



中华人民共和国国家计量技术规范

JJF ××××—202×

全柱成像毛细管等电聚焦分析仪 校准规范

Calibration Specification of Whole-Column Imaging Capillary Isoelectric
Focusing Analyzer

(征求意见稿)

本稿完成日期：2026-08

202X-XX-XX 发布

202X-XX-XX 实施

国家市场监督管理总局 发布

全柱成像毛细管等电聚焦分 析仪校准规范

JJF XXXX—202X

Calibration Specification of Whole-Column
Imaging Capillary Isoelectric Focusing
Analyzer

归口单位：全国生物计量技术委员会

主要起草单位：XXXXXXXX

参加起草单位：XXXXXX

本规范委托全国生物计量技术委员会负责解释

商务印书馆
营销中心办公室

本规范主要起草人：

XXX (XXXXX)

XXX (XXXXX)

参加起草人：

XXX (XXXXX)

XXX (XXXXX)

XXX (XXXXX)

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 校准用的标准物质及其他设备.....	(2)
6 校准项目和校准方法	(2)
6.1 等电点示值误差	(2)
6.2 等电点示值测量重复	(3)
6.3 主成分峰面积测量重复性	(3)
7 校准结果表达	(3)
7.1 校准结果处理.....	(3)
7.2 校准结果的测量不确定度.....	(4)
8 复校时间间隔	(4)
附录 A 校准原始记录格式.....	(5)
附录 B 校准证书(内页)格式.....	(6)
附录 C 测量不确定度评定示例.....	(7)

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》、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。

本规范的校准方法及计量特性等主要参考了 JJG 964-2001《毛细管电泳仪检定规程》。
本规范为首次发布。

全国生物计量技术委员会

全柱成像毛细管等电聚焦分析仪校准规范

1 范围

本规范适用于各类全柱成像毛细管等电聚焦分析仪的校准。

2 引用文件

本规范引用了下列文件：

JJG 964-2001 毛细管电泳仪检定规程

GB/T 32267-2015 分析仪器性能测定术语

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

全柱成像毛细管等电聚焦（iCIEF）分析仪是一种基于蛋白质或其他两性电解质在 pH 梯度中按等电点差异进行分离，并采用实时成像检测方式在毛细管全长范围内直接记录聚焦后组分分布的分离分析仪器。该仪器的检测信号强度及峰位与被分析物的等电点和含量直接相关，通过对聚焦图谱的解析，可实现待测物的定性鉴定与定量分析。仪器一般配备毛细管柱、高压电源、温控装置、紫外/可见光或激光诱导荧光成像检测系统、自动进样系统、电源模块及计算机与软件系统。检测系统采用电荷耦合器件（CCD）或互补金属氧化物半导体（CMOS）图像传感器，对毛细管整个轴向区域进行连续曝光采集，将透射光或发射光信号转换为数字图像。数据经计算机处理后，通过图像处理与峰识别算法，计算出各组分的等电点及相对百分含量，从而完成分离与检测的一体化分析。

4 计量特性

全柱成像毛细管等电聚焦分析仪各项计量性能指标见表 1。

表 1 全柱成像毛细管等电聚焦分析仪的主要计量特性指标

计量特性	计量特性指标
等电点示值误差	0.30

等电点示值测量重复性	≤0.5%
主成分峰面积测量重复性	≤5%
注： 1 以上技术指标不用于合格判别，仅供参考。	

5 校准条件

5.1 环境条件：

5.1.1 环境温度：（10~30）℃。

5.1.2 相对湿度：≤85%。

注：若制造商为设备规定了工作温、湿度范围，选择在制造商规定的温、湿度范围内试验。

5.2 测量标准及其他设备

5.2.1 标准溶液

选择多肽类物质（例如：血管紧张素I（人）纯度标准物质等），配制为合适浓度的标准溶液。

6 校准项目和校准方法

6.1 等电点示值误差

精密称取适量标准物质，加纯水溶解并定量稀释至浓度为 1 mg/mL，作为样品储备液。检测时，取离心管，依次加入 pH 3~10 范围的两性电解质、1%甲基纤维素溶液、两个不同等电点标记物（其 pI 分别约为 4 和 8）及适量尿素；然后精密移取适量上述样品储备液加入该混合体系中，并补加纯水至总体积 100 μ L，使待测样品终浓度为 0.2 mg/mL，尿素终浓度为 2 mol/L。充分混匀后，离心取上清，进行等电点测定，连续重复测定 3 次。根据公式（C.1）计算等电点示值误差。

$$\Delta pI = \frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 pI_i - pI_{theor} \quad (1)$$

式中：

ΔpI ——等电点示值误差，无量纲；

pI_i ——等电点测量值，无量纲；

pI_{theor} ——标准物质理论等电点，无量纲。

6.2 等电点示值测量重复性

采用 6.1 中制备的浓度为 0.2 mg/mL 的血管紧张素 I 测试溶液，在与 6.1 完全相同的仪器工作条件下，进行检测，测试 3 次。根据式（2）计算相对标准偏差 RSD ，作为等电点示值测量重复性。

