

天津智善生物全自动数字分液仪性能 评估报告

检测日期：2026.06.25

1. 背景

在合成生物学、分子诊断、生物芯片、药物筛选等领域，常需要进行微量反应体系的配置，而纳升级的分液体积的精准度影响到实验结果的可靠性和可信性。本文用吸光度法对自研的全自动数字微量分液仪产品小体积分液范围（ $0.1\mu\text{L}\sim 2.5\mu\text{L}$ ）内的精准度进行了评估，更大体积的测量也可以参照此法来评测，或者用精密天平称量来评测。

1.1. 数字分液仪工作原理

全自动数字分液仪基于弹性隔膜微泵技术，通过高速电磁阀时序控制，驱动入口硅胶膜、大隔膜、小隔膜及出口硅胶膜顺序动作，使隔膜产生规律性形变，完成定量吸液与排液。隔膜形变产生的容积变化量即为单次分液体积，该体积由隔膜结构尺寸及驱动行程决定，与液体粘度无直接依赖关系。该技术具有准确度高、可靠性好、粘度适应性广等特点，适用于水溶液、高粘度试剂及表面活性剂等多种液体类型，为微量液体分配提供稳定可靠的技术保障。

1.2. 吸光度测量微量原理

本验证采用酶标比色法，基于朗伯-尔定律（*Lambert-Beer Law*），以特定波长下示踪剂溶液的吸光度值作为定量参数，建立吸光度-体积校正曲线，通过线性回归分析将各检测孔位的吸光度实测值转换为实际分液体积。在此基础上，分别计算各体积点的相对偏差（Relative Deviation, *RD*）以表征准确度，计算变异系数（Coefficient of Variation, *CV%*）以表征精密度。通过上述量化指标的系统获取，可全面评估该芯片在设定量程下的分液性能，为产品分液精度提供客观、可溯源的实验数据支撑。

2. 试验目的

本实验旨在系统评估分液芯片在典型分液体积下的分液准确性与精密度。通过对设定体积（ $0.1\mu\text{L}$ 、 $0.2\mu\text{L}$ 、 $0.3\mu\text{L}$ 、 $0.4\mu\text{L}$ 、 $0.5\mu\text{L}$ 、 $1\mu\text{L}$ 、 $2.5\mu\text{L}$ ）实际输出体积的定量测定，计算各体积点的相对偏差（*RD*）及变异系数（*CV%*），以客观量化该芯片的微量液体分配性能，为其分液精度提供可溯源的实验依据。

3. 试验器材

表 1 试验主要仪器与试剂

材料名称	规格/型号	品牌/厂家	备注
AcuDri-100 全自动数字分液仪	LV 分液芯片	天津智善生物科技有限公司	待测样品
多功能酶标仪	Spark 型	瑞士 TECAN 公司	已校准
微量移液器	10~100 μ L	Gilson PIPETMANL	经计量校准合格 (JJG 646)
甲基橙	分析纯 (AR), 纯度 $\geq 99.5\%$	国药集团化学试剂有限公司	示踪剂
超纯水	电阻率 $\geq 18.2\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$	实验室自制	稀释及空白对照

4. 试验方法

4.1. 示踪剂配置

精密称取甲基橙 3.2733 g (精确至 0.0001 g), 以超纯水溶解并定容至 1000 mL, 充分混匀, 配制成浓度为 10 mmol/L 的甲基橙储备液, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光保存备用。实验前将储备液恢复至室温 (25.6 $^{\circ}\text{C}$)。

4.2. 标准曲线的建立

取 10 mmol/L 甲基橙储备液, 以超纯水进行连续 2 倍梯度稀释, 分别制备为原始浓度 1/2、1/4、1/8、1/16、1/32、1/64 倍的系列标准工作液, 对应等效原液体积分别为 2.5、1.25、0.625、0.3125、0.15625、0.078125 μL 。

精密移取上述各浓度标准工作液 5 μL , 分别加入 96 孔板 A~F 排第 1~4 列孔中, 每孔补加超纯水至终体积 200 μL , 使各孔等效甲基橙原液体积分别为 2.5、1.25、0.625、0.3125、0.15625、0.078125 μL 。以 G 排第 1~4 列孔 (每孔 200 μL 超纯水, 不含甲基橙) 作为空白对照。每个浓度点设 4 个复孔, 于 465 nm 波长处测定各孔吸光度值 (OD_{465})。

4.3. 芯片分液样本制备

按照操作流程将 10 mmol/L 甲基橙储备液与分液芯片进行连接, 使用 AcuDri-100 全自动数字分液仪分别设置分液体积为 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、1.0、2.5 μL , 启动分液程序, 使芯片按设定体积的甲基橙储备液分配至 96 孔板第 5~11 列各孔中, 各体积点对应的列分布见表 2。每个设定体积点设 8 个重复孔。分液完成后, 每孔补加超纯水至终体积 200 μL 。

