

JJF(浙)

浙江省地方计量技术规范

JJF(浙) XXXX—XXXX

微生物质谱快速鉴定系统校准规范

Calibration Specification for Mass Spectrometry Rapid Microorganism

Identification Systems

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

浙江省市场监督管理局 发布

微生物质谱快速鉴定系统 校准规范

Calibration Specification for Mass

Spectrometry Rapid Microorganism

Identification Systems

JJF (浙) XXXX—XXXX

归口单位：浙江省市场监督管理局

主要起草单位：

参加起草单位：

本规范委托宁波市计量测试研究院负责解释

本规范主要起草人：

参加起草人：

目 录

引言.....	(II)
1 范围.....	(1)
2 引用文件.....	(1)
3 术语.....	(1)
4 概述.....	(2)
5 计量特性.....	(2)
6 校准条件.....	(2)
6.1 环境条件.....	(2)
6.2 标准物质和校准设备.....	(2)
7 校准项目和校准方法.....	(3)
7.1 校准前准备.....	(3)
7.2 质量范围.....	(3)
7.3 质量准确度.....	(3)
7.4 信噪比.....	(4)
7.5 质量分辨率.....	(4)
7.6 质量重复性.....	(4)
7.7 质量稳定性.....	(5)
7.8 微生物鉴定准确度.....	(5)
8 校准结果的表达.....	(5)
9 复校时间间隔.....	(6)
附录 A 标准物质溶液配制及使用	(7)
附录 B 标准菌株的选择和使用.....	(9)
附录 C 校准原始记录参考格式.....	(12)
附录 D 校准证书(内页)参考格式.....	(14)
附录 E 仪器质量准确性校准结果的不确定度评定示例.....	(15)

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 JJF 1059.1-2012《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。

本规范为首次发布。

微生物质谱快速鉴定系统校准规范

1 范围

本规范适用于微生物质谱快速鉴定系统的校准。

2 引用文件

本规范引用了下列文件：

GB/T 32267-2015 分析仪器性能测定术语

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

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

3.1 质荷比 mass charge ratio [GB/T 32267-2015 4.6]

离子的质量(m)与它所带电荷数(z)的比值。

3.2 质量准确度 mass accuracy [GB/T 32267-2015 4.5]

质谱仪对离子质量的测量值与理论值之间的偏差。

3.3 质量分辨率 mass resolution [GB/T 32267-2015 4.15]

质谱仪分辨两个相邻质谱峰的质量差的能力。

3.4 信噪比 signal to noise ratio [GB/T 32267-2015 4.20]

质谱仪器被测样品信号强度 S 与基线噪声强度 N 的比值。

3.5 质量重复性 mass repeatability [YY/T 1740.2-2021 3.1.5]

在相同测试条件下，对相同待测物进行连续多次重复测量，得到质谱图中指定离子质荷比测量值的一致性。

3.6 质量稳定性 mass stability [GB/T 32267-2015 4.8]

质谱仪以标准物标定的质量标尺，在一段时间内，对指定离子质量测量值的变化。

4 概述

微生物质谱快速鉴定系统（以下简称鉴定系统）是一类用于微生物种属鉴定的基质辅助激光诱导解吸电离飞行时间质谱仪。其测量原理是将微生物样品经适当的处理，在固体培养基上培养、分离出单个菌落后，直接点样至靶板并将其放入基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱内，经离子化按照质量/电荷(m/z)比值大小分离，将采集的数据与微生物指纹图谱库对照鉴定。

微生物质谱快速鉴定系统主要由进样系统、离子源、质量分析器、检测器组成。

5 计量特性

鉴定系统的计量特性见表1。

表 1 鉴定系统的计量特性

序号	校准项目	技术指标
1	质量范围	涵盖 m/z 2000~20000
2	质量准确度	$\leq 5 \times 10^{-3}$
3	信噪比	≥ 10
4	质量分辨率	≥ 500
5	质量重复性	$\leq 0.02\%$
6	质量稳定性	不超过 $\pm 3 \times 10^{-3}$
7	微生物鉴定准确度	菌株的报告结果应与预期结果在种水平完全一致
注：以上指标不用于合格性判别，仅供参考。		

