



中华人民共和国国家计量技术规范

JJF XXXX—202x

微生物限度检验仪校准规范

Calibration Specification of Microbial Enumeration Tester

(征求意见稿)

XXXXX - XX - XX 发布

XXXXX - XX - XX 实施

国家市场监督管理总局 发布

微生物限度检验仪校准规范

JJF xxxx—202x

Calibration Specification of Microbial

Enumeration Tester

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：

全国生物计量技术委员会

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	(1)
5.1 环境条件	(1)
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 外观及功能检查	(2)
6.2 负压压力	(2)
6.3 液体流量示值误差	(2)
6.4 液体流量重复性	(3)
6.5 微生物回收率	(4)
7 校准结果表达	(4)
7.1 校准结果处理	(4)
7.2 校准结果的测量不确定度	(5)
8 复校时间间隔	(5)
附录 A 校准原始记录格式	(6)
附录 B 校准证书内页格式	(8)
附录 C 液体流量示值误差测量结果的不确定度评定示例	(9)

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制定工作的基础性系列规范。

在编制过程中,参考了 JB/T 20179-2017《微生物限度检验仪》、GB/T 26428-2010《饲用微生物制剂中枯草芽孢杆菌的检测》、GB 4789.10-2016《食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验》和《中华人民共和国药典(2025年版)》第三部文件的基本原理、检测方法及计量特性等内容。

本规范为首次发布。

微生物限度检验仪校准规范

1 范围

本规范适用于采用薄膜过滤法、以负压作为过滤动力的微生物限度检验仪的校准。

2 引用文件

本规范引用了下列文件：

JB/T 20179-2017 微生物限度检验仪

GB/T 26428-2010 饲用微生物制剂中枯草芽孢杆菌的检测

GB 4789.10-2016 食品安全国家标准 食品微生物学检验 金黄色葡萄球菌检验

注：凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本规范。

3 概述

微生物限度检验仪（以下简称检验仪）是用于快速微生物限度检查的仪器，其工作原理为：基于薄膜过滤法原理，通过内置负压泵产生稳定负压，驱动样品液体通过一定孔径的无菌微孔滤膜，利用滤膜的物理截留特性，将样品中的微生物截留在滤膜表面；经冲洗、转移滤膜至培养基培养后，通过菌落计数实现样品微生物限度检测。

检验仪主要由主机（含负压发生系统、控制系统）、过滤组件（滤杯、滤头、滤膜）、废液收集装置及辅助灭菌等部件构成。

4 计量特性

检验仪各项计量特性指标见表 1。

表 1 检验仪的主要计量特性指标

计量特性	技术指标
工作压力	绝压：≤50 kPa
液体流量示值误差	±5%
液体流量重复性	≤3%
微生物回收率	≥90%
微生物回收率的重复性	≤20%
注：以上技术指标不适用于合格判定，仅供参考。	

5 校准条件

5.1 环境条件

5.1.1 环境温度：（10～40）℃；

5.1.2 相对湿度：不大于 70%。

注：若仪器制造商规定工作环境与上述不一致，以制造商产品技术文件规定为准。

5.2 测量标准及其他设备

5.2.1 枯草芽孢杆菌芽孢计数标准物质、金黄色葡萄球菌平板计数标准物质，或国家批准的其他符合技术要求的细菌计数有证标准物质，菌落数量值 ≥ 50 CFU，相对扩展不确定度不大于30%（ $k=2$ ）。

