



中华人民共和国国家计量技术规范

JJF ××××-202×

生物发酵罐性能测试规范

Performance test specification of biological fermentation tank

(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

全国生物计量技术委员会

生物发酵罐性能测试规范

Performance test specification of
biological fermentation tank

JJF XXXX—202X

归口单位：全国生物计量技术委员会

主要起草单位：南京市计量监督检测院

参加起草单位：中国计量科学研究院

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.....	III
1 范围.....	1
2 引用文件.....	1
3 术语和计量单位.....	1
3.1 生物发酵 Biological fermentation.....	1
3.2 生物发酵罐 Biological fermenter tank.....	1
4 概述.....	1
5 计量特性.....	2
6 校准条件.....	2
6.1 环境条件.....	2
6.2 校准用的标准设备.....	2
6.3 校准用的标准物质及其他配套试剂.....	3
7 校准项目和校准方法.....	3
7.1 校准前准备及检查.....	3
7.2 酸度测量示值误差.....	3
7.3 酸度测量重复性.....	3
7.4 溶解氧浓度测量示值误差.....	4
7.5 溶解氧测量重复性.....	4
7.6 温度示值误差.....	4
7.7 转速示值误差.....	5
7.8 液体流量设定值误差和流量稳定性.....	5
7.9 气体流量示值误差.....	6
7.10 灭菌性能测试.....	7
7.11 无菌性能测试.....	7
8 校准结果表达.....	7
8.1 校准结果处理.....	7
8.2 校准证书.....	7
8.3 校准结果的测量不确定度.....	7
9 复校时间间隔.....	7

附录 A 校准记录和校准证书的内容.....	8
附录 B 生物发酵罐温度示值误差测量结果的不确定度评定示例.....	11
附录 C 国际温标纯水密度表.....	11

全国生物计量技术委员会

引言

本规范依据国家计量技术规范 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》编制。

本规范的制定主要参考了 JJG119《实验室 pH（酸度）计》、JJG291《溶解氧测定仪》、JJG1871《磁电式转速传感器》、JJF1101《环境试验设备温度、湿度参数校准规范》及现行生物发酵罐相关技术文件。

本规范为首次制定。

生物发酵罐性能测试规范

1 范围

本规范适用于容量为 1L~300L 的搅拌式生物发酵罐的性能参数的校准,容量大于 300L 的生产型生物发酵罐可参照此规范执行。

2 引用文件

本规范引用了下列文件:

JJG119 实验室 pH (酸度) 计

JJG291 溶解氧测定仪

JJG1871 磁电式转速传感器

JJF 1265 生物计量术语及定义

JJF1001 通用计量术语及定义

JJF1101 环境试验设备温度、湿度参数校准规范

JJF 1265 生物计量术语及定义

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 术语和计量单位

JJF 1001—2011、JJF 1265—2010 中界定的及以下术语和定义适用于本规范。

3.1 生物发酵 Biological fermentation

生物发酵是指利用生物原理(通常是微生物或者细胞),在适宜的条件下,将原质经过特定的代谢途径转化为人类所需要的产物的过程。

3.2 生物发酵罐 Biological fermentation tank

生物发酵罐是为一个特定生物化学过程的操作提供良好而满意的环境的容器。

4 概述

生物发酵罐是进行生物发酵的过程的特定生产仪器。

生物发酵罐是为一个特定生物化学过程的操作提供良好而满意的环境的容器,是生物发酵过程中的核心器件。通过控制罐体内温度、压力、转速、pH 值、溶氧等参数达到对生物发酵条件的严格控制,从而寻求最好的发酵效率,追求目标产物产率的最大化。实验室级生物发酵罐,通常又称台式生物发酵罐、小试型生物发酵罐,培养体积一般为(1~50)L,罐体一般为玻璃罐体。主要用于实验室微生物

物和细胞培养，复苏，实验室工艺开发中。生产级生物发酵罐，通常又称中试型和生产型生物发酵罐。培养体积一般为300L以上，罐体一般为不锈钢罐体。主要用于食品、生物制药生产。生物发酵罐主要由发酵罐体、管路组件、传感器及配套的控制单元组成。

5 计量特性

表 1 生物发酵罐的计量性能指标

序号	计量性能		计量性能指标
1	酸度	酸度示值误差	不超过±0.1pH
		酸度重复性	不大于0.05pH
2	溶解氧	溶解氧浓度示值误差	不超过±0.5mg/L
		溶解氧重复性	不大于0.15mg/L
3	温度	温度示值误差	不超过±1.0℃
4	转速	转速示值误差	不超过±3%
5	液体流量	液体流量示值误差	不超过±5%
		流量稳定精度	不超过5%
6	气体流量	气体流量示值误差	不超过±5%
7	灭菌性能	温度波动度	±1℃
		温度分步均匀性	不超过2℃
		灭菌温度带	不超过3℃
8	无菌性能	保持无菌(目测)	培养24h后观察

