



# 中华人民共和国国家计量技术规范

JJF 1874—2020

---

## (自动)核酸提取仪校准规范

Calibration Specification for (Automatic) Nucleic Acid Extractors

2020-11-26 发布

2021-05-26 实施

---

国家市场监督管理总局发布

# (自动)核酸提取仪校准规范

Calibration Specification for  
(Automatic) Nucleic Acid Extractors

JJF 1874—2020

归口单位：全国生物计量技术委员会  
起草单位：浙江省计量科学研究院  
中国计量科学研究院

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：**

张 辉（浙江省计量科学研究院）

余笑波（浙江省计量科学研究院）

隋志伟（中国计量科学研究院）

**参加起草人：**

陈 川（中国计量科学研究院）

沙跃兵（浙江省计量科学研究院）

# 目 录

引言 .....	(Ⅲ)
1 范围 .....	(1)
2 引用文件 .....	(1)
3 概述 .....	(1)
4 计量特性 .....	(1)
4.1 温度示值误差 .....	(1)
4.2 温度均匀性 .....	(1)
4.3 温度稳定性 .....	(1)
4.4 振动频率示值误差 .....	(1)
4.5 振动频率稳定性 .....	(1)
4.6 取液量示值误差 .....	(1)
4.7 取液量重复性 .....	(1)
4.8 取液量一致性 .....	(1)
4.9 核酸提取回收率一致性 .....	(1)
4.10 核酸提取回收率重复性 .....	(1)
4.11 核酸提取回收率 .....	(1)
5 校准条件 .....	(1)
5.1 环境条件 .....	(1)
5.2 校准设备和标准物质 .....	(2)
6 校准项目和校准方法 .....	(2)
6.1 温度示值误差 .....	(2)
6.2 温度均匀性 .....	(2)
6.3 温度稳定性 .....	(3)
6.4 振动频率示值误差 .....	(3)
6.5 振动频率稳定性 .....	(3)
6.6 取液量示值误差 .....	(4)
6.7 取液量重复性 .....	(4)
6.8 取液量一致性 .....	(4)
6.9 核酸提取回收率一致性 .....	(5)
6.10 核酸提取回收率重复性 .....	(5)
6.11 核酸提取回收率 .....	(6)
7 校准结果表达 .....	(6)
8 复校时间间隔 .....	(6)
附录 A 校准原始记录格式（参考） .....	(7)
附录 B 校准证书（内页）格式 .....	(10)

附录 C 温度示值误差校准结果的不确定度评定示例	(12)
附录 D 振动示值误差校准结果的不确定度评定示例	(14)
附录 E 取液量示值误差校准结果的不确定度评定示例	(16)
附录 F 核酸提取回收率校准结果不确定度评定示例	(18)
附录 G 纯水密度表	(20)

## 引　　言

JJF 1071—2010《国家计量校准规范编写规则》、JJF 1001—2003《通用计量术语及定义》、JJF 1059.1—2012《测量不确定度评定与表示》共同构成支撑校准规范制修订工作的基础性系列规范。本规范在（自动）核酸提取仪的主要技术参数实验测试结果的基础上编制，参考了JJF 1527—2015《聚合酶链反应分析仪校准规范》。

本规范为首次发布。

## (自动)核酸提取仪校准规范

### 1 范围

本规范适用于全自动核酸提取仪和半自动核酸提取仪的校准。

### 2 引用文件

本规范引用了下列文件：

JJF 1059.1—2012 测量不确定度评定与表示

JJF 1101—2019 环境试验设备温度、湿度校准规范

JJF 1527—2015 聚合酶链反应分析仪校准规范

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

(自动)核酸提取仪（以下简称提取仪）是应用核酸提取试剂完成样本核酸提取的一类核酸提取纯化设备，其原理是在一定温度、振动等条件下，对样本进行裂解、提取和纯化。提取仪由温控系统、振荡系统、取液系统和分离纯化系统全部或部分组成。