表 2 芯片分液体积点与孔位分布

设定体积（μL）	对应列号	补水量（μL）
0.1	5	199.9
0.2	6	199.8
0.3	7	199.7
0.4	8	199.6
0.5	9	199.5
1.0	10	199.0
2.5	11	197.5

5. 数据处理与性能评价

5.1.标准曲线拟合与体积换算公式

取 96 孔板第 1~4 列 A~F 行标准曲线各浓度点平均 OD_{465} 值，扣除空白均值（ $OD_0 = 0.0436$ ）后，以等效原液体积（ V , μL）为自变量、校正吸光度（ $\Delta OD = OD_{465} - 0.0436$ ）为因变量，采用过原点线性回归模型 $\Delta OD = k \cdot V$ 进行拟合，具体数据见附件 1，拟合数据见表 3，其标准曲线见图 1。

表 3 标准曲线拟合数据

等效体积 V （μL）	平均 OD_{465}	$\Delta OD = OD - 0.0436$
2.5	1.4601	1.4165
1.25	0.7535	0.7099
0.625	0.4032	0.3596
0.3125	0.2174	0.1738
0.15625	0.1221	0.0785
0.078125	0.0864	0.0428
0	0.0436	0.0000

采用最小二乘法进行过原点线性回归，斜率 k 计算如下：

$$k = \frac{\Sigma(V \cdot \Delta OD)}{\Sigma(V^2)} = \frac{4.7234}{8.3313} = 0.5669$$

相关系数：

$$r^2 = \frac{[\Sigma(V \cdot \Delta OD)]^2}{\Sigma(V^2) \cdot \Sigma(\Delta OD^2)} = \frac{4.7234^2}{8.3313 \times 2.6780} = 0.9999$$

拟合结果：

$$\Delta OD = 0.5669 \times V$$

即：

$$OD_{465} - 0.0436 = 0.5669 \times V$$

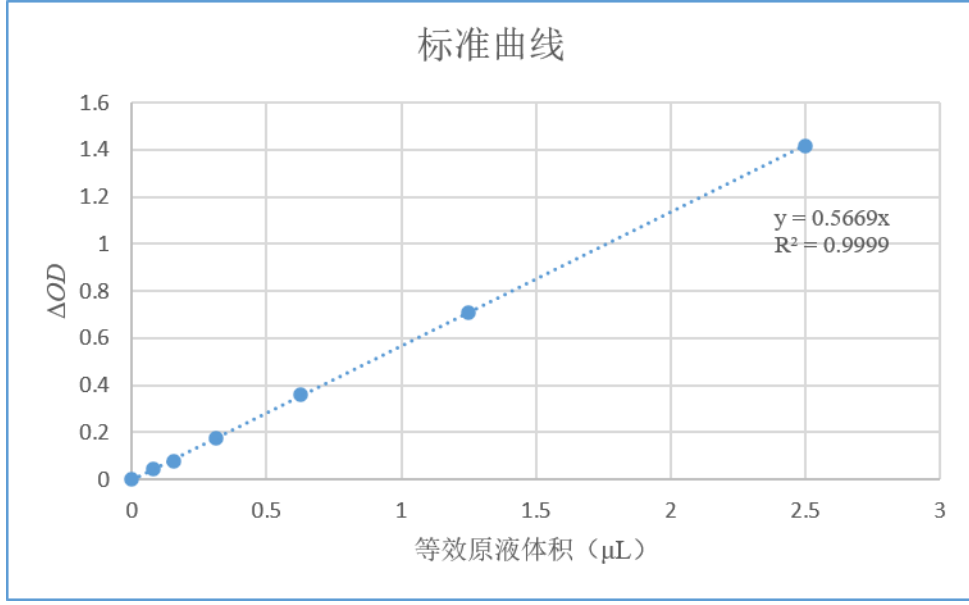


图 1 标准曲线

5.2.性能指标计算方法

5.2.1. 准确度

将芯片分液测试区域（第 5~11 列）各孔 OD_{465} 值代入公式，计算各孔实际分液体积 V_0 。每个设定体积点设 8 个重复孔。

准确度以相对偏差（Relative Deviation, RD ）表征，计算公式为：

$$RD(\%) = \frac{\bar{V} - V_0}{V_0} \times 100\%$$

式中， $\bar{V}$ 为 8 个重复孔实际体积的算术平均值， V_0 为设定分液体积。 RD 的绝对值越小，表示分液准确度越高。 RD 为正值表示实际分液体积高于设定值（正偏差），为负值表示实际分液体积低于设定值（负偏差）。