6 校准条件

6.1 环境条件

6.1.1 环境温度：(15~30) °C，校准过程中环境温度变化小于2 °C。

6.1.2 相对湿度： $\leq 80\%$ 。

6.1.3 附近无明显的机械振动和强电磁场及其他干扰源。

6.2 标准物质和校准设备

6.2.1 有证标准物质

使用经国家计量行政部门批准的有证标准物质。

6.2.1.1 胰蛋白酶抑制剂：扩展不确定度不大于 5（ $k=2$ ），细胞色素 C、马心肌红蛋白相对分子质量标准物质：扩展不确定度不大于 20（ $k=2$ ）。

6.2.1.2 胰岛素（人）纯度标准物质：相对扩展不确定度不大于 3%（ $k=2$ ）。

6.2.1.3 标准菌株：应选择可溯源至标准菌株库的标准菌株（应包括代表性的大肠埃希氏菌；若不适用，可选择鉴定系统数据库的其他标准菌株；详见附录 A）。

6.2.2 其他设备

6.2.2.1 移液器或移液管：10 μL 、200 μL 、1000 μL 。

6.2.2.2 容量瓶：A 级。

以上设备均需经过计量技术机构有效溯源。

7 校准项目和校准方法

7.1 校准前准备

鉴定系统经过开机预热、真空度满足要求，优化合适的质谱条件，确保系统工作状态正常。

7.2 质量范围

选取胰岛素（人）（双电荷 m/z 2908）、马心肌红蛋白标准物质（单电荷 m/z 16952），配制 10mg/mL 标准溶液，进行测试，获得并记录质谱数据，在质谱数据中得到的质荷比的最大值与最小值区间为质量范围。

7.3 质量准确度

选取胰蛋白酶抑制剂（单电荷 m/z 6512）、细胞色素 C（单电荷 m/z 12355）、马心肌红蛋白（单电荷 m/z 16952）相对分子质量标准物质，配制 10mg/mL 标准溶液，点靶在靶孔中进行测定，分别记录各个质谱峰的质荷比。每个质谱峰重复测定 3 次质荷比取其算术平均值，根据公式(1)计算各个质谱峰质荷比测量值与标准值之间的相对示值误差。

$$\Delta M_{r,i} = \frac{\overline{M_{m,i}} - M_{c,i}}{M_{c,i}} \quad (1)$$

式中：

$\Delta M_{r,i}$ ——第 i 个质谱峰质荷比测量值的相对示值误差；

$\overline{M_{m,i}}$ ——第 i 个质谱峰质荷比 3 次测量值的算术平均值;

$M_{c,i}$ ——第 i 个质谱峰质荷比的标准值。

7.4 信噪比

取 $1\mu\text{mol/L}$ 浓度的胰岛素（人）纯度标准物质溶液点靶进行测定，采集质谱峰（单电荷 m/z 5807、双电荷 m/z 2908），由数据处理软件读出信噪比，重复 3 次取其算术平均值。

注：数据处理软件不能直接读出信噪比，可根据公式(2)计算信噪比。

$$S = \frac{H}{H_n} \quad (2)$$

式中：

S ——信噪比；

H ——胰岛素（人）纯度标准物质双电荷或单电荷分子离子峰的信号强度；

H_n ——基线噪声信号强度。

7.5 质量分辨率

取 $1\mu\text{mol/L}$ 浓度的胰岛素（人）纯度标准物质溶液点靶进行测定，采集质谱峰（单电荷 m/z 5807、双电荷 m/z 2908），由数据处理软件读出质量分辨率，重复 3 次取其算术平均值。

