



中华人民共和国国家计量技术规范

JJF

表面等离子体共振生物分子相互作用分
析仪校准规范

Calibration Specification for Biomolecular Interaction Analyzers Based on
Surface Plasmon Resonance

(征求意见稿)

××××-××-×× 发布×××× -××-×× 实施

国家市场监督管理总局发布

表面等离子体共振生物分子
相互作用分析仪校准规范

Calibration Specification for Biomolecular
Interaction Analyzers Based on Surface
Plasmon Resonance

JJF××××—××××

归口单位：

主要起草单位：

参加起草单位：

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	1
3.1 结合速率常数	1
3.2 解离速率常数	1
3.3 亲和力	1
4 概述	1
5 计量特性	2
6 校准条件	2
6.1 环境条件	2
6.2 校准用标准物质及设备	2
7 校准项目和校准方法	3
7.1 基线噪声和基线漂移	3
7.2 线性相关性	3
7.3 检测限	4
7.4 测量重复性	4
8 校准结果表达	4
9 复校时间间隔	5
附录 A 仪器线性相关系数校准用溶液的配制方法	6
附录 B 仪器检测限校准用标准溶液的配制方法	7
附录 C 表面等离子体共振生物分子相互作用分析仪校准记录参考格式	8
附录 D 检测限测量结果的不确定度评定示例	10
附录 E 校准证书内页推荐格式	14

引言

JJF 1071《国家计量校准规范编写规则》、JJF 1001《通用计量术语及定义》和 JJF 1059.1《测量不确定度评定与表示》共同构成支撑本规范制定工作的基础性系列规范。

本规范为首次发布。

全国生物计量技术委员会

表面等离子体共振生物分子相互作用分析仪校准规范

1 范围

本规范适用于基于表面等离子体共振原理的生物分子相互作用分析仪的校准。

2 引用文件

本规范引用了下列文件：

ISBN: 9787030557223 核医学名词

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，其最新版本适用于本规范。

3 术语

3.1 结合速率常数 association rate constant [ISBN: 978703055722]

单位时间内抗原和抗体或受体和配体的结合反应速度的常数。反映结合能力大小的量化指标。

3.2 解离速率常数 dissociation rate constant [ISBN: 978703055722]

免疫复合物在单位时间分解速度大小的定量表达。

3.3 亲和力 affinity [ISBN: 978703055722]

某种配体与相应结合物结合位点之间的结合能力。包括抗原与抗体、配体与受体之间的结合能力。

4 概述

表面等离子体共振生物分子相互作用分析仪（以下简称分析仪）主要由微流控系统、传感器芯片和光学系统三部分组成，可进行生物分子的分子间结合的特异性、动力学（结合速率常数和解离速率常数）、结合的强弱（亲和力）以及结合的机理等分子间相互作用的高灵敏度检测和分析。

5 计量特性

仪器校准项目及技术指标见表 1。

表 1 表面等离子体共振生物分子相互作用分析仪计量特性

校准项目	技术指标
基线噪声	50（仪器自身物理量单位）
基线漂移	50（仪器自身物理量单位）/10min
线性相关性	0.990
检测限	0.1 mg/g
测量重复性	5%

注：以上技术指标不是用于合格性判别，仅供参考。

6 校准条件

6.1 环境条件

6.1.1 温度：15℃~30℃；

6.1.2 相对湿度：20%~80%；

6.1.3 供电电源：电压（220±22）V，频率（50±1）Hz；

6.2 校准用标准物质及设备

6.2.1 校准用标准物质

仪器线性相关性校准用标准溶液：折射率溶液标准物质，至少5个折射率水平，最小折射率 >1.330 ，最高折射率 <1.400 ，并且在折射率（1.330~1.440）范围内均匀覆盖，相对扩展不确定度 $\leq 0.1\%$ ，包含因子 $k=2$ 。或采用分析纯蔗糖配制并采用阿贝折射仪定值，配制和定值方法参考附录A。

