



中华人民共和国国家计量技术规范

JJF XXXX—20XX

生物过程分析仪校准规范

Calibration Specification for Bioprocess Analyzers

(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

生物过程分析仪校准规范

Calibration Specification for

Bioprocess Analyzers

JJF XXXX – 20XX

归口单位：全国生物计量技术委员会

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
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 测量标准及其他设备	2
7 校准项目和校准方法.....	3
7.1 校准项目	3
7.2 校准方法	3
8 校准结果表达.....	6
9 复校时间间隔.....	6
附录 A 校准用标准溶液的配制方法	7
附录 B 校准记录参考格式	9
附录 C 校准证书（内页）推荐格式	11
附录 D 生物过程分析仪校准结果的测量不确定度评定示例	12

引 言

JJF 1071—2010《国家计量校准规范编写规则》、JJF 1001—2011《通用计量术语及定义》和JJF1059.1—2012《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。

校准方法及计量特性等主要参考了 JJG 1051—2021《电解质分析仪检定规程》、JJF 1720—2018《全自动生化分析仪校准规范》、GB/T 16285—2008《食品中葡萄糖的测定 酶-比色法和酶-电极法》、QB/T 5713—2022《发酵液中 L-谷氨酸的测定 酶电极法》。

本规范为首次发布。

生物过程分析仪校准规范

1 范围

本规范适用于以光度法-离子选择电极法联用或酶膜法-离子选择电极法联用为原理的生物过程分析仪的校准。

2 引用文件

本规范引用了下列文件：

JJF 1265—2022 生物计量术语及定义

GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法

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

3.1 氨基酸 amino acid

含有氨基和羧基的一类有机化合物的通称，是蛋白质的基本组成单位。

[来源：JJF 1265—2022，4.1]

3.2 代谢 metabolism

生命体内所发生的用于维持生命的一系列有序的化学反应的总称。

[来源：JJF 1265—2022，4.60]

3.3 代谢物 metabolite

参与代谢的各种物质的统称。

[来源：JJF 1265—2022，4.61]

4 概述

生物过程分析仪（以下简称分析仪）是主要应用于生物制药行业，对细胞培养、发酵过程的基质和代谢物进行检测的仪器。按照检测原理组合可分为两类。光度法和离子选择电极法联用的仪器，酶膜法和离子选择电极法联用的仪器。

光度法是基于物质在紫外、可见光区的特征吸收，遵从朗伯-比尔定律，通过与标准物质比较或利用摩尔吸光系数进行定量分析。

离子选择电极法是利用电极膜对特定离子的选择性响应，测量膜电势与离子

活度的关系（符合能斯特公式），从而确定待测离子含量。

酶膜法是利用固定化生物氧化酶催化待测物质发生酶反应，生成过氧化氢，通过检测过氧化氢浓度来计算被测物质含量。

分析仪由样品进样系统、检测模块（核心部分）、试剂系统、数据处理系统、显示/输出系统组成。

5 计量特性

分析仪各项计量特性指标见表 1。

表 1 分析仪的主要计量特性指标

序号	计量特性	计量特性指标
1	葡萄糖测量示值误差	不超过 $\pm 10\%$
2	葡萄糖测量重复性	不超过 2%
3	谷氨酸测量示值误差	不超过 $\pm 10\%$
4	谷氨酸测量重复性	不超过 2%
5	K^+ 、 Na^+ 浓度测量示值误差	不超过 $\pm 5.0\%$
6	K^+ 、 Na^+ 浓度测量重复性	不超过 1.5%
7	吸光度测量示值误差	标称值：0.5，最大允许误差： ± 0.025
		标称值：1.0，最大允许误差： ± 0.07
8	吸光度测量重复性	标称值：1.0，不超过 1.5%

注：以上指标不用于符合性判定，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： $\leq 85\%$ 。

6.1.3 仪器应安装在平稳无振动的工作台上，周围无强电磁干扰，无直射光源照射仪器。

注：条件与制造商说明书的产品环境要求不一致时，以产品说明书为准。

6.2 测量标准及其他设备

6.2.1 葡萄糖纯度标准物质，扩展不确定度应不大于 0.5%（ $k=2$ ）。

6.2.2 谷氨酸纯度标准物质，扩展不确定度应不大于 1.5% ($k=2$)。

6.2.3 钾、钠离子系列混合溶液标准物质， K^+ 浓度：(1.50~7.50) mmol/L， Na^+ 浓度：(100~180) mmol/L，相对扩展不确定度应不大于 1.5% ($k=2$)。