注：数据处理软件不能直接读出质量分辨率，可根据公式(3)计算质量分辨率。

$$R = \frac{M}{W_{\frac{1}{2}}} \quad (3)$$

式中：

R ——质量分辨率；

M ——相对分子质量标准物质分子离子峰质荷比；

$W_{\frac{1}{2}}$ ——相对分子质量标准物质分子离子峰半峰宽。

7.6 质量重复性

选取细胞色素 C（单电荷 m/z 12355）相对分子质量标准物质，配制 10mg/mL 标准溶液，点靶在靶孔中进行测定，连续测量 6 次该质谱峰的质荷比，根据公式(4)计算质量重复性。

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

式中：

RSD ——相对标准偏差，以百分数表示；

M_i ——第 i 次质谱峰质荷比测量值；

$\bar{M}$ —— n 次质荷比测量值的算术平均值；

n ——测量次数， $n = 6$ 。

7.7 质量稳定性

选取细胞色素 C (单电荷 m/z 12355) 相对分子质量标准物质，配制 10mg/mL 标准溶液，点靶在靶孔中进行测定，记录相应质谱峰的质荷比，连续测量 3 次质荷比，取算术平均值。每隔 30min 重复一次上述测定过程，连续测量 3h，取各次测量结果中偏离初始值最大的测量值根据公式(5)计算质量稳定性。

$$\Delta S = \frac{\bar{M}_{\max} - \bar{M}_0}{\bar{M}_0} \quad (5)$$

式中：

ΔS ——质量稳定性；

$\bar{M}_{\max}$ ——质谱峰质荷比偏离初始值最大的三次测量值算术平均值；

$\bar{M}_0$ ——初始时质谱峰质荷比三次测量值的算术平均值。

7.8 微生物鉴定准确度

根据附录 B，选取标准菌株，点靶在靶孔中进行测定，数据采集完成后，选择鉴定系统提供的数据库，由数据处理软件读取鉴定结果。从每一株菌的结果中选择达到高可信度阈值的结果作为报告结果，高可信度阈值采纳各制造商产品说明书中的定义，同一株菌不应出现多个报告结果，每一株菌的报告结果应与预期结果在种水平完全一致。

8 校准结果的表达

校准结果应在校准证书上反映。校准证书应至少包括以下信息：

- a) 标题：“校准证书”；
- b) 实验室名称和地址；

- c) 进行校准的地点（如果与实验室的地址不同）；
- d) 证书的唯一性标识（如编号），每页及总页数的标识；
- e) 客户的名称和地址；
- f) 被校准对象的描述和明确标识；
- g) 进行校准的日期，如果与校准结果的有效性和应用有关时，应说明被校对象的接收日期；
- h) 如果与校准结果的有效性和应用相关时，应对被校样品的抽样程序进行说明；
- i) 校准所依据的技术规范的标识，包括名称及代号；
- j) 本次校准所使用测量标准的溯源性及有效性说明；
- k) 校准环境的描述；
- l) 校准结果及其测量不确定度的说明；
- m) 对校准规范的偏离的说明；
- n) 校准证书或校准报告签发人的签名、职务或等效标识；
- o) 校准结果仅对被校对象有效的声明；
- p) 未经实验室书面批准，不得部分复制证书的声明。

9 复校时间间隔

仪器的复校时间间隔建议不超过1年，送校单位可根据实际使用情况自主决定复校时间间隔。

附录A

标准物质溶液配制及使用

A.1 试剂

水为符合 GB/T6682 规定的一级水。

乙腈、三氟乙酸、 α -氰基-4-羟基肉桂酸：质谱级。

胰蛋白酶抑制剂：扩展不确定度不大于 5 ($k=2$)，细胞色素 C、马心肌红蛋白相对分子质量标准物质：扩展不确定度不大于 20 ($k=2$)。

胰岛素(人)纯度标准物质：相对扩展不确定度不大于 3% ($k=2$)。

A.2 校准设备

移液器或移液管：10 μL 、200 μL 、1000 μL 。

容量瓶：A 级。

以上设备均需经过计量技术机构有效溯源。

A.3 校准溶液的配制

用于质量范围、质量准确性、质量重复性、质量稳定性计量性能指标校准的溶液，用 50%乙腈:47.5%水:2.5%三氟乙酸溶液将相对分子质量标准物质配制成 10mg/mL 的溶液。