### 4 计量特性

- 4.1 温度示值误差
- 4.2 温度均匀性
- 4.3 温度稳定性
- 4.4 振动频率示值误差
- 4.5 振动频率稳定性
- 4.6 取液量示值误差
- 4.7 取液量重复性
- 4.8 取液量一致性
- 4.9 核酸提取回收率一致性
- 4.10 核酸提取回收率重复性
- 4.11 核酸提取回收率

### 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： $\leqslant 80\%$ 。

5.1.3 提取仪所在室内不得有明显的机械振动，无电磁干扰。

5.1.4 其他允许的环境条件。

## 5.2 校准设备和标准物质

### 5.2.1 温度测量装置

可至少同时测量 7 组温度数据，测量范围（0~120）℃，最大允许误差±0.3 ℃。

### 5.2.2 振动频率测量装置

测量范围为（0.1~500）Hz，0.1 级或优于 0.1 级。

### 5.2.3 电子天平

分度值 0.1 mg，最大称量值≥200 g，满足①级要求，经过计量检定或校准。

### 5.2.4 核酸标准物质

采用有证标准物质，浓度≥1 000 ng/μL，相对扩展不确定度  $U_{\text{rel}} \leqslant 5\% (k=2)$ 。

### 5.2.5 微量分光光度计

经过校准，或用有证标准物质进行标定。

## 6 校准项目和校准方法

### 6.1 温度示值误差

温度点一般选择 55 ℃、65 ℃、90 ℃，或者其他有实际需要的温度为校准点。

使用温度测量装置，将温度传感器固定在提取仪的加热模块上，温度传感器均匀分布，保证温度传感器与加热模块贴合紧密。对于不同加热模块的提取仪，可根据实际情况均匀选取测量点，测温点数选取规则如下：提取仪孔位数 48 位~96 位，测温点选 7 个；提取仪孔位数 8 位~48 位，测温点选 5 个；提取仪孔位数 8 位及以下的，测温点选 3 个。

设定被校提取仪的校准温度，稳定 10 min 或以上，待温度稳定后，读取测温点的温度值，根据公式（1）和公式（2）计算温度的示值误差。

$$\Delta \bar{T}_a = T_s - \bar{T} \quad (1)$$

$$\bar{T} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n T_i \quad (2)$$

式中：

$\Delta \bar{T}_a$ ——温控工作区域内温度示值误差，℃；

$T_s$ ——温控工作区域内设定温度值，℃；

$\bar{T}$ ——所有测温点温度传感器测量值的平均值，℃；

$T_i$ ——第  $i$  个温度传感器测量值，℃；

$n$ ——测温点数量。

### 6.2 温度均匀性

分别测试提取仪温度设定为 55 ℃、65 ℃、90 ℃（也可选择其他有实际需要的温度进行测试）时工作区域的温度均匀性。根据公式（3）计算温度的均匀性。

$$\Delta T_u = T_{\max} - T_{\min} \quad (3)$$

式中：

$\Delta T_u$ ——温度均匀性，℃；

$T_{\max}$  ——所有测温点温度传感器测量值的最大值, ℃;

$T_{\min}$  ——所有测温点温度传感器测量值的最小值, ℃。

注: 若提取仪提取通道少于 3 个, 则不做均匀性考察。

### 6.3 温度稳定性

测试提取仪温度设定为 65 ℃时加热区域的温度稳定性。待提取仪温度稳定后, 测试 10 min, 隔 1 min 记录一次所有测温点温度传感器测量平均值, 这些平均值极差的一半, 冠以士号表示温度的稳定性。根据公式 (4) 计算温度的稳定性。

$$\Delta T_w = \pm \frac{1}{2}(\bar{T}_{\max} - \bar{T}_{\min}) \quad (4)$$

式中:

$\Delta T_w$  ——温度稳定性, ℃;

$\bar{T}_{\max}$  ——所有测温点温度传感器测量平均值中的最大值, ℃;

$\bar{T}_{\min}$  ——所有测温点温度传感器测量平均值中的最小值, ℃。

### 6.4 振动频率示值误差

校准振动频率点选取提取仪频率设定最大值的 20% (低)、50% (中)、80% (高) 3 个点, 或者其他有实际需求的振动频率作为校准点。使用振动频率测量装置进行测量。

