



中华人民共和国国家计量技术规范

JJF xxxx—202x

核酸质谱仪校准规范

Calibration Specification for Nucleic acid mass spectrometer

(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

核酸质谱仪校准规范

Calibration Specification for Nucleic acid mass
spectrometer

JJF xxxx—202x

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

中国测试技术研究院

参加起草单位：浙江迪谱诊断技术有限公司

北京理工大学

中国计量大学

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	错误！未定义书签。
2 引用文件	错误！未定义书签。
3 术语和计量单位	错误！未定义书签。
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 质量准确度	4
7.2 质量分辨率	4
7.3 质量重复性	5
7.4 信噪比	5
7.5 质量稳定性	5
7.6 核苷酸准确性	5
7.7 基因型准确性	5
8 校准结果表达	6
9 复测时间间隔	6

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。校准方法及计量特性等主要参考了GB/T 6041-2020《质谱分析方法通则》，YY/T 1740.2-2021《医用质谱仪 第2部分：基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪》，T/ZZB 2482-2021《飞行时间核酸质谱仪》的要求编制。

本规范为首次发布。

核酸质谱仪校准规范

1 范围

本规范适用于采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱（MALDI-TOF MS）原理的核酸质谱仪校准，对于其它原理的核酸质谱仪，可参照本规范执行。

2 引用文件

本规范引用了下列文件：

GB/T 6041-2020 质谱分析方法通则

GB/T 33864-2017 质谱仪通用规范

T/ZZB 2482-2021 飞行时间核酸质谱仪

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（包括所有的修订单）适用于本规范。

3 术语

3.1 核酸质谱仪

测量核酸分子质量，解析基因信息的质谱仪器。

3.2 质量准确性 mass accuracy

某种离子的测量质荷比与实际（理论）质荷比的偏离程度。

[来源：GB/T 6041-2020，2.7]

3.3 质量分辨率

核酸质谱仪分辨两个相邻峰的能力。

注：采用单峰法进行计算。

[来源：GB/T 33864-2017，3.4]

3.4 信噪比 signal to noise ratio

在质谱分析中，信号强度与噪声强度的比值。

[来源：GB/T 6041-2020，2.13]

3.5 核苷酸准确度

核苷酸的测定结果与理论结果一致的数量与理论结果数量的比值。

[来源：T/ZZB 2482-2021，3.10]

3.6 基因型准确度

基因型的测定结果与理论结果一致的数量与理论结果数量的比值。

[来源：T/ZZB 2482-2021，3.11]

4 概述

核酸质谱仪采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱（MALDI-TOF MS）原理，核酸产物经激光照射电离，电离产生的离子经脉冲电场加速后进入无场飞行管，并以恒定速度飞向离子接收器。核酸片段越短，其质量越轻，形成的离子越早到达质量检测器，反之核酸片段越长，其质量越重，形成的离子越晚到达质量检测器；根据这一原理，可以把不同质量核酸离子按质荷比大小进行分离，进而分析核酸的核苷酸和基因型。核酸质谱仪的典型结构如图1所示。