进行信噪比、质量分辨率指标校准时，用 50%乙腈:47.5%水:2.5%三氟乙酸溶液将胰岛素(人)纯度标准物质逐级稀释至 1 $\mu\text{mol/L}$ 。

示例：如 GBW09292 胰岛素（人）纯度标准物质，标准值为 0.859g/g，取 3mg 标准物质，用 50%乙腈:47.5%水:2.5%三氟乙酸溶液 300 μL 配制成 10mg/mL 的溶液（胰岛素（人）纯度标准物质质量浓度为 8.59mg/mL，其摩尔浓度为 1479 $\mu\text{mol/L}$ ），准确量取 68 μL 1479 $\mu\text{mol/L}$ 的胰岛素(人)溶液，用 50%乙腈:47.5%水:2.5%三氟乙酸溶液定容至 10mL 容量瓶，配制成 10.057 $\mu\text{mol/L}$ 的胰岛素（人）中间溶液；准确量取 1mL 10.057 $\mu\text{mol/L}$ 的胰岛素（人）中间溶液，用 50%乙腈:47.5%水:2.5%三氟乙酸溶液定容至 10mL 容量瓶，配制成 1 $\mu\text{mol/L}$ 的胰岛素（人）标准溶液。

A.4 校准溶液的使用

首先将 12mg α -氰基-4-羟基肉桂酸溶于 1mL 的 50%乙腈:47.5%水:2.5%三氟乙酸溶液中，配制成饱和溶液，离心取上清得到基质溶液；根据重复次数的要求，

每个重复取 1 μ L A.3 中配制的标准溶液点在 MALDI 靶的靶孔上，自然风干后，取 1 μ L 基质饱和溶液点在上一靶点待自然干燥后，送入离子源中进行测定。

附录B

标准菌株的选择及使用

B.1 标准菌株的选择

按用户需求从临床领域代表性的标准菌株选择 8 种菌株或从非临床领域代表性标准菌株中选择 8 种菌株，或两个领域标准菌株各选择 8 种菌株，进行微生物鉴定准确性测定。

表 B.1 标准菌株选择方案

临床领域代表性的标准菌株		
分类	名称	菌种号
革兰氏阴性细菌	大肠埃希氏(<i>Escherichia coli</i>)	ATCC 25922或 CICC 25268
	铜绿假单胞菌(<i>Pseudomonas aeruginosa</i>)	ATCC 27853或 CICC 24922
革兰氏阳性细菌	金黄色葡萄球菌(<i>Staphylococcus aureus</i>)	ATCC 25923或 CICC 21600
	肺炎链球菌(<i>Streptococcus pneumoniae</i>)	ATCC 49619或 CICC 24947
厌氧菌	脆弱拟杆菌(<i>Bacteroides fragilis</i>)	ATCC 25285或 CICC 24309
分枝杆菌	脓肿分枝杆菌(<i>Mycobacterium abscessus</i>)	ATCC 19977或 CICC 10381
酵母类真菌	白色假丝酵母(<i>Candida albicans</i>)	ATCC 10231或 CICC 1965
丝状真菌	烟曲霉(<i>Aspergillus fumigatus</i>)	ATCC 96918或 CICC 40232
非临床领域代表性的标准菌株		
分类	名称	菌种号
革兰氏阴性菌	肠沙门氏菌肠亚种婴儿血清型(<i>Salmonella enterica subsp. arizonae</i>)	ATCC 14028或 CICC 21482
	肠沙门氏菌亚利桑那亚种(<i>Salmonella enterica subsp. arizonae</i>)	CICC 21506
	副溶血性弧菌(<i>Vibrio parahaemolyticus</i>)	ATCC 17802或 CICC 21617
	溶藻弧菌(<i>Vibrio alginolyticus</i>)	CICC 10889
革兰氏阳性菌	枯草芽孢杆菌(<i>Bacillus subtilis</i>)	ATCC 23857-168或 CICC 10275
	蜡样芽孢杆菌(<i>Bacillus cereus</i>)	CICC 21261
厌氧菌	产气荚膜梭菌(<i>Clostridium perfringens</i>)	ATCC 13124或 CICC 22949
	动物双歧杆菌(<i>Bifidobacterium animalis</i>)	ATCC 25527或 CICC 6165
微需氧菌	空肠弯曲菌(<i>Campylobacter jejuni</i>)	ATCC 33291或 CICC 22936
	结肠弯曲菌(<i>Campylobacter coli</i>)	CICC 23925