注 1: 以上技术指标不是用于合格性判别, 仅供参考, 计量特性也可参照发酵罐制造厂商给出的技术要求。
注 2: *如发酵罐适用, 可进行该项目的校准。

6 校准条件

6.1 环境条件

6.1.1 环境温度(10~30)℃, 相对湿度不大于80%。

6.1.2 室内应防潮、避光、防热、无腐蚀性物品, 通风良好。

注: 6.1 中的条件与制造商的产品规定不一致时, 以产品规定为准。

6.2 校准用的标准设备

6.2.1 温度测量设备: 测量范围:(5.0~80.0)℃, 最大允许误差±0.2℃, 传感器选用四线制铂电阻温度计(精度不低于0.01℃), 传感器通道数量不少于6个, 并能满足校准要求。

6.2.2 饱和溶解氧发生装置: 恒温范围(5.0~50.0)℃, 温度波动范围不大于0.2℃, 均匀性不超过±0.2℃, 溶解氧发生稳定。

6.2.3 转速测量装置：转速测量范围（0~5000）rpm，不确定度不大于 3%（k=2）。

6.2.4 流量测量装置：流量测量范围（0.5~20）L/min，不确定度不大于 3%（k=2）。

6.2.5 电子天平：实际分度值不大于 0.01mg，①级。

6.2.6 灭菌温度测试装置：无线温度测量装置，温度测量范围（0~140）℃，不确定度不大于 0.2℃（k=2）。

6.3 校准用的标准物质及其他配套试剂

6.3.1 酸度标准物质：应使用经政府计量行政部门批准的 pH 有证标准物质，不确定度不大于 0.01pH（k=3）。

7 校准项目和校准方法

7.1 校准前准备及检查

检查待校生物发酵罐铭牌标识是否完好。将待校生物发酵罐开机预热，并确认发酵罐各传感器工作正常。

7.2 酸度测量示值误差

对待测发酵罐 pH 探头的用一种标准溶液校准后(对具有两点校准或多点校准式仪器，应选用两种或多种溶液校准，校准溶液与测量溶液的 pH 之差以不超过 3pH 单位为宜)，测量另一种标准溶液（依据常用点选择）。重复操作 6 次，取平均值作为仪器示指 $\overline{pH}_{\text{测量}}$ ，此示值与该溶液在测定温度下的标准值之差为该发酵罐的 pH 计示值误差值 ΔpH 。（测量时应注意温度平衡及温度修正）。

$$\Delta pH = \overline{pH}_{\text{测量}} - pH_{\text{标准}} \quad (1)$$

式中： $\overline{pH}_{\text{测量}}$ ——三次测量平均值，pH；

$pH_{\text{标准}}$ ——缓冲液标准值，pH；

ΔpH ——仪器示值误差，pH。

7.3 酸度测量重复性

取 7.2 中 6 次测量数据，按式（2）计算酸度重复性 S_{pH}

$$S_{pH} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (pH_i - \overline{pH})^2}{n-1}} \quad (2)$$

式中： \overline{pH} ——6 次测量平均值，pH；

pH_i ——待测标准溶液的测量值，pH；

n ——测量次数，6次。

7.4 溶解氧浓度测量示值误差

用饱和溶解氧发生装置制备出的氧饱和水溶液（选择量程 20%，50%，80% 点或实际使用点），分别用生物发酵罐溶解氧传感器测量不同浓度的氧饱和水溶液 6 次，用测量绝对误差值中的最大值表示该生物发酵罐的溶解氧误差。

溶解氧浓度与温度呈函数关系，温度对其影响很大。若溶解氧传感器自带温度补偿，必须在温度误差低于 $\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ 情况下进行，否则溶解氧的温度自动补偿不能认可。（溶解氧操作可依据生物发酵罐的说明书执行）

$$\Delta C = \bar{C} - C_{\text{标准}} \quad (3)$$

式中： \bar{C} ——仪器测量平均值，mg/L；

$C_{\text{标准}}$ ——溶解氧标准值，mg/L；

ΔC ——溶解氧示值误差，mg/L。

7.5 溶解氧测量重复性

取 7.4 中 6 次测量数据，按式（4）计算溶解氧重复性 S_C

$$S_C = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (C_i - \bar{C})^2}{n-1}} \quad (4)$$

