

中华人民共和国国家计量技术规范

JJF XXXX-202X

荧光法生物气溶胶监测仪

Fluorescence Bioaerosol Monitors

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

国家市场监督管理总局 发布

荧光法生物气溶胶监测仪校准规范

Calibration Specification for Fluorescence

JJF XXX—XXXX

Bioaerosol Monitors

归口单位：全国生物计量技术委员会

起草单位：北京市计量检测科学研究院

中国计量科学研究院

上海镭慎光电科技有限公司

本规范委托全国生物计量技术委员会负责解释

本规程主要起草人：

张国城（北京市计量检测科学研究院）

潘一廷（北京市计量检测科学研究院）

隋志伟（中国计量科学研究院）

刘俊杰（中国计量科学研究院）

参加起草人：

田 莹（北京市计量检测科学研究院）

傅博强（中国计量科学研究院）

朱 菁（上海镭慎光电科技有限公司）

目 录

引 言.....	II
1 范围.....	1
2 引用文件.....	1
3 术语和定义.....	1
4 概述.....	2
5 计量特性.....	2
6 校准条件.....	3
6.1 环境条件.....	3
6.2 校准用计量器具及配套设备.....	3
7 校准项目和校准方法.....	4
7.1 零点.....	4
7.2 流量示值误差.....	5
7.3 流量稳定性.....	5
7.4 计数效率.....	6
7.5 粒子计数重复性.....	7
8 校准结果表达.....	8
9 复校时间间隔.....	9
附录 A 粒子计数校准装置.....	10
附录 B 生物气溶胶模拟舱.....	11
附录 C 粒子计数效率不确定度评定实例.....	12
附录 D 生物气溶胶监测仪校准原始记录格式.....	16
附录 E 校准证书（内页）参考格式.....	18

引 言

本规范以 JJF1071-2010《国家计量校准规范编写规则》、JJF1001-2011《通用计量术语及定义》、JJF1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》为基础性系列规范进行制定。本规范的主要技术指标参考了 GB/T 39990-2021《颗粒 生物气溶胶采样器 技术条件》、JJF 1562-2016《凝结核粒子计数器校准规范》和 JJF 1190-2008《尘埃粒子计数器校准规范》。

本规范为首次发布。

全国生物计量技术委员会

荧光法生物气溶胶监测仪校准规范

1 范围

本规范适用于荧光法生物气溶胶监测仪的校准。

2 引用文件

本规范引用了下列文件：

JJF 1190-2008 《尘埃粒子计数器校准规范》

GB/T 39990-2021 《颗粒 生物气溶胶采样器 技术条件》

JJF 1562-2016 《凝结核粒子计数器校准规范》

GB/T 38517-2020 《颗粒生物气溶胶采样和分析通则》

凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。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 术语和定义

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。

3.2 零点 zero

粒子计数器测量经高效空气过滤器（对不小于 0.3 微米颗粒的过滤效率不低于 99.97%）过滤的空气时产生的计数响应。

3.3 粒子计数效率 particle counting efficiency

测量同一样品时被校准仪器粒子计数结果与标准仪器结果的比

值。

4 概述

生物粒子内部含有氨基酸、核黄素和烟酰胺腺嘌呤二核苷酸等表征生物活性的有机分子，在激光或紫外光诱导下会产生生物本征荧光，这种荧光是区分生物粒子与非生物粒子的重要依据。生物气溶胶监测仪（下文简称“仪器”）是基于生物本征荧光的激光诱导荧光技术和光散射技术开发的一类生物粒子监测仪器，用于监测环境空气中生物粒子浓度和粒径大小。仪器结构包括检测单元、采样控制单元和数据处理单元。

5 计量特性

表 1. 荧光法生物气溶胶监测仪计量特性

计量参数	性能指标	
零点	≤1 个	
流量示值误差	±5%	
流量稳定性	≤15%	
总粒子计数效率*	(100±20)%	
荧光通道计数效率	荧光粒子	(100±25)%
	生物粒子	(100±50)%
粒子计数重复性	≤5%	
注：以上指标不适用于合格判定，仅供参考。		
*此处用无荧光的聚苯乙烯粒子作为粒度标准物质，荧光通道的粒子计数效率应小于 3%。		

