

团 体 标 准

T/CSES XXXX—XXXX

水质 12 种抗生素抗性基因和 1 种可移动 遗传元件的测定 实时荧光定量 PCR 法

Water quality-12 antibiotic resistance genes and 1 mobile genetic element-
Real time fluorescence quantitative PCR method

草案版次选择

2025 – XX – XX 发布

2025 – XX – XX 实施

中国环境科学学会 发 布

目 次

前言..... 1

1 范围..... 2

2 规范性引用文件..... 2

3 术语和定义..... 2

4 缩略语..... 3

5 方法原理..... 3

6 试剂和材料..... 4

7 仪器和设备..... 4

8 样品..... 4

9 实验方法..... 5

10 数据处理..... 6

11 准确度质量控制..... 7

12 质量与保证与质量控制 废物处置..... 8

13 废物处置..... 8

附录 A（规范性附录） 目标物测定方法的定量限与检出限 9

附录 B（规范性附录） PCR 荧光定量引物..... 10

附录 C（规范性附录） DNA 样品质量判断.....11

附录 D（规范性附录） 目标物测定方法的精密度与正确度 13

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由生态环境部南京环境科学研究所提出。

本文件由中国环境科学学会归口。

本文件起草单位：生态环境部南京环境科学研究所、中国计量科学研究院、南京大学、浙江师范大学、南京市计量监督检测院、河北工程大学、海南热带海洋学院崖州湾创新研究院、合肥元哉生物科技有限公司

本文件主要起草人：倪妮、王娜、牛春艳、罗义、袁青彬、金志刚、陈鸿飞、汪庆、那广水、高轩、施玛丽、张晓辉、郭欣妍、朱长青、张腾

水质 12 种抗生素抗性基因和 1 种可移动遗传元件的测定 实时荧光定量 PCR 法

1 范围

本文件规定了水中12种抗生素抗性基因和1种可移动遗传元件的实时荧光定量PCR法。

本文件规定了地表水和生活污水等水体中四环素类（*tetO*、*tetW*）、磺胺类（*sul1*、*sul2*）、MLS类（*ermB*、*lnuB*）、喹诺酮类（*qnrA*、*qnrS*）、β内酰胺类（*bla_{OXA-1}*、*bla_{TEM-1}*）、氨基糖苷类（*ant*（9）-*Ia*、*ant*（6）-*Ia*）典型抗性基因及一类整合子（*Int11*）的定量检测方法与质量控制要求。

本文件规定了使用实时荧光定量PCR技术、高通量实时荧光定量PCR技术测定水体中12种抗生素抗性基因和1种可移动遗传元件的仪器设备要求、实验操作规范及质量控制措施。

12种抗生素抗性基因和一类整合子的定量限与检出限见附录A。

2 规范性引用文件

本标准引用了下列文件或其中的条款。凡是注明日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本标准。凡是未注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本标准。

GB/T 40226—2021 环境微生物宏基因组检测 高通量测序法

GB/T 42077—2022 生物技术 核酸靶序列定量方法的性能评价要求 qPCR 法和 dPCR 法

GB/T 6379.2—2004 测量方法与结果的准确度（正确度与精密度）

GB/T 6682—2008 分析实验室用水规格和试验方法

HJ 493—2009 水质 样品的保存和管理技术规定

HJ 168—2020 检出限、精确度和正确度

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

实时荧光定量聚合酶链式反应 Quantitative real-time PCR

简称 qPCR，在聚合酶链式反应体系中加入荧光基团，利用荧光信号积累实时监测整个 PCR 进程，并通过标准曲线对未知模板进行定量分析的方法。

3.2

高通量 PCR 反应 High-throughput PCR

一种高效、快速且可扩展的 qPCR 法，包括且不限于 1536 通量和 5184 通量 qPCR 技术，它能够同时处理并扩增大量的 DNA 样本或靶点，从而大大提高了检测效率和准确性。

3.3

大环内酯类抗生素-氨基糖苷类抗生素 Macrolides-Aminoglycosides

以大环内酯环为核心结构的一类抗生素，通过抑制细菌蛋白质合成发挥抗菌作用。以氨基糖分子与氨基环醇通过糖苷键连接的一类抗生素，通过干扰细菌蛋白质合成发挥杀菌作用。

3.4

目标基因 gene of interest; GOI

正在研究的基因靶序列。

[来源：GB-T 42077—2022]

3.5

基因拷贝数 gene copy Number

含有特定核苷酸序列的分子（拷贝）数量。

[来源：GB-T 42077—2022]

3.6

标准质粒 Standard plasmid

一种稳定存在的重组质粒分子，其包含了抗生素抗性基因检测的目标序列片段（如筛选基因片段、功能基因片段等），以及原核微生物特异的 16S rRNA 内参基因。

3.7

CT 值 cycle threshold

每个反应管内的荧光信号达到设定的阈值时所经历的循环数。

[来源：GB/T 19438.1—2004]

3.8

1 类整合子 *IntI1*

编码 *IntI1* 整合酶，该酶属于酪氨酸重组酶家族，由 337 个氨基酸组成，能够催化基因盒在整合子上的特异位点（*attI1*）与基因盒的重组位点（*attC*）之间的整合或剪切。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

bp——碱基对（base pair）

DNA——脱氧核糖核酸（deoxyribonucleic acid）

PCR——聚合酶链式反应（polymerase chain reaction）

qPCR——实时荧光定量 qPCR（quantitative real-time PCR）

ARG——抗生素抗性基因（antibiotics resistance gene）

5 方法原理

本方法基于 SYBR Green I 染料的实时荧光定量 PCR 技术，通过特异性引物扩增水环境 DNA 中的目标基因。在 PCR 循环中，染料嵌入双链 DNA 并释放荧光信号，其强度与产物量成正比。系统实时监测荧光值，生成扩增曲线，反映靶基因的指数增长。扩增后，熔解曲线分析验证产物特异性（ T_m 值匹配）。阳性判定需满足：Ct 值在标准曲线范围内，且熔解峰与对照一致。适用于本标准规定的 12 种 ARGs 和 1 种 MGE 的高灵敏定量检测。

