

中华人民共和国国家计量技术规范

JJF ****-****

水质大肠菌群在线检测仪校准规范

Calibration Specification for On-line Water Quality
Coliform Group Analyzers

(征求意见稿)

****-**-** 发布

****-**-** 实施

国家市场监督管理总局发布

水质大肠菌群在线检测仪

校准规范

JJF ****-****

Calibration Specification for On-line

Water Quality Coliform Group Analyzers

归口单位：全国生物计量技术委员会

主要起草单位：

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：

参加起草人：

目 录

引言	(II)
1 范围	(1)
2 引用文件	(1)
3 概述	(1)
4 计量特性	(1)
5 校准条件	(2)
5.1 环境条件	(2)
5.2 测量标准及其他设备	(2)
6 校准项目和校准方法	(2)
6.1 校准前准备	(2)
6.2 温度示值误差	(2)
6.3 温度均匀度	(3)
6.4 温度波动度	(3)
6.5 空白定性准确率	(4)
6.6 线性相关系数	(4)
6.7 检出限	(4)
6.8 重复性	(5)
7 校准结果表达	(5)
8 复校时间间隔	(5)
附录 A	(6)
附录 B	(7)
附录 C	(8)
附录 D	(11)

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》、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。

本规范的校准方法及计量特性等主要参考了 JJF 2203-2025《水质毒性分析仪校准规范》、JJF 2056-2023《阻抗法全自动微生物检测系统校准规范》、JJF 1828-2020《ATP 荧光检测仪校准规范》以及 JJF 1001-2011《通用计量术语及定义》中相关内容。

本规范为首次发布。

水质大肠菌群在线检测仪校准规范

1 范围

本规范适用于基于酶底物法结合光电检测技术的水质大肠菌群在线（自动）检测仪的校准。

2 引用文件

本规范引用了下列文件：

JJF 1001-2011 通用计量术语及定义

JJF 1828-2020 ATP 荧光检测仪校准规范

JJF 2056-2023 阻抗法全自动微生物检测系统校准规范

JJF 2203-2025 水质毒性分析仪校准规范

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

水质大肠菌群在线检测仪（以下简称检测仪）用于监测目标水体中是否存在大肠菌群污染。检测仪是运用酶底物法结合光电检测技术的原理，实现水体中大肠菌群定性、定量检测的自动分析仪器。其核心功能是通过自动采样、恒温培养、实时光电检测、数据模型计算，从而实现对水体中大肠菌群的连续、自动化检测。

检测仪主要由进样单元、恒温培养单元、光电检测单元、数据处理单元和废液回收单元组成。

4 计量特性

检测仪的计量特性如表 1 所示。

表 1 检测仪计量特性及指标

序号	计量特性	计量特性指标
1	温度示值误差	±1.0°C
2	温度均匀度	≤2.0°C
3	温度波动度	±1.0°C
4	空白定性准确率	100%

5	线性相关系数	$R^2 \geq 0.98$
6	检出限	$\leq 10 \text{ CFU/mL}$
7	重复性	$\leq 10\%$
注：对于定性检测仪线性相关系数和重复性不做校准。以上技术指标不用于合格性判别，仅供参考。		