6 校准条件

6.1 环境条件

环境温度：（15～30）℃；

相对湿度：≤85%；

实验室洁净度：不低于 10000 级的洁净室或洁净区

6.2 标准器及配套设备

6.2.1 粒度标准物质：应使用国家有证标准物质，粒径范围（0.3～3） μm ， $U_{\text{rel}} \leq 5\%$ （ $k=2$ ）。

6.2.2 荧光粒度标准物质：应使用国家有证标准物质，粒径范围（0.3～3） μm ， $U_{\text{rel}} \leq 5\%$ （ $k=2$ ）；荧光粒度标准物质荧光有效激发波长范围能够覆盖仪器激发光源的中心波长。单个荧光粒子荧光强度与被检生物粒子荧光强度相当。

6.2.3 检验用指示微生物

采用萎缩芽孢杆菌有证标准物质，浓度：（ $10^6 \sim 10^8$ ）CFU/mL， $U_{\text{rel}} \leq 25\%$ （ $k=2$ ）。

6.2.4 流量校准装置

流量范围（1～10）L/min，MPE：±1.0%。

6.2.5 秒表

分度值 0.01s。

6.2.6 标准尘埃粒子计数器

在（100~10000）个/L 范围内粒子数量浓度，重复性优于 3%，
粒子计数效率 $U_{\text{rel}} \leq 6\%$ ($k=2$)。

6.2.7 粒子计数校准装置

该装置用于总粒子计数效率和荧光粒子计数效率的检测。可产生并调节的粒子浓度范围（50~1000）个/L，10min 内颗粒物浓度的稳定性应优于 1%。校准装置原理、组成及技术要求参见附录 A。

6.2.8 生物气溶胶模拟舱：

舱内温度（ 25 ± 2 ）℃，相对湿度（ 50 ± 10 ）%，微负压，10min 内生物气溶胶浓度（如果检测周期超过 10min，则至少满足 1 个检测周期内）稳定性偏差 $\leq 5\%$ ，均匀性偏差 $\leq 5\%$ 。校准装置原理、组成及技术要求参见附录 B。

6.2.9 参照标准采样器

安德森六级空气微生物采样器、AGI-30 或 Biosampler 空气微生物采样器，应使用额定流量，采样流量示值误差不超过 $\pm 5\%$ ，流量稳定性 $\leq 5\%$ 。

7 校准项目和校准方法

7.1 零点

将高效过滤器（对不小于 0.3 微米颗粒的过滤效率不低于 99.97%）连接到仪器的泵入口处，将仪器调节到累积计数模式，连续运行 5min 以上，记录 5min 内仪器最低粒径档的粒子计数测量值 C_0 ，并以 C_0 作为仪器的零点。

7.2 流量示值误差

选取仪器采样流量值为校准点，将流量校准装置连接到仪器采样口处，待流量稳定后，读取流量计的 3 次测量值，并计算其平均值 $\bar{q}$ ，根据公式（1）计算仪器的采样流量示值误差 Δq 。

$$\Delta q = \frac{q_s - \bar{q}}{\bar{q}} \times 100\% \quad (1)$$

式中， Δq —流量误差；

$\bar{q}$ —为采样流量 3 次测量平均值，mL/min；

q_s —为仪器采样流量值，mL/min。

7.3 流量稳定性

将流量校准装置连接到仪器采样口处，仪器稳定后连续运行 30min，每 6 min 记录一次流量校准装置读数，连续测量 6 次，根据公式(2)计算仪器的采样流量稳定性 S_q

$$S_q = \frac{q_{max} - q_{min}}{\bar{q}} \times 100\% \quad (2)$$

式中， q_{max} —测量流量中最大测量值，mL/min；

q_{min} —测量流量中最小测量值，mL/min；

$\bar{q}$ —流量 6 次测量值的平均值，mL/min；

S_q —采样流量稳定性。

7.4 计数效率

7.4.1 总粒子计数效率

按照附录A连接校准装置。使用粒子计数校准装置将粒度标准物质（粒径为被校准仪器最低粒径档的1.5~2倍左右单分散粒度标准物质）雾化，经扩散干燥后得到单分散气溶胶粒子样品。调节粒子浓度分别控制在（50~200）个/L，（500~800）个/L和（1000~2000）个/L。在每个浓度点下，记录1min内的仪器和标准尘埃粒子计数器的最低粒径档测量结果，共计10次，计算10次测量结果的平均值。按照公式（3）计算得到不同浓度下仪器的总粒子计数效率。此处如果用无荧光的聚苯乙烯粒子作为粒度标准物质时，荧光通道的粒子计数效率应小于3‰。