酵母类真菌	酿酒酵母(<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	ATCC 9763或 CICC 1406
	异常毕赤酵母(<i>Pichia anomala</i>)	CICC 1716
丝状真菌	黑曲霉(<i>Aspergillus niger</i>)	ATCC 20611或 CICC 2487
	黄曲霉(<i>Aspergillus flavus</i>)	CICC 40191
校准菌株	大肠埃希氏(<i>Escherichia coli</i>)	ATCC 8739或 CICC 10302

B.2 标准菌株的使用

B.2.1 菌株培养

将标准菌株接种于非选择性培养基（如TSA、血琼脂平板），在适宜温度下培养（18~24）小时，获取新鲜单菌落（培养时间过长会导致菌龄老化，影响蛋白图谱质量）。

B.2.2 挑取菌落

使用无菌接种环挑取单个菌落。注意避免挑取琼脂，以免影响激光电离效率。

B.2.3 样品前处理

根据菌株类型选择合适的处理方法。革兰氏阴性菌通常使用直接法或扩展法；革兰氏阳性菌、酵母样真菌或难以裂解的菌株则建议使用甲酸提取法。

表 B.2 三种前处理方法

方法	适用场景	操作流程	特点
直接转移法	革兰氏阴性菌（如大肠埃希菌）	将菌落薄而均匀地涂布在靶板孔位，覆盖 1μL 基质溶液，室温风干。	最快，但可能因蛋白提取不充分导致部分菌鉴定失败。
扩展转移法/靶上提取法	革兰氏阴性菌、部分阳性菌	涂布菌落，滴加 1μL 70%甲酸-水溶液，风干，滴加 1μL 基质溶液，风干。	利用甲酸进行原位裂解，提高鉴定率，操作简便。
甲酸提取法	革兰氏阳性菌、分枝杆菌、真菌	将菌体加入含 300μL 纯水的离心管中，加入 900μL 无水乙醇，离心去上清，沉淀干燥后加入 20 μL~50 μL 70%甲酸-水溶液，加入等体积乙腈混匀，离心取 1μL 上清液点样，加基质溶液。	最复杂，但能有效提取胞内蛋白，结果最可靠，具有生物安全性

B.2.4 数据采集与鉴定

- (1)上机检测：将干燥后的靶板送入质谱仪真空腔。
- (2)采集谱图：软件自动发射激光照射样品，基质吸收能量后使样品离子化，检测器记录不同质荷比的蛋白峰，形成指纹图谱。
- (3)数据库比对：软件将生成的图谱与数据库中的标准菌株图谱进行比对。