5.2.2. 精密度

精密度以变异系数（Coefficient of Variation, $CV\%$ ）表征，计算公式为：

$$CV(\%) = \frac{SD}{\bar{V}} \times 100\%$$

式中， SD 为 8 个重复孔实际体积的样本标准差， $\bar{V}$ 为平均值。

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (V_i - \bar{V})^2}{n - 1}}$$

CV 值越小，表示各重复孔间体积分配的一致性越高，分液精密度越好。

6. 结果与分析

6.1.标准曲线有效性判定

甲基橙示踪剂在 465 nm 波长下，于等效原液体积 0.078125~2.5 μL 范围内线性关系良好。扣除空白后过原点拟合回归方程为 $\Delta OD = 0.5669 \times V$ ，相关系数 $r^2 = 0.9999$ ，大于方法学接受标准（ $r^2 \geq 0.995$ ），表明在该浓度范围内吸光度与甲基橙浓度呈良好的线性关系，满足对芯片分液样本进行准确定量的要求。

6.2.芯片分液性能测定结果

各设定体积点（第 5~11 列）的平均 OD_{465} 、实际分液体积统计及性能指标汇总见表 4，各体积点 RD 和 CV 柱状图见图 2，具体数据见附件 1。

表 4 各体积点分液性能汇总

设定体积 (μL)	平均 OD_{465}	实际体积均 值 (μL)	标准差 SD (μL)	相对偏差 RD (%)	变异系数 CV (%)
0.1	0.1006	0.1005	0.0018	+0.47	1.80
0.2	0.1552	0.1969	0.0009	-1.55	0.48
0.3	0.2122	0.2974	0.0023	-0.87	0.79
0.4	0.2709	0.4009	0.0019	+0.23	0.46
0.5	0.3282	0.5020	0.0047	+0.40	0.93
1.0	0.6147	1.0074	0.0048	+0.74	0.48
2.5	1.4743	2.5237	0.0078	+0.95	0.31

注：由于中间值精度保留，用表格显示值验算可能存在微小偏差

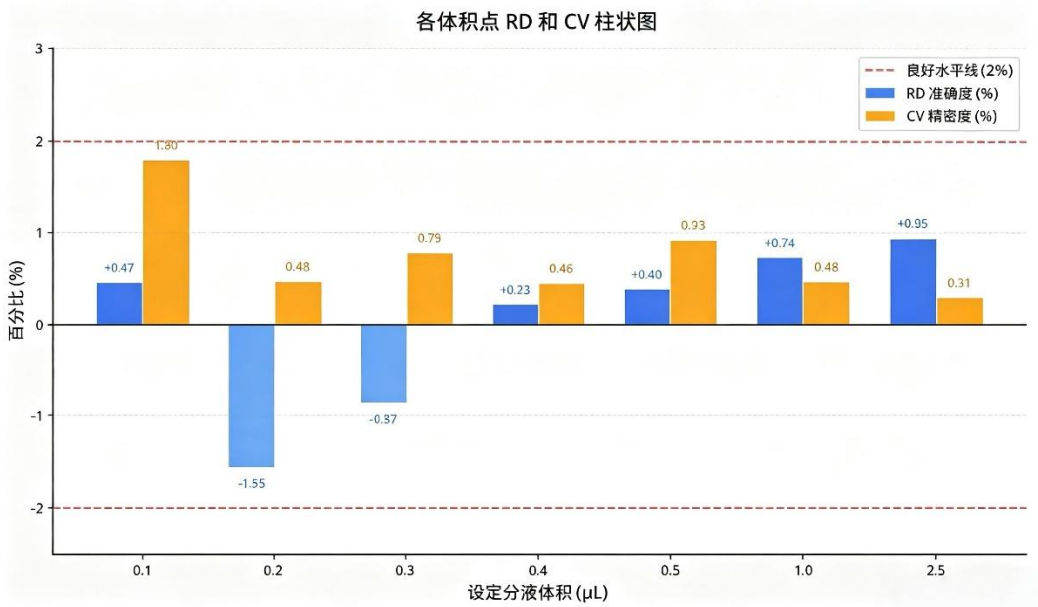


图 2 各体积点 RD 和 CV 柱状图

6.3.精密度评价

全部测试体积点的变异系数 (CV) 均 $\leq 1.84\%$ ，最大值出现在 $0.1\ \mu\text{L}$ 点 (1.84%)，最小值出现在 $2.5\ \mu\text{L}$ 点 (0.31%)，各体积点 CV 均优于 2% 的行业良好标准。 CV 值与设定体积呈负相关趋势，即设定体积越小 CV 值相对越高，该现象与微量液体操作中低体积液滴蒸发效应及表面张力影响更为显著的物理规律相符。总体而言，分液体积在 $0.1\sim 2.5\ \mu\text{L}$ 全量程范围内精密度表现优良，各体积点 CV 均控制在 2% 以内。