待提取仪稳定 5 min 后, 设定待测频率值, 分别测量低、中、高提取仪振动频率的示值, 每个频率测量 3 次, 根据公式 (5) 和公式 (6) 计算振动频率的示值误差。

$$\Delta \bar{F}_a = F_s - \bar{F} \quad (5)$$

$$\bar{F} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n F_i \quad (6)$$

式中:

$\Delta \bar{F}_a$  ——振动频率示值误差, Hz;

$F_s$  ——振动频率设定值, Hz;

$\bar{F}$  —— $n$  次测量振动频率的平均值, Hz;

$F_i$  ——第  $i$  次振动频率测量值, Hz;

$n$  ——测量次数。

注: 若提取仪振动频率没有具体数值, 则此项可以不做。

### 6.5 振动频率稳定性

测试提取仪振动频率设定为中等值时振动频率的稳定性。选取振动频率为设定最大值的 50%, 待提取仪振动稳定后, 测试 10 min, 隔 1 min 记一次振动频率, 10 min 之内测得的振动频率极差的一半, 冠以士号表示振动频率的稳定性。根据公式 (7) 计算振动频率的稳定性。

$$\Delta F_w = \pm \frac{1}{2}(F_{\max} - F_{\min}) \quad (7)$$

式中:

$\Delta F_w$  ——振动频率稳定性, Hz;

$F_{\max}$  ——振动频率测量值的最大值, Hz;

$F_{\min}$  ——振动频率测量值的最小值, Hz。

## 6.6 取液量示值误差

分别设定提取仪取液量为 50  $\mu\text{L}$ 、100  $\mu\text{L}$ 、200  $\mu\text{L}$ , 或者其他有实际需要的取液量作为校准点。超纯水作为被取液, 选择一个通道, 每个取液量测量 3 次, 用电子天平称量所取液体质量, 根据实验温度时水的密度, 将所取液体的质量换算成体积, 根据公式(8) 和公式(9) 计算取液量的示值误差。

$$\Delta \bar{V}_a = V_s - \bar{V} \quad (8)$$

$$\bar{V} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n V_i \quad (9)$$

式中:

$\Delta \bar{V}_a$  ——取液量示值误差,  $\mu\text{L}$ ;

$V_s$  ——取液量设定值,  $\mu\text{L}$ ;

$\bar{V}$  —— $n$  次取液量测量值的平均值,  $\mu\text{L}$ ;

$V_i$  ——第  $i$  次取液量测量值,  $\mu\text{L}$ ;

$n$  ——测量次数。

## 6.7 取液量重复性

测试取液量设定值为 100  $\mu\text{L}$  时提取仪取液量的重复性。选择一个通道重复取液 7 次, 用电子天平称量所取液体质量, 根据实验温度时水的密度, 将所取液体的质量换算成体积, 根据公式(10) 计算不同取液量的重复性。

$$RSD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (V_i - \bar{V})^2}{n-1}} \times \frac{1}{\bar{V}} \times 100\% \quad (10)$$

式中:

RSD ——相对标准偏差, %;

$V_i$  ——第  $i$  次取液量测量值,  $\mu\text{L}$ ;

$\bar{V}$  —— $n$  次取液量的平均值,  $\mu\text{L}$ ;

$n$  ——取液次数。

## 6.8 取液量一致性

测试取液量设定值为 100  $\mu\text{L}$  时提取仪取液量的一致性。用提取仪的多通道取液器取液一次, 用电子天平分别称量各通道取液的质量, 根据实验温度时水的密度, 将所取液体的质量换算成体积, 所有通道取液体积的极差表示取液量的一致性。根据公式(11) 计算取液量的一致性。

$$\Delta V_u = V_{\max} - V_{\min} \quad (11)$$

式中:

$\Delta V_u$  ——取液量一致性,  $\mu\text{L}$ ;

$V_{\max}$  ——所有通道取液量的最大值,  $\mu\text{L}$ ;

