.722	998.704	998.686	998.668	998.650	998.632	998.613
18	998.595	998.576	998.557	998.539	998.520	998.501	998.482	998.463	998.443	998.424
19	998.404	998.385	998.365	998.345	998.325	998.305	998.285	998.265	998.244	998.224
20	998.203	998.182	998.162	998.141	998.120	998.099	998.077	998.056	998.035	998.013
21	997.991	997.970	997.948	997.926	997.904	997.882	997.859	997.837	997.815	997.792
22	997.769	997.747	997.724	997.701	997.678	997.655	997.631	997.608	997.584	997.561
23	997.537	997.513	997.490	997.466	997.442	997.417	997.393	997.396	997.344	997.320
24	997.295	997.270	997.246	997.221	997.195	997.170	997.145	997.120	997.094	997.069
25	997.043	997.018	996.992	996.966	996.940	996.914	996.888	996.861	996.835	996.809
26	996.782	996.755	996.729	996.702	996.675	996.648	996.621	996.594	996.566	996.539
27	996.511	996.484	996.456	996.428	996.401	996.373	996.344	996.316	996.288	996.260
28	996.231	996.203	996.174	996.146	996.117	996.088	996.059	996.030	996.001	996.972
29	995.943	995.913	995.884	995.854	995.825	995.795	995.765	995.753	995.705	995.675
30	995.645	995.615	995.584	995.554	995.523	995.493	995.462	995.431	995.401	995.370
31	995.339	995.307	995.276	995.245	995.214	995.182	995.151	995.119	995.087	995.055
32	995.024	994.992	994.960	994.927	994.895	994.863	994.831	994.798	994.766	994.733
33	994.700	994.667	994.635	994.602	994.569	994.535	994.502	994.469	994.436	994.402
34	994.369	994.335	994.301	994.267	994.234	994.200	994.166	994.132	994.098	994.063
35	994.029	993.994	993.96	993.925	993.891	993.856	993.821	993.786	993.751	993.716