5 校准条件

5.1 环境条件

5.1.1 温度：(15~30) °C。

5.1.2 相对湿度：不大于 85%。

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。

5.2 测量标准及其他设备

5.2.1 大肠埃希氏菌菌落计数国家有证标准物质， $U_{\text{rel}} \leq 21\% (k=2)$ 。

5.2.2 数字温度计：量程范围包含 (20.0~50.0) °C，最大允许误差为 $\pm 0.2^\circ\text{C}$ 。

5.2.3 无菌生理盐水：按附录 A 配制。

5.2.4 移液器：(1~1000) μL 和 (1~10) mL。

5.2.5 吸量管、容量瓶：A 级。

6 校准项目和校准方法

6.1 校准前准备

校准前，需确保检测仪处于正常工作状态。如有必要，可按照使用说明书要求对检测仪进行调整。

6.2 温度示值误差

根据检测仪技术要求设定培养温度，按图1所示在培养模块中选取四角及中心共五个具有代表性的培养位，其他型号检测仪可参考图1均匀布点进行测试。

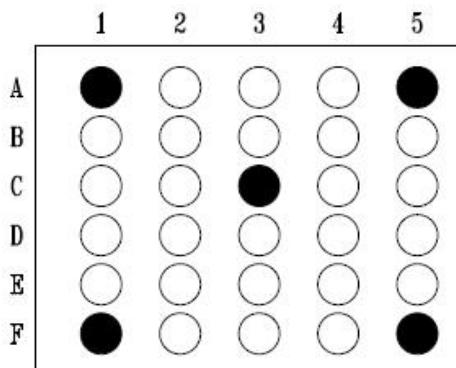


图1 温度传感器布点示意图

每个培养位分别插入1支盛有无菌生理盐水的培养管，待培养模块温度稳定后，将数字温度计的温度探头分别插入各培养管内液体中心位置，待温度稳定10 min后开始记录温度示值，每5 min同步记录1次数字温度计与检测仪的温度示值，连续记录30 min。以每个培养位温度示值与数字温度计7次测量值的算术平均值之差，作为该培养位的温度示值误差，取五个培养位温度示值误差的绝对值最大值作为该检测仪的温度示值误差。按式（1）计算培养位温度示值误差：

$$\Delta T_d = \bar{T}_s - \bar{T}_c \quad (1)$$

式中：

ΔT_d ——培养位温度示值误差，(°C)；

\bar{T}_s ——检测仪温度示值的平均值，(°C)；

\bar{T}_c ——数字温度计测得温度的平均值，(°C)。

6.3 温度均匀度

根据 6.2 的测量数据，计算各培养位 7 次温度测量值中的最大值与最小值之差，取上述差值的算术平均值作为该检测仪的温度均匀度测量结果，按式（2）计算。

$$\Delta T_u = \sum_{i=1}^n (T_{imax} - T_{imin}) / n \quad (2)$$

式中：

ΔT_u ——温度均匀度，(°C)；

T_{imax} ——第 i 个培养位温度测量结果的最大值，(°C)；

T_{imin} ——第 i 个培养位温度测量结果的最小值，(°C)；

n ——测量培养位的数量。

6.4 温度波动度

根据 6.2 的测量数据，计算校准装置各测量培养位实测最高温度与最低温度之差的一半并冠以“±”号，取全部测量点中该变化量的最大值，作为温度波动度的测量结果，按式（3）计算。

$$\Delta T_f = \pm \max[(T_{jmax} - T_{jmin})/2] \quad (3)$$

式中：

ΔT_f ——温度波动度，(°C)；

T_{jmax} ——第 j 个培养位温度测量结果的最大值，(°C)；

T_{jmin} ——第 j 个培养位温度测量结果的最小值，(°C)。

6.5 空白定性准确率

使用无菌生理盐水制备 6 份空白样品，按仪器说明书设定检测参数，对 6 份空白样品分别完成进样、培养及检测，记录每份样品检测结果，按式（4）计算空白定性准确率。

$$P_c = \frac{N_f}{N_t} \times 100\% \quad (4)$$

式中：

P_c ——空白定性准确率，(%)；

N_f ——空白样品中未检出大肠埃希氏菌的次数；

N_t ——空白样品总检测次数。

6.6 线性相关系数

使用大肠埃希氏菌菌落计数标准物质，按附录 B 中方法制备从 1×10^4 CFU/mL 到 1CFU/mL 的 5 个稀释梯度的标准菌液，每个梯度做 2 个平行样，将梯度标准菌液依次按说明书完成培养和检测，记录每个平行样的检测仪信号值。按式（5）计算线性相关系数 r 。

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \times \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}} \quad (5)$$

式中：

r ——线性相关系数；

x_i ——第 i 个稀释梯度的仪器信号值；

\bar{x} ——每个稀释梯度的检测仪信号平均值；

y_i ——第 i 个稀释梯度标准菌液浓度值，(CFU/mL)；

\bar{y} ——每个稀释梯度标准菌液浓度值的平均值，(CFU/mL)；

n ——稀释梯度的个数。

6.7 检出限

使用大肠埃希氏菌菌落计数标准物质，按附录 B 中方法制备不同稀释梯度的标准样品，按照浓度从高到低的顺序进行检测。记录最低可被检测到的稀释梯度，结果以 ≤ 1 CFU/mL 或 ≤ 10 CFU/mL 等方式记录。