6.4.准确度评价

全部测试体积点的相对偏差 (RD) 绝对值均 $\leq 1.55\%$ ，最大值出现在 $0.2\ \mu\text{L}$ 点 (-1.55%)，其中 $0.3\sim 2.5\ \mu\text{L}$ 核心区间内 RD 绝对值均 $\leq 0.95\%$ ， $0.1\ \mu\text{L}$ 点 RD 为 $+0.47\%$ 。各体积点 RD 整体趋近于零，表明芯片在该量程范围内无明显的系统性偏差。总体而言，分液体积在 $0.1\sim 2.5\ \mu\text{L}$ 全量程范围内准确度表现良好，各体积点 RD 绝对值均控制在 2% 以内。

6.5.综合性能分析

综合准确度与精密度评价结果，分液体积在 $0.1\sim 2.5\ \mu\text{L}$ 全量程范围内，各体积点相对偏差 (RD) 绝对值均 $\leq 1.55\%$ ，变异系数 (CV) 均 $\leq 1.84\%$ ，两项核心性能指标均优于行业通行标准 ($RD\leq 5\%$ 、 $CV\leq 5\%$)，达到良好水平 ($RD\leq 2\%$ 、 $CV\leq 2\%$)。芯片在 $0.3\sim 2.5\ \mu\text{L}$ 区间内 RD 及 CV 表现尤为优异，在 $0.1\sim 0.2\ \mu\text{L}$ 低体积区间内仍保持优良的性能水平，证实该芯片在全量程范围内具有稳定可靠的分液性能。

7. 结论

本验证采用酶标比色法，分液芯片在 $0.1\sim 2.5\ \mu\text{L}$ 范围内的分液准确性与精密度进行了系统评估。主要结论如下：

- 标准曲线：甲基橙示踪剂在 $465\ \text{nm}$ 波长下，等效原液体积 $0.078125\sim 2.5\ \mu\text{L}$ 范围内线性关系良好，扣除空白后过原点拟合回归方程为 $\Delta OD = 0.5669 \times V$ ， $r^2 = 0.9999$ ，满足定量分析要求。
- 准确度：分液芯片在 $0.1\sim 2.5\ \mu\text{L}$ 全量程范围内，各体积点相对偏差绝对值均 $\leq 1.55\%$ ，准确度良好，优于行业通行标准。
- 精密度：分液芯片在 $0.1\sim 2.5\ \mu\text{L}$ 全量程范围内，各体积点变异系数均 $\leq 1.84\%$ ，精密度优良，优于行业通行标准。

综上，分液芯片在 $0.1\sim 2.5\ \mu\text{L}$ 全量程范围内，准确度与精密度均在 2% 以内，满足微量液体分配应用的需求。

8. 附件 1

标准曲线原始 OD_{465} 数据见表 5。

表 5 标准曲线原始 OD_{465} 数据

等效体积 (μL)	复孔 1	复孔 2	复孔 3	复孔 4	平均值
2.5	1.4756	1.4504	1.3823	1.532	1.460075
1.25	0.7757	0.7662	0.7301	0.7419	0.753475
0.625	0.4005	0.4059	0.3941	0.4121	0.40315
0.3125	0.2163	0.2118	0.2202	0.2212	0.217375
0.15625	0.1334	0.1241	0.1122	0.1186	0.122075
0.078125	0.0883	0.0847	0.0834	0.0893	0.086425
0 (空白)	0.0428	0.0437	0.0433	0.0447	0.043625

芯片分液测试原始 OD_{465} 数据见表 6。

表 6 芯片分液测试原始 OD_{465} 数据

孔位	0.1 μL	0.2 μL	0.3 μL	0.4 μL	0.5 μL	1.0 μL	2.5 μL
A	0.0949	0.1551	0.2145	0.2723	0.3215	0.6107	1.4703
B	0.0978	0.1545	0.2124	0.2693	0.3278	0.6146	1.4775
C	0.0973	0.1548	0.2110	0.2719	0.3275	0.6144	1.4763
D	0.0983	0.1561	0.2126	0.2708	0.3298	0.6161	1.4690
E	0.0973	0.1561	0.2141	0.2710	0.3296	0.6176	1.4789
F	0.0972	0.1559	0.2120	0.2709	0.3312	0.6158	1.4712
G	0.0979	0.1548	0.2115	0.2722	0.3305	0.6183	1.4808
H	0.0971	0.1542	0.2093	0.2690	0.3274	0.6103	1.4707
$\bar{V}$	0.097225	0.155188	0.212175	0.270925	0.328163	0.614725	1.474338