

河北省地方计量技术规范

JJF (冀) XXXX—XXXX

自动移液工作站校准规范

Calibration Specification for automatic
pipetting workstation

(报批稿)

202X - XX - XX 发布

202X - XX - XX 实施

河北省市场监督管理局 发布

自动移液工作站校准规范

Calibration Specification for automatic
pipetting workstation

JJF (冀) XXX—XXXX

归口单位：河北省市场监督管理局

起草单位：河北省计量监督检测研究院

本规范委托河北省计量监督检测研究院负责解释

本规范主要起草人：

白月霞（河北省计量监督检测研究院）

何红梅（河北省计量监督检测研究院）

王 龙（河北省计量监督检测研究院）

参加起草人：

王 婧（河北省计量监督检测研究院）

董晓静（河北省计量监督检测研究院）

殷晓菁（河北省计量监督检测研究院）

目 录

引 言	II
1 范围	1
2 引用文件	1
3 术语和计量单位	1
3.1 术语	1
3.2 计量单位	1
4 概述	1
5 计量特性	2
6 校准条件	3
6.1 环境条件	3
6.2 校准介质	3
6.3 测量标准及其他设备	3
7 校准项目和校准方法	3
7.1 校准前的准备	3
7.2 示值误差	4
7.3 重复性	4
7.4 数据处理	5
8 校准结果表达	6
9 复校时间间隔	7
附录 A $K(t)$ 值表	8
附录 B 自动移液工作站校准记录参考格式	9
附录 C 校准证书(内页)参考格式	11
附录 D 实际容量测量结果的不确定度评定示例	12

引言

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》和 JJF 1071《国家计量校准规范编写规则》共同构成支撑本规范的基础性系列规范。

本规范为首次发布。

自动移液工作站校准规范

1 范围

本规范适用于测量范围（0.5~1000） μL 自动移液工作站的校准。

2 引用文件

本规范引用了下列文件：

JJG 196 常用玻璃量器

JJG 646 移液器

GB/T 6682 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 术语

3.1.1 单道自动移液工作站 Single-channel automatic pipetting workstation

具有一定的量程范围，将液体通过单通道移液装置移到需要测量的容器里，实现自动吸液，连续测量不间断的计量器具。

3.1.2 多道自动移液工作站 Multi-channel automatic pipetting workstation

具有一定的量程范围，将液体通过多通道移液装置移到需要测量的容器里，实现自动吸液，连续测量不间断的计量器具。

3.2 计量单位

自动移液工作站的计量单位为微升或毫升，符号为 μL 或 mL 。

4 概述

自动移液工作站可分为单道自动移液工作站和多道自动移液工作站，可更换不同量程吸头，充分满足 PCR、核酸提取、蛋白质纯化、酶免装置等实验要求，可调节吸喷高度，可实现高强度不间断测试，连接软件，实现数据文档的传输。

自动移液工作站通常由工作平台、液体分配装置、控制系统和数据处理系统四大部分组成。其中，工作平台是最基本的部分，用于容纳反应器、试管、微孔板等实验物品。

液体分配装置则是完成移液操作的核心部分，一般包括吸头、气泵、电磁阀、机械臂等组件，能够实现不同精度和容量的移液操作。控制系统，用于实现工作站的自动化控制和监控。数据处理系统负责处理和记录实验数据。自动移液工作站结构示意图见图 1。