6.8 重复性

使用大肠埃希氏菌菌落计数标准物质，按附录 B 中方法制备目标浓度约（ 10^2 ~ 10^3 ）CFU/mL 的标准样品，按照仪器说明书的操作流程进行连续 7 次重复测量，按式（6）计算重复性。

$$S_r = \frac{1}{c} \times \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (c_i - \bar{c})^2}{n-1}} \times 100\% \quad (6)$$

式中：

S_r ——重复性，（%）；

c_i ——各次测量值，（CFU/mL）；

\bar{c} ——7 次测量值的平均值，（CFU/mL）；

n ——测量次数。

7 校准结果表达

校准记录应详尽地记载测量数据和计算结果，出具的校准证书应符合 JJF 1071-2010 中 5.12 的要求。校准记录格式及校准证书内页推荐格式见附录 C。测量不确定度按 JJF 1059.1-2012 的要求评定，测量不确定度评定示例见附录 D。

8 复校时间间隔

建议检测仪的复校准间隔一般不超过 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。如果在使用过程中对仪器测量结果产生怀疑或更换主要部件应及时校准。

附录 A

无菌生理盐水的配制

A.1 配制用水

使用去离子水。

A.2 配制试剂

采用符合国家标准要求的氯化钠分析纯试剂

A.3 制备步骤

称取氯化钠分析纯试剂 9.0 g, 转移至 1 L 容量瓶定容, 混匀后分装于无菌玻璃瓶中, 采用 121 °C高压蒸汽灭菌 20 min。灭菌后冷却至室温, (2~8) °C冷藏保存, 有效期 1 个月, 使用前核查溶液应无浑浊和无沉淀。

附录 B

大肠埃希氏菌标准物质稀释浓度示例

以标准值为 4.8×10^6 CFU/mL 的母液稀释为例：

步骤	操作	理论浓度 (CFU/mL)
1	取 1.0mL 4.8×10^6 CFU/mL 母液加入 47.0mL 无菌生理盐水，混匀	1×10^5
2	取 1.0mL 步骤 1 溶液加入 9.0mL 无菌生理盐水，混匀	1×10^4
3	取 1.0mL 步骤 2 溶液加入 9.0mL 无菌生理盐水，混匀	1×10^3
4	取 1.0mL 步骤 3 溶液加入 9.0mL 无菌生理盐水，混匀	1×10^2
5	取 1.0mL 步骤 4 溶液加入 9.0mL 无菌生理盐水，混匀	10
6	取 1.0mL 步骤 5 溶液加入 9.0mL 无菌生理盐水，混匀	1

注：

- 1 按标准物质说明书制备标物母液；
- 2 每步稀释后涡旋混匀 30 秒，确保菌液均匀；
- 3 稀释用无菌生理盐水需提前灭菌并平衡至室温。

附录 C

校准记录和校准证书推荐格式

C.1 校准记录内页的格式

校 准 记 录

(推荐性表格)

送校单位		校准日期	
仪器名称		制造厂	
型号		出厂编号	
委托单号		证书编号	
环境温度 (°C)		相对湿度 (%)	
校准地点			

一、温度示值误差、温度均匀度和温度波动度

编号	时间	0 min	5 min	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min	平均值	示值误差	
1	测量值 (°C)										
	温度示值 (°C)										
2	测量值 (°C)										
	温度示值 (°C)										
3	测量值 (°C)										
	温度示值 (°C)										
4	测量值 (°C)										
	温度示值 (°C)										
5	测量值 (°C)										
	温度示值 (°C)										
温度均匀度 (°C)											
温度波动度 (°C)											

二、空白定性准确率

未检出次数	总次数	空白定性准确率 (%)

三、线性相关系数和检出限

编号	1	2	3	4	5
菌液浓度 (CFU/mL):					
仪器信号值:					
仪器信号平均值:					
线性相关系数:					
R^2 :					
检出限:					

四、重复性

次数	1	2	3	4	5	6	7	重复性(%)
测量值 (CFU/mL)								

校准员: _____ 核验员: _____

C.2 校准证书内页格式

校准证书内页格式

(推荐性表格)

序号	校准项目	校准结果
1	温度示值误差	
2	温度均匀度	
3	温度波动度	
4	空白定性准确率	
5	线性相关系数	
6	检出限	
7	重复性	

校准温度示值误差测量结果的扩展不确定度为: _____

附录 D

温度示值误差测量结果的不确定度评定示例

D.1 测量模型与灵敏系数

$$\Delta T_d = \bar{T}_s - \bar{T}_c \quad (\text{D.1})$$

式中：

- ΔT_d ——培养位温度示值误差, (°C) ;
- \bar{T}_s ——检测仪温度示值的平均值, (°C) ;
- \bar{T}_c ——数字温度计测得温度的平均值, (°C)。