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

式中：

RSD ——相对标准偏差，%；

x_i ——第 i 次测量的等电点示值，无量纲；

$\bar{x}$ ——3 次测量结果的算术平均值，无量纲；

n ——测量次数， $n=3$ 。

6.3 主成分峰面积测量重复性

采用 6.1 中制备的浓度为 0.2 mg/mL 的血管紧张素 I 测试溶液，在与 6.1 完全相同的仪器工作条件下，取测试溶液连续进样，按设定的等电聚焦程序分离检测，记录主成分峰面积响应值。重复上述测量操作 3 次。按式（3）计算 3 次峰面积测量结果的相对标准偏差 RSD ，作为主成分峰面积测量重复性。

$$RSD = \frac{1}{\bar{A}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (A_i - \bar{A})^2}{n-1}} \times 100\% \quad (3)$$

式中：

RSD ——相对标准偏差，%；

A_i ——第 i 次测量的主成分峰面积响应值，无量纲；

$\bar{A}$ ——3 次测量峰面积的算术平均值，无量纲；

n ——测量次数， $n=3$ 。

7 校准结果表达

7.1 校准结果处理

经校准后的全柱成像毛细管等电聚焦分析仪应核发校准证书，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（推荐性表格）见附录 A，校准证书内页格式（推荐性表格）见附录 B。

7.2 校准结果的测量不确定度

全柱成像毛细管等电聚焦分析仪校准结果的测量不确定度按 JJF 1059.1-2012 的要求评定，校准结果测量不确定度评定示例见附录 C。

8 复校时间间隔

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，送校单位可根据实际使用情况自主决定复校时间间隔，建议不超过 1 年。

附录 A

校准原始记录格式

(推荐性表格)

器具名称			客户名称			
型号/规格			客户地址			
出厂编号			制造厂商			
环境温度	℃		相对湿度	%		
校准日期	年 月 日					
校准地点						
校准员			核验员			
校准依据						
测量标准及其他设备						
名称/型号	编 号	测量范围	不确定度或准确度等级或 最大允许误差	证书编号/ 有效期至	溯源机构名称	
1. 等电点示值误差						
理论等电点	测量值			测量平均值	示值误差	不确定度/ $U, k=2$
	1	2	3			
2. 等电点示值测量重复性						
样品	1	2	3	平均值	重复性	不确定度/ $U, k=2$
3. 主成分峰面积测量重复性						
样品	1	2	3	平均值	重复性	不确定度/ $U, k=2$
结果/说明:						

附录 B

校准证书（内页）格式
（推荐性表格）

序号	校准项目	校准结果	不确定度
1	等电点示值误差		
2	等电点示值测量重复性		
3	主成分峰面积测量重复性		

校准员：_____ 核验员：_____

附录 C

测量不确定度评定示例

C.1 等电点示值误差测量结果不确定度评定

C.1.1 测量方法

精密称取适量标准物质，加纯水溶解并定量稀释至浓度为 1 mg/mL，作为样品储备液。检测时，取离心管，依次加入 pH 3~10 范围的两性电解质、1%甲基纤维素溶液、两个不同等电点标记物（其 pI 分别约为 4 和 8）及适量尿素；然后精密移取适量上述样品储备液加入该混合体系中，并补加纯水至总体积 100 μL ，使待测样品终浓度为 0.2 mg/mL，尿素终浓度为 2 mol/L。充分混匀后，进行等电点测定，连续重复测定 3 次。根据公式 (C.1) 计算等电点示值误差。

C.1.2 测量模型

$$\Delta pI = \frac{1}{3} \sum_{i=1}^3 pI_i - pI_{theor} \quad (C.1)$$

式中：

ΔpI ——等电点示值误差，无量纲；

pI_i ——等电点测量值，无量纲；

pI_{theor} ——标准物质理论等电点，无量纲。

C.1.3 不确定度来源

根据以上测量模型以及测量方法，其不确定度来源主要包括以下 2 个方面：

- a) 计算理论等电点引入的标准不确定度 u_1 ；
- b) 不同计算方法差异引入的标准不确定度 u_2
- c) 测量重复性引入的标准不确定度 u_3 ；

C.1.4 测量不确定度评定

C.1.4.1 计算理论等电点引入的标准不确定度 u_1

血管紧张素 I 为十肽，序列：Asp-Arg-Val-Tyr-Ile-His-Pro-Phe-His-Leu，其中可电离基团共 7 个， pI 是各 pK_a 的隐函数，满足 $Q(pI; pK_{a,1}, \dots, pK_{a,7})=0$ 。

对 $pK_{a,i}$ 求全微分：

$$\frac{\partial Q}{\partial pI} \cdot dpI + \frac{\partial Q}{\partial pK_{a,i}} \cdot dpK_{a,i} = 0$$

得灵敏度系数（偏导数）：

$$c_i = \frac{\partial pI}{\partial pK_{a,i}} = - \frac{\partial Q / \partial pK_{a,i}}{\partial Q / \partial pI}$$