6.2.4 340nm 下吸光度溶液标准物质，吸光度标称值 0.5 和 1.0，相对扩展不确定度应不大于 1% ($k=2$)。

6.2.5 电子天平，符合 ① 级，最小分度值 0.1 mg。

6.2.6 容量瓶，符合 A 级要求。

6.2.7 纯水：符合 GB/T 6682—2008 规定的二级水要求。

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。

7 校准项目和校准方法

7.1 校准项目

生物过程分析仪校准项目见表 2。

表 2 校准项目

序号	校准项目
1	葡萄糖测量示值误差
2	葡萄糖测量重复性
3	谷氨酸测量示值误差
4	谷氨酸测量重复性
5	K^+ 、 Na^+ 浓度测量示值误差*
6	K^+ 、 Na^+ 浓度测量重复性*
7	吸光度测量示值误差*
8	吸光度测量重复性*
注：*如仪器适用，可进行该项目的校准。	

7.2 校准方法

7.2.1 校准前准备及检查

检查待校准仪器铭牌标识是否完好，开机预热，仪器工作状态正常，按照使用说明书完成设备使用前检查。

7.2.2 葡萄糖和谷氨酸测量示值误差

根据被校准仪器的测量范围，选择满量程 20%、50%、80% 三个浓度点进行校准，或按照客户指定的其他浓度点进行校准。校准用标准溶液的配制方法参照附录 A。

每个校准点分别重复测量 6 次，计算 6 次测量结果的平均值。根据公式 (1)

分别计算葡萄糖、谷氨酸的测量示值误差。

$$\Delta C = \frac{\bar{C} - C_s}{C_s} \times 100\% \quad (1)$$

式中：

ΔC ——葡萄糖或谷氨酸测量相对示值误差，%；

$\bar{C}$ ——葡萄糖或谷氨酸测量平均值，g/L；

C_s ——葡萄糖或谷氨酸标准溶液的标准值，g/L。

7.2.3 葡萄糖和谷氨酸测量重复性

根据 7.2.2 中的测量结果，按照公式（2）计算，以相对标准偏差 RSD 作为葡萄糖或谷氨酸测量重复性的表征。

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

式中：

RSD ——测量重复性；

C_i ——葡萄糖或谷氨酸第 i 次测量结果，g/L；

$\bar{C}$ ——葡萄糖或谷氨酸测量平均值，g/L；

n ——测量次数， $n=6$ 。

7.2.4 K^+ 、 Na^+ 浓度测量示值误差

在分析仪测量范围内，使用钾、钠离子系列混合溶液标准物质，选择低、中、高三个浓度标准物质，在被校仪器上连续测定 6 次，记录测量结果并按照公式（3）计算，用相对误差表示 K^+ 、 Na^+ 测量示值误差。

$$\Delta V = \frac{\bar{V} - V_s}{V_s} \times 100\% \quad (3)$$

式中：

ΔV —— K^+ 、 Na^+ 浓度测量相对示值误差，%；

$\bar{V}$ —— K^+ 、 Na^+ 浓度测量平均值，mmol/L；

V_s ——标准物质中 K^+ 、 Na^+ 浓度的标准值，mmol/L；

7.2.5 $c(K^+)$ 、 $c(Na^+)$ 测量重复性

根据 7.2.4 中的测量结果，按照公式（4）计算，以相对标准偏差 RSD 作为 K^+ 、 Na^+ 浓度测量重复性的表征。

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

式中：

RSD ——测量重复性；

V_i ——第 i 次 K^+ 、 Na^+ 浓度测量值，mmol/L；

$\bar{V}$ —— K^+ 、 Na^+ 浓度测量平均值，mmol/L；

n ——测量次数， $n=6$ 。

7.2.6 吸光度测量示值误差

以蒸馏水为参比，在分析仪上 340nm 处分别测定吸光度标称值为 0.5 和 1.0 的吸光度标准溶液的吸光度。重复测量 3 次，按照公式（5）分别计算标称值为 0.5 和 1.0 的吸光度示值误差。

$$\Delta A = \bar{A} - A_s \quad (5)$$

式中：

ΔA ——吸光度示值误差；

$\bar{A}$ ——吸光度测量平均值；

A_s ——吸光度标准值。

7.2.7 吸光度测量重复性

以蒸馏水为参比，在分析仪上 340 nm 处分别测定吸光度标称值为 1.0 的吸光度标准溶液的吸光度，重复测量 6 次，按照公式（6）计算 1.0 吸光度水平下的测量结果的相对标准偏差（RSD），用于表示吸光度测量重复性。

$$RSD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (A_i - \bar{A})^2}{n-1}} \times \frac{1}{\bar{A}} \times 100\% \quad (6)$$

