



中华人民共和国国家计量技术规范

JJF ××××—202×

生物气溶胶发生器校准规范

Calibration Specification for Bioaerosol Generator

(征求意见稿)

202×-××-××发布

202×-××-××实施

国家市场监督管理总局发布

生物气溶胶发生器校准规范

Calibration Specification for Bioaerosol Generator

JJF ××××—202×

归口单位：

起草单位：

参加起草单位：

本规范委托全国生物计量委员会负责解释

目 录

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 校准用设备	3
6.3 校准用菌悬液、试剂	3
7 校准项目和校准方法	4
7.1 流量示值误差	4
7.2 流量稳定性和重复性	4
7.3 压力稳定性和重复性	5
7.4 生物气溶胶发生存活率	5
8 校准结果表达	7
8.1 校准结果处理	7
8.2 校准结果的测量不确定度	7
9 复校时间间隔	7
附录 A	8
附录 B	9
附录 C	11
附录 D	12

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。

本规范校准方法及计量特性等主要参考了 GB 41918-2022《生物安全柜》、GB/T 38517-2020 颗粒 生物气溶胶采样和分析 通则和 GB/T 39990-2021 颗粒 生物气溶胶采样器 技术条件。

本规范为首次发布。

生物气溶胶发生器校准规范

1 范围

本规范适用于气动雾化原理的生物气溶胶发生器的校准。

其他生物气溶胶发生器的校准可参考本规范

2 引用文件

本规范引用了下列文件：

GB 41918-2022 生物安全柜

GB/T 38517-2020 颗粒 生物气溶胶采样和分析 通则

GB/T 39990-2021 颗粒 生物气溶胶采样器 技术条件

NSF/ANSI 49-2019 生物安全柜设计、结构、性能和现场认证 (Biosafety Cabinetry: Design, Construction, Performance, and Field Certification)

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

JJF 1001、JJF 1265 界定的及以下术语和定义适用于本规范。

3.1 生物气溶胶 bioaerosol

含有生物性成分的固体或液体微粒悬浮于气体介质中形成的稳定分散系。

注：生物性成分包括细菌、病毒、真菌、孢子、毒素等。生物气溶胶粒子粒径在 $0.01\ \mu\text{m}$ ~ $100\ \mu\text{m}$ 之间。

[来源：GB/T 38517-2020，3.7]

3.2 生物气溶胶发生器 bioaerosol generator

以液压、气动、超声波、静电等方式生成浓度稳定、粒径范围适当的生物气溶胶的器具。

[来源：GB/T 39990-2021，3.4，有修改]

4 概述

生物气溶胶发生器（以下简称发生器）是用于将生物悬液转化成气溶胶的装置。其工作原理为通过撞击、剪切流动、气泡破裂等方式将液体转化为微小雾滴，再由气流将含有生物的雾滴带出形成生物气溶胶。

发生器主要由储液瓶、雾化口和气源接口、气源等组成。

5 计量特性

生物气溶胶发生器的计量特性，如表 1 所示。

表 1 微生物气溶胶发生器的校准项目

序号	计量特性	计量性能指标
1	流量示值误差	$\leq \pm 5\%$
2	流量稳定性	$\leq 5\%$
3	流量重复性	$\leq 5\%$
4	压力稳定性	$\leq 5\%$
5	压力重复性	$\leq 5\%$
6	生物气溶胶 发生存活率	运行 5 min 采集生物气溶胶存活的枯草芽孢杆菌数不少于 发生芽孢数的 10%