$$\eta = \frac{\bar{C}}{\bar{N}} \times f_1 \times \eta_s \quad (3)$$

式中：

η —仪器计数效率，%；

$\bar{N}$ —标准尘埃粒子计数器10次测量结果平均值，个；

$\bar{C}$ —仪器10次测量结果平均值（总粒子通道或荧光通道），个；

f_1 —稀释倍数，无量纲量；

η_s —标准尘埃粒子计数器计数效率，无量纲量。

7.4.2 荧光粒子计数效率

按照附录A连接校准装置。使用粒子计数校准装置将粒度标准物

质（0.5μm和1.0μm粒径单分散荧光粒度标准物质）雾化，经扩散干燥后得到单分散气溶胶样品。调节粒子浓度分别控制在（50~200）个/L，（400~600）个/L和（800~1000）个/L范围内。在每个浓度记录1min内的仪器和标准尘埃粒子计数器的最低粒径档测量结果，共计10次，计算10次测量结果的平均值。按照公式（3）计算得到不同浓度下仪器的荧光粒子计数效率。

7.4.3 生物计数效率

按照附录B连接校准装置。将参照标准采样器放入生物气溶胶模拟舱中，调节参数产生浓度在（500~1000）CFU/L范围内的生物气溶胶，待浓度稳定后，同时启动仪器和参照标准采样器，同时停止采样，用平皿培养计数法对参照标准采样器的样本进行培养计数。重复测量3次，按照公式（4）计算生物计数效率。

$$\eta_{\text{bio}} = \frac{\bar{c}_{\text{bio}}}{\bar{N}_{\text{ref}}/V_1} \times 100\% \quad (4)$$

η_{bio} —仪器生物计数效率，%；

$\bar{N}_{\text{ref}}$ —参照标准采样器3次采集到的生物粒子数平均值，个；

V_1 —参照标准采样器采集期间的总体积，L；

$\bar{c}_{\text{bio}}$ —仪器3次测量结果（荧光通道）平均值，个/L；

7.5 粒子计数重复性

按照 5.4.2 方法，将测量舱内的荧光粒子浓度控制在 600 个/L 附近。待仪器稳定后，每 1min 测量一次，连续测量 10 次，分别记录仪器总粒子数和荧光粒子数，按公式（5）计算得到对应粒子计数重复

性 δc

$$\delta c = \frac{1}{\bar{C}} \times \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C})^2}{n-1}} \times 100\% \quad (5)$$

式中：

C_i -----仪器第 i 次的测量值，个；

$\bar{C}$ -----仪器 10 次测量值的平均值，个；

n -----测量次数， $n=10$ 。

8 校准结果表达

校准结果应在校准证书或校准报告上反映，校准证书或报告至少包括以下信息：

- a) 标题，如“校准证书”或“校准报告”；
- b) 实验室名称和地址；
- c) 进行校准的地点（如果不在实验室内进行校准）；
- d) 证书或报告的惟一性标识（如编号），每页及总页数的标识；
- e) 送校单位的名称和地址；
- f) 被校对象的描述和明确标识；
- g) 进行校准的日期，如果与校准结果的有效性和应用有关时，应说明被校对象的接受日期；
- h) 如果与校准结果的有效性和应用有关时，应对抽样程序进行说明。校准环境的描述；
- i) 对校准所依据的技术规范的标识，包括名称及代码；
- j) 本次校准所用测量标准的溯源性及有效性说明；

- k) 校准环境的描述;
- l) 校准结果及测量不确定度的说明
- m) 校准证书或校准报告签发人的签名、职务或等效标识、以及签发日期;
- n) 校准结果仅对被校对象有效的声明;
- o) 未经实验室书面批准,不得部分复制证书或报告的声明。

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监测仪的使用情况、使用者、监测仪本身质量等因素所决定,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。如果对监测仪的检测数据有怀疑或监测仪更换主要部件及修理后,应对监测仪重新校准。