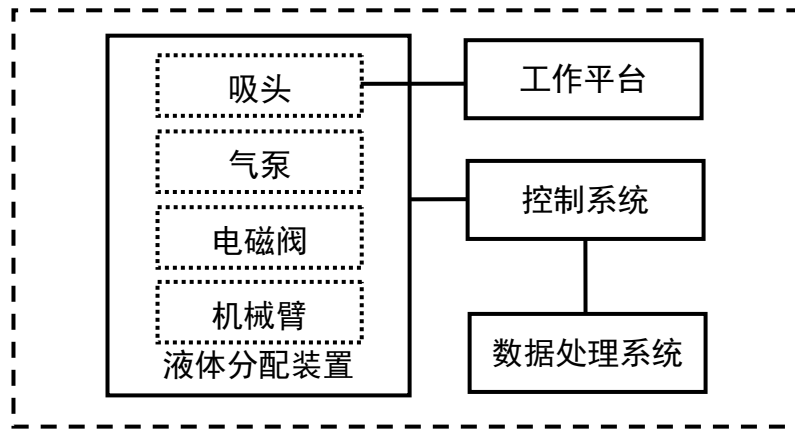


图 1 自动移液工作站结构示意图

5 计量特性

自动移液工作站计量特性见表 1。

表 1 计量特性

校准点/ μL	容量允许误差/%	测量重复性/%
5	± 10.0	≤ 4.0
10	± 8.0	≤ 4.0
30	± 6.0	≤ 2.0
50	± 5.0	≤ 1.5
90	± 3.0	≤ 1.0
100	± 2.0	≤ 1.0
120	± 2.0	≤ 1.0
180	± 1.5	≤ 1.0
200	± 1.5	≤ 1.0
300	± 1.5	≤ 1.0
500	± 1.0	≤ 0.5
1000	± 1.0	≤ 0.5

注：以上性能要求不用于合格性判据，仅供参考。

6 校准条件

6.1 环境条件

6.1.1 环境温度：(20±5)℃，且变化不得大于1℃/h。

6.1.2 相对湿度：30%~80%，且变化不大于10%/h。

6.1.3 实验室内应避光、防热，无强的电磁场干扰，无强的机械振动。

6.2 校准介质

校准介质为符合 GB/T 6682 《分析实验室用水规格和试验方法》要求的蒸馏水或者去离子水，介质温度与实验室温度相差不大于2℃。

6.3 测量标准及其他设备

6.3.1 测量标准

校准时所用的测量标准为电子天平和温度计。测量标准见表2。

表2 测量标准

测量标准名称	技术要求		
	实际分度值	准确度等级	V 为被校自动移液工作站的适用标称容量范围
电子天平	0.01 mg	Ⓡ	$5 \mu\text{L} \leq V \leq 200 \mu\text{L}$
电子天平	0.1 mg	Ⓡ	$200 \mu\text{L} < V \leq 1000 \mu\text{L}$
温度计	测量范围：(0~30)℃，分度值为0.1℃		
注：可根据被校自动移液工作站的适用标称容量范围选取相应量程的电子天平，电子天平的扩展不确定度应小于被校自动移液工作站校准点最大允许误差的三分之一。			

6.3.2 其他设备

微底板、带盖称量容器（带盖称量杯、离心管）和滤纸等辅助设备。

7 校准项目和校准方法

7.1 校准前的准备

7.1.1 提前24 h 将校准介质放置到实验室内，使其温度与环境温度相差不大于2℃。

7.1.2 在被校自动移液工作站的吸头连接部件处安装配套吸头，使其紧密结合，确保安装牢固，无松动。

7.1.3 电子天平在长时间断电后，必须在操作前预热最少1 h，以便使天平建立热平衡。

7.2 示值误差

7.2.1 单道自动移液工作站的校准

在量程范围内至少选取三个校准点（量程低、中、高），每个校准点重复测量三次。

(1) 将带盖称量容器放入电子天平秤盘中，待天平显示稳定后，按下去皮键使电子天平复零。

(2) 将被校自动移液工作站的容量设定为校准点。

(3) 启动单道自动移液工作站进行吸液，吸液嘴应浸入校准介质液面下 1mm~2mm 处，吸头移出液面时应确保吸头外无液体。

(4) 从电子天平中取出带盖称量容器，将吸头移取的校准介质排入称量杯。

(5) 将带盖称量容器放入电子天平秤盘上，稳定后记录此时电子天平的示值，同时测量并记录校准介质的温度。

(6) 重复执行步骤(1)~(5)，完成 3 次校准。

(7) 在 3 次校准过程中，吸头如无残留液体则不允许更换。

7.2.2 多道自动移液工作站的校准

对全部通道进行校准，在量程范围内至少选取三个校准点（量程低、中、高），每个校准点重复测量三次。

(1) 多道自动移液工作站的校准操作步骤与单自动移液工作站相同。

(2) 将一组称量容器放入多道微底板中，每次对单排或单列进行校准，然后逐排或逐列进行，直至完成全部通道的校准。

(3) 多道自动移液工作站在安装吸头时应注意保证每个通道的密合性，每个通道的液体需同时排液到对应的已编号且称量过质量的带盖称量容器中，并分别记录每个通道的示值结果。