式中：

RSD ——测量重复性；

A_i ——第 i 次吸光度测量值；

$\bar{A}$ ——吸光度测量平均值；

n ——测量次数， $n=6$ 。

8 校准结果表达

经校准后的生物过程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。推荐的校准原始记录格式见附录 B。推荐的校准证书的内页格式见附录 C。生物过程分析仪校准结果的不确定度按 JJF 1059.1—2012 的要求评定，校准不确定度评定示例见附录 D。

9 复校时间间隔

建议生物过程分析仪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、仪器本身质量等诸多因素所决定的，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。

附录 A

校准用标准溶液的配制方法

A.1 纯水：符合 GB/T 6682 规定的二级水。

A.2 标准物质

A.2.1 葡萄糖纯度标准物质，扩展不确定度应不大于 0.5%（ $k=2$ ）。

A.2.2 谷氨酸纯度标准物质，扩展不确定度应不大于 1.5%（ $k=2$ ）。

A.3 仪器设备

A.3.1 电子天平：符合 ① 级，最小分度值 0.1 mg。

A.3.2 容量瓶：符合 A 级要求。

A.3.3 称量瓶

A.3.4 移液器：经检定合格，量程范围（10~100） μL 和（100~1000） μL 。

A.3.5 干燥箱：温度偏差不得超过 $\pm 2^\circ\text{C}$ 。

A.4 环境条件

A.4.1 温度：（ 20 ± 2 ） $^\circ\text{C}$

A.5 葡萄糖、谷氨酸标准溶液的配制要求和方法

A.5.1 配制要求

根据被校仪器的测量范围，计算出各校准浓度点的标准溶液浓度。例：现需校准一台葡萄糖浓度测量范围：（0~10）g/L，谷氨酸浓度测量范围：（0~2）g/L。

表 A.1 葡萄糖、谷氨酸标准溶液浓度

项目	浓度（g/L）		
葡萄糖	2.0	5.0	8.0
谷氨酸	0.4	1.0	1.6

按表 A.1 溶液浓度的要求配制标准溶液，溶液浓度 c 计算如下。

$$c = \frac{m \times P}{V}$$

式中：

m ——欲配制该浓度溶液所对应标准物质的质量，g；

P ——标准物质的纯度，%；

V ——标准溶液定容到的体积，L。

A.5.2 配制方法

A.5.2.1 以配制浓度为 8 g/L 的葡萄糖浓度标准溶液为例。

A.5.2.2 将葡萄糖纯度标准物质取出放入称量瓶内，并且置于烘箱中，在 105℃ 的温度下烘干 2 小时，然后移至干燥器内冷却至室温备用。

A.5.2.3 快速准确称量（精准至 0.1 mg）0.8024 g 葡萄糖纯度标准物质。

A.5.2.4 将称量好的葡萄糖纯度标准物质，用适量纯水在小烧杯中溶解后，用玻璃棒引流，将烧杯中溶液转移至 100 mL 容量瓶中（小烧杯需重复洗涤 3 次以上），再用纯水定容至刻度线并且摇匀。

附录 B

校准记录参考格式

(推荐性表格)

仪器名称			型号规格	
制造厂商			出厂编号	
委托单位	名称		温度	
	地址		湿度	
记录编号			证书编号	
校准员			核验员	
校准依据				

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

1、葡萄糖和谷氨酸测量示值误差和重复性

(单位: g/L)

项目	标准 溶液 浓度	测量结果						平均 值	示值 误差 (%)	重复 性(%)	扩展不 确定度 ($k=2$)
		1	2	3	4	5	6				
葡萄 糖											
谷氨 酸											

2、K⁺、Na⁺测量示值误差和重复性

(单位: mmol/L)

项目	标准值	测量结果						平均值	示值误差 (%)	重复性 (%)	扩展不确定度 (k=2)
		1	2	3	4	5	6				
K ⁺											
Na ⁺											

3、吸光度示值误差

吸光度标称值	标准值	实测值			平均值	示值误差	扩展不确定度 (k=2)
		1	2	3			
0.5							
1.0							

4、吸光度重复性

吸光度标称值	标准值	实测值						平均值	重复性 (%)
		1	2	3	4	5	6		
1.0									

附录 C

校准证书（内页）推荐格式

（推荐性表格）

1、葡萄糖和谷氨酸测量示值误差和重复性

项目	标准溶液浓度 (g/L)	平均值 (g/L)	示值误差 (%)	重复性 (%)	扩展不确定度 ($k=2$)
葡萄糖					
谷氨酸					

2、 K^+ 、 Na^+ 测量示值误差和重复性

项目	标准值 (mmol/L)	平均值 (mmol/L)	示值误差 (%)	重复性 (%)	扩展不确定度 ($k=2$)
K^+					
Na^+					

3、吸光度示值误差和重复性

标称值	标准值	平均值	示值误差	重复性 (%)	扩展不确定度 ($k=2$)
0.5				/	
1.0					

附录 D

生物过程分析仪校准结果的测量不确定度评定示例

生物过程分析仪校准过程中涉及的参数主要有葡萄糖和谷氨酸测量示值误差、 K^+ 、 Na^+ 测量示值误差、吸光度示值误差，下面以部分主要参数为例分析测量过程中对测量结果影响较大的不确定度分量来源，对其进行不确定度评定。

