



中华人民共和国国家计量技术规范

JJF xxxx—202x

乳品细菌计数仪校准规范

Calibration Specification for Milk Bacterial Counters

(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

乳品细菌计数器校准规范

Calibration Specification for Milk Bacterial
Counters

JJF xxx—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

参加起草单位：*****

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：

***（中国计量科学研究院）

***（中国计量科学研究院）

（**）

参加起草人：

（**）

（**）

（**）

全国生物计量技术委员会征求意见稿

目 录

引言.....	II
1 范围.....	1
2 引用文件.....	1
3 术语.....	1
4 概述.....	1
5 计量特性.....	1
6 校准条件.....	2
6.1 环境条件.....	2
6.2 测量标准及其他.....	2
7 校准项目和校准方法.....	2
7.1 重复性.....	2
7.2 示值误差.....	2
7.3 携带污染率.....	3
8 校准结果表达.....	3
8.1 校准结果处理.....	3
8.2 校准结果的测量不确定度.....	3
9 复校时间间隔.....	3
附录 A 校准原始记录参考格式.....	4
附录 B 校准证书（内页）参考格式.....	5
附录 C 测量不确定度评定示例.....	6

全国物理计量技术委员会征求意见稿

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JJG 714-2012《血细胞分析仪检定规程》和 JJF 1665-2017《流式细胞仪校准规范》。

本规范为首次发布。

全国生物计量技术委员会征求意见稿

乳品细菌计数器校准规范

1 范围

本规范适用于基于流式细胞术的乳品细菌计数器的校准。其它类型的乳品细菌计数器可参照本规范执行。

2 引用文件

本规范引用了下列文件：

JJG 714-2012 血细胞分析仪检定规程

JJF 1665-2017 流式细胞仪校准规范

YY/T 0588-2017 流式细胞仪

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

JJG 714-2012 和 JJF 1665-2017 界定的术语和定义适用于本规范。

3.1 携带污染率 carry-over

分析物被仪器由一个检测样品到下一个样品的携带量，从而错误地引起第二个被测样品分析物浓度的增加。

[来源：YY/T 0588，3.8]

4 概述

乳品细菌计数器（以下简称计数器）是基于流式细胞术实现乳品中细菌总数快速测定的仪器，一般由样品室及液流驱动系统、激光光源及光学系统和数据处理系统组成。首先通过化学物质、超声波或热处理等方式对乳品中的生物性干扰成分进行分离。其次，通过荧光素对细菌的DNA或RNA进行荧光标记。经过染色的样品溶液通过样品管被压进喷嘴的中央，同时鞘液也被压入喷嘴，形成包绕样品液的鞘液流，使荧光标记的细菌以单列进入样品室。细菌受激光照射产生光信号，被相应光学检测器接收，经计算机软件处理，得出检测结果。

5 计量特性

计数器各项计量特性指标见表1。

表 1 计数器的主要计量特性指标

计量特性	计量特性指标
重复性	≤15%

示值误差	±30%
携带污染率	≤5%

注：以上技术指标不是用于合格性判别，仅供参考。

6 校准条件

6.1 环境条件

环境温度：（15~30）℃；

环境湿度：≤70%RH。

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 测量标准及其他

6.2.1 标准物质

校准时应采用有证细菌总数标准物质，其技术要求列于表 2。

表 2 计数仪校准用标准物质技术指标

标准物质	特性量	量值范围 (100 mL 稀释液复溶后)	不确定度 (k=2)
低值	细菌总数	$(1.00\sim 9.99) \times 10^5 \text{ mL}^{-1}$	≤15%
高值	细菌总数	$(1.00\sim 9.99) \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$	≤15%

6.2.2 其它

100 mL 量筒，A 级

0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液 pH（7.2~7.4）

7 校准项目和校准方法

7.1 重复性

选取一种高值计数仪校准用标准物质，复溶后重复测量 6 次，依次记录细菌总数，按照式（1）计算相对标准偏差（RSD），作为重复性评价。

$$RSD = \frac{1}{\bar{r}} \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (r_i - \bar{r})^2}{n-1}} \quad (1)$$

式中：

RSD——相对标准偏差，%；

r_i ——细菌总数单次测量结果；

\bar{r} ——细菌总数 n 次测量平均值；

n ——测量次数。

7.2 示值误差

按照 7.1 测量重复性实验中得到的细菌总数，计算平均值。按式（2）计算示值误

差。参考附录 C 评估示值误差校准结果的不确定度。

$$\Delta r = (\bar{r} - r_s) / r_s \times 100\% \quad (2)$$

式中：

Δr ——细菌总数检测结果的示值误差，%；

\bar{r} ——细菌总数 n 次测量的平均值；

r_s ——计数仪校准用标准物质的标准值。

7.3 携带污染率

选取高、低值标准物质各一种，使用前复溶并混匀。随后按高值→低值的顺序，分别连续测量 3 次。测量值分别为 i_1 、 i_2 、 i_3 和 j_1 、 j_2 、 j_3 。按式 (3) 计算携带污染率。

$$CO = \frac{j_1 - j_3}{i_3 - j_3} \times 100\% \quad (3)$$

式中：

CO ——携带污染率，%；

j_1 ——低值标准物质的第一次测量结果；

j_3 ——低值标准物质的第三次测量结果；

i_3 ——高值标准物质的第三次测量结果。

8 校准结果表达

8.1 校准结果处理

经校准后的计数仪应核发校准证书，校准证书应符合 JJF 1071—2010 中 5.12 的要求，并给出各校准项目名称和测量结果以及扩展不确定度。校准原始记录格式（推荐性表格）见附录 A，校准证书内页格式（推荐性表格）见附录 B。