$V_{\min}$  ——所有通道取液量的最小值,  $\mu\text{L}$ 。

注: 若提取仪取液通道少于 3 个, 则此项可以不做。

### 6.9 核酸提取回收率一致性

a) 选择有证核酸标准物质, 采用微量分光光度计测量其浓度, 取 3 次测量的平均值作为核酸提取前的初始浓度。

b) 用提取仪对有证核酸标准物质进行核酸提取。根据实际情况, 参考 6.1 中的选点方式, 均匀选取测量点进行一致性考察。

c) 将每个孔中提取好的核酸样品溶液, 分别用微量分光光度计测量其浓度。

d) 对比提取前后的核酸浓度, 计算提取回收率。

测试核酸标准溶液提取回收率的一致性, 按 6.1 中的原则选取测试孔位, 测量每个孔位提取后样品溶液中的核酸回收浓度。根据公式 (12)、公式 (13) 和公式 (14) 计算所选孔位间核酸提取回收率的一致性。

$$\Delta C_u = \lambda \times (C_{\max} - C_{\min}) \quad (12)$$

$$\lambda = \frac{V_c}{V_0} \quad (13)$$

$$\Delta R_u = \frac{\Delta C_u}{C_0} \times 100\% \quad (14)$$

式中:

$\Delta C_u$  ——核酸回收浓度最大差值,  $\text{ng}/\mu\text{L}$ ;

$C_{\max}$  ——所有核酸回收浓度测量值的最大值,  $\text{ng}/\mu\text{L}$ ;

$C_{\min}$  ——所有核酸回收浓度测量值的最小值,  $\text{ng}/\mu\text{L}$ ;

$\lambda$  ——提取后的总体积和提取前加入标准物质的体积比值;

$V_c$  ——提取后的总体积,  $\mu\text{L}$ ;

$V_0$  ——提取前加入标准物质的体积,  $\mu\text{L}$ ;

$C_0$  ——初始浓度,  $\text{ng}/\mu\text{L}$ ;

$\Delta R_u$  ——回收率一致性, %。

注: 若提取仪提取通道少于 3 个, 则不做一致性考察。

### 6.10 核酸提取回收率重复性

按 6.1 中的原则选取测试孔位进行核酸提取, 把所有测试孔位提取后的样品溶液混合均匀, 用微量分光光度计测量核酸浓度, 计算核酸提取回收率作为一次测量结果, 重复提取测量 3 次, 根据公式 (15) 计算核酸提取回收率的重复性。

$$\text{RSD} = \frac{R_{\max} - R_{\min}}{C_n} \times \frac{1}{\bar{R}} \times 100\% \quad (15)$$

式中:

RSD ——相对标准偏差, %;

$R_{\max}$  —— $n$  次回收率测量值中的最大值, %;

$R_{\min}$  —— $n$  次回收率测量值中的最小值, %;

$\bar{R}$  —— $n$  次测量回收率的平均值, %;

$C_n$  ——极差系数,  $n=3$  时,  $C_n = 1.69$ 。

### 6.11 核酸提取回收率

把 6.9 得到的所有测试孔位提取后的样品溶液混合均匀, 用微量分光光度计测量核酸浓度, 重复测量 3 次, 根据公式 (16) 和公式 (17) 计算核酸提取回收率。

$$R = \lambda \times \frac{\bar{C}}{C_0} \times 100\% \quad (16)$$

$$\bar{C} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n C_i \quad (17)$$

式中:

$R$  ——核酸提取回收率, %;

$\bar{C}$  —— $n$  次测量浓度的平均值,  $\text{ng}/\mu\text{L}$ ;

$C_0$  ——初始浓度,  $\text{ng}/\mu\text{L}$ 。

## 7 校准结果表达

经校准后的提取仪, 出具校准证书, 校准证书应符合 JJF 1071—2010 中 5.12 的要求, 校准原始记录格式参见附录 A, 校准证书(内页)格式参见附录 B。

## 8 复校时间间隔

由于复校时间间隔的长短是由提取仪的使用情况、使用者、提取仪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。建议复校时间间隔不超过 1 年。