D.1 葡萄糖、谷氨酸测量示值误差的不确定度评定

D.1.1 测量方法

分别配制葡萄糖、谷氨酸的标准溶液，采用分析仪对标准溶液连续测量 6 次，与标准溶液的标准值进行比较。

D.1.2 测量模型

葡萄糖、谷氨酸的测量示值误差可由公式 (D.1) (D.2) 计算得出：

$$\Delta C = \frac{\bar{C} - C_s}{C_s} \times 100\% \quad (D.1)$$

$$C_s = \frac{m \times P}{V} \quad (D.2)$$

式中：

ΔC ——葡萄糖或谷氨酸测量相对示值误差，%；

$\bar{C}$ ——葡萄糖或谷氨酸测量平均值，g/L；

C_s ——葡萄糖或谷氨酸标准溶液的标准值，g/L；

m ——配制标准溶液所对应的葡萄糖或谷氨酸标准物质的称量质量，g；

P ——葡萄糖或谷氨酸标准物质的纯度，%；

V ——稀释到的体积，L。

D.1.3 合成标准不确定度计算公式

依据不确定度传播率，当各不确定度间不相关时， $u_c = \sqrt{\sum_{i=1}^N c^2(x_i) u^2(x_i)}$ ，
则

$$u_c = \sqrt{c_{\bar{C}}^2 u_{\bar{C}}^2 + c_m^2 u_m^2 + c_P^2 u_P^2 + c_V^2 u_V^2} \quad (D.3)$$

由公式 (D.1) (D.2) 得

$$c_{\bar{C}} = \frac{\partial \Delta C}{\partial \bar{C}} = \frac{V}{m \times P}$$
$$c_m = \frac{\partial \Delta C}{\partial m} = -\frac{\bar{C} \times V}{m^2 \times P}$$

$$c_P = \frac{\partial \Delta C}{\partial P} = -\frac{\bar{C} \times V}{m \times P^2}$$

$$c_V = \frac{\partial \Delta C}{\partial V} = \frac{\bar{C}}{m \times P}$$

D.1.4 不确定度来源

不确定度来源包括：

a) 输入量 $\bar{C}$ 引入的标准不确定度 $u_{\bar{C}}$ ，包括测量重复性引入的标准不确定度 $u_{\bar{C}_1}$ 和仪器分辨力引入的标准不确定度 $u_{\bar{C}_2}$ ；

b) 输入量 m 引入的标准不确定度 u_m ，包括电子天平称量重复性引入的标准不确定度 u_{m_1} 和电子天平最大允许误差引入的标准不确定度 u_{m_2} ；

c) 输入量 P 引入的标准不确定度 u_P ，主要是标准物质纯度引入的标准不确定度；

d) 输入量 V 引入的标准不确定度 u_V ，包括容量瓶最大允许误差引入的标准不确定度 u_{V_1} 和温度效应引入的标准不确定度 u_{V_2} 。

D.1.5 标准不确定度分量评定

D.1.5.1 输入量 $\bar{C}$ 引入的标准不确定度 $u_{\bar{C}}$

D.1.5.1.1 测量重复性引入的标准不确定度 $u_{\bar{C}_1}$

选定一台分析仪，分别对葡萄糖标准溶液和谷氨酸标准溶液连续测量 10 次，测量结果见表 D.1。

表 D.1 葡萄糖、谷氨酸浓度测量结果

测量项目	测量值									
葡萄糖 (g/L)	7.98	7.88	7.85	7.85	7.92	7.88	7.87	7.90	7.85	7.88
谷氨酸 (g/L)	1.57	1.55	1.57	1.55	1.58	1.58	1.58	1.57	1.56	1.57

则单次测量结果的标准差：

$$\text{葡萄糖: } s(C_G) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (C_{iG} - \bar{C}_G)^2}{n-1}} \approx 0.040 \text{ g/L}$$

$$\text{谷氨酸: } s(C_E) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (C_{iE} - \bar{C}_E)^2}{n-1}} \approx 0.011 \text{ g/L}$$