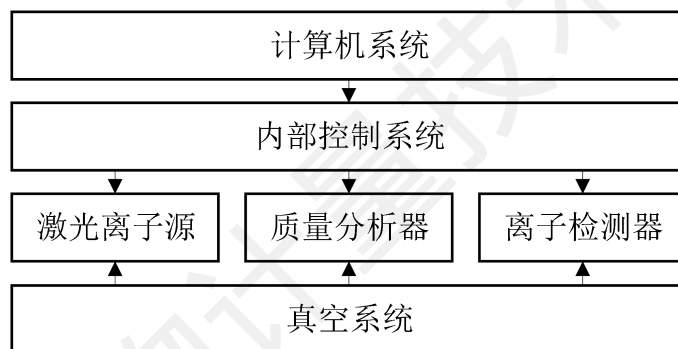


图1 核酸质谱仪结构示意图

5 计量特性

核酸质谱仪的各项计量特性指标见表1。

表1 核酸质谱仪的主要计量特性指标

计量特性	计量特性指标（相对值描述）	计量特性指标（绝对值描述）
质量准确性	$\leq 5 \times 10^{-4}$	$\leq 5(m/z)$
质量分辨率	≥ 700	≥ 700
质量重复性	$\leq 2 \times 10^{-4}$	$\leq 2(m/z)$
信噪比	$SNR \geq 10(\leq 30nmol/L)$	$SNR \geq 10(\leq 30nmol/L)$
质量稳定性	$\pm 3 \times 10^{-4}$	$\pm 3(m/z)$
核苷酸准确性	$\geq 99.7\%$	$\geq 99.7\%$
基因型准确性	$\geq 95.0\%$	$\geq 95.0\%$

注：以上指标不用于合格判别，仅供参考。

6 校准条件

6.1 环境条件：

实验室环境应当满足仪器安装的要求,不得存在强烈的机械振动和电磁干扰,校准时实验室温度应当控制在 $(15\sim 30)^{\circ}\text{C}$, 相对湿度不大于80%, 并确保校准过程中环境温度变化小于 3°C 。

注：上述条件与制造商的产品规定不一致时，以产品规定为准。

6.2 标准物质及校准用设备

标准物质均应使用国家有证标准物质，校准设备需经过计量检定合格。

6.2.1 校准用寡聚核苷酸标准物质

校准用寡聚核苷酸有证标准物质分子量范围分别为： $(4000\pm 100)\text{ Da} \sim (10000\pm 100)\text{ Da}$ ，分子量扩展不确定度 $\leq 0.2\text{ Da}$ ($k=2$)；质量浓度 $\geq 10.0\text{ }\mu\text{M}$ ，相对扩展不确定度 $\leq 10\%$ 。

校准前按照附录 A 配制校准用工作溶液，分别标记为工作溶液1，工作溶液2，工作溶液3。其中，工作溶液1用于质量准确性、质量分辨率、质量重复性、质量稳定性的计量校准；工作溶液2用于信噪比的计量校准；工作溶液3用于核苷酸准确性、基因型准确性计量校准。

必要时应考虑溶液配制中引入的不确定度。

6.2.2 移液器

量程范围： $20\text{ }\mu\text{L}$ ， $100\text{ }\mu\text{L}$ 移液器，需经计量校准。

6.2.3 容量瓶

50 mL ，需经计量校准。

7 校准项目和校准方法

打开仪器电源开关，待仪器真空系统显示正常后开始校准，校准过程不允许调谐。

7.1 质量准确性

使用校准用工作溶液 1 重复测定 6 次，分别选取 $(4000\pm 100)\text{ Da}$ ， $(7000\pm 100)\text{ Da}$ 和 $(10000\pm 100)\text{ Da}$ 分子质量对应的质谱数据，按式（1）计算质量准确性。

$$\Delta M = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n \frac{|M_i - M_c|}{M_c} \dots\dots\dots(1)$$

式中：

ΔM ：相应质谱峰质荷比的最大允许误差；

n ：测试次数；

M_i ：测试谱图中相应质谱峰质荷比第 i 次测量值；

M_c ：与测试谱图对应的质谱峰质荷比的标准值。

7.2 质量分辨率

使用校准用工作溶液 1 重复测定 6 次，分别选取 (4000 ± 100) Da， (7000 ± 100) Da 和 (10000 ± 100) Da 分子质量对应的质谱数据，按式 (2) 和 (3) 计算质量分辨率。

$$R_i = M_i / W_{1/2} \dots\dots\dots(2)$$

$$R = \text{Max}(R_1, \dots, R_n) \dots\dots\dots(3)$$

式中：

R ——质量分辨率。

M_i ——第 i 次测定的质谱峰质荷比；

$W_{1/2}$ ——质谱峰峰高 50% 处的峰宽值；

R_n ——第 i 次测定的谱峰分辨率；

n ——测定次数。

7.3 质量重复性

使用校准用工作溶液 1 重复测定 6 次，分别选取 (4000 ± 100) Da， (7000 ± 100) Da 和 (10000 ± 100) Da 分子质量对应的质谱数据，按式 (4) 计算质量重复性。

$$RSD = \frac{1}{\bar{M}} \times \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (M_i - \bar{M})^2}{n - 1}} \dots\dots\dots(4)$$