## 附录 A

## 校准原始记录格式(参考)

## (自动)核酸提取仪校准记录

共 3 页 第 1 页

仪器名称				室温/℃		
仪器型号				相对湿度/%		
制造厂				校准员		
出厂编号				核验员		
委托单位				委托单号		
				记录编号		
				证书编号		
联系人及电话				校准日期		
校准使用的仪器设备	名称	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
						有效期至

## 1. 温度示值误差及均匀性

温度 ℃	$T_i/^\circ\text{C}$							$\bar{T}$ ℃	$\Delta \bar{T}_a$ ℃	$\Delta T_u$ ℃
	1	2	3	4	5	6	7			
55										
65										
90										

## 2. 温度稳定性

温度 ℃	$\bar{T}/^\circ\text{C}$											$\Delta T_w$ ℃
	0 min	1 min	2 min	3 min	4 min	5 min	6 min	7 min	8 min	9 min	10 min	
65												

### 3. 振动频率示值误差

振动 频率	$F_s$ /Hz	$F_i$ /Hz			$\bar{F}$ /Hz	$\Delta \bar{F}_s$ /Hz
		1	2	3		
低						
中						
高						

### 4. 振动频率稳定性

振动 频率	$F$ /Hz											$\Delta F_w$ /Hz
	0 min	1 min	2 min	3 min	4 min	5 min	6 min	7 min	8 min	9 min	10 min	
中												

### 5. 取液量示值误差

取液量/ $\mu$ L	$V_i$ / $\mu$ L			$\bar{V}$ / $\mu$ L	$\Delta \bar{V}_s$ / $\mu$ L
	1	2	3		
50					
100					
200					

### 6. 取液量重复性

取液量/ $\mu$ L	$V_i$ / $\mu$ L							$\bar{V}$ / $\mu$ L	RSD/%
	1	2	3	4	5	6	7		
100									

### 7. 取液量一致性

取液量/ $\mu$ L	$V$ / $\mu$ L								$\Delta V_u$ / $\mu$ L
	1	2	3	4	5	6	7	8	
100									

### 8. 核酸提取回收率一致性

$V_c$ / $\mu$ L	$V_0$ / $\mu$ L	$\lambda$

$C_0/(\text{ng}/\mu\text{L})$	$C_u/(\text{ng}/\mu\text{L})$							$\Delta C_u/(\text{ng}/\mu\text{L})$	$\Delta R_u/\%$
	1	2	3	4	5	6	7		

## 9. 核酸提取回收率重复性

$C_0/(\text{ng}/\mu\text{L})$	$C_i/(\text{ng}/\mu\text{L})$			$R_i/\%$			$\frac{R_{\max} - R_{\min}}{C_n}$	$\bar{R}/\%$	RSD/%
	1	2	3	1	2	3			

## 10. 核酸提取回收率

$C_0/(\text{ng}/\mu\text{L})$	$C_i/(\text{ng}/\mu\text{L})$			$\bar{C}/(\text{ng}/\mu\text{L})$	$R/\%$
	1	2	3		

**附录 B****校准证书(内页)格式****校准结果**

校准项目	校准结果			
	标称值	测量值	示值误差	扩展不确定度 ( $k=2$ )
温度示值误差/℃				
温度均匀性/℃	标称值	均匀性		
温度稳定性/℃				
振动频率示值 误差/Hz	标称值	测量值	示值误差	扩展不确定度 ( $k=2$ )
振动频率 稳定性/Hz				
取液量示值 误差/ $\mu$ L	标称值	测量值	示值误差	扩展不确定度 ( $k=2$ )
取液量一致性/ $\mu$ L	标称值	一致性		

表（续）

取液量重复性	标称值/ $\mu\text{L}$	重复性/%
核酸提取回收率一致性/%		
核酸提取回收率重复性/%		
核酸提取回收率/%		
核酸提取回收率扩展不确定度/% ( $k=2$ )		

校准员：\_\_\_\_\_

核验员：\_\_\_\_\_

## 附录 C

### 温度示值误差校准结果的不确定度评定示例

#### C. 1 测量模型

$$\Delta \bar{T}_a = T_s - \bar{T} \quad (\text{C. 1})$$

式中：

$\Delta \bar{T}_a$  ——温控工作区域内温度示值误差, °C;