实际校准时在重复性条件下连续测量 6 次，以 6 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为：

$$u_{\bar{c}_{1G}} = \frac{s(C_G)}{\sqrt{n}} = \frac{0.040}{\sqrt{6}} \text{ g/L} \approx 0.0163 \text{ g/L}$$

$$u_{\bar{c}_{1E}} = \frac{s(C_E)}{\sqrt{n}} = \frac{0.011}{\sqrt{6}} \text{ g/L} \approx 0.0045 \text{ g/L}$$

D.1.5.1.2 仪器分辨力引入的标准不确定度 $u_{\bar{c}_2}$

分析仪葡萄糖参数、谷氨酸参数测量的分辨力均为 0.01 g/L，区间半宽为 0.005 g/L，按照均匀分布，则由仪器分辨力引入的标准不确定度为：

$$u_{\bar{c}_{2G}} = u_{\bar{c}_{2E}} = \frac{0.005}{\sqrt{3}} \text{ g/L} \approx 0.0029 \text{ g/L}$$

D.1.5.2 输入量 m 引入的标准不确定度 u_m

D.1.5.2.1 电子天平称量重复性引入的标准不确定度 u_{m_1}

用电子天平对葡萄糖标准物质重复测量 10 次，其结果分别为 0.80241 g、0.80236 g、0.80238 g、0.80240 g、0.80235 g、0.80242 g、0.80244 g、0.80236 g、0.80237 g、0.80229 g。通过贝塞尔公式计算标准偏差为：

$$s(m) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (m_i - \bar{m})^2}{n-1}} \approx 0.00004 \text{ g}$$

本次评定谷氨酸标准物质称量质量为 0.08150 g，其重复性与上述结果基本一致，因此由电子天平称量重复性引入的标准不确定度：

$$u_{m_{1G}} = u_{m_{1E}} = s(m) = 0.00004 \text{ g}$$

D.1.5.2.2 电子天平最大允许误差引入的标准不确定度 u_{m_2}

本次评定使用的电子天平为Ⅰ级，实际分度值 0.01 mg，检定分度值 1 mg，在 (0~5) g 范围内，其最大允许误差为±0.5 mg，按均匀分布处理，则电子天平最大允许误差引入的标准不确定度：

$$u_{m_{2G}} = u_{m_{2E}} = \frac{0.5}{\sqrt{3}} \text{ mg} \approx 0.0003 \text{ g}$$

D.1.5.3 输入量 P 引入的标准不确定度 u_P

输入量 P 引入的标准不确定度，主要是标准物质纯度引入的标准不确定度。本次评定使用的葡萄糖纯度标准物质，标准值 99.6%，其扩展不确定度 $U=0.5\%$ ， $k=2$ ；谷氨酸纯度标准物质，标准值 98.2%，其扩展不确定度 $U=1.5\%$ ， $k=2$ 。则由葡萄糖、谷氨酸标准物质纯度引入的标准不确定度分别为：

$$u_{P_G} = \frac{0.5\%}{2} = 0.25\%$$

$$u_{P_E} = \frac{1.5\%}{2} = 0.75\%$$

D.1.5.4 输入量 V 引入的标准不确定度 u_V

D.1.5.4.1 容量瓶最大允许误差引入的标准不确定度 u_{V_1}

本次葡萄糖标准溶液配制使用的是 100 mL 容量瓶，符合 A 级，最大允许误差 ± 0.10 mL，谷氨酸标准溶液配制使用的是 50 mL 容量瓶，符合 A 级，最大允许误差 ± 0.05 mL。按三角分布处理，则由容量瓶最大允许误差引入的标准不确定度为：

$$u_{V_{1G}} = \frac{0.10}{\sqrt{6}} \text{ mL} \approx 0.041 \text{ mL}$$

$$u_{V_{1E}} = \frac{0.05}{\sqrt{6}} \text{ mL} \approx 0.020 \text{ mL}$$

D.1.5.4.2 温度效应引入的标准不确定度 u_{V_2}

容量瓶和水的体积会随温度变化而变化，但容量瓶的体积变化率远小于水的体积变化率，因此只考虑温度对水的体积的影响。配制溶液时，实验室温度控制在 $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ ，水的体积膨胀系数为 $2.1 \times 10^{-4} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$ ，由温度效应导致的体积最大变化量为 $V \times 2^\circ\text{C} \times 2.1 \times 10^{-4} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$ ，按均匀分布处理，则温度效应引入的标准不确定度为：

$$u_{V_{2G}} = \frac{100 \times 2 \times 2.1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} \text{ mL} \approx 0.024 \text{ mL}$$

$$u_{V_{2E}} = \frac{50 \times 2 \times 2.1 \times 10^{-4}}{\sqrt{3}} \text{ mL} \approx 0.012 \text{ mL}$$