式中： \bar{C} ——6 次测量平均值，mg/L；

C_i ——待测标准溶液的测量值，mg/L；

n ——测量次数，6 次。

7.6 温度示值误差

分别设置温度测量装置中水浴温度在发酵罐满量程温度的 20%，50%，80% 的温度点处，将发酵罐的温度探头取出放入水浴锅内，与标准数字温度计靠近放置于水浴锅同一水平面内，在设定的温度点，同时分别读取 $T_{\text{罐}}$ 和 $T_{\text{标准}}$ 三次

测量值，取各自的三次平均值为该温度点的 $\overline{T_{\text{罐}}}$ 、 $\overline{T_{\text{标准}}}$ ，按式（5）计算 ΔT

公式：

$$\Delta T = \overline{T_{\text{罐}}} - \overline{T_{\text{标准}}} \quad (5)$$

式中：

$\overline{T}_{\text{标准}}$ ——标准数字温度计平均值，℃；

$\overline{T}_{\text{罐}}$ ——生物发酵罐的温度探头平均值，℃；

ΔT ——温度误差值；

7.7 转速示值误差

将反光转速贴片贴于搅拌器旋转叶片或转动轴上，在测量范围内设置4档转速，分别为50 r/min、200 r/min、500r/min、1000 r/min。用光电转速表对准反光贴片位置测量实际转速，每档转速下测量3次，取平均值 $x_{\text{标准}}$ ，通过计算相对误差值得到不同转速下的转速误差，其中最大值即为该生物发酵罐的转速误差。

公式：

$$\delta_L = \frac{x_i - x_{\text{标准}}}{x_{\text{标准}}} \times 100\% \quad (6)$$

式中： δ_L ——转速相对误差，r/min；

x_i ——转速设定值，r/min；

$x_{\text{标准}}$ ——转速测量平均值，r/min。

7.8 液体流量设定值误差和流量稳定性

用专用管路连接仪器的出口、入口，以脱过气的水做流动相，通过管路冲洗系统，使系统中充满水。将温度计插入流动相内，测量试验温度。设定适当的流量，当生物发酵罐泵运行稳定后，在泵测量范围中均匀取三个测量点，用合适的干燥的容量瓶（事先清洗、干燥后称重）分别接收规定时间流出的流动相。测量次数、时间、使用容量瓶规格如下表所示。将测量得到的容量瓶分别在分析天平上称重，重复三次，按公式(7)计算流量的实测值，按公式(8)计算流量设定值误差SS，按公式(9)计算流量稳定性误差SR。

表2 泵流速测定参数表

泵流速设定值 (mL/min)	0.2~1.0	1.0~10	10~100
测量次数	3	3	3
流动相收集时间 (min)	10~20	5~10	5
使用容量瓶大小(ml)	25	100	1000

$$F_m = (W_2 - W_1) / (\rho_t \times t) \quad (7)$$

式中：

F_m ——流量实测值，mL/min；

W_2 ——容量瓶加流动相的质量，g；

W_1 ——容量瓶的质量，g；

ρ_t ——实验温度下流动相的密度，g/cm³，(不同温度下流动相的密度参见附录

C)：

t ——收集流动相的时间，min。

$$S_s = \frac{\overline{F_m} - F_s}{F_s} \times 100\% \quad (8)$$

式中：

S_s ——流量示值误差，%；

$\overline{F_m}$ ——同一设定流量 3 次测量值的算术平均值，mL/min；

F_s ——流量设定值，mL/min。

$$S_R = \frac{F_{\max} - F_{\min}}{\overline{F_m}} \times 100\% \quad (9)$$

式中：

S_R ——流量稳定性，%；

F_{\max} ——同一设定流量 3 次测量值的最大值，mL/min；

F_{\min} ——同一设定流量 3 次测量值的最小值，mL/min；

$\overline{F_m}$ ——同一设定流量 3 次测量值的算术平均值，mL/min。

7.9 气体流量示值误差

选取用户常用的气体介质，将气体流量测量装置串联入气体流路中，将气体流量测量装置选择合适的气体介质。将发酵罐气体流量计选择用户常用的流量使用点，连续测量 3 次，记录每次的测定值 Z_i ，计算得平均值 \overline{Z}_i ，并根据公式（10）计算气体流量示值误差值 ΔZ

公式：

$$\Delta Z = Z_{\text{设置}} - \overline{Z}_i \quad (10)$$

式中：

$Z_{\text{设置}}$ ——气体流量设置值, L/min;

\bar{Z}_i ——流量测量平均值, L/min;