D.2 灵敏系数

$$c_1 = \frac{\partial \Delta T_d}{\partial T_s} = 1; \quad c_2 = \frac{\partial \Delta T_d}{\partial T_c} = -1$$

D.3 标准不确定度分量及来源

表 D. 1 标准不确定度分量及来源

输入量	标准不确定度分量	不确定度来源
\bar{T}_s	检测仪引入不确定度分量	检测仪测量重复性引入的标准不确定度 u_1
		检测仪分辨力引入的标准不确定度 u_2
\bar{T}_c	标准器引入不确定度分量	数字温度计测量重复性引入的标准不确定度 u_3
		数字温度计分辨力引入的标准不确定度 u_4
		数字温度计最大允许误差引入的标准不确定度 u_5

D.4 不确定度分量计算

D.4.1 输入量 \bar{T}_s 标准不确定度分量

D.4.1.1 检测仪测量重复性引入的标准不确定度 u_1

重复性引入的标准不确定度可通过重复测量得到测量列, 采用 A 类方法进行评定,

根据贝塞尔公式 (D.2) 计算单次测量标准偏差。

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

实际测量时，以连续7次测量值的平均值作为测量结果，则示值重复性引入的标准不确定度 $u_1=s/\sqrt{7}$ ，测量及重复性引入的不确定度如表D.2所示。

表D.2 检测仪测量重复性引入的标准不确定度 u_1

序号	1	2	3	4	5	6	7	标准偏差	u_1
°C	36.8	36.9	36.8	36.7	36.8	36.9	36.8	0.075	0.028

D.4.1.2 检测仪分辨力引入的标准不确定度 u_2

检测仪的分辨率为0.1 °C，则半区间宽度为0.05 °C，按均匀分布，取 $k=\sqrt{3}$ ，可得：

$$u_2=0.05 \text{ °C} / \sqrt{3} \approx 0.029 \text{ °C}$$

D.4.2 输入量 \bar{T}_s 标准不确定度

$$u(\bar{T}_s)=\sqrt{u_1^2+u_2^2} \approx 0.040 \text{ °C}$$

D.4.3 输入量 \bar{T}_c 标准不确定度分量

D.4.3.1 数字温度计测量重复性引入的标准不确定度 u_3

表D.3 数字温度计测量重复性引入的标准不确定度 u_3

序号	1	2	3	4	5	6	7	标准偏差	u_3
°C	36.6	36.7	36.7	36.8	36.8	36.7	36.8	0.076	0.029

D.4.3.2 数字温度计分辨力引入的标准不确定度 u_4

数字温度计的分辨率为0.1 °C，则半区间宽度为0.05 °C，按均匀分布，取 $k=\sqrt{3}$ ，可得：

$$u_4=0.05 \text{ °C} / \sqrt{3} \approx 0.029 \text{ °C}$$

D.4.3.3 数字温度计最大允许误差引入的标准不确定度 u_5

数字温度计的最大允许误差为±0.2 °C，则半区间宽度为0.2 °C，按均匀分布，取 $k=\sqrt{3}$ ，可得：

$$u_5=0.2 \text{ °C} / \sqrt{3} \approx 0.115 \text{ °C}$$

D.4.4 输入量 \bar{T}_c 标准不确定度

$$u(\bar{T}_c)=\sqrt{u_3^2+u_4^2+u_5^2} \approx 0.122 \text{ °C}$$

D.5 合成标准不确定度

以上各不确定度分量不相关，合成标准不确定度：

$$u(\Delta T_d) = \sqrt{[c_1 u(\bar{T}_s)]^2 + [c_2 u(\bar{T}_c)]^2}$$

各测量点计算结果如表 D.4 所示。

表 D. 4 合成标准不确定度

输入量 \bar{T}_s 标准不确定度/°C	灵敏系数 c_1	输入量 \bar{T}_c 标准不确定度/°C	灵敏系数 c_2	合成标准不确定度 u_c /°C
0.040	1	0.122	-1	0.128

D.6 扩展不确定度

取包含因子 $k=2$ ，则温度示值误差的扩展不确定度为：

$$U=k \times u_c \approx 0.3 \text{ °C}$$