D.1.6 标准不确定度一览表

标准不确定度一览表见表 D.2

表 D. 2 葡萄糖、谷氨酸示值误差测量结果的标准不确定度一览表

被测量	不确定度来源		标准不确定度	灵敏系数	不确定度分量
葡萄糖	输入量 $\bar{c}$	测量重复性	0.0163 g/L	0.125 (g/L) ⁻¹	0.0020375
		仪器分辨力	0.0029 g/L		0.0003625

	输入量 m	电子天平称量重复性	0.00004 g	-1.230 g^{-1}	0.0000492
		电子天平最大允许误差	0.0003 g		0.000369
	输入量 P	标准物质纯度	0.25%	-0.991	0.0024775
	输入量 V	容量瓶最大允许误差	0.041 mL	9.873 L^{-1}	0.00040479
		温度效应	0.024 mL		0.00023695
谷氨酸	输入量 $\bar{c}$	测量重复性	0.0045 g/L	0.625	0.0028125
		仪器分辨力	0.0029 g/L	$(\text{g/L})^{-1}$	0.0018125
	输入量 m	电子天平称量重复性	0.00004 g	-12.035 g^{-1}	0.0004814
		电子天平最大允许误差	0.00003 g		0.00036105
	输入量 P	标准物质纯度	0.75%	-0.999	0.0074925
	输入量 V	容量瓶最大允许误差	0.020 mL	19.617 L^{-1}	0.00039234
		温度效应	0.012 mL		0.0002354

D.1.7 合成标准不确定度 u_c

由公式 (D.3) 可得合成标准不确定度为:

$$u_{cG} = \sqrt{c_{\bar{c}G}^2 (u_{\bar{c}1G}^2 + u_{\bar{c}2G}^2) + c_{mG}^2 (u_{m1G}^2 + u_{m2G}^2) + c_{PG}^2 u_{PG}^2 + c_{VG}^2 (u_{V1G}^2 + u_{V2G}^2)}$$

$$\approx 0.326\%$$

$$u_{cE} = \sqrt{c_{\bar{c}E}^2 (u_{\bar{c}1E}^2 + u_{\bar{c}2E}^2) + c_{mE}^2 (u_{m1E}^2 + u_{m2E}^2) + c_{PE}^2 u_{PE}^2 + c_{VE}^2 (u_{V1E}^2 + u_{V2E}^2)}$$

$$\approx 0.824\%$$

D.1.8 扩展不确定度 U

取包含因子 $k=2$, 则扩展不确定度 U 为:

$$U_G = k \times u_{cG} = 0.7\%$$

$$U_E = k \times u_{cE} = 1.7\%$$

D.2 $c(K^+)$ 、 $c(Na^+)$ 测量示值误差的不确定度评定

D.2.1 测量方法

采用分析仪对钾、钠离子系列混合溶液标准物质连续测量 6 次, 与标准物质的标准值进行比较。

D.2.2 测量模型

$c(K^+)$ 、 $c(Na^+)$ 测量示值误差可由公式 (D.4) 计算得出:

$$\Delta V = \frac{\bar{V} - V_s}{V_s} \times 100\% \quad (\text{D.4})$$

式中:

ΔV —— $c(\text{K}^+)$ 、 $c(\text{Na}^+)$ 测量相对示值误差, %;

$\bar{V}$ —— $c(\text{K}^+)$ 、 $c(\text{Na}^+)$ 测量值的平均值, mmol/L;

V_s ——标准物质中 $c(\text{K}^+)$ 、 $c(\text{Na}^+)$ 的标准值, mmol/L。

D.2.3 合成标准不确定度计算公式

依据不确定度传播率, 当各不确定度间不相关时, $u_c = \sqrt{\sum_{i=1}^N c^2(x_i) u^2(x_i)}$,

则

$$u_c = \sqrt{c_{\bar{V}}^2 u_{\bar{V}}^2 + c_{V_s}^2 u_{V_s}^2} \quad (\text{D.5})$$

由公式 (D.5) 得

$$c_{\bar{V}} = \frac{\partial \Delta V}{\partial \bar{V}} = \frac{1}{V_s}, \quad c_{V_s} = \frac{\partial \Delta V}{\partial V_s} = -\frac{\bar{V}}{V_s^2}$$