(4) 执行 7.2.1 条第(1)~(7)条校准步骤。

7.3 重复性

单道自动移液工作站，按条款 7.2.1 条第(1)~(5)条校准步骤，对每个校准点分别重复测量六次。

多道自动移液工作站，任意选取一个通道，按条款 7.2.2 校准步骤，对每个校准点分别重复测量六次。

7.4 数据处理

7.4.1 自动移液工作站实际容量计算

将执行条款 7.2.1、条款 7.2.2 和条款 7.3 操作所测得的质量值和校准介质的温度值分别代入下式，即可求得自动移液工作站在标准温度 20 °C 时的实际容量值。

$$V_{20} = \frac{m (\rho_B - \rho_A)}{\rho_B (\rho_W - \rho_A)} [1 + \beta (20 - t)] \quad (1)$$

式中：

V_{20} ——标准温度 20 °C 时的自动移液工作站的实际容量， μL ；

m ——被校自动移液工作站所排出的水表观质量， mg ；

ρ_B ——砝码密度，取 8.00 g/cm^3 ；

ρ_A ——校准时实验室内的空气密度，取 0.0012 g/cm^3 ；

ρ_W ——校准时水在 t °C 时的密度， g/cm^3 ；

β ——被校自动移液工作站的体胀系数，取 $4.5 \times 10^{-4} / ^\circ\text{C}$ ；

t ——校准时水的温度， $^\circ\text{C}$ 。

为简便计算过程，也可将式 (1) 化为下列形式：

$$V_{20} = m \cdot K(t) \quad (2)$$

其中：

$$K(t) = \frac{(\rho_B - \rho_A)}{\rho_B (\rho_W - \rho_A)} [1 + \beta (20 - t)] \quad (3)$$

$K(t)$ 值列于附录 A 中。这样根据测定值 m 和校准时蒸馏水的温度 t 所对应的 $K(t)$ 值，即可求出被校准自动移液工作站在标准温度 20 °C 时的实际容量值。

7.4.2 自动移液工作站的容量相对误差计算

$$E = \frac{V - \bar{V}}{\bar{V}} \times 100 \% \quad (4)$$

式中：

E ——容量相对误差，%

V ——校准点标称容量， μL ；

\bar{V} ——三次测量结果的算术平均值， μL 。

7.4.3 自动移液工作站的容量重复性计算

$$\sigma_{n-1} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n v_i^2}{n-1}} \quad (5)$$

$$S = \frac{\sigma_{n-1}}{V} \times 100\% \quad (6)$$

式中：

σ_{n-1} ——标准偏差， μL ；

n ——校准次数；

v_i ——单次测量值与被测量的平均值之差， μL ；

S ——测量重复性，%。

8 校准结果表达

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) 证书或报告的唯一性标识（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有关时，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) 对校准规范偏离的说明；
- n) 校准证书签发人的签名、职务或等效标识以及签发日期；

- 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, 不得部分复制证书或报告的声明。

9 复校时间间隔

仪器复校时间间隔建议为 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。当仪器更换了配件及修理后, 或对仪器检测数据有怀疑时, 应及时校准。