注：需在一定生物安全防护条件下操作。

5.2.2 电子天平

测量范围： ≥ 1000 g，分度值不大于1 mg，①级。

5.2.3 电子秒表

分辨力：0.01 s，最大允许误差： ± 0.10 s/h。

5.2.4 微生物恒温培养箱

最大允许误差： ± 1.0 °C。

5.2.5 移液器：

规格为：100 μ L，1000 μ L。

5.2.6 压力表：

最大允许误差： ± 1 kPa，测量范围（绝压）：不小于（0~100）kPa。

5.2.7 其他设备

（a）II级生物安全柜。

（b）高压蒸汽灭菌器：温度（105~135）°C，最大允许误差为 ± 3.0 °C。

（c）无菌水。

6 校准项目和校准方法

6.1 外观及功能检查

检验仪的外表面应光洁平整，便于清洁；外接管接口应有内容物流向的标识。

检验仪应具有名称、型号、出厂编号、制造单位等标识。

检验仪接通电源后，抽滤启停装置控制应灵敏、准确；抽滤过程中过滤头与滤膜组件的连接处不得出现渗漏；且抽滤过程中检验仪运转应平稳，无异响、无故停机等现象。

6.2 工作压力

压力表与滤头连接，启动负压装置，3 min 后记录压力表数值。

6.3 液体流量示值误差

准备一个装有约 2500 mL 无菌水的瓶子，用配套的管道连接至抽滤瓶瓶塞，启动检验仪，使无菌水充分充满检验仪前端管路，排尽管路气泡。同步启动检验仪与秒表，抽滤无菌水，计时 30 s；称量该段时间内过滤无菌水的质量，重复测量 3 次，按照式（1）~式（3）计算液体流量实测值和液体流量示值误差。

$$Q_i = \frac{m_i}{\rho \times t} \quad (1)$$

$$Q_s = \frac{\sum_{i=1}^n Q_i}{n} \quad (2)$$

$$\Delta Q = \frac{Q - Q_s}{Q_s} \times 100\% \quad (3)$$

式中：

Q_i ——第 i 次测量，液体流量的测量值，mL/s；

m_i ——第 i 次测量，检验仪过滤无菌水的质量，g；

ρ ——试验温度下水的密度，g/mL；

t ——测量时间，s；

Q_s ——液体流量实测值，mL/s；

Q ——检验仪液体流量设定值，mL/s；

n ——测量次数；

ΔQ ——流量示值误差，%。

6.4 液体流量重复性

按 6.3 方法，测量 6 次，液体流量重复性采用相对实验标准偏差表示，按式（4）计算。

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

式中：

s_r ——检验仪液体流量重复性，%；

$\bar{Q}$ ——检验仪液体流量 6 次测量值的平均值，mL/s；

6.5 微生物回收率

使用前，过滤组件（滤杯、滤头、滤膜）应采用适宜的方法灭菌；使用时，应保证滤膜在过滤前后的完整性。在生物安全柜中，打开检验仪的电源，先将少量的无菌水过滤以润湿滤膜。将适量已知浓度的标准物质加入 100 mL 无菌水中，充分混匀后使用检验仪对其进行抽滤，将所有滤液过滤到滤膜上，应注意保持溶液覆盖整个滤膜表面。用已灭菌的镊子将滤膜面朝上贴于胰蛋白胨大豆琼脂培养基平板上，将平板置于 $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中培养，培养时间不超过 3 天。每个滤头针对一种微生物进行三次回收率测试。培养结束后，对平行平板上生长的菌落进行计数，计算其算术平均值。按式（5）计算微生物回收率，按式（6）计算微生物回收率的重复性。

$$R = \frac{N_t}{C_0 \times V_0} \times 100\% \quad (5)$$

$$H = \frac{R_{\max} - R_{\min}}{C_n} \quad (6)$$

式中：

R ——微生物回收率，%；

N_t ——滤膜上生长的平均菌落数，CFU；

C_0 ——标准物质的浓度，CFU/mL；

V_0 ——加入标准物质的体积，mL。

H ——微生物回收率的重复性，%；

$R_{\max}$ ——微生物回收率测量结果中的最大值，%；

$R_{\min}$ ——微生物回收率测量结果中的最小值，%；

C_n ——极差系数， $C_3=1.69$ 。

7 校准结果表达

7.1 校准结果处理

经校准后的检验仪应核发校准证书，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。

7.2 校准结果的测量不确定度

检验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。

8 复校时间间隔

复校时间间隔受检验仪的使用频次、使用环境、维护状况、仪器本身性能等因素影响，由使用单位结合仪器实际使用情况自主确定；建议复校时间间隔建议不超过 1 年。

全国生物计量技术委员会

附录 A

校准原始记录格式

(推荐性表格)

仪器名称		型号/规格	
实验室温度		相对湿度	
制造单位		仪器编号	
校准员		核验员	
校准日期		证书编号	
送检单位		记录编号	
校准依据			
标准物质名称、 编号及批号			

1 外观及功能检查:

2 工作压力:

3 液体流量示值误差

液体流量设定值/(mL/s)	次数	无菌水质量/g	测量时间/s	液体流量实测值/(mL/s)	液体流量平均值/(mL/s)	示值误差	校准不确定度
	1						
	2						
	3						