$T_s$  ——温控工作区域内设定温度值, °C;

$\bar{T}$  ——所有测温点温度传感器测量值的平均值, °C。

#### C. 2 不确定度来源

温度示值误差校准结果的不确定度来源主要为：

- a) 测量重复性引入的不确定度；
- b) 温度测量装置引入的不确定度。

#### C. 3 标准不确定度分量的评定

##### C. 3.1 测量重复性引入的标准不确定度 $u(\bar{T})$

在各个温度测量时间段内, 读取 7 个测温探头的数据, 见表 C. 1, 计算其实验标准偏差  $s$ 。

表 C. 1 重复性引入不确定度数据

温度/°C	测量结果 $T_i/^\circ\text{C}$							$s/^\circ\text{C}$
	1	2	3	4	5	6	7	
55	50.31	50.89	50.78	51.04	51.89	51.76	50.71	0.57
65	60.84	59.98	61.25	60.99	61.33	61.04	59.66	0.65
90	84.03	84.41	84.83	84.52	84.66	83.04	84.67	0.61

根据测量结果计算：

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (T_i - \bar{T})^2}{n-1}} \quad (\text{C. 2})$$

$$u(\bar{T}) = \frac{s}{\sqrt{1}} \quad (\text{C. 3})$$

结果见表 C. 2。

##### C. 3.2 温度测量装置引入的标准不确定度 $u(T_s)$

温度测量装置校准不确定度按最大允许误差计算。

$$u(T_s) = a/k = 0.3 \text{ } ^\circ\text{C}/\sqrt{3} = 0.17 \text{ } ^\circ\text{C}$$

## C.4 标准不确定度分量汇总表

表 C.2 标准不确定度分量汇总表

温度/℃	标准不确定度分量	
	$u(\bar{T})/^\circ\text{C}$	$u(T_s)/^\circ\text{C}$
55	0.57	0.17
65	0.65	0.17
90	0.61	0.17

## C.5 合成标准不确定度

合成标准不确定为

$$u_c(\Delta \bar{T}_s) = \sqrt{u^2(\bar{T}) + u^2(T_s)}$$

结果列于表 C.3。

## C.6 扩展不确定度

取包含因子  $k=2$ ，则扩展不确定度为

$$U = 2u_c(\Delta \bar{T}_s)$$

结果列于表 C.3。

表 C.3 合成标准不确定度和扩展不确定度

温度/℃	$u_c(\Delta \bar{T}_s)/^\circ\text{C}$	$U/^\circ\text{C}$	包含因子 $k$
55	0.59	1.2	2
65	0.67	1.4	2
90	0.63	1.3	2

## 附录 D

### 振动示值误差校准结果的不确定度评定示例

#### D. 1 测量模型

$$\Delta \bar{F}_a = F_s - \bar{F} \quad (D. 1)$$

式中：

$\Delta \bar{F}_a$  —— 振动频率示值误差, Hz;

$F_s$  —— 振动频率设定值, Hz;

$\bar{F}$  ——  $n$  次测量振动频率的平均值, Hz。

#### D. 2 不确定度来源

振动示值误差校准结果的不确定度来源主要为：

- a) 测量重复性引入的不确定度；
- b) 标准频率检测仪引入的不确定度。

#### D. 3 标准不确定度分量的评定

##### D. 3. 1 重复性引入的标准不确定度 $u(\bar{F})$

在低、中、高三个频率振动点，分别读取 10 次检测数据，结果见表 D. 1，计算其实验标准偏差  $s$ 。

表 D. 1 重复性引入不确定度数据

频率 振动点	$F_s/\text{Hz}$	测量结果 $F_i/\text{Hz}$										$s/\text{Hz}$
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
低	2	2.2	2.1	2.4	2.3	2.2	2.1	2.1	2.3	2.2	2.1	0.11
中	5	5.1	5.3	5.4	5.2	5.4	5.1	5.3	5.2	5.3	5.1	0.12
高	8	8.3	8.2	8.4	8.4	8.1	8.2	8.1	8.3	8.3	8.2	0.11