注：

- 1、对于没有流量示值的发生器不校准流量示值误差
- 2、以上指标不适用于合格性判定，仅供参考。

6 校准条件

6.1 环境条件

6.1.1 环境温度：(15~35)℃。

6.1.2 相对湿度： $\leq 85\%$ 。

6.1.3 仪器周围不得有明显的机械振动，无电磁干扰。

注：

- 1、6.1.1、6.1.2 中条件与制造商的产品规定不一致时，以产品规定为准。

2、如有特殊条件保证仪器正常工作，参考仪器设备安装要求。

6.2 校准用设备

6.2.1 气体流量校准装置

测量范围包含（2~100）L/min，准确度不低于1级（或最大允许误差不超过±1%）。

6.2.2 压力校准装置

测量范围包含（0~250）kPa，准确度（精度）不低于0.05级的数字压力计或其他符合要求的压力校准装置。

6.2.3 生物气溶胶试验舱

具有混匀、过滤除菌等功能。

注：若无条件，可用生物安全柜代替

6.2.4 AGI-30 冲击式采样器

采样效率不低于70%。

6.2.5 恒温培养箱

温度偏差：±1.0℃。

6.2.6 生物安全柜

二级

6.2.7 电子天平

准确度等级①级，实际分度值不大于0.01g。

6.2.8 其他

定制圆台体状装置，高约100mm，大底面直径约80mm，小底面直径约50mm，两底面中心有孔，大底面中心可插入生物发生器的喷出口，小底面中心可插入采样器。

6.3 校准用菌悬液、试剂

6.3.1 菌悬液

枯草芽孢杆菌（可溯源到标准菌株库）孢子悬液或枯草芽孢杆菌芽孢标准物质，浓度为 10^8 CFU/mL。

6.3.2 培养基和试剂

胰蛋白胨大豆营养琼脂（TSA）培养基，配制方法见附录A，也可使用商品化的培

培养基。

磷酸盐缓冲液，配制方法见附录 A，也可使用商品化的磷酸盐缓冲液。

7 校准项目和校准方法

7.1 流量示值误差

生物气溶胶发生器中不加入液体，设置生物气溶胶发生器流量为流量范围中间值（或 10 L/min），用气体流量校准装置测量发生器流量，测量 3 次并计算平均值，按式（1）计算流量示值误差 ΔQ 。

$$\bar{Q} = \frac{Q_1 + Q_2 + Q_3}{3} \quad (1)$$

式中：

Q_1, Q_2, Q_3 ——分别为 3 次流量测量的示值，L/min；

\bar{Q} ——气体流量校准装置 3 次测量值的算术平均值，L/min。

$$\Delta Q = \frac{Q_0 - \bar{Q}}{\bar{Q}} \times 100\% \quad (2)$$

式中：

ΔQ ——流量相对示值误差，%

Q_0 ——被校发生器流量设定值，L/min；

\bar{Q} ——气体流量校准装置 3 次测量值的算术平均值，L/min。

7.2 流量稳定性和重复性

生物气溶胶发生器中不加入液体，设置生物气溶胶发生器流量为流量范围中间值（或 10 L/min），稳定后使用气体流量校准装置测量发生器流量，记录初始值并开始计时，每隔 1 min 读取一次，共记录 5 min，取 6 次读数中的最大值和最小值，按式（3）计算流量稳定性 δ_Q 。同时，按式（4）计算流量重复性 RSD_Q

$$\delta_Q = \frac{Q_{\max} - Q_{\min}}{Q} \times 100\% \quad (3)$$

式中：

δ_Q ——流量稳定性

Q ——被校发生器流量初始值，L/min；

Q_{max} ——被校发生器流量最大值, L/min;

Q_{min} ——被校发生器流量最小值, L/min。

$$RSD_Q = \frac{1}{\bar{Q}} \times \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^6 (Q_i - \bar{Q})^2}{5}} \times 100\% \quad (4)$$

式中:

RSD_Q ——流量重复性

Q_i ——被校发生器流量每次的测定值, L/min。

\bar{Q} ——被校发生器流量 6 次测量值的平均值, L/min。

7.3 压力稳定性和重复性

生物气溶胶发生器中不加入液体, 仪器预热稳定后, 设置生物气溶胶发生器流量为流量范围中间值 (或 10 L/min), 稳定 1 min 后使用压力校准装置测量发生器压力, 并开始计时, 每隔 1 min 读取一次, 共记录 5 min, 取 6 个读数中的最大值和最小值, 按式 (5) 计算压力稳定性。按式 (6) 计算压力重复性 RSD_p

$$\delta p = \frac{p_{max} - p_{min}}{p} \times 100\% \quad (5)$$

式中:

δp ——压力稳定性

p ——被校发生器压力初始值, Pa;

p_{max} ——被校发生器压力最大值, Pa;

p_{min} ——被校发生器压力最小值, Pa。

$$RSD_p = \frac{1}{\bar{p}} \times \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^6 (p_i - \bar{p})^2}{5}} \times 100\% \quad (6)$$

式中:

RSD_p ——压力重复性

p_i ——被校发生器压力每次的测定值, L/min。

\bar{p} ——被校发生器压力 6 次测量值的平均值, L/min。

7.4 生物气溶胶发生存活率

生物气溶胶发生器中加入枯草芽孢杆菌孢子液(V_1 , mL) (按厂家推荐的体积量),

并在电子天平上称量(m_1, g),将生物气溶胶发生器喷出口插进圆台体装置大底面中心孔,此端需插松,采样器采样口插进小底面中心孔,确保采样器端插紧,这样采样器是在大气压下运行,而不是在密闭系统中;同时打开发生器和采样器,运行发生器 5 min,采样 5.25 min,再次称量发生器(m_2, g)。将采样器中的菌液梯度稀释,选择合适的稀释度接种到 TSA 培养基上,36 °C 培养 48 h,计数,计算采样器采集到能培养的孢子总数(N),与发生的孢子总数相比可得到生物气溶胶发生存活率,在发生气溶胶之前,也应采用相同方法对枯草芽孢杆菌孢子液进行培养计数得到孢子液浓度。

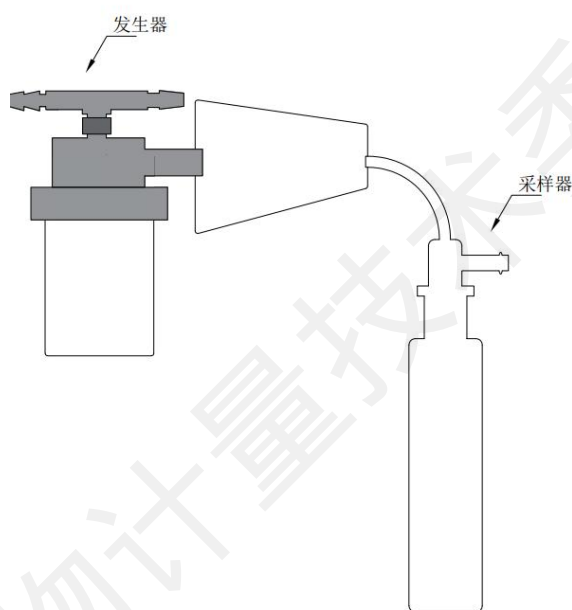


图 2 雾化存活率校准示意图

$$V_1 = \frac{m_1 - m_2}{\rho} \quad (7)$$

$$\eta = \frac{N}{cV_1} \quad (8)$$

式中:

ρ ——孢子液密度近似于 1 g/mL;

m_1 ——装有孢子液的生物气溶胶发生器质量, g;

V_1 ——发生孢子液体积, mL;

m_2 ——生物气溶胶发生 5 min 后发生器和孢子液质量, g;

η ——生物气溶胶发生器发生存活率, %;

c ——孢子液浓度, CFU/mL;

N——采样器采集到可培养的孢子总数

8 校准结果表达

8.1 校准结果处理

经校准后的生物气溶胶发生器核发校准证书,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校准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 B,校准证书内页格式(推荐性表格)见附录 C。

8.2 校准结果的测量不确定度

生物气溶胶发生器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 D。

9 复校时间间隔

由于复校时间间隔的长短是由生物气溶胶发生器的使用情况、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,建议不超过 1 年。