式中：

RSD —— 质量重复性；

M_i ——第 i 次测定的质谱峰质荷比；

$\overline{M}$ ——6 次测定质荷比的算术平均值；

n ——测定次数；

7.4 质量稳定性

使用工作溶液 1 进行 5 组实验，每组测定 6 次。每间隔 1 小时测定 1 组，连续进行 4 小时，分别选取 (4000 ± 100) Da， (7000 ± 100) Da 和 (10000 ± 100) Da 分子质量对应的质谱数据，按式 (5) 计算质谱峰的各组质荷比均值与第 1 组均值的差值，取 4 次差值 M_n 中其绝对值最大的代表质量稳定性。

$$M_n = \frac{\sum_{i=1}^n M_i}{6} - M_1 \dots\dots\dots (5)$$

式中：

M_i ——各组中每次测定的质谱峰质荷比；

M_1 ——第 1 组测定的质荷比平均值；

M_n ——各组测定质荷比均值与第 1 组均值的差值；

7.5 信噪比

使用校准用工作溶液 2 重复测定 3 次，分别选取 (4000 ± 100) Da， (7000 ± 100) Da 和 (10000 ± 100) Da 分子质量对应的质谱数据，按式 (6) 和 (7) 计算信噪比。

$$S_i = H / H_i \dots\dots\dots (6)$$

$$S = \frac{\sum_{i=1}^n S_i}{n} \dots\dots\dots (7)$$

H ——质谱峰信号强度；

H_i ——第 i 次测定质谱峰基线噪声信号强度。

S_i ——第 i 次测定质谱峰信噪比；

S ——信噪比

7.6 核苷酸准确性

使用工作溶液 3 进行 21 次测定，读取核苷酸数据，按照 (8) 计算核苷酸准确性。

$$N = N_D / N_T \times 100\% \dots\dots(8)$$

式中：

N_D ——结果符合的核苷酸数量

N_T ——核苷酸总数量

N ——核苷酸准确性

7.7 基因型准确性

使用工作溶液3进行21次测定，读取基因型数据，按照（9）计算基因型准确性。

$$G = G_D / G_T \times 100\% \dots\dots(9)$$

式中：

G_D ——结果符合的基因型数量

G_T ——基因型总数量

G ——基因型准确性

8 校准结果表达

经校准的核酸质谱仪出具校准证书，校准证书应符合 JJF 1071-2010 中 5.12 的要求，测量不确定度按 JJF 1059.1-2012 的要求评定，测量不确定度评定示例见附录 B，校准记录格式见附录 C，校准报告内容见附录 D。

9 复测时间间隔

由于复测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，送检单位可根据实际使用情况自主决定复测时间间隔，建议不超过1年。

附录 A

工作溶液配制及使用

A.1 试剂

纯水为符合 GB/T 6682 规定的二级水。

寡核苷酸序列的分子量符合仪器声称的质量范围。

寡核苷酸序列信息见表 A-1 和表 A-2。

表 A-1 质荷比校准用寡核苷酸信息表

质谱峰	寡核苷酸序列	分子量 (Da)	浓度 (μM)
A	TGAGGTTAAGATG	4053.71	10
B	CCATCCACTACAACATCATGTGT	6927.53	10
C	CCATCCACTACAACATCATGTGTAAACAGTTCCT	9976.48	10