仪器检测限校准用标准溶液：使用蔗糖纯度标准物质，纯度 $\geq 99.5\%$ ，扩展不确定度 $\leq 1.5\%$ ，包含因子 $k=2$ ，用分析仪系统缓冲溶液配制成（1~10）mg/g的蔗糖标准溶液，配制方法参考附录B。

注：应该使用经国家计量行政主管部门批准颁布的标准物质。

6.2.2 校准用设备

电子天平：分度值 ≤ 0.01 mg， Φ 级。

阿贝折光仪：折射率测量范围：1.3000~1.4000，扩展不确定度 $\leq 1 \times 10^{-4}$ ，包含因子 $k=2$ 。

7 校准项目和校准方法

7.1 基线噪声和基线漂移

采用分析仪系统缓冲溶液为样本，记录基线 10 min，基线漂移用 10 min 内基线偏离起始点最大信号值（分析仪检测器自身的物理量单位/10min）表示。选取基线中噪声信号的最大值（ H_{max} ，分析仪检测器自身的物理量单位），最小值（ H_{min} ，分析仪检测器自身的物理量单位），按公式（1）计算基线噪声（ N_d ）

$$N_d = H_{max} - H_{min} \quad (1)$$

式中：

N_d ——基线噪声，分析仪检测器自身的物理量单位；

H_{max} ——基线中噪声信号的最大值，分析仪检测器自身的物理量单位；

H_{min} ——基线中噪声信号的最小值，分析仪检测器自身的物理量单位。

7.2 线性相关性

采用含有至少 5 个折射率水平的仪器线性相关性校准用标准溶液，按照测试样品的方法，记录仪器信号值（分析仪检测器自身的物理量单位），重复进样 3 次，每次连续进样 1min，取其平均值，将测量结果的平均值与标准物质的标准值（或校准溶液的折射率测定值）进行线性回归，用软件进行线性拟合或按公式

（2）计算线性相关系数 r 作为线性相关性的表征。

$$r = \frac{\sum (X_i - \bar{X})(Y_i - \bar{Y})}{\sqrt{\sum (X_i - \bar{X})^2} \sqrt{\sum (Y_i - \bar{Y})^2}} \quad (2)$$

式中：

r ——线性相关系数；

X_i ——第 i 点标准折射率值；

\bar{X} ——折射率平均值；

Y_i ——第 i 点信号值，分析仪检测器自身的物理量单位；

\bar{Y} ——平均信号值，分析仪检测器自身的物理量单位。

7.3 检测限

首先，采用分析仪系统缓冲溶液连续进样 1 min，作为基线，将浓度（1~10）

mg/g 的蔗糖溶液标准物质连续进样 1 min，作为样品谱图，重复 3 次，每次用分析仪自身分析软件记录信号值（分析仪检测器自身的物理量单位），计算信号的算术平均值。检测限按公式（3）计算。

$$D = \frac{2H_d \times w}{H} \quad (3)$$

式中：

D ——检测限（最小检测浓度），mg/g；

H_d ——基线信号值，分析仪检测器自身的物理量单位；

w ——样品的浓度，mg/g；

H ——样品信号值，分析仪检测器自身的物理量单位。

7.4 测量重复性

将折射率约为 1.340 的折射率溶液标准物质作为样本，连续测定 6 次，每次进样 1 min，记录仪器信号值（分析仪检测器自身的物理量单位），按式（4）计算分析仪测量重复性。

$$RSD = \frac{1}{k} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (k_i - \bar{k})^2}{n-1}} \times 100\% \quad (4)$$

式中：

RSD ——相对实验标准偏差，%；

k_i ——第 i 次信号值，分析仪检测器自身的物理量单位；

\bar{k} ——信号值测量值平均值；

n ——测量次数。

8 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 C。示值误差的测量不确定度应按 JJF 1059.1 的要求评定，不确定度评定实例见附录 D。经校准的仪器应出具校准证书，校准证书应符合 JJF 1071-2010 中 5.12 的要求，校准证书内页格式见附录 E。

9 复校时间间隔

建议复校时间间隔不超过 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、仪器本身质量等着多因素所决定的，因此，送校单位可根据实际使用情况自主确定复校时间间隔。