D.2.4 不确定度来源

不确定度来源包括:

a) 输入量 $\bar{V}$ 引入的标准不确定度 $u_{\bar{V}}$, 包括测量重复性引入的标准不确定度 $u_{\bar{V}_1}$ 和仪器分辨力引入的标准不确定度 $u_{\bar{V}_2}$;

b) 输入量 V_s 引入的标准不确定度 u_{V_s} , 主要是标准物质引入的标准不确定度。

D.2.5 标准不确定度分量评定

D.2.5.1 输入量 $\bar{V}$ 引入的标准不确定度 $u_{\bar{V}}$

D.2.5.1.1 测量重复性引入的标准不确定度 $u_{\bar{V}_1}$

选定一台分析仪, 对钾、钠系列混合溶液标准物质连续测量 10 次, 测量结果如表所示。

表 D.3 K^+ 、 Na^+ 浓度测量结果

测量项目	测量值									
$c(\text{K}^+)$ (mmol/L)	4.37	4.41	4.36	4.38	4.42	4.44	4.39	4.45	4.41	4.44
$c(\text{Na}^+)$ (mmol/L)	147.8	147.1	147.5	148.2	146.6	147.7	148.4	147.5	146.8	148.6

则单次测量结果的标准差：

$$s(K^+) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \approx 0.0313 \text{ mmol/L}$$

$$s(Na^+) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \approx 0.6630 \text{ mmol/L}$$

实际校准时在重复性条件下连续测量 6 次，以 6 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为：

$$u_{\bar{V}_{1K^+}} = \frac{s(K^+)}{\sqrt{n}} = \frac{0.0313}{\sqrt{6}} \text{ mmol/L} \approx 0.0128 \text{ mmol/L}$$

$$u_{\bar{V}_{1Na^+}} = \frac{s(Na^+)}{\sqrt{n}} = \frac{0.6630}{\sqrt{6}} \text{ mmol/L} \approx 0.2707 \text{ mmol/L}$$

D.2.5.1.2 仪器分辨力引入的标准不确定度 $u_{\bar{V}_2}$

分析仪 K^+ 、 Na^+ 参数测量的分辨力分别为 0.01 mmol/L 和 0.1 mmol/L，区间半宽分别为 0.005 mmol/L 和 0.05 mmol/L，按照均匀分布，则由仪器分辨力引入的标准不确定度为：

$$u_{\bar{V}_{2K^+}} = \frac{0.005}{\sqrt{3}} \text{ mmol/L} \approx 0.0029 \text{ mmol/L}$$

$$u_{\bar{V}_{2Na^+}} = \frac{0.05}{\sqrt{3}} \text{ mmol/L} \approx 0.0289 \text{ mmol/L}$$

D.2.5.2 输入量 V_s 引入的标准不确定度 u_{V_s}

输入量 V_s 引入的标准不确定度，主要是标准物质引入的标准不确定度。本次评定使用的钾、钠系列混合溶液标准物质， K^+ 浓度标准值为 4.50 mmol/L， Na^+ 浓度标准值为 140 mmol/L，其相对扩展不确定度 $U_{rel}=1.5\%$ ， $k=2$ ，由标准物质引入的标准不确定度为：

$$u_{V_{sK^+}} = \frac{4.50 \times 1.5\%}{2} \text{ mmol/L} \approx 0.0338 \text{ mmol/L}$$

$$u_{V_{sNa^+}} = \frac{140 \times 1.5\%}{2} \text{ mmol/L} = 1.05 \text{ mmol/L}$$

D.2.6 标准不确定度一览表

标准不确定度一览表见表 D.4

表 D.4 K^+ 、 Na^+ 示值误差测量结果的标准不确定度一览表

被测量	不确定度来源	标准不确定度	灵敏系数	不确定度分量
-----	--------	--------	------	--------

K^+	输入量 $\bar{V}$	测量重复性	0.0128 mmol/L	0.222	0.0028416
		仪器分辨力	0.0029 mmol/L	$(\text{mmol/L})^{-1}$	0.0006438
	输入量 V_s	标准物质	0.0338 mmol/L	-0.218 $(\text{mmol/L})^{-1}$	0.0073684
Na^+	输入量 $\bar{V}$	测量重复性	0.2707 mmol/L	0.0071	0.00192197
		仪器分辨力	0.0289 mmol/L	$(\text{mmol/L})^{-1}$	0.00020519
	输入量 V_s	标准物质	1.05 mmol/L	-0.0075 $(\text{mmol/L})^{-1}$	0.007875

D.2.7 合成标准不确定度 u_c

由公式 (D.5) 可得合成标准不确定度 u_c 为:

$$u_{cK^+} = \sqrt{c_{\bar{V}_{K^+}}^2 (u_{\bar{V}_{1K^+}}^2 + u_{\bar{V}_{2K^+}}^2) + c_{V_{sK^+}}^2 u_{V_{sK^+}}^2} \approx 0.792\%$$

$$u_{cNa^+} = \sqrt{c_{\bar{V}_{Na^+}}^2 (u_{\bar{V}_{1Na^+}}^2 + u_{\bar{V}_{2Na^+}}^2) + c_{V_{sNa^+}}^2 u_{V_{sNa^+}}^2} \approx 0.811\%$$