表 A-2 准确性校准用寡核苷酸信息表

基因	位点	序列	分子量 (Da)	终浓度 (μM)	碱基 类型	核苷 酸	基因 型
PP1-11	C1-11	GATCTCAAGAAGG	4007.69	0.1	P	-	-
PC1-12	C1-12	CGGCCTGTTACAGG	4279.82	0.5	A	A	-
PC1-13	C1-13	CCAACCTAGATAAG	4255.85	0.08	C	C	-
PC1-14	C1-14	CTAACAGGATTAAG	4295.88	0.09	G	G	-
PC1-15	C1-15	AGCTAATTAGAGAG	4335.91	0.1	T	T	-
PC1-22	C1-22	GTGGCGCACTCTTGA	4584.01	0.55	A	A	-
PC1-23	C1-23	GCAATATATCATGCA	4560.04	0.3	C	C	-
PC1-24	C1-24	GTAGTACGAATCTAA	4600.07	0.16	G	G	-
PC1-25	C1-25	AATAGAGATCTAGGT	4640.10	0.18	T	T	-
PC1-32	C1-32	GTCATGAGTTGTCCGC	4888.20	0.9	A	A	-
PC1-33	C1-33	AGACACATGTATTATC	4864.23	0.08	C	C	-
PC1-34	C1-34	TATGGACTCAGTAATA	4904.26	0.25	G	G	-
PC2-11	C2-11	CCATGATCTCAGAAGA G	5203.45	0.12	A	A	-
PC2-12	C2-12	CGTCAATATCCGGCTG CG	5475.58	0.6	A	A	-
PC2-13	C2-13	ACATTGCAATACTACA GC	5451.61	0.7	C	C	-
PC2-14	C2-14	AGCAACTCACGTTATA AG	5491.64	0.15	G	G	-
PC2-15	C2-15	CTAACGATATCTAGGA GA	5531.67	0.25	T	T	-
PC2-21	C2-21	TCCATGATCTCAAGAA	5507.64	0.18	A	A	-

		GG					
PC2-22	C2-22	GCGTACCGTTAGCCGT TAC	5779.77	0.65	A	A	-
PC2-23	C2-23	TCATCTAGCTAAACAA GCT	5755.80	0.2	C	C	-
PC2-24	C2-24	AAGTTCTTCCAAGTAA CGA	5795.83	0.2	G	G	-
PC2-25	C2-25	GTCAGATGCGAAATTT CAA	5835.86	0.3	T	T	-
PC2-31	C2-31	TTCCATGATCTCAAGA AGG	5811.83	0.68	A	A	-
PC2-32	C2-32	TAATGTCCAGGTCCGT CTCG	6083.96	0.25	A	A	-
PC2-33	C2-33	CTTTCAAATATGACAC TCAG	6059.99	0.15	C	C	-
PC2-34	C2-34	TAACTTACGCAGGATA TCTA	6100.02	0.2	G	G	-
PC2-35	C2-35	ACAATGCGAAGCGTAT TATT	6140.05	0.2	T	T	-
PC3-11	C3-11	ACTCATGATCTCAAGT CAAGG	6414.22	0.25	A	A	-
PC3-21	C3-21	TACTTCCATGATCTCA AGAAGG	6718.41	0.25	A	A	-
PC3-22	C3-22	ACGGGTATATCCCCAC TTCGTTG	6990.54	0.3	A	A	-
PC3-23	C3-23	CAAATATTCATATCTC TCAAGCG	6966.57	0.25	C	C	-
PC3-24	C3-24	AGGACATAATTTATCT CAGCTCA	7006.60	0.3	G	G	-
PC3-25	C3-25	TGCGACAGCAATAAC ATTGTTA	7046.63	0.65	T	T	-
PC3-31	C3-31	TTACTTCCATGATCTC AAGAAGG	7022.60	0.35	A	A	-
PC4-11	C4-11	GCTTACTTCCATGATC TCAAGAAGG	7640.99	0.4	A	A	-
PC4-12	C4-12	CGCTCTTATACCGATG TCCGCTGAGT	7913.12	0.4	A	A	-
PC4-13	C4-13	CACTATGTCTACCCAT GTCAAGATTA	7889.15	0.5	C	C	-
PC4-14	C4-14	GATCCTAAGGTAACCT ATTAGCTACT	7929.18	0.7	G	G	-
PC4-15	C4-15	ATGTGTGCTACGGTCT ATCAATACAA	7969.21	0.6	T	T	-