附录 A 粒子计数校准装置

本规范中，可使用已校准的标准尘埃粒子计数器作为标准仪器，通过比较法完成对仪器的粒子计数效率的校准。

校准装置工作原理为（如图 1 所示）：将经过高效过滤器的洁净压缩空气通入校准装置，待混匀舱内的粒子浓度小于 10 个/L 时，将装置中粒度标准物质雾化，经沉降、混匀稀释后得到浓度适当且稳定的气溶胶颗粒，同时开启标准尘埃粒子计数器和被校准仪器，将仪器的测量值和标准尘埃粒子计数器测量值进行比较，从而实现对仪器粒子计数效率的校准。

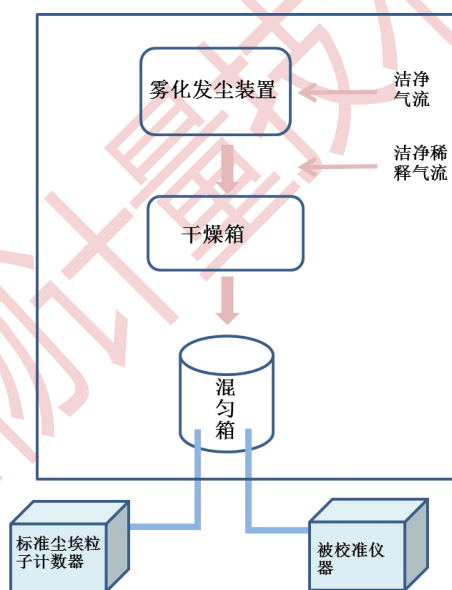


图 1 粒子计数效率校准装置

附录 B 生物气溶胶模拟舱

生物气溶胶模拟舱原理为（如图 2 所示）：将经过高效过滤器的洁净压缩空气通入气溶胶发生器，雾化装置中的微生物标准菌液，经雾化混匀稀释后得到浓度适当且稳定的气溶胶环境，同时开启参照标准采样器和被校准仪器，通过菌落计数法得到采样器的测量值，将仪器的测量值和参照标准采样器的数值进行比较，从而实现对生物计数效率的校准。

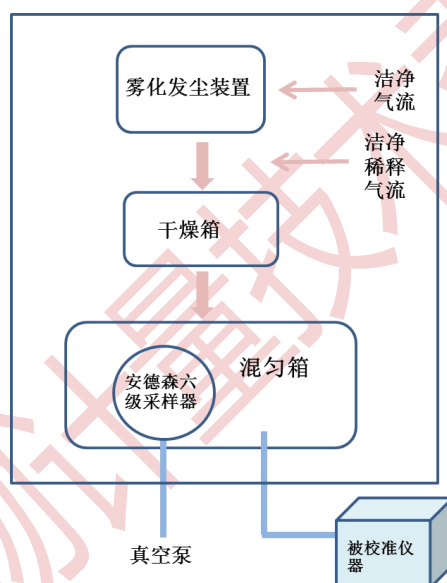


图 2 生物气溶胶模拟舱

附录 C 粒子计数效率不确定度评定实例

C.1 校准方法简述及测量模型

按本规范 5.4.1 部分进行仪器颗粒计数效率的校准。按公式(C.1)计算仪器的计数效率。

$$\eta = \frac{\bar{C}}{\bar{N}} \times f \times \eta_s \quad (\text{C.1})$$

式中：

η —待测仪器计数效率，%；

$\bar{N}$ —标准尘埃粒子计数器10次测量结果平均值，个；

$\bar{C}$ —待测仪器10次测量结果平均值(总粒子通道或荧光通道)，个；

f —稀释倍数，无量纲量；

η_s —标准尘埃粒子计数器计数效率，无量纲量。

C.2 不确定度计算公式

从公式(C.1)可以看出，影响测量结果不确定度的因素主要有：仪器测量结果、标准尘埃粒子计数器的测量结果、稀释比例。不确定度计算公式可由公式(B.1)导出。

$$u_r(\eta) = \sqrt{u_r^2(\bar{C}) + u_r^2(\bar{N}) + u_r^2(f) + u_r^2(\eta_s)} \quad (\text{C.2})$$