4 液体流量重复性

液体流量设定值/(mL/s)	次数	无菌水质量/g	测量时间/s	液体流量实测值/(mL/s)	液体流量平均值/(mL/s)	重复性
	1					
	2					
	3					
	4					
	5					
	6					

5 微生物回收率

菌株				
组别	平行 1	平行 2	平行 3	平均值
理论总菌落数 (CFU)				
滤膜上的菌落数 (CFU)				
微生物回收率				
微生物回收率的 重复性				

附录 B

校准证书内页格式

(推荐性表格)

序号	校准项目	校准结果
1	工作压力	
2	液体流量示值误差	
3	液体流量重复性	
4	微生物回收率	
5	微生物回收率的重复性	

以下空白

第 X 页共 X 页

附录 C

液体流量示值误差测量结果的不确定度评定示例

C.1 概述

按规范要求，用天平称量检验仪过滤无菌水的质量，测量 3 次，计算液体流量示值误差。

C.2 测量模型

$$\Delta Q = \frac{Q - Q_s}{Q_s} \times 100\% \quad (\text{C.1})$$

式中：

ΔQ ——流量示值误差，%；

Q ——检验仪液体流量设定值，mL/s；

Q_s ——液体流量实测值，mL/s。

检验仪液体流量的设定值 Q 可视为常数，则不确定度来源为液体流量的实测值，可表示为：

$$u(\Delta Q) = cu(Q_s) \quad (\text{C.2})$$

其中：灵敏系数 $c = \frac{\partial \Delta Q}{\partial Q_s} = -\frac{Q}{Q_s^2}$

C.3 各输入量的标准不确定度分量评定

液体流量的实测值 Q_s 按照公式 (C.3) 计算。

$$Q_s = \frac{m}{\rho \times t} \quad (\text{C.3})$$

式中：

m ——检验仪过滤无菌水的质量，g；

ρ ——试验温度下水的密度，g/mL；

t ——测量时间，s。

C.3.1 天平称量引入的不确定度

电子天平的检定分度值为 1 mg，最大允许误差为 ± 0.5 mg，按均匀分布， $k = \sqrt{3}$ ，单次称量引入的标准不确定度为：

$$u_m = \frac{0.5 \text{ mg}}{\sqrt{3}} = 0.289 \text{ mg} \quad (\text{C.4})$$

检验仪液体流量设定值为 25 mL/s，对检验仪进行 6 次重复测量，检验仪过滤无菌水的质量分别为 751.949 g、749.853 g、757.34 g、755.842 g、752.249 g、756.142 g，平均值为 753.896 g。

前后称量两次，则

$$u(\Delta m) = \frac{\sqrt{2}u_m}{m} = \frac{0.409 \text{ mg}}{753.896 \text{ mg}} \times 100\% = 0.06\% \quad (\text{C.5})$$

C.3.2 时间引入的不确定度

秒表最小分度值为 0.01 s，测量时间为 30s，按均匀分布， $k = \sqrt{3}$ ，则时间引入的不确定度为：

$$u(t) = \frac{0.01 \text{ s}}{\sqrt{3} \times 30 \text{ s}} \times 100\% = 0.02\% \quad (\text{C.6})$$

C.3.3 重复性引入的不确定度

由环境条件、人员操作和被校采样器等各种因素引入的标准不确定度,可采用 A 类评定。

检验仪液体流量设定值为 25 mL/s，对检验仪进行 6 次重复测量，实际流量分别为 25.11 mL/s、25.04 mL/s、25.29 mL/s、25.24 mL/s、25.12 mL/s、25.25 mL/s，平均值为 25.18 mL/s。

因此被校检验仪流量示值单次测量的实验标准偏差为 $s=0.099$ mL/s。实际校准中重复测量 3 次取平均值，因此被校检验仪流量标准值重复测量引入的标准不确定度分量为：

$$u(Q_s) = \frac{0.099 \text{ mL/min}}{\sqrt{3} \times 25.18 \text{ s}} \times 100\% = 0.23\% \quad (\text{C.7})$$

C.4 合成标准不确定度

$$u_c(\Delta Q) = \sqrt{u^2(\Delta m) + u^2(t) + u^2(Q_s)} = \sqrt{0.06\%^2 + 0.02\%^2 + 0.23\%^2} = 0.24\%$$

C.5 扩展不确定度

$$U = k \times u_c(\Delta Q) = 2 \times 0.24\% = 0.5\% (k = 2)$$

全国生物计量技术委员会