PC4-21	C4-21	TGCTTACTTCCATGAT CTCAAGAAGG	7945.18	0.3	A	A	-
PC4-22	C4-22	ACTCCGTTTCGGTGGTT TACCATTGCCA	8217.31	0.4	A	A	-
PC4-23	C4-23	TAACATAATCGCTTTC AACTCTAGGCT	8193.34	0.8	C	C	-
PC4-24	C4-24	AGTGCACTTCTGTCAA ATTGTCAAAC	8233.37	0.4	G	G	-
PC4-25	C4-25	GCTTTCAAGATAGTAG CTCAGATCTTA	8273.40	0.8	T	T	-
PC4-31	C4-31	TTGCTTACTTCCATGA TCTCAAGAAGG	8249.37	0.5	A	A	-
PC4-32	C4-32	CGCGTCAGCCTTTGTA GATTCCCGTTAT	8521.50	0.5	A	A	-
PC4-33	C4-33	TATCAAATTCGTCGTA CTTAGTTCCCAA	8497.53	0.5	C	C	-
PC4-34	C4-34	TTTCATATATCCAGGA CGTTCAGAATCT	8537.56	0.9	G	G	-
PC4-35	C4-35	CAACGTATTTTACATT ATCACAGGGTTG	8577.59	0.5	T	T	-
PC5-11	C5-11	CCTTGCTTACTTCCAT GATCTCAAGAAGG	8827.73	0.5	A	A	-
PC5-12	C5-12	TTTGAGTGTCTCTCG CCCGTAACCTGTAC	9099.86	0.5	A	A	-
PC5-13	C5-13	TTTTAACACGAGGCTC CTAACAACTCTCT	9075.89	0.9	C	C	-
PC5-14	C5-14	CTAGGACCCAGTGTAT TTACTCCTCATATA	9115.92	0.5	G	G	-
PC5-15	C5-15	GTATCATTATTGGGCT GTTATACCAACCCA	9155.95	0.5	T	T	-
PC5-21	C5-21	TCCTTGCTTACTTCCAT GATCTCAAGAAGG	9131.92	0.4	A	A	-
PC5-22	C5-22	GAATCTTTAGTCGCCG CATCGCTTTCCCGTT	9404.05	0.6	A	A	-
PC5-23	C5-23	TACTCCGATTGATTTA CCACCCTAGCATTTA	9380.08	1.5	C	C	-
PC5-24	C5-24	CTTTACATGTATTAAC GCCAACTCTGAGCTT	9420.11	0.8	G	G	-
PC5-25	C5-25	TACGTGCTTTGTGCAT TATTAACAATCACCG	9460.14	1	T	T	-
PC5-31	C5-31	TTCCTTGCTTACTTCCA TGATCTCAAGAAGG	9436.11	0.7	A	A	-
PC5-35	C5-35	CCATTTCAACGGCTTT	9764.33	0.9	T	T	-