全国生物计量技术委员会

附录 A

仪器线性相关性校准用标准溶液的配制方法

A.1 配制用试剂及设备

A.1.1 实验环境

温度：（15~30）℃；

相对湿度：20%~80%。

A.1.2 试剂

蔗糖（分析纯）。

系统缓冲溶液：1×HBS-EP+缓冲溶液，pH=7.4，包括 0.01 mol/L HEPES，0.15 mol/L NaCl，3 mM EDTA，0.005%（v/v）吐温 20。

A.1.3 仪器

电子天平：分度值不大于 0.1 mg，Φ级。

阿贝折射仪：测量范围（ n_D ）1.3000~1.4000；扩展不确定度优于 $1 \times 10^{-4} 0.03\%$ （ $k=2$ ）。

A.2 仪器线性相关性校准用标准溶液

A.2.1 溶液的配制

配制质量分数约为 10 mg/g、50 mg/g、100 mg/g、150 mg/g、200 mg/g、250 mg/g 的蔗糖溶液，根据需要计算出应称取蔗糖的质量 W_s 及水的质量 W_a 。用电子天平先称取滴瓶空瓶质量 W_0 ，逐步移入分析纯蔗糖至瓶中，称量至 $W_1 = W_0 + W_a$ ，再逐渐加经过 0.22 μm 膜过滤的蒸馏水至瓶中，称至 $W_2 = W_0 + W_s + W_a$ ，使其溶解混匀，蔗糖质量分数约为：

$$\frac{W_1 - W_0}{(W_1 - W_0) + (W_2 - W_1)} \times 100\%$$

A.2.2 溶液的定值

使用阿贝折射仪定值，折射棱镜温度控制在（25±0.5）℃范围内，分别记录折射率，测量3次取其平均值作为该溶液的折射率值。

此种溶液的折射率值应定期监测。

附录 B

仪器检测限校准用标准溶液的配制方法

B.1 配制用试剂及设备

B.1.1 实验环境

温度：（15~30）℃；

相对湿度：20%~80%。

B.1.2 试剂

蔗糖纯度标准物质：纯度 $\geq 99.5\%$ ，扩展不确定度 $\leq 1.5\%$ ，包含因子 $k=2$ 。

系统缓冲溶液：1×HBS-EP+缓冲溶液，pH=7.4，包括 0.01 mol/L HEPES，0.15 mol/L NaCl，3 mM EDTA，0.005%（v/v）吐温 20。

A.1.3 仪器和玻璃量器

电子天平：分度值不大于 0.1 mg， Φ 级。

B.2 仪器检测限校准用标准溶液

采用重量法配置，以配制 10 mg/g 蔗糖工作溶液为例，准确称取蔗糖纯度标准物质 0.2000 g 于蓝盖瓶中，再称取系统缓冲溶液 20.0000 g 于该蓝盖瓶中，盖紧瓶盖，溶解并摇匀，得到 10 mg/g 蔗糖工作溶液，将该溶液置于冷藏处待用。

附录 C

表面等离子体共振生物分子相互作用分析仪校准记录参考格式

送校单位		校准地址	
仪器型号		仪器编号	
制造厂商		校准日期	
环境温度		℃	相对湿度
			%
校准人		核验人	
技术依据			
主要 测量 设备	名称/ 型号	测量范围	不确定度/准确度等级/最大允许误差
			检定/校准证书编号/ 有效期

B.1 基线漂移和基线噪声

起始点值	偏离起始点信号最大值	基线漂移
基线最低值	基线最高值	基线噪声

B.2 线性相关性

折射率标准值	信号值	线性相关系数

B3 检测限

标准物质 浓度	基线噪声			检测信号			检测限 (%)