8.2 校准结果的测量不确定度

计数仪校准结果的测量不确定度按 JJF 1059.1—2012 的要求评定，校准结果测量不确定度评定示例见附录 C。

9 复校时间间隔

建议不超过 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、仪器本身质量等诸多因素所决定的，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。如果对仪器的检测数据有怀疑或者更换主要部件及维修后，应重新校准。

附录 A

校准原始记录参考格式

(推荐性表格)

计数仪名称		型号	
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		证书编号	
记录编号		标准物质编号	
校准人		核验人	

A.1 重复性 (RSD) 与示值误差 (Δr)

标准物质	测量值 (mL^{-1})	平均值 (mL^{-1})	重复性 RSD (%)	示值误差 Δr (%)
计数仪校准用标准物质				

A.2 携带污染率 (CO)

计数仪校准用标准物质	测量次数	测量值 (mL^{-1})
高值	1	
	2	
	3	
低值	1	
	2	
	3	
携带污染率 CO (%)		

校准员: _____

核验员: _____

附录 B

校准证书（内页）参考格式

（推荐性表格）

序号	校准项目	校准结果
1	重复性	测量值：
2	示值误差	测量值： ， 不确定度： $(k=2)$
3	携带污染率	测量值：

校准员： _____

核验员： _____

全国生物计量技术委员会征求意见稿

附录 C

测量不确定度评定示例

C.1 测量方法

示值误差是利用高值计数器校准用标准物质，多次测量得到的细菌总数的平均值，减去标准物质的标准值得到。

C.2 测量模型

细菌总数测量的示值误差 Δr ：

$$\Delta r = (\bar{r} - r_s) / r_s \times 100\% \quad (\text{C.1})$$

式中：

Δr ——测量结果的相对示值误差，%；

\bar{r} ——高值计数器校准用标准物质 6 次测量的平均值；

r_s ——高值计数器校准用标准物质的标准值。

C.3 合成标准不确定度计算公式

依据不确定度传播率，当各不确定度间不相关时， $u_c^2 = \sum_{i=1}^N c^2(x_i)u^2(x_i)$ ，则

$$u_c = \sqrt{c_{\bar{r}}^2 u_{\bar{r}}^2 + c_{r_s}^2 u_{r_s}^2} \quad (\text{C.2})$$

由公式 (C.1) 得

$$c_{\bar{r}} = \frac{\partial \Delta r}{\partial \bar{r}} = \frac{1}{r_s}, \quad c_{r_s} = \frac{\partial \Delta r}{\partial r_s} = -\frac{\bar{r}}{r_s^2}$$

C.4 不确定度来源

不确定度来源包括：

- 输入量 \bar{r} 引入的标准不确定度 $u_{\bar{r}}$ ，主要是测量重复性引入的标准不确定度；
- 输入量 r_s 引入的标准不确定度 u_{r_s} ，主要是标准物质引入的标准不确定度。

C.5 标准不确定度分量评定

C.5.1 输入量 \bar{r} 引入的标准不确定度分量 $u_{\bar{r}}$ 评定

高值计数器校准用标准物质连续测量 6 次的测量值为： $6.00 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ ， $6.03 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ ， $5.76 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ ， $5.99 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ ， $5.48 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ ， $5.20 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ 。

计算单次测量结果的标准差

$$s(r_i) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (r_i - \bar{r})^2}{n-1}} = 0.31 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$$

实际校准时在重复性条件下连续测量 6 次，以 6 次测量的算术平均值作为结果，计算由测量重复性引入的标准不确定度分量。

$$u_{\bar{r}} = \frac{s(r_i)}{\sqrt{n}} = \frac{0.31 \times 10^6 \text{mL}^{-1}}{\sqrt{6}} = 0.13 \times 10^6 \text{mL}^{-1}$$

C.5.2 输入量 r_s 引入的标准不确定度分量 u_{r_s} 评定

输入量 r_s 引入的标准不确定度分量主要是标准物质引入的标准不确定度分量。假定所使用高值计数仪校准用标准物质的相对扩展不确定度为 $U_r=0.90 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ ($k=2$)，则标准物质引入的不确定度为：

$$u_{r_s} = \frac{U_r}{k} = 0.45 \times 10^6 \text{mL}^{-1}$$

C.5.3 灵敏度系数的计算

通过表 C.1 进行计算和查看标准物质证书可知， $\bar{r}=5.74 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ ， $r_s=6.00 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$ ，通过代入对应的平均值和标准值，则灵敏度系数的计算结果如下：

$$c_{\bar{r}} = \frac{\partial \Delta r}{\partial \bar{r}} = \frac{1}{r_s} = 1.67 \times 10^{-7} \text{ mL}$$

$$c_{r_s} = \frac{\partial \Delta r}{\partial r_s} = -\frac{\bar{r}}{r_s^2} = -1.59 \times 10^{-7} \text{ mL}$$

C.5.4 标准不确定度分量一览表

测量结果的标准不确定度分量见表 C.1

表 C.1 测量结果的标准不确定度分量一览表

被测量	标准不确定度来源		标准不确定度分量	灵敏系数	输出量的标准不确定度分量
细菌	输入量 \bar{r}	测量重复性	$0.13 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$	$1.67 \times 10^{-7} \text{ mL}$	0.022
总数	输入量 r_s	标准物质	$0.45 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$	$-1.59 \times 10^{-7} \text{ mL}$	0.072

C.6 合成标准不确定度

由公式 (C.2) 可得合成标准不确定度 u_c 为：

$$u_c = \sqrt{c_{\bar{r}}^2 u_{\bar{r}}^2 + c_{r_s}^2 u_{r_s}^2} \times 100\% = 7.6\%$$

C.7 扩展不确定度

取包含因子 $k=2$ ，则扩展不确定度 U 为：

$$U = k \times u_c = 15.2\%$$