		GCAGTACTAATTGTTA					
PP1-21	C1-21	TGATCTCAAGAAGG	4311.88	0.08	P	-	-
PC6-22	C3-12	CCCTCTCATTGAAGGC GGACTT	6686.35	0.25	A	-	A/C
	C3-13	TCCATATGATAACCAC TACTAG	6662.38	0.25	C		
PC6-21	C3-14	TAATATGCCCAATCAA GTTACG	6702.41	0.25	G	-	G/T
	C3-15	AGATGTACTAACACTG ATCTGA	6742.44	0.25	T		
PP1-35	C1-35	TTCTTTAAAAAAGGGG	4944.29	0.05	P	-	-
PC7-3	C5-32	CCGTCGGGGCTATCGT ACCTTCTTATACTTCT	9708.24	0.8	A	-	A/C/ G
	C5-33	AACCTCATGTGATCTG TCAACTTCTCATATTC	9684.27	1	C		
	C5-34	GCAATTAGCAATTTAA TACTTCTGCGTCTCCT	9724.30	1	G		
PP1-31	C1-31	TTGATCTCAAGAAGG	4616.07	0.1	P	-	-
PC8-4	C3-32	CGTATTGCTTATTGCT CGGACCCA	7294.73	0.6	A	-	A/C/ G/T
	C3-33	TTAATTGACCATCAG TAACACTT	7270.76	0.48	C		
	C3-34	ATTTGCTAAAGATCGA TCTCACAT	7310.79	0.55	G		
	C3-35	TTATGGATATGCACAA CTATATCG	7350.82	0.6	T		

注：本表依据核酸质谱原理模拟基因及位点。

A.2 配置设备

移液器或移液管：量程范围 20 μL 或 100 μL ，需经计量校准。

容量瓶：量程范围 50 mL，需经计量校准。

A.3 工作溶液的配制

A3.1 工作溶液 1 的配置

按照表 A-3，将 A、B、C 与纯水按照对应的体积进行混合，配置成混合溶液即为标准溶液 1。

表 A-3 工作溶液 1 配置表

质谱峰	分子量 (Da)	标样体积 (μl)	超纯水体积 (μl)	配置总体积 (μl)
A	4053.71	10	955	1000
B	6927.53	15		

质谱峰	分子量 (Da)	标样体积 (μl)	超纯水体积 (μl)	配置总体积 (μl)
C	9976.48	20		

A.3.2 工作溶液 2 配置

将工作溶液 1 采用纯属稀释 5 倍后即作为工作溶液 2。

A.3.3 工作溶液 3 配置

按照表 A-2，采用容量瓶、紫外分光光度计及纯水，将寡核苷酸序列进行按照终浓度混合即为工作溶液 3。

A.4 工作溶液的使用

A4.1 工作溶液 1 的使用：

将工作溶液 1 上样*到芯片基质靶点上，共 6 个基质靶点，待工作溶液 1 与基质共结晶后，无需纯化进行质谱分析，适用于 7.1、7.2、7.3、7.5 校准项目。每间隔 1 小时重复上述动作 1 次，连续进行 4 小时，共 5 次，适用于 7.5 校准项目。

*注：手动上样或根据仪器说明书自动上样，以下相同。

A4.2 工作溶液 2 的使用：

将工作溶液 2 上样到芯片基质靶点上，共 3 个基质点，待工作溶液 2 与基质共结晶后，无需纯化进行质谱分析，适用于 7.4 校准项目。

A4.3 工作溶液 3 的使用：

将工作溶液 3 上样到芯片基质靶点上，共 21 个基质点，待工作溶液 3 与基质共结晶后，无需纯化进行质谱分析，适用于 7.5、7.6 校准项目。

附录 B

校准结果不确定度评定示例

B.1 测量方法

采用核算质谱仪直接测定相对分子质量标准物质的质荷比，并与标准物质定值结果进行比较。

B.2 测量模型

质荷比校准结果质量准确性(示值误差)的计算可由公式(B.1)给出。

$$\Delta M = \bar{M} - M_0 \dots\dots\dots (B.1)$$

$$M_0 = M/Z$$

式中：

ΔM ：质量准确性(m/z)；

M_0 ：标准物质质荷比；

M ：标准物质分子量；

Z ：标准物质离子化携带电荷数；

$\bar{M}$ ：质谱峰质荷比算术平均值(m/z)；

在校准过程中环境温度控制在 $\pm 3^\circ\text{C}$ ，因此忽略环境温度的影响，仅考虑仪器自身性能的稳定性，加上稳定性修正有：

$$\Delta M_r = \bar{M} - M_0 + \delta_D \dots\dots\dots (B.2)$$

ΔM_r ：质量稳定性(m/z)；

$\bar{M}$ ：测定结果的算术平均值(m/z)