根据测量结果计算：

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (F_i - \bar{F})^2}{n-1}} \quad (D. 2)$$

$$u(\bar{F}) = \frac{s}{\sqrt{3}} \quad (D. 3)$$

结果见表 D. 2。

##### D. 3. 2 振动频率测量装置引入的标准不确定度 $u_2(F_s)$

振动频率测量装置校准不确定度按装置的最大允许误差计算。

$$u(F_s) = a/k = FS \times 0.1\% / \sqrt{3} = 0.29 \text{ Hz}$$

## D.4 标准不确定度分量汇总表

表 D.2 标准不确定度分量汇总表

频率振动点	$F_s/\text{Hz}$	标准不确定度分量	
		$u(\bar{F})/\text{Hz}$	$u(F_s)/\text{Hz}$
低	2	0.064	0.29
中	5	0.069	0.29
高	8	0.064	0.29

## D.5 合成标准不确定度

合成标准不确定度为

$$u_c(\Delta \bar{F}_a) = \sqrt{u^2(\bar{F}) + u^2(F_s)}$$

结果列于表 D.3。

## D.6 扩展不确定度

取包含因子  $k=2$ ，则扩展不确定度为

$$U = 2u_c(\Delta \bar{F}_a)$$

结果列于表 D.3。

表 D.3 合成标准不确定度和扩展不确定度

频率振动点	$F_s/\text{Hz}$	$u_c(\Delta \bar{F}_a)/\text{Hz}$	$U/\text{Hz}$	包含因子 $k$
低	2	0.30	0.60	2
中	5	0.30	0.60	2
高	8	0.30	0.60	2

## 附录 E

### 取液量示值误差校准结果的不确定度评定示例

#### E. 1 测量模型

$$\Delta \bar{V}_a = V_s - \bar{V} \quad (\text{E. 1})$$

式中：

$\Delta \bar{V}_a$  —— 取液量示值误差， $\mu\text{L}$ ；

$V_s$  —— 取液量设定值， $\mu\text{L}$ ；

$\bar{V}$  ——  $n$  次取液量测量值的平均值， $\mu\text{L}$ ；

#### E. 2 不确定度来源

取液量示值误差校准结果的不确定度来源主要为：

- a) 测量重复性引入的不确定度；
- b) 电子天平引入的不确定度。

#### E. 3 标准不确定度分量的评定

##### E. 3.1 重复性引入的标准不确定度 $u(\bar{V})$

设定取液量为  $50 \mu\text{L}$ 、 $100 \mu\text{L}$ 、 $200 \mu\text{L}$ ，每个取液量设定点分别测量 10 次取液量，结果见表 E. 1，计算其实验标准偏差  $s$ 。

表 E. 1 重复性引入不确定度数据

$V_s/\mu\text{L}$	$V_i/\mu\text{L}$										$s/\mu\text{L}$
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
50	47.24	50.11	48.69	49.10	48.18	48.21	47.88	48.51	47.71	47.84	0.81
100	99.45	99.38	100.2	99.16	97.84	99.45	98.35	99.86	98.35	97.50	0.89
200	200.1	198.6	200.9	198.2	199.0	200.3	199.8	198.6	199.5	200.5	0.92

根据测量结果计算：

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (V_i - \bar{V})^2}{n-1}} \quad (\text{E. 2})$$

$$u(\bar{V}) = \frac{s}{\sqrt{3}} \quad (\text{E. 3})$$

结果见表 E. 2。

##### E. 3.2 电子天平引入的标准不确定度 $u(V_s)$

电子天平引入的不确定度按电子天平的最大允许误差计算。

$$u(V_s) = a/k = 0.5 \text{ mg}/(0.996\ 511 \text{ mg}/\mu\text{L} \times \sqrt{3}) = 0.29 \mu\text{L}$$

## E.4 标准不确定度分量汇总表

表 E.2 标准不确定度分量汇总表

$V_s/\mu\text{L}$	标准不确定度分量	
	$u(\bar{V})/\mu\text{L}$	$u(V_s)/\mu\text{L}$
50	0.47	0.29
100	0.51	0.29
200	0.53	0.29