ΔZ ——气体流量示值误差值, L/min。

7.10 灭菌性能测试

对于自带原位灭菌功能的生物发酵罐可以进行此项目的测试。在空载条件下, 灭菌程序开始前, 设置温度测量载体采样速率不低于 15s 一个读数 (保证总记录数不少于 10 个)。将生物发酵罐设置灭菌程序, 通常为(121℃, 30min), 将温度测量载体均匀地布置在发酵罐中, 运行灭菌程序。灭菌程序结束后, 读取温度测量载体的数据, 分别计算温度波动度、温度分布均匀性和灭菌温度带。

7.11 无菌性能测试

选择用户常用的培养模式, 通入无菌培养基, 进行发酵程序 24 小时 (或用户常用的培养时间), 观察培养基是否有菌体生成。

8 校准结果表达

8.1 校准结果处理

经校准后的生物发酵罐应填发校准证书, 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。校准原始记录格式见附录 A。

8.2 校准证书

经校准的生物发酵罐应出具校准证书。校准证书应包括的信息及推荐的校准证书的内页格式见附录 A。

8.3 校准结果的测量不确定度

生物发酵罐校准结果的不确定度按 JJF 1059.1—2012 的要求评定, 示值误差的不确定度及评定示例见附录 B。

9 复校时间间隔

建议生物发酵罐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 校准记录和校准证书的内容

校准记录				
(推荐性表格) 共 2 页, 第 1 页				
仪器名称			型号	
制造厂商			出厂编号	
委托单位	名称		联系人	
	地址		电话	
温度			湿度	
大气压			试剂和校准品批号	
记录编号			证书编号	
校准员			核验员	

本次使用的主要 计量标准器具	规格型号	不确定度/准确度等 级/最大允许误差	器具编号	有效性确认

一、温度示值误差和稳定性

温度测量次数	1	2	3	4	5	6	7
8	9	10	11	12	13	14	15
设定值	平均值			示值误差		稳定性	

二、pH 示值误差和重复性

液温	pH 有证标准物质(pH)		认定值 (pH)	仪器测量值(pH)	平均值 (pH)	示值误差 (pH)	重复性(pH)
°C	校准点 1	CRM 编号					
		批号					
	校准点 2	CRM 编号					
		批号					
	待测溶 液	CRM 编号					
		批号					

图 A.1 校准记录的内页格式及内容

三、泵流量示值误差及泵流量稳定性误差

F_S (mL/min)	$F_{S1} =$	$t_1 =$	$F_{S2} =$	$t_2 =$	$F_{S3} =$	$t_3 =$
W_1 (g)						
W_2 (g)						
$W_2 - W_1$ (g)						
$(W_2 - W_1)/\rho$						
F_m (mL/min)						
\bar{F}						
S_S (%)						
S_R (%)						

四、溶解氧测量误差及重复性

测量点	1	2	3	4	5	6	平均值
重复性							

五、灭菌性能测试：

六、无菌性能测试：

图 A.1 校准记录的内页格式及内容（续）

校准证书

共页，第页

序号	校准项目	校准结果
1	温度示值误差	
2	温度稳定性	
3	pH 检测示值误差	
4	pH 检测重复性	
5	流量设置误差	
6	流量稳定精度	
7	摇摆频率示值误差	
8	摇摆角度示值误差	

附注：

1: 温度测量不确定度：

校准员： 核验员：

图 A.2 校准证书的内容及格式

附录 B

生物发酵罐

温度示值误差测量结果的不确定度评定示例

B.1 测量方法

采用温度测量装置对生物发酵罐的温度进行测量，并与生物发酵罐设置温度进行比较。

B.2 测量模型

温度上偏差公式可由公式 (B.1) 给出

$$\Delta t_{\max} = t_{\max} - t_s \quad (\text{B.1})$$

式中：

Δt_{\max} ——温度上偏差，单位摄氏度 (°C)；

t_{\max} ——各测量点规定时间内测量的最高温度，单位摄氏度 (°C)；

t_s ——设备设定温度，单位摄氏度 (°C)。

B.3 不确定度来源

(1) 摇摆式生物反应器测量重复性引入的不确定度。

(2) 温度测量标准器引入的不确定度。

B.4 不确定度分量的估算

(1) 摇摆式生物反应器测量重复性引入的不确定度 u_c

选定一台摇摆式生物反应器，使用温度测量装置在 22°C 校准点，连续测量 10 次，得到一组测量值：22.3°C，22.2°C，22.1°C，22.3°C，22.4°C，22.2°C，22.3°C，22.1°C，22.4°C，22.3°C，。