附录 A

 $K(t)$ 值表 $(\beta=0.00045/^\circ\text{C})$

水温/ $^\circ\text{C}$	$K(t) / (\text{cm}^3/\text{g})$	水温/ $^\circ\text{C}$	$K(t) / (\text{cm}^3/\text{g})$	水温/ $^\circ\text{C}$	$K(t) / (\text{cm}^3/\text{g})$
15.0	1.004213	18.4	1.003261	21.8	1.002436
15.1	1.004183	18.5	1.003235	21.9	1.002414
15.2	1.004153	18.6	1.003209	22.0	1.002391
15.3	1.004123	18.7	1.003184	22.1	1.002369
15.4	1.004094	18.8	1.003158	22.2	1.002347
15.5	1.004064	18.9	1.003132	22.3	1.002325
15.6	1.004035	19.0	1.003107	22.4	1.002303
15.7	1.004006	19.1	1.003082	22.5	1.002281
15.8	1.003977	19.2	1.003056	22.6	1.002259
15.9	1.003948	19.3	1.003031	22.7	1.002238
16.0	1.003919	19.4	1.003006	22.8	1.002216
16.1	1.003890	19.5	1.002981	22.9	1.002195
16.2	1.003862	19.6	1.002956	23.0	1.002173
16.3	1.003833	19.7	1.002931	23.1	1.002152
16.4	1.003805	19.8	1.002907	23.2	1.002131
16.5	1.003777	19.9	1.002882	23.3	1.002110
16.6	1.003749	20.0	1.002858	23.4	1.002089
16.7	1.003721	20.1	1.002834	23.5	1.002068
16.8	1.003693	20.2	1.002809	23.6	1.002047
16.9	1.003665	20.3	1.002785	23.7	1.002026
17.0	1.003637	20.4	1.002761	23.8	1.002006
17.1	1.003610	20.5	1.002737	23.9	1.001985
17.2	1.003582	20.6	1.002714	24.0	1.001965
17.3	1.003555	20.7	1.002690	24.1	1.001945
17.4	1.003528	20.8	1.002666	24.2	1.001924
17.5	1.003501	20.9	1.002643	24.3	1.001904
17.6	1.003474	21.0	1.002619	24.4	1.001884
17.7	1.003447	21.1	1.002596	24.5	1.001864
17.8	1.003420	21.2	1.002573	24.6	1.001845
17.9	1.003393	21.3	1.002550	24.7	1.001825
18.0	1.003367	21.4	1.002527	24.8	1.001805
18.1	1.003340	21.5	1.002504	24.9	1.001786
18.2	1.003314	21.6	1.002481	25.0	1.001766
18.3	1.003288	21.7	1.002459	—	—

附录 B

自动移液工作站校准记录参考格式

客户名称		证书编号	
客户地址		仪器量程	
仪器名称		仪器型号	
生产厂家		出厂编号	
校准依据		温(湿)度	°C %RH
校准地点		大气压	kPa

标准器名称	规格型号	测量范围	出厂编号	不确定度/准确度等级/最大允许误差	溯源证书编号	有效期至	上级溯源机构名称

一、校准前的准备：_____

二、示值误差：

通道位置	校准点/ μL	水温/ $^{\circ}\text{C}$	质量值/ mg	$K(t)$ 值	V_{20} 时实际容量/ μL	容量平均值/ μL	校准结果	
							容量误差/%	不确定度
X1								
X2								

(续)

通道位置	校准点/ μL	水温/ $^{\circ}\text{C}$	质量值/ mg	$K(t)$ 值	V_{20} 时实际容量/ μL	容量平均值/ μL	校准结果	
							容量误差/%	不确定度
X3								
...								

三、重复性:

通道位置	校准点/ μL	水温/ $^{\circ}\text{C}$	质量值/ mg	$K(t)$ 值	V_{20} 时实际容量/ μL	容量平均值/ μL	重复性/%	

附录 C

校准证书(内页)参考格式

校准结果

校准项目	通道位置	校准点/ μL	容量误差/%	测量结果的不确定度	
示值误差					
	重复性				

附录 D

实际容量测量结果的不确定度评定示例

D.1 概述

D.1.1 测量方法：依据本规范中的规定。

D.1.2 被校仪器：自动移液工作站。

D.1.3 测量标准：电子天平（0.01 mg/120 g）；温度计：测量范围：（0~30）℃，分度值为 0.1℃。

D.1.4 环境条件：环境温度：20.3℃，相对湿度：32%。

D.2 测量模型

$$V_{20} = \frac{m (\rho_B - \rho_A)}{\rho_B (\rho_W - \rho_A)} [1 + \beta (20 - t)] \quad (\text{D.1})$$