B.4 测量重复性

测量值						重复性

全国生物计量技术委员会

附录 D

检测限测量结果的不确定度评定示例

D.1 测量模型

检测限的计算公式为：

$$D = \frac{2H_d \times w}{H} \quad (\text{D.1})$$

式中：

D ——检测限（最小检测质量分数），mg/g；

H_d ——基线噪声，分析仪检测器自身的物理量单位；

w ——样品的浓度，mg/g；

H ——样品信号值，分析仪检测器自身的物理量单位。

D.2 不确定度来源

不确定度主要来源于以下三个方面：

a) 基线噪声测量引入的不确定度，用 3 次测量的标准偏差（极差法估算）与测量平均值的百分数表示。

b) 样品浓度引入的不确定度，来源于标准物质相对标准不确定度。

c) 样品信号值测量引入的不确定度，用 3 次测量的标准偏差（极差法估算）与测量平均值的百分数表示。

D.3 不确定度分量评定

D.3.1 基线噪声测量引入的相对不确定度 $u_r(H_d)$

按公式 (D.2) 计算基线噪声引入的相对不确定度 $u_r(N_d)$ ，测量数据及计算结果见表 D.1。

$$u_r(H_d) = \frac{(H_{d,\max} - H_{d,\min}) / C}{H_d} \times 100\% \quad (\text{D.2})$$

式中：

$u_r(H_d)$ ——基线噪声引入的不确定度；

C ——3 次测量的极差系数 1.69；

$H_{d,\max}$ ——基线噪声的最大值，分析仪检测器自身的物理量单位；

$H_{d,\min}$ ——基线噪声的最小值，分析仪检测器自身的物理量单位；

$\overline{H_d}$ ——3次基线噪声平均值，分析仪检测器自身的物理量单位。

表 D.1 基线噪声测量引入的相对不确定度

项目	测量结果			平均值	极差	相对不确定度 $u_r(H_d)$
	第 1 次	第 2 次	第 3 次			
基线噪声	1.0	0.8	0.9	0.9	0.12	13.14%

D.3.2 样品浓度引入的相对不确定度 $u_r(w)$

D.3.2.1 蔗糖有证标准物质的相对不确定度 $u_r(w_1)$

由蔗糖纯度标准物质证书得到标准值 99.7%，扩展不确定度 0.8%，对应的扩展因子 $k=2$ ，蔗糖有证标准物质的相对不确定度 $u_r(w_1)$ 计算见公式 (D.3)。

$$u_r(w_1) = \frac{0.8\%}{99.7\% \times 2} = 0.40\% \quad (\text{D.3})$$

D.3.2.2 仪器检测限校准用标准溶液配制过程的相对不确定度 $u_r(w_2)$

D.3.2.2.1 天平称量蔗糖有证标准物质产生的不确定度 $u_r(m_1)$

称量蔗糖纯度标准物质采取减量法。天平称量的不确定度来源为：天平的不确定度和重复性引入的不确定度。

天平检定证书中最大允许误差 $\pm 0.5 \text{ mg}$ ，服从均匀分布，标准分量应重复计算两次，一次是空盘，另一次为毛重，因为每一次称重均为独立的观测结果，天平示值允许误差引入的标准不确定度：

$$u(m_{1-1}) = \sqrt{2} \times \frac{0.5}{\sqrt{3}} = 0.41 \text{ (mg)}$$

天平重复称量 10 次，实验标准偏差为 0.23 mg，重复性引入的标准不确定度：

$$u(m_{1-2}) = 0.23 \text{ (mg)}$$

计算天平称量蔗糖纯度标准物质引入的标准不确定度：

$$u(m_1) = \sqrt{u^2(m_{1-1}) + u^2(m_{1-2})} = 0.47 \text{ (mg)}$$

则天平称量蔗糖纯度标准物质引入的相对标准不确定度：

$$u_r(m_1) = \frac{u(m_1)}{m_1} = \frac{0.47}{200} = 2.35 \times 10^{-3}$$

D.3.2.2.2 天平称量缓冲溶液产生的不确定度 $u_r(m_2)$

称量缓冲溶液同样采取减量法。天平称量的不确定度来源为：天平的不确定度和重复性引入的不确定度。

天平检定证书中最大允许误差 ± 1.0 mg，服从均匀分布，标准分量应重复计算两次，一次是空盘，另一次为毛重，因为每一次称重均为独立的观测结果，天平示值允许误差引入的标准不确定度：