表 C.1 血管紧张素 I 中各基团的不确定度计算结果

基团	类型	数量	pK_a	$u_{(pK_{a,i})}$	c_i	$c_i^2 \cdot u^2(pK_{a,i})$
N 端 α -氨基 (D)	碱性	1	7.50	0.20	0.4406	0.007765
C 端 α -羧基 (L)	酸性	1	3.56	0.15	0.0004	3.60×10^{-09}
Asp 侧链羧基	酸性	1	3.57	0.10	0.0004	1.60×10^{-09}
Arg 侧链胍基	碱性	1	12.04	0.20	0.0000	0
Tyr 侧链酚羟基	酸性	1	10.3	0.15	0.0016	5.78×10^{-08}
His 侧链咪唑基	碱性	2	6.54	0.10	0.5569	0.003101

则理论等电点引入的标准不确定度分量为：

$$u_c^2(pI) = \sum c_i^2 \cdot u^2(pK_{a,i})$$

$$u_1 = u_c(pI) = \sqrt{0.0078 + 3.60 \times 10^{-09} + 1.60 \times 10^{-09} + 0 + 5.76 \times 10^{-08} + 0.0031} = 0.1042$$

C.1.4.2 不同计算方法间差异引入的不确定度 u_2

两个独立工具对同一序列给出不同预测值：

表 C.2 不同计算工具对血管紧张素 I 理论等电点的计算结果

工具	pI
IPC2	7.23
ExPASy	6.92

方法学存在差异，差异符合正态分布，则方法学差异引入的不确定度分量为：

$$u_2 = \frac{7.23 - 6.92}{2\sqrt{3}} = 0.0895$$

C.1.4.3 测量重复性引入的不确定度分量 u_3

使用血管紧张素I（人）标准物质进行测量，连续测量 3 次，对重复测量结果进行分析，测量结果见表 C.3。

表 C.3 等电点示值测量重复性测量结果

理论 pI	x_i			$\bar{x}$
7.23	7.23	7.22	7.19	7.21

则单次测量结果的标准差 s 如下:

$$s = \frac{7.23-7.19}{1.69} = 0.022$$

实际测试时在重复性条件下连续测量 3 次, 以 3 次测量的算术平均值作为结果, 则由测量重复性引入的标准不确定度分量为:

$$u_3 = \frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{0.022}{\sqrt{3}} = 0.013$$

C.1.5 标准不确定度分量一览表

标准不确定度一览表见表 C.3。

表 C.3 等电点示值误差测量结果不确定度评定一览表

不确定度来源	标准不确定度分量符号	标准不确定度分量
计算理论等电点	u_1	0.1042
方法学差异	u_2	0.0895
测量重复性	u_3	0.013

C.1.6 合成标准不确定度 u_c

由于各不确定度间不相关, 则

$$u_c = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2} = 0.14$$

C.1.7 扩展不确定度 U

取 $k=2$, 则

$$U = k \times u_c = 0.28$$

C. 2 主成分峰面积测量重复性不确定度评定

C.2.1 测量方法

精密称取适量血管紧张素I(人)标准物质, 用纯水或适宜的溶剂溶解, 配制成浓度为 1 mg/mL 的储备液。根据测试反应体积, 移取上述储备液适量, 用纯水或适宜的溶剂稀释至终浓度为 0.2 mg/mL 的待测样品, 进行检测, 重复三次取其平均值, 根据式 (C.2) 计算等电点示值测量重复性。

C.2.2 测量模型

$$RSD = \frac{1}{\bar{A}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (A_i - \bar{A})^2}{n-1}} \times 100\% \quad (C.2)$$

式中：

RSD ——相对标准偏差，%；

A_i ——第 i 次测量的主成分峰面积响应值；

$\bar{A}$ ——3 次测量峰面积的算术平均值；

n ——测量次数， $n=3$ 。

C.2.3 不确定度来源

根据以上测量模型以及测量方法，其不确定度来源主要是测量重复性引入的标准不确定度 u_1 。

C.2.4 测量不确定度评定

C.2.4.1 测量重复性引入的不确定度分量 u_1

使用血管紧张素 I（人）标准物质进行测量，连续测量 3 次，对重复测量结果进行分析，测量结果见表 C.4。

表 C.4 主成分峰面积测量重复性测量结果

A_i			$\bar{A}$
1895.3	1847.1	1777.2	1873.2

则单次测量结果的标准差 s 如下：

$$s = \frac{1895.3 - 1777.2}{1.69} = 69.88$$

实际测试时在重复性条件下连续测量 3 次，以 3 次测量的算术平均值作为结果，则由测量重复性引入的标准不确定度分量为：

$$u_1 = \frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{69.88}{\sqrt{3}} = 40.35$$

C.2.5 标准不确定度分量一览表

标准不确定度一览表见表 C.5。

表 C.5 主成分峰面积测量重复性结果标准不确定度一览表

不确定度来源	标准不确定度分量符号	标准不确定度分量
测量重复性	u_1	40.35

C.2.6 合成标准不确定度 u_c

由于各不确定度间不相关，则

$$u_c = \sqrt{u_1^2} = 40.35$$

C.2.7 扩展不确定度 U

取 $k=2$ ，则

$$U = k \times u_c = 80.69$$

全国生物计量技术委员会