附录 A

培养基

A.1 胰蛋白酶大豆琼脂（TSA）培养基

A.1.1 成分

胰蛋白胨	15.0 g
大豆蛋白胨	5.0 g
氯化钠	5.0 g
琼脂	15.0 g
蒸馏水	1000 mL

A.1.2 制法

将各成分加入蒸馏水中，加热搅拌至溶解，调节 pH 至 7.3 ± 0.2 ，121℃高压灭菌 15 min。

A.2 磷酸盐缓冲液

A.2.1 成分

磷酸二氢钾（ KH_2PO_4 ）	34.0 g
蒸馏水	

A.2.2 制法

贮存液：称取 34.0 g 的磷酸二氢钾溶于 500 mL 蒸馏水中，用大约 175 mL 的 1 mol/L 氢氧化钠溶液调节至 7.2，用蒸馏水稀释至 1 000 mL 后贮存于冰箱。

稀释液：取贮存液 1.25 mL，用蒸馏水稀释至 1 000 mL，分装于适宜容器中，121℃高压灭菌 15 min

附录 B

校准原始记录参考格式

(推荐性表格)

仪器名称		型号	
制造厂商		气源出厂编号	
委托单位		地址	
温度 (°C)		相对湿度 (%)	
校准日期		记录编号	

一、流量示值误差、重复性及稳定性

流量示值误差	发生器流量设定值 $Q_0(\text{L/min})$		测量值 $Q(\text{L/min})$		$\bar{Q}(\text{L/min})$		相对示值误差 $\Delta Q(\%)$	
流量重复性	流量测定值 $Q_i(\text{L/min})$						$\bar{Q}(\text{L/min})$	$RSD_Q(\%)$
	1	2	3	4	5	6		
流量稳定性	流量初始值 $Q(\text{L/min})$		流量最大值 $Q_{\max}(\text{L/min})$		流量最小值 $Q_{\min}(\text{L/min})$		流量稳定性 $\delta_Q(\%)$	

二、压力重复性和稳定性

压力重复性	$p_i(\text{kPa})$						$\bar{p}(\text{kPa})$	$RSD_p(\%)$
	1	2	3	4	5	6		
压力稳定性	压力初始值 $p(\text{kPa})$		压力最大值 $p_{\max}(\text{kPa})$		压力最小值 $p_{\min}(\text{kPa})$		压力稳定性 $\delta_p(\%)$	

三、生物气溶胶发生存活率

	1	2	3	4	5	平均值	参考范围
发生存活率%							≥ 10%

校准员：_____

核验员：_____

全国生物计量技术委员会

附录 C

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	流量示值误差(%)		不确定度 ($k=2$)	
2	流量重复性(%)			
3	流量稳定性(%)			
4	压力重复性(%)			
5	压力稳定性(%)			
6	发生存活率(%)			

校准员：_____ 核验员：_____

附录 D

测量结果的不确定度评定示例

D.1 流量示值误差测量不确定度评定

D.1.1 测量方法

按照规范要求，将生物发生器与气体流量校准装置连接，待流量稳定后，读取气体流量示值 3 次，并与发生器设定值比较，按公式(D.1)计算流量相对示值误差。

D.1.2 测量模型

$$\Delta Q = \frac{Q_0 - \bar{Q}}{\bar{Q}} \times 100\% \quad (\text{D.1})$$

式中：

ΔQ ——流量相对示值误差，%

Q_0 ——被校发生器流量设定值，L/min；

\bar{Q} ——气体流量校准装置 3 次测量值的算术平均值，L/min。

D.1.3 合成标准不确定度计算公式

依据不确定度传播律，当各不确定度间不相关时， $u_c^2 = \sum_{i=1}^N c^2(x_i)u^2(x_i)$ ，输入量 Q_0 为一常数，不引入不确定度，则：

$$u_c = \sqrt{c_{\bar{Q}}^2 u_{\bar{Q}}^2} \quad (\text{D.2})$$

由公式(D.1)得

$$|c_{\bar{Q}}| = \frac{\partial \Delta Q}{\partial \bar{Q}} = \frac{Q_0}{\bar{Q}^2}$$