δ_D ：仪器稳定性所带来的影响(m/z)

B.3 方差和灵敏系数

依据 $u_c^2(y) = \sum [\partial f / \partial x_i]^2 u^2(x_i)$ ， $u_c^2 = \sum c^2(x_i) u^2(x_i)$ ，则由式(B.2)得：

$$C_{\bar{M}} = \frac{\partial \Delta M_r}{\partial \bar{M}} = 1$$

$$C_{\delta} = \frac{\partial \Delta M_r}{\partial \delta} = 1$$

$$C_{M_0} = \frac{\partial \Delta M_r}{\partial M_0} = -1$$

故输出量估计方差的完整表达式应为：

$$u_c^2 = u_{\bar{M}}^2 + u_{\delta}^2 + u_{M_0}^2 \dots\dots\dots (B.3)$$

由式(B.3)得：

$$u_c = \sqrt{u_M^2 + u_\delta^2 + u_{M_0}^2} \dots \dots \dots (B.4)$$

B.4 不确定度来源

不确定度来源包括：

- a) 核酸质谱仪测量重复性引入的标准不确定度 u_M
- b) 核酸质谱仪测量稳定性引入的标准不确定度 u_δ
- c) 相对分子质量标准物质引入的标准不确定度 u_{M_0}

下面以核酸质谱仪为例，具体分析其测量不确定度。在校准中质谱峰质荷比六次测定结果平均值分别为 6927.02(m/z)、6927.17(m/z)、6927.27(m/z)、6927.45(m/z)、6927.23(m/z)、6927.47(m/z)，该质谱峰的标准值为 6927.53(m/z)±0.02(m/z)(k=2)；4h 内质荷比从 6927.23(m/z)最大漂移到 6927.34(m/z)，测定结果最大差值为 0.11(m/z)。

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 核酸质谱仪质量准确性的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 $u(x_i)$	$c_i = \partial f / \partial x_i$	$ c_i \times u(x_i) $
u_M	测量重复性	-0.26(m/z)	0.000144352	2.45×10^{-5}
u_δ	测量稳定性	0.11(m/z)	0.000144352	1.59×10^{-5}
u_{M_0}	标准物质	0.02(m/z)	0.000144348	1.44×10^{-6}
$u_c = 2.93$				

B.6 标准不确定度分量计算

B.6.1 测量重复性引入的标准不确定度分量 u_x

在校准中质谱峰质荷比六次测定结果的平均值分别为 6927.02(m/z)、6927.17(m/z)、6927.27(m/z)、6927.45(m/z)、6927.23(m/z)、6927.47(m/z)，采用标准差法评估此次测量的实验标准差 $S(x_i)$ ：

$$S(M_i) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (M_i - \bar{M})^2}{n-1}} = 0.17(\text{m/z})$$

则测量结果平均值的标准不确定度为：

$$u_M = S(M_i) = 0.17(\text{m/z})$$

$$C_x = 1$$

B.6.2 测量稳定性引入的标准不确定度分量 u_δ

4 h 内质荷比测定结果从 6927.23(m/z)最大偏差到 6927.34(m/z)，一般情况下校准能够在 4 h 之内完成，因此实际校准时的稳定性小于 4 h 间仪器稳定性。仪器偏差量记为 δ ，其半宽度为 $\delta/2$ ，假设均匀分布，则由于仪器稳定性引物的标准不确定度分量：