则单次测量结果的实验标准差 $s(x_i)$ ：

$$s(x_i) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \approx 0.11 \text{ } ^\circ\text{C}$$

$$\text{则 } u_1 = \frac{s(x_i)}{\sqrt{10}} = 0.04 \text{ } ^\circ\text{C}$$

(2) 温度测量标准器引入的不确定度分量 u_c 。

由标准物质引入的不确定度分量 u_c 主要由标准器温度分辨力引入的不确定度，标准器修正值引入的不确定度，标准器稳定性引入的不确定度组成。

标准器分辨力为 0.01°C ，不确定度区间半宽 0.005°C ，服从均匀分布，则分辨率引入的标准不确定度分量：

$$u_2 = \frac{0.005}{\sqrt{3}} \approx 0.003^{\circ}\text{C}$$

标准器温度修正值的不确定度 $U=0.04^{\circ}\text{C}$ ， $k=2$ ，则标准器温度修正值引入的标准不确定度分量：

$$u_3 = U / k = 0.04 / 2 = 0.02^{\circ}\text{C}$$

标准器稳定性引入的标准不确定度分量，本标准器相邻两次校准温度修正值最大变化为 0.10°C ，由此引入的标准不确定度分量为：

$$u_4 = \frac{0.10}{\sqrt{3}} \approx 0.06^{\circ}\text{C}$$

B.5 标准不确定度一览表

标准不确定度一览表见表 B.1。

表 B.1 摇摆式生物反应器温度测定结果标准不确定度一览表

标准不确定度分量 $u(x_i)$	不确定度来源	标准不确定度值
u_1	温度测量重复性	0.04°C
u_2	标准器分辨力	0.003°C
u_3	标准器修正值	0.02°C
u_4	标准器稳定性	0.06°C

B.6 合成标准不确定度 u_c

由于各不确定度输入量不相关，故

$$u_c = \sqrt{u_1^2 + u_2^2 + u_3^2 + u_4^2} = 0.08^{\circ}\text{C}$$

B.7 扩展不确定度

取 $k=2$ ，则仪器示值误差的扩展不确定度为 $U=2u_c=0.16^{\circ}\text{C}$ 。

附录 C

国际温标纯水密度表

表 C.1 1990 年国际温标纯水密度表 (kg/m^3)

$t_{90}(\text{°C})$	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8	0.9
15	999.099	999.084	999.069	999.053	999.038	999.022	999.006	998.991	998.975	998.959
16	998.943	998.926	998.910	998.893	998.876	998.860	998.843	998.826	998.809	998.792
17	998.774	998.757	998.739	998.722	998.704	998.686	998.668	998.650	998.632	998.613
18	998.595	998.576	998.557	998.539	998.520	998.501	998.482	998.463	998.443	998.424
19	998.404	998.385	998.365	998.345	998.325	998.305	998.285	998.265	998.244	998.224
20	998.203	998.182	998.162	998.141	998.120	998.099	998.077	998.056	998.035	998.013
21	997.991	997.970	997.948	997.926	997.904	997.882	997.859	997.837	997.815	997.792
22	997.769	997.747	997.724	997.701	997.678	997.655	997.631	997.608	997.584	997.561
23	997.537	997.513	997.490	997.466	997.442	997.417	997.393	997.396	997.344	997.320
24	997.295	997.270	997.246	997.221	997.195	997.170	997.145	997.120	997.094	997.069
25	997.043	997.018	996.992	996.966	996.940	996.914	996.888	996.861	996.835	996.809
26	996.782	996.755	996.729	996.702	996.675	996.648	996.621	996.594	996.566	996.539
27	996.511	996.484	996.456	996.428	996.401	996.373	996.344	996.316	996.288	996.260
28	996.231	996.203	996.174	996.146	996.117	996.088	996.059	996.030	996.001	996.972
29	995.943	995.913	995.884	995.854	995.825	995.795	995.765	995.753	995.705	995.675
30	995.645	995.615	995.584	995.554	995.523	995.493	995.462	995.431	995.401	995.370
31	995.339	995.307	995.276	995.245	995.214	995.182	995.151	995.119	995.087	995.055
32	995.024	994.992	994.960	994.927	994.895	994.863	994.831	994.798	994.766	994.733
33	994.700	994.667	994.635	994.602	994.569	994.535	994.502	994.469	994.436	994.402
34	994.369	994.335	994.301	994.267	994.234	994.200	994.166	994.132	994.098	994.063
35	994.029	993.994	993.96	993.925	993.891	993.856	993.821	993.786	993.751	993.716