D.1.4 不确定度来源

不确定度来源包括：

- a) 测量重复性引入的标准不确定度 $u_1(\bar{Q})$ ；
- b) 气体流量校准装置分辨力引入的标准不确定度 $u_2(\bar{Q})$ ；
- c) 气体流量校准装置最大允许误差引入的标准不确定度 $u_3(\bar{Q})$ ；

D.1.5 标准不确定度分量评定

D.1.5.1 测量重复性引入的标准不确定度 $u_1(\bar{Q})$

对生物气溶胶发生器的流量进行 6 次重复测量，测量结果见表 D.1。

表 D.1 流量重复测量结果

流量测定值 $Q_i(\text{L/min})$						\bar{Q} (L/min)	Q_0 (L/min)	$s(\bar{Q})$
1	2	3	4	5	6			
9.84	9.91	9.89	9.84	9.89	9.93	9.88	10	0.037

则单次测量结果的标准差 $s(\bar{Q})$ 如下:

$$s(\bar{Q}) = \sqrt{\sum_{i=1}^n (Q_i - \bar{Q})^2 / (n - 1)} \approx 0.037 \text{ L/min}$$

实际测试时在重复性条件下连续测量 3 次, 以 3 次测量的算术平均值作为结果, 则由测量重复性引入的标准不确定度分量为:

$$u_1(\bar{Q}) = \frac{s(\bar{Q})}{\sqrt{3}} = 0.021 \text{ L/min}$$

D.1.5.2 气体流量校准装置分辨力引入的标准不确定度 $u_2(\bar{Q})$

气体流量校准装置的最小分辨力为 0.01 L/min, 区间半宽 $a=0.005 \text{ L/min}$, 按均匀分布处理, 取包含因子 $k=\sqrt{3}$, 由此引入的标准不确定度分量为:

$$u_2(\bar{Q}) = \frac{0.005}{\sqrt{3}} \text{ L/min} = 0.0029 \text{ L/min}$$

D.1.5.3 气体流量校准装置最大允许误差引入的标准不确定度 $u_3(\bar{Q})$

所用气体流量校准装置为 1 级, 对应的最大允许误差为 $\pm 1.0\%$, \bar{Q} 为 9.88 L/min, 按均匀分布处理, 包含因子取 $k=\sqrt{3}$, 由此引入的标准不确定度分量为:

$$u_3(\bar{Q}) = \frac{1.0\% \times 9.88}{\sqrt{3}} \text{ L/min} = 0.057 \text{ L/min}$$

D.1.5.4 灵敏系数的计算

将表 D.1 中数据代入灵敏系数计算公式, 则灵敏系数的计算结果如下:

$$|c_Q| = \frac{Q_0}{\bar{Q}^2} = \frac{10}{9.88^2} (\text{L/min})^{-1} = 0.102 (\text{L/min})^{-1}$$

D.1.6 合成标准不确定度

标准不确定度一览表见表 D.2。

表 D.2 发生器流量示值误差测量结果标准不确定度一览表

被测量	不确定度来源	标准不确定分量	灵敏系数	输出量的标准不确定度分量
采样流量示值误差	$u_1(\bar{Q})$	0.021 L/min	0.102 (L/min) ⁻¹	0.002142
	$u_2(\bar{Q})$	0.0029 L/min		0.0002958
	$u_3(\bar{Q})$	0.057 L/min		0.005814

由于各不确定度间互不相关，则由公式(D.2)可得合成标准不确定度 u_c 为:

$$u_c = \sqrt{c_Q^2(u_1^2(\bar{Q}) + u_2^2(\bar{Q}) + u_3^2(\bar{Q}))} \times 100\% = 0.620\%$$