式中：

V_{20} ——标准温度 20℃时的自动移液工作站的实际容量， μL ；

m ——被校自动移液工作站所排出的水表观质量，mg；

ρ_B ——砝码密度，取 8.00 g/cm³；

ρ_A ——校准时实验室内的空气密度，取 0.0012 g/cm³；

ρ_W ——校准时水在 t ℃时的密度，g/cm³；

β ——被校自动移液工作站的体胀系数，取 $4.5 \times 10^{-4}/\text{℃}$ ；

t ——校准时水的温度，℃。

D.2.1 方差

$$[u_c(V)]^2 = u[V]^2 + c_1^2 [u(m)]^2 + c_2^2 [u(\rho_B)]^2 + c_3^2 [u(\rho_A)]^2 + c_4^2 [u(\rho_W)]^2 + c_5^2 [u(\beta)]^2 + c_6^2 [u(t)]^2 \quad (\text{D.2})$$

D.2.2 灵敏系数

取 $m=0.11960\text{ g}$ ， $\rho_A=0.0012\text{ g/cm}^3$ ， $\rho_B=8.00\text{ g/cm}^3$ ， $\rho_W=0.99820\text{ g/cm}^3$ ， $\beta=4.5 \times 10^{-4}/\text{℃}$ ， $t=20.0\text{ ℃}$ ，带入公式并计算得：

$$c_1 = \frac{\partial V}{\partial m} = \frac{\rho_B - \rho_A}{\rho_B (\rho_W - \rho_A)} \times [1 + \beta(20 - t)] = 1.003\text{ cm}^3/\text{g}$$

$$c_2 = \frac{\partial V}{\partial \rho_B} = \frac{m\rho_A}{\rho_B^2(\rho_W - \rho_A)} \times [1 + \beta(20 - t)] = 2.25 \times 10^{-6} \text{ cm}^6/\text{g}$$

$$c_3 = \frac{\partial V}{\partial \rho_A} = \frac{m(\rho_B - \rho_W)}{\rho_B(\rho_W - \rho_A)^2} \times [1 + \beta(20 - t)] = 0.105 \text{ cm}^6/\text{g}$$

$$c_4 = \frac{\partial V}{\partial \rho_W} = -\frac{m(\rho_B - \rho_A)}{\rho_B(\rho_W - \rho_A)^2} \times [1 + \beta(20 - t)] = -0.120 \text{ cm}^6/\text{g}$$

$$c_5 = \frac{\partial V}{\partial \beta} = \frac{m(\rho_B - \rho_A)}{\rho_B(\rho_W - \rho_A)} \times (20 - t) = 0.0 \text{ cm}^3 \cdot ^\circ\text{C}$$

$$c_6 = \frac{\partial V}{\partial t} = -\frac{m(\rho_B - \rho_A)}{\rho_B(\rho_W - \rho_A)} \times \beta = -5.40 \times 10^{-5} \text{ cm}^3 \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$$

D.3 标准不确定度分量评定

(1) 容量测量重复性引入的不确定度

对于自动移液工作站的 120 μL 点测量 6 次, 使用 0.01mg/120g 电子天平测量得到结果 (mL) 0.11965、0.11960、0.11958、0.11946、0.11939、0.11950。属于 A 类标准不确定度, 根据贝塞尔公式计算其实验标准差为 $s=9.7 \times 10^{-5}$ mL, $n=6$, 则:

$$u(V) = 9.7 \times 10^{-5} / \sqrt{6} = 3.96 \times 10^{-5} \text{ mL}$$

(2) 电子天平引入的不确定度

校准使用的电子天平, 其最大允许误差为 ± 0.15 mg, 服从均匀分布, 则电子天平引入的不确定度:

$$u(m) = 1.5 \times 10^{-4} / \sqrt{3} = 8.66 \times 10^{-5} \text{ g}$$

(3) 砝码密度引入的不确定度

砝码密度测量结果的不确定度为 $U=0.14 \text{ g/cm}^3$ ($k=2$) 则:

$$u(\rho_B) = 0.14/2 = 0.07 \text{ g/cm}^3$$

(4) 空气密度引入的不确定度

按照 CIPM 推荐使用的空气密度计算公式, 分析计算得到的空气密度引入的不确定度分量为:

$$u(\rho_A) = 6.7 \times 10^{-7} \text{ g/cm}^3$$

(5) 水密度测量引起的不确定度

校准介质为去离子水, 其允许误差为 $\pm 5 \times 10^{-5} \text{ g/cm}^3$, 服从均匀分布, 则:

$$u(\rho_w) = 5 \times 10^{-5} / \sqrt{3} = 2.89 \times 10^{-5} \text{ g/cm}^3$$

(6) 体胀系数引入的不确定度

自动移液工作站的体胀系数为 $4.5 \times 10^{-4} / ^\circ\text{C}$ ，根据经验值得到：

$$u(\beta) = 1.0 \times 10^{-6} / ^\circ\text{C}$$

(7) 水温度测量引入的不确定度

水温的测量使用温度计，分度值为 $0.1 ^\circ\text{C}$ ，最大允许误差为 $\pm 0.2 ^\circ\text{C}$ ，服从均匀分布，则：

$$u(t) = 0.2 / \sqrt{3} = 0.1155 ^\circ\text{C}$$

表 D.1 标准不确定度分量汇总表

标准不确定度分量 $u(x_i)$	不确定度来源	标准不确定度值 $u(x_i)$	灵敏系数 $c_i = \frac{\partial V}{\partial x_i}$	$ c_i \times u(x_i) / \text{mL}$
$u(v_i)$	容量测量重复性	$3.96 \times 10^{-5} \text{ mL}$	1	3.96×10^{-5}
$u(m)$	天平的准确度	$8.66 \times 10^{-5} \text{ g}$	$1.003 \text{ cm}^3/\text{g}$	8.69×10^{-5}
$u(\rho_B)$	砝码密度	0.07 g/cm^3	$2.25 \times 10^{-6} \text{ cm}^6/\text{g}$	1.58×10^{-7}
$u(\rho_A)$	空气密度	$6.7 \times 10^{-7} \text{ g/cm}^3$	$0.105 \text{ cm}^6/\text{g}$	7.04×10^{-8}
$u(\rho_w)$	水密度测量	$2.89 \times 10^{-5} \text{ g/cm}^3$	$-0.120 \text{ cm}^6/\text{g}$	3.47×10^{-6}
$u(\beta)$	体胀系数	$1.0 \times 10^{-6} / ^\circ\text{C}^{-1}$	$0.0 \text{ cm}^3 \cdot ^\circ\text{C}$	0.00
$u(t)$	水温度测量	$0.1155 ^\circ\text{C}$	$-5.40 \times 10^{-5} \text{ cm}^3 \cdot ^\circ\text{C}^{-1}$	6.24×10^{-6}

D.4 合成标准不确定度

$$[u_c(V)]^2 = u[V]^2 + c_1^2 [u(m)]^2 + c_2^2 [u(\rho_B)]^2 + c_3^2 [u(\rho_A)]^2 + c_4^2 [u(\rho_w)]^2 + c_5^2 [u(\beta)]^2 + c_6^2 [u(t)]^2$$

$$u_c = 9.6 \times 10^{-5} \text{ mL} = 0.096 \mu\text{L}$$

D.5 扩展不确定度

取包含因子 $k=2$ ，自动移液工作站校准点 $120 \mu\text{L}$ 测量结果的扩展不确定度为：

$$U = k \times u_c = 2 \times 0.096 \mu\text{L} = 0.20 \mu\text{L}$$

河北省地方计量技术规范
自动移液工作站校准规范
JJF（冀）XXXX—XXXX
河北省市场监督管理局发布