附录 C

校准原始记录参考格式

证书编号：

原始记录编号：

送校单位：		仪器名称：		制造厂：	
仪器型号：		仪器编号：		校准依据：	
环境温度：℃		相对湿度：%			
校准日期：		校准员：		核验员：	
校准用测量标准及其他设备：					
名称	型号规格	证书编号	不确定度/最大允许 误差	溯源机 构	有效期
1.质量范围					
质荷比最小值		质荷比最大值			
2.质量准确度					
标准物质名称	质荷比测量值	算术平均值		相对示值误差	
胰蛋白酶抑制剂					
细胞色素C					
马心肌红蛋白					
质量准确度校准结果的扩展不确定度 ($k=2$)					
3.信噪比					
标准物质	信噪比	算术平均值			
胰岛素(人)纯度标准物质					

4.质量分辨率								
标准物质		分辨率		算术平均值				
胰岛素(人)纯度标准物质								
5.质量重复性								
标准物质	质荷比测量值						算术平 均值	RSD (%)
6.质量稳定性								
	初始值	30min	1h	1h30min	2h	2h30min	3h	稳定性
质荷比三次 测量值的算 术平均值								
7.微生物鉴定准确度								
菌株的报告结果				微生物鉴定准确性 (与预期结果在种水平是否完全一致)				

附录 D

校准证书（内页）参考格式

环境温度： °C 相对环境湿度： %

序号	校准项目	校准结果
1	质量范围	校准结果： _____
2	质量准确度	校准结果： _____； 扩展不确定度： _____ ($k=2$)
3	信噪比	校准结果： _____
4	质量分辨率	校准结果： _____
5	质量重复性	校准结果： _____
6	质量稳定性	校准结果： _____
7	微生物鉴定准确度	校准结果： _____

附录 E

鉴定系统质量准确度校准结果的不确定度评定示例

E.1 概述

E.1.1 环境条件：环境温度(15~30)℃，相对湿度：≤80%。

E.1.2 计量标准：相对分子质量标准物质：GBW(E)100153 细胞色素 C 相对分子质量标准物质，标准值 12362，扩展不确定度 16 ($k=2$)。

E.1.3 测量方法

选取相对分子质量标准物质点靶在靶板的靶孔中进行测定，分别记录各个质谱峰的质荷比。每个质谱峰重复测定3次质荷比取其算术平均值，计算各个质谱峰质荷比测量值与标准值之间的相对示值误差，并对质量准确度校准结果的不确定度进行评定。

E.2 测量模型及不确定度计算公式

E.2.1 建立测量模型

根据微生物质谱快速鉴定系统校准规范，质量准确性按式(E.1)计算。

$$\Delta M_{r,i} = \frac{\overline{M_{m,i}} - M_{c,i}}{M_{c,i}} \quad (\text{E.1})$$

式中：

$\Delta M_{r,i}$ ——第 i 个质谱峰质荷比测量值的相对示值误差；

$\overline{M_{m,i}}$ ——第 i 个质谱峰质荷比 3 次测量值的算术平均值；

$M_{c,i}$ ——第 i 个质谱峰质荷比的标准值。

E.2.2 不确定度计算公式

由式(E.1)可以看出鉴定系统示值误差测量不确定度来源于：仪器测量结果引入的不确定度分量和标准物质的标准值引入的不确定度分量。因各输入量相互独立，则由式(E.1)可得到质量准确性校准结果的不确定度计算公式(E.2)。

$$u_c(\Delta M_{r,i}) = \sqrt{c_1^2 u^2(\overline{M_{m,i}}) + c_2^2 u^2(M_{c,i})} \quad (\text{E.2})$$

$$\text{灵敏系数为: } c_1 = \frac{\partial \Delta M_{r,i}}{\partial \overline{M_{m,i}}} = \frac{1}{\overline{M_{m,i}}}; \quad c_2 = \frac{\partial \Delta M_{r,i}}{\partial M_{c,i}} = -\frac{\overline{M_{m,i}}}{M_{c,i}^2}$$