D.1.7 扩展不确定度

取包含因子 $k=2$ ，则扩展不确定度 U 为:

$$U = k \times u_c = 1.3 \%$$

D.2 流量测量结果的不确定度评定

D.2.1 测量方法

按照规范要求,如果生物气溶胶发生器不显示流量示值,或不显示流量设定值,将采用流量测量结果评定不确定度。将生物发生器与气体流量校准装置连接,待流量稳定后,读取气体流量示值 3 次,按公式(D.2)计算流量测量结果。

D.2.2 测量模型

$$\bar{Q} = \frac{Q_1 + Q_2 + Q_3}{3} \quad (\text{D.3})$$

式中:

Q_1, Q_2, Q_3 ——分别为 3 次流量测量的示值, L/min;

\bar{Q} ——气体流量校准装置 3 次测量值的算术平均值, L/min。

D.2.3 不确定度来源

不确定度来源包括:

d) 测量重复性引入的标准不确定度 $u_1(\bar{Q})$;

e) 气体流量校准装置分辨力引入的标准不确定度 $u_2(\bar{Q})$;

f) 气体流量校准装置最大允许误差引入的标准不确定度 $u_3(\bar{Q})$;

D.2.4 标准不确定度分量评定

D.2.4.1 测量重复性引入的标准不确定度 $u_1(\bar{Q})$

对生物气溶胶发生器的流量进行 6 次重复测量,测量结果见表 D.1。

表 D.1 流量重复测量结果

流量测定值 Q_i (L/min)						\bar{Q} (L/min)	Q_0 (L/min)	$s(\bar{Q})$
1	2	3	4	5	6			
9.84	9.91	9.89	9.84	9.89	9.93	9.88	10	0.037

则单次测量结果的标准差 $s(\bar{Q})$ 如下:

$$s(\bar{Q}) = \sqrt{\sum_{i=1}^n (Q_i - \bar{Q})^2 / (n - 1)} \approx 0.037 \text{ L/min}$$

实际测试时在重复性条件下连续测量 3 次,以 3 次测量的算术平均值作为结果,则由测量重复性引入的标准不确定度分量为:

$$u_1(\bar{Q}) = \frac{s(\bar{Q})}{\sqrt{3}} = 0.021 \text{ L/min}$$

D.2.4.2 气体流量校准装置分辨力引入的标准不确定度 $u_2(\bar{Q})$

气体流量校准装置的最小分辨力为 0.01 L/min，区间半宽 $a=0.005$ L/min，按均匀分布处理，取包含因子 $k=\sqrt{3}$ ，由此引入的标准不确定度分量为：

$$u_2(\bar{Q}) = \frac{0.005}{\sqrt{3}} \text{ L/min} = 0.0029 \text{ L/min}$$

D.2.4.3 气体流量校准装置最大允许误差引入的标准不确定度 $u_3(\bar{Q})$

所用气体流量校准装置为 1 级，对应的最大允许误差为 $\pm 1.0\%$ ， \bar{Q} 为 9.88 L/min，按均匀分布处理，包含因子取 $k=\sqrt{3}$ ，由此引入的标准不确定度分量为：

$$u_3(\bar{Q}) = \frac{1.0\% \times 9.88}{\sqrt{3}} \text{ L/min} = 0.057 \text{ L/min}$$

D.2.5 合成标准不确定度

标准不确定度一览表见表 D.2。

表 D.2 发生器流量测量结果标准不确定度一览表

被测量	不确定度来源	标准不确定分量	输出量的标准不确定度分量
采样流量示值误差	$u_1(\bar{Q})$	0.021 L/min	0.000441
	$u_2(\bar{Q})$	0.0029 L/min	0.00000841
	$u_3(\bar{Q})$	0.057 L/min	0.003249

由于各不确定度间互不相关，则由公式(D.2)可得合成标准不确定度 u_c 为：

$$u_c = \sqrt{u_1^2(\bar{Q}) + u_2^2(\bar{Q}) + u_3^2(\bar{Q})} = 0.061 \text{ L/min}$$

D.2.6 扩展不确定度

取包含因子 $k=2$ ，则扩展不确定度 U 为：

$$U = k \times u_c = 0.13 \text{ L/min}$$