$$u(m_{2-1}) = \sqrt{2} \times \frac{1.0}{\sqrt{3}} = 0.82 \text{ (mg)}$$

天平重复称量 10 次，实验标准偏差为 0.51 mg，重复性引入的标准不确定度：

$$u(m_{2-2}) = 0.51 \text{ (mg)}$$

计算天平称量蔗糖纯度标准物质引入的标准不确定度：

$$u(m_2) = \sqrt{u^2(m_{2-1}) + u^2(m_{2-2})} = 0.97 \text{ (mg)}$$

则天平称量蔗糖纯度标准物质引入的相对标准不确定度：

$$u_r(m_2) = \frac{u(m_2)}{m_2} = \frac{0.97}{20000} = 4.85 \times 10^{-5}$$

计算仪器检测限校准用标准溶液配制过程的相对不确定度 $u_r(w_2)$ 见公式

(D.4)。

$$u_r(w_2) = \sqrt{u_r^2(m_1) + u_r^2(m_2)} = \sqrt{(2.35 \times 10^{-3})^2 + (4.85 \times 10^{-5})^2} = 2.35 \times 10^{-3} \quad (\text{D.4})$$

计算样品浓度引入的相对不确定度 $u_r(w)$ 见公式 (D.5)。

$$u_r(w) = \sqrt{u_r^2(w_1) + u_r^2(w_2)} = \sqrt{(0.40\%)^2 + (2.35 \times 10^{-3})^2} = 0.46\% \quad (\text{D.5})$$

D.3.3 样品信号值测量引入的不确定度 $u_r(H)$

按公式 (D.6) 计算样品信号值测量引入的不确定度 $u_r(H)$ ，测量数据及计算结果见表 D.2。

$$u_r(H) = \frac{(H_{\max} - H_{\min})/C}{H} \times 100\% \quad (\text{D.6})$$

式中：

$u_r(H)$ ——样品信号值测量引入的不确定度；

C ——3 次测量的极差系数 1.69；

H_{\max} ——样品信号测量值的最大值，分析仪检测器自身的物理量单位；

H_{\min} ——样品信号测量值的最小值，分析仪检测器自身的物理量单位；

\bar{H} ——3次样品信号测量值的平均值，分析仪检测器自身的物理量单位。

表 D.2 样品信号值测量引入的相对不确定度

项目	测量结果			平均值	极差	相对不确定度 $u_r(H)$
	第 1 次	第 2 次	第 3 次			
样品信号 测量值	1520.9	1567.3	1597.2	1561.8	45.1	2.89%

D.4 合成相对不确定度

按公式 (D.7) 计算合成相对不确定度。

$$u_{cr} = \sqrt{u_r^2(H_d) + u_r^2(w) + u_r^2(H)} \quad (D.7)$$

结果见表 D.3。

D.5 扩展不确定度

取 $k=2$ ，仪器检出限的相对扩展不确定度按公式 (D.8) 计算，结果见表 D.3。

$$U = k \times u_{cr} \times D \quad (D.8)$$

表 D.3 合成相对不确定度和相对扩展不确定度结果

项目	检测限 (mg/g)	$u_r(H_d)$	$u_r(w)$	$u_r(H)$	合成相对不确定度 u_{cr}	扩展不确定度 U ($k=2$) (mg/g)
结果	0.011	13.14%	0.46%	2.89%	13.47%	0.003

附录 E

校准证书内页推荐格式

E.1 校准证书内页

证书编号XXXXXX-XXXX			
校准环境条件及地点:			
温度	℃	地点	
相对湿度	%	其他	
校准使用的主要设备			
名称/型号	测量范围	不确定度/准确度等级/最大允许误差	检定/校准证书编号/有效期

第X页共X页

E.2 校准证书校准结果页

证书编号XXXXXX-XXXX

校准结果

被校项目及校准结果：

校准项目	校准结果	
基线漂移		
基线噪声		
线性相关性		
检出限		扩展不确定度 ($k=2$)
测量重复性		

以下空白

第X页共X页