E.3 标准不确定度的评定

E.3.1 仪器测量结果引入的标准不确定度 $\overline{M_{m,i}}$

仪器测量结果引入的标准不确定度来源有两个：一是测量重复性引入的不确定度分量，二是读数分辨率引入的不确定度分量。测量重复性和分辨率引入的标准不确定度取较大值作为仪器测量结果引入的标准不确定度。

E.3.1.1 测量重复性引入的标准不确定度 $u_1(\overline{M_{m,i}})$

选取相对分子质量标准物质进行测量，连续测量 10 次，测量结果见表 E.1，由式(E.3)计算标准偏差。实际测量时，在重复条件下连续测量 3 次，以 3 次测量的算术平均值作为测量结果，由式(E.4)计算重复性引入的标准不确定度 $u_1(\overline{M_{m,i}})$ 。标准不确定度 $u_1(\overline{M_{m,i}})$ 计算结果见表 E.1。

表 E.1 测量数据

标准值	测量值									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
12362	12354.9125	12355.5339	12355.3131	12356.0035	12355.7839	12355.2734	12354.7703	12355.8940	12356.6632	12355.8239

实验标准偏差：

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (M_{m,i} - \overline{M_{m,i}})^2}{n-1}} \quad (\text{E.3})$$

实际测量中，以 3 次测量的算术平均值作为测量结果，则：

$$u_1(\overline{M_{m,i}}) = \frac{s}{\sqrt{3}} \quad (\text{E.4})$$

表 E.2 标准不确定度 $u_1(\overline{M_{m,i}})$ 计算结果

标准值	测量平均值	标准偏差 s	标准不确定度 $u_1(\overline{M_{m,i}})$
12362	12355.5972	0.531	0.307

E.3.1.2 分辨率引入的标准不确定度 $u_2(\overline{M_{m,i}})$

仪器示值分辨率为 0.0001，假设其为均匀分布，取 $k=\sqrt{3}$ ，则：

$$u_2(\overline{M_{m,i}}) = \frac{0.0001}{2 \times \sqrt{3}} = 0.00003 \quad (\text{E.5})$$

由于 $u_1(\overline{M_{m,i}})$ 大于 $u_2(\overline{M_{m,i}})$ ，因此取测量重复性引入的标准不确定度。

E.3.2 标准物质标准值引入的标准不确定度 $u(M_{c,i})$

由标准物质证书可查到, GBW(E)100153 细胞色素 C 相对分子质量标准物质, 标准值 12362, 扩展不确定度 16, $k=2$, 则:

表 E.3 标准不确定度 $u(M_{c,i})$ 计算结果

标准值	标准不确定度 $u(M_{c,i})$
12362	8

E.4 不确定度分量汇总表

各不确定度分量汇总于表 E.4。

表 E.4 不确定度分量汇总表

标准值	不确定度来源		标准不确定度	灵敏系数	不确定度分量
12362	仪器测量结果引入的标准不确定度 $u(\overline{M_{m,i}})$	测量重复性引入的不确定度 $u_1(\overline{M_{m,i}})$	0.307	8.09×10^{-5}	2.5×10^{-5}
		读数分辨率引入的不确定度分量 $u_2(\overline{M_{m,i}})$	0.00003 (舍去)	/	/
	标准物质标准值引入的不确定度 $u(M_{c,i})$		8	8.09×10^{-5}	5.5×10^{-4}

E.5 合成标准不确定度

由式(E.2)可以计算合成标准不确定度为:

$$\text{标准值 12362: } u_c(\Delta M_{r,i}) = \sqrt{c_1^2 u^2(\overline{M_{m,i}}) + c_2^2 u^2(M_{c,i})} \approx 5.6 \times 10^{-4}$$

E.6 扩展不确定度

取包含因子 $k=2$, 仪器质量准确性校准结果的扩展不确定度为:

$$\text{标准值 12362: } U = k \times u(\Delta M_{r,i}) \approx 1.2 \times 10^{-3}$$

JJF(浙) XXXX-XXXX