$$u_{\delta} = \frac{\delta}{2\sqrt{3}} = \frac{0.11}{2\sqrt{3}} = 0.031754265$$

$$C_{\delta} = 1$$

B.6.3 标准物质引入的标准不确定度分量 u_{M_0}

由标准物质引入的不确定度 u_{M_0} 可由标准物质证书提供的扩展不确定度 U_{M_0} 和包含因子 k_{M_0} 根据公式(B.3)计算：

$$u_{M_0} = \frac{U_{M_0}}{k_{M_0}} \dots \dots \dots (B.5)$$

式中：

u_{M_0} -标准物质引入的标准不确定度

U_{M_0} -标准物质证书提供的扩展不确定度

k_{M_0} -标准物质证书提供的包含因子，通常为 2。

在校准过程中质谱峰的标准值为 6927.53 Da $\pm$ 0.02 Da($k=2$)，则标准物质引入的标准不确定度分量：

$$u_M = \frac{U_M}{k_M} = 0.01$$

$$C_{M_0} = -1$$

B.7 合成标准不确定度 u_c

由式(B.4)可得：

$$u_c = \sqrt{c_M^2 u_M^2 + c_{\delta}^2 u_{\delta}^2 + c_{M_0}^2 u_{M_0}^2} = 2.93$$

B.8 扩展不确定度 U

取 $k=2$ ，则 $U = k \times u_c = 5.85 \times 10^{-5}$

附录 C

校准记录推荐格式

仪器名称		型号规格	
制造厂商		出厂编号	
委托单位	名称	联系人	
	地址	电话	
实验室温度		实验室湿度	
校准日期			
记录编号		证书编号	
校准员		核验员	

C.1 质量准确性

标准物质的编号	B
标准物质分子量	6927.53 Da
标准物质质荷比	6927.53(m/z)
质谱峰序号	质谱峰质荷比(m/z)
1	
2	
3	
4	
5	
6	
质荷比平均值	
质量准确性	

C.2 质量分辨率

标准物质的编号	B		
标准物质分子量	6927.53 Da		
标准物质质荷比	6927.53(m/z)		
质谱峰序号	质谱峰峰高	质谱峰半峰宽	单个质谱峰分辨率

			(m/z)
1	/	/	
2	/	/	
3	/	/	
4	/	/	
5	/	/	
6	/	/	
质量分辨率(单个质谱峰分辨率中的最大值)			

C.3 质量重复性

标准物质的编号	B
标准物质分子量	6927.53 Da
标准物质质荷比	6927.53(m/z)
质谱峰序号	质谱峰质荷比(m/z)
1	
2	
3	
4	
5	
6	
质荷比平均值	
质量重复性	

C.4 信噪比

标准物质的编号	B		
标准物质分子量	6927.53 Da		
标准物质质荷比	6927.53(m/z)		
质谱峰序号	质谱峰信号强度	基线噪声信号强度	单个质谱峰信噪比

1	/	/	
2	/	/	
3	/	/	
4	/	/	
5	/	/	
6	/	/	
信噪比			

C.5 质量稳定性

标准物质的编号			B					
标准物质分子量			6927.53 Da					
标准物质质荷比			6927.53(m/z)					
序号 时间	1	2	3	4	5	6	平均值 (m/z)	差值 (m/z)
0h								
1h								
2h								
3h								
4h								
质量稳定性(m/z)								

C.6 核苷酸准确性

结果符合的核苷酸数量	1260	核苷酸总数量	1260
核苷酸准确性			

C.7 基因型准确性

结果符合的基因型数量	84	基因型总数量	84
基因型准确性			

附录 D

校准报告推荐格式

证书编号：

校准环境条件	温度		地点：	
	相对湿度		其他：	
序号	校准项目	校准结果		
1	质量准确性(m/z)	测量值：_____不确定度：_____		
2	质量分辨率	测量值：_____		
3	质量重复性(m/z)	测量值：_____		
4	信噪比	测量值：_____		
5	质量稳定性(m/z)	测量值：_____		
6	核苷酸准确性	测量值：_____		
7	基因型准确性	测量值：_____		

校准员：

核验员：