式中：

$u_r(\eta)$ —仪器计数效率的相对不确定度；

$u_r(\bar{C})$ —待测仪器测量结果引入的相对不确定度；

$u_r(\bar{N})$ —标准尘埃粒子计数器测量结果引入的相对不确定度；

$u_r(f)$ —稀释比例引入的相对不确定度；

$u_r(\eta_s)$ —标准尘埃粒子计数器计数效率引入的相对不确定度。

C.3 不确定度分量的评定与计算

C.3.1 仪器测量结果引入的不确定度分量

由本规范的5.4.1部分，仪器的测量结果为10次测量结果的平均值，测量结果见表C.1。

表C.1 被校准仪器的测量结果

测量次数	测量结果/2L
1	1025
2	1030
3	1033
4	1049
5	1029
6	1053
7	1007
8	1041
9	1012
10	1010
平均值	1030.9
标准偏差	14.0

因此，仪器测量结果引入的不确定度为 $u_r(\bar{C}) = \frac{\delta_c}{\bar{C} \times \sqrt{n}} = 0.4\%$

C.3.2 稀释比例引入的不确定度

经国家法定计量检定结构校准，在（200～400）倍稀释比范围内，稀释比例的相对标准不确定度 $u_r(f)=0.60\%$ 。

C.3.3 标准尘埃粒子计数器测量结果引入的不确定度

由本规范的5.4.1部分，标准尘埃粒子计数器的测量结果为10次测量的平均值，测量结果见表B.2。

表C.2 标准尘埃粒子计数器的测量结果

测量次数	测量结果/2.83L
1	1551
2	1581
3	1565
4	1552
5	1541
6	1544
7	1548
8	1540
9	1541
10	1544
平均值	1550.6
标准偏差	13.0

因此，标准尘埃粒子计数器测量结果引入的不确定度为：

$$u_r(\bar{N}) = \frac{\delta_c}{\bar{N} \times \sqrt{n}} = 0.3\%$$

C.3.4 标准尘埃粒子计数器计数效率引入的不确定度

采用标准尘埃粒子计数器作为标准器，不确定度优于6%，校准引入的相对不确定度 $u_r(\eta_s) \approx 3\%$ 。

C.4 标准不确定度

仪器计数效率的标准不确定度：

$$\begin{aligned}u_r(\eta) &= \sqrt{u_r^2(\bar{C}) + u_r^2(N) + u_r^2(f) + u_r^2(\eta_s)} \\&= 3.1\end{aligned}$$

C.5 扩展不确定度

$$U_r=6.2\% \quad (k=2)$$

附录 D 生物气溶胶监测仪校准原始记录格式

委托单号_____证书编号_____

送检单位_____校准地点_____

仪器名称_____仪器型号_____

仪器编号_____制造厂商_____

环境条件：温度_____℃ 湿度_____ %RH

本次测量所使用的主要计量器具

标准器名称	编号	测量范围	不确定度/准确度等级/最大允许误差	证书编号/溯源单位	有效期至

1. 零点：_____

2. 流量示值误差

流量设定值 (mL/min)	被检仪器示值 (mL/min)				示值误差 %
	1	2	3	平均值	

3. 流量重复性

测量值 (mg/m ³)						重复性 %
1	2	3	4	5	6	

4. 总粒子和荧光粒子计数效率

粒径 μm	参比粒子计数器测量值 (个)										平均值
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
0.5											
1.0											

粒径 μm	被检仪器测量值 (个)											计数效率 (%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均值	
0.5												
1.0												

5. 生物计数效率:

参照标准采样器				被检仪器测量值				计数效率 %
1	2	3	平均值	1	2	3	平均值	

6. 重复性

类型	测量值 (个)										重复性 %
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
总粒子											
荧光粒子											

本次示值误差校准结果的相对扩展不确定度为_____

校准员_____核验员_____校准日期: _____年____月____日

附录 E 校准证书（内页）参考格式

校准项目	校准结果		
零点			
流量示值误差（%）			
流量重复性（%）			
计数效率（%）	总粒子	荧光粒子	生物粒子
粒子计数重复性（%）	总粒子		
	荧光粒子		

本次粒子计数效率校准结果的相对扩展不确定度为_____