D.2.8 扩展不确定度 U

取包含因子 $k=2$, 则扩展不确定度 U 为:

$$U_{K^+} = k \times u_{cK^+} = 1.6\%$$

$$U_{Na^+} = k \times u_{cNa^+} = 1.7\%$$

D.3 吸光度示值误差的不确定度评定

D.3.1 测量方法

采用分析仪对吸光度溶液标准物质连续测量 6 次, 与标准物质的标准值进行比较。

D.3.2 测量模型

吸光度示值误差可由公式 (D.6) 计算得出:

$$\Delta A = \bar{A} - A_s \quad (D.6)$$

式中:

ΔA ——吸光度示值误差;

$\bar{A}$ ——吸光度测量平均值;

A_s ——吸光度标准值。

D.3.3 合成标准不确定度计算公式

依据不确定度传播率,当各不确定度间不相关时, $u_c = \sqrt{\sum_{i=1}^N c^2(x_i) u^2(x_i)}$,
则

$$u_c = \sqrt{c_{\bar{A}}^2 u_{\bar{A}}^2 + c_{A_s}^2 u_{A_s}^2} \quad (D.7)$$

由公式 (D.6) 得

$$c_{\bar{A}} = \frac{\partial \Delta A}{\partial \bar{A}} = 1, \quad c_{A_s} = \frac{\partial \Delta A}{\partial A_s} = -1$$

D.3.4 不确定度来源

不确定度来源包括:

c) 输入量 $\bar{A}$ 引入的标准不确定度 $u_{\bar{A}}$, 包括测量重复性引入的标准不确定度 $u_{\bar{A}_1}$ 和仪器分辨力引入的标准不确定度 $u_{\bar{A}_2}$;

d) 输入量 A_s 引入的标准不确定度 u_{A_s} , 主要是标准物质引入的标准不确定度。

D.3.5 标准不确定度分量评定

D.3.5.1 输入量 $\bar{A}$ 引入的标准不确定度 $u_{\bar{A}}$

D.3.5.1.1 测量重复性引入的标准不确定度 $u_{\bar{A}_1}$

选定一台分析仪,对吸光度溶液标准物质连续测量 10 次,测量结果分别为: 0.991, 0.985, 0.987, 0.984, 0.992, 0.987, 0.984, 0.991, 0.992, 0.986。

则单次测量结果的标准差 $s(x_i)$:

$$s(x_i) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \approx 0.0033$$

实际校准时在重复性条件下连续测量 6 次,以 6 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为:

$$u_{\bar{A}_1} = \frac{s(x_i)}{\sqrt{n}} = \frac{0.0033}{\sqrt{6}} \approx 0.0013$$

D.3.5.1.2 仪器分辨力引入的标准不确定度 $u_{\bar{A}_2}$

分析仪吸光度参数测量的分辨力为 0.001, 区间半宽为 0.0005, 按照均匀分布,则由仪器分辨力引入的标准不确定度为:

$$u_{\bar{A}_2} = \frac{0.0005}{\sqrt{3}} \approx 0.0003$$

D.3.5.2 输入量 A_s 引入的标准不确定度 u_{A_s}

输入量 A_s 引入的标准不确定度，主要是标准物质引入的标准不确定度。本次评定使用的吸光度溶液标准物质的标准值为 0.996，标准物质证书提供的扩展不确定度 $U = 0.002$ ， $k=2$ ，由标准物质引入的标准不确定度为：

$$u_{A_s} = \frac{U}{k} = \frac{0.002}{2} = 0.001$$

D.3.6 标准不确定度一览表

标准不确定度一览表见表 D.5

表 D.5 分析仪吸光度示值误差测量结果的标准不确定度一览表

被测量	不确定度来源		标准不确定度	灵敏系数	不确定度分量
吸光度	输入量 $\bar{A}$	测量重复性	0.0013	1	0.0013
		仪器分辨力	0.0003		0.0003
	输入量 A_s	标准物质	0.001	-1	0.001

D.3.7 合成标准不确定度 u_c

由公式（D.7）可得合成标准不确定度 u_c 为：

$$u_c = \sqrt{u_{A_1}^2 + u_{A_2}^2 + u_{A_s}^2} \approx 0.0017$$

D.3.8 扩展不确定度 U

取包含因子 $k=2$ ，则扩展不确定度 U 为：

$$U = k \times u_c = 0.004$$