## E.5 合成标准不确定度

合成标准不确定度为

$$u_c(\Delta \bar{V}_a) = \sqrt{u^2(\bar{V}) + u^2(V_s)}$$

结果列于表 E.3。

## E.6 扩展不确定度

取包含因子  $k=2$ ，则扩展不确定度为

$$U = 2u_c(\Delta \bar{V}_a)$$

结果列于表 E.3。

表 E.3 合成标准不确定度和扩展不确定度

$V_s/\mu\text{L}$	$u_c(\Delta \bar{V}_a)/\mu\text{L}$	$U/\mu\text{L}$	包含因子 $k$
50	0.55	1.1	2
100	0.59	1.2	2
200	0.60	1.2	2

## 附录 F

### 核酸提取回收率校准结果不确定度评定示例

#### F. 1 测量模型

$$R = \lambda \times \frac{\bar{C}}{C_0} \times 100\% \quad (\text{F. 1})$$

$$\bar{C} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n C_i \quad (\text{F. 2})$$

式中：

$R$  ——核酸提取回收率；

$\bar{C}$  —— $n$  次测量浓度的平均值， $\text{ng}/\mu\text{L}$ ；

$C_0$  ——初始浓度， $\text{ng}/\mu\text{L}$ 。

#### F. 2 不确定度来源

核酸提取回收率校准结果不确定度主要来源为：

- a) 微量分光光度计测量重复性引入的不确定度；
- b) 标准物质量值引入的不确定度。

#### F. 3 标准不确定度分量的评定

##### F. 3.1 微量分光光度计测量重复性引入的标准不确定度 $u(\bar{C})$

选取标准溶液，提取后的样品进行混合均匀，然后用微量分光光度计测量 3 次，结果见表 F. 1，计算其实验标准偏差。

表 F. 1 微量分光光度计测量重复性引入不确定度数据  $\text{ng}/\mu\text{L}$

$C_i$			$\bar{C}$	$s$	$u(\bar{C})$
1	2	3			
35.08	35.16	35.06	35.1	0.053	0.031

根据测量结果计算：

$$s = \frac{C_{\max} - C_{\min}}{C_n} \quad (\text{F. 3})$$

$$u(\bar{C}) = \frac{s}{\sqrt{3}} \quad (\text{F. 4})$$

结果见表 F. 1。

##### F. 3.2 标准物质量值引入的标准不确定度 $u(C_0)$

高浓度样品选择国家有证标准物质（GBW 09802），浓度值为  $1\ 028\ \text{ng}/\mu\text{L}$ ，不确定度为  $u(C_0) = 1\ 028\ \text{ng}/\mu\text{L} \times 2.4\% = 24.67\ \text{ng}/\mu\text{L}$ 。

#### F. 4 合成标准不确定度

合成标准不确定度用公式 (F. 5) 计算

$$u_c(R) = \sqrt{u^2(\bar{C}) \times \left(\frac{\lambda}{C_0}\right)^2 + u^2(C_0) \times \left(-\frac{\lambda \bar{C}}{C_0^2}\right)^2} \quad (\text{F. 5})$$

结果列于表 F. 2。

#### F.5 扩展不确定度

取包含因子  $k=2$ ，则扩展不确定度为

$$U = 2u_c(R)$$

结果列于表 F. 2。

表 F.2 合成标准不确定度和扩展不确定度

项目	$u_c(R) / \%$	$U / \%$	包含因子 $k$
高浓度	0.89	1.9	2

## 附录 G

### 纯水密度表

表 G. 1 给出了纯水密度表。

表 G. 1 纯水密度表

温度/°C	密度/(g/cm <sup>3</sup> )	温度/°C	密度/(g/cm <sup>3</sup> )
10	0.999 699	21	0.997 991
11	0.999 605	22	0.997 769
12	0.999 497	23	0.997 537
13	0.999 377	24	0.997 295
14	0.999 244	25	0.997 043
15	0.999 099	26	0.996 782
16	0.998 943	27	0.996 511
17	0.998 774	28	0.996 231
18	0.998 595	29	0.995 943
19	0.998 404	30	0.995 645
20	0.998 203		