6 试剂和材料

除非另有说明，分析时均使用符合国家标准的分析纯试剂，实验用水应符合 GB/T 6682 中一级水的规格。主要包括下列试剂和材料。

6.1 亲水聚四氟乙烯滤膜，孔径：0.22 μm 。

- 6.2 10×PBS 缓冲液。
- 6.3 适用于微生物 DNA 提取的试剂盒，本文件使用了两种常见的商品化 DNA 提取试剂盒。
- 6.4 qPCR 引物：12 种 ARGs 引物和 1 个可移动元件引物，见附录 B。
- 6.5 qPCR SYBR Green Master Mix。
- 6.6 1%琼脂糖凝胶电泳：电泳缓冲液 1×TAE（pH 8.0）；核酸染料 GelRed。
- 6.7 标准质粒：含有 12 种 ARGs 与 1 类整合子。
- 6.8 *sul1* 标准质粒。
- 6.9 曲线的标准溶液：针对标准质粒，需制备系列浓度的标准质粒，具体步骤如下：准确定量标准质粒的 DNA 浓度，计算拷贝数。进行 10 倍系列稀释，通常从 10^7 至 10^1 拷贝/ μL 。

7 仪器和设备

除非另有说明，分析时均使用符合国家标准的 A 级玻璃容器、高温灭菌后的塑料管及反应板。

- 7.1 采样瓶：具塞玻璃瓶，玻璃材质，容量 10 L。
- 7.2 抽滤装置（含真空泵）：配 0.22 μm 孔径亲水聚四氟乙烯滤膜，推荐水样处理体积 1-5 L。
- 7.3 恒温水浴锅：数控加热水浴锅，温度范围 0~99℃。
- 7.4 水平电泳槽：放置凝胶并进行电泳。
- 7.5 涡旋振荡仪：用于振荡试剂。
- 7.6 低温离心机：转速范围：0~10000 r/min。可调节温度的离心机，一般将温度控制在 4℃。
- 7.7 核酸浓度测定仪：DNA 浓度测定仪（微量）。
- 7.8 电泳仪：提供稳定电压（通常设置 80-120 V）。
- 7.9 实时荧光定量 PCR 仪：适用于进样数量为 96 的 qPCR 测定仪器，灵敏度很高。

8 样品

8.1 样品的采集及保存

- 8.1.1 样品采集应经过伦理审查和生物安全评价审查，符合国家法律法规及伦理规范。
- 8.1.2 样品的采集应使用无菌器材进行采集，1 L 水样与 1~5℃避光低温保存，运输至实验室。
- 8.1.3 如有条件可现场过滤，根据水样的不同浊度，选择不同孔径的滤膜过滤，浊度较大的水样先使用大孔径滤膜过滤悬浮颗粒以及泥沙，然后再使用 0.22 μm 孔径的亲水聚四氟乙烯滤膜过滤；浊度较小的水样可直接选择 0.22 μm 的亲水聚四氟乙烯滤膜过滤。
- 8.1.4 滤膜保存在-80℃保存 1 个月内完成 DNA 提取工作。提取的 DNA 保存至-20℃，一个月内完成 DNA 浓度测定工作。提取的 DNA，应尽早上机检测，减少保存带来的损耗。

8.2 样品前处理

- 8.2.1 将采集到的水样使用 0.22 μm 孔径的亲水聚四氟乙烯滤膜进行抽滤，弃去抽滤液，保留滤膜供后续实验。
- 8.2.2 现场过滤后得到的滤膜剪碎并置于离心管中，加入一定量的 PBS 缓冲液没过滤膜，涡旋振荡使滤膜表面物质分散至 PBS 缓冲液中，取出滤膜并用 PBS 缓冲液冲洗，冲洗液收集至离心管中，低温离心机 10000 r/min 离心 10 min。
- 8.2.3 收集沉淀转移至裂解质管中，加入磷酸缓冲液和裂解液，涡旋振荡 10 min，然后 14000 r/min 下

离心 10 min，离心结束后收集转移上清液准备进行后续 DNA 的提取。

8.3 空白样品的制备

用无核酸的超纯水代替样本，按照与样品前处理（8.2）相同的步骤进行空白样品的制备。

9 实验方法

9.1 DNA 的提取、浓度测定及质量判定

9.1.1 将前处理后的样品按照商品化 DNA 提取试剂盒（6.3）步骤进行 DNA 的提取。

9.1.2 使用核酸浓度测定荧光仪对提取的 DNA 浓度进行检测。

9.1.3 DNA 的质量判定依据见附录 C。在满足提取 DNA 浓度 $\geq 10 \text{ ng}/\mu\text{L}$ ，质量判定为等级 A 或 B，胶图显示 DNA 片段完整，即认为 DNA 质量判定合格。

9.2 抗性基因标准曲线的绘制

9.2.1 优先使用含有目标基因序列的有证标准物质（6.7、6.8）进行标准曲线的绘制。

9.2.2 标准物质无法获得时，可按如下步骤进行标准质粒的制备。

a. 获取目的基因片段：在综合抗生素抗性基因数据库（CARD）或 NCBI 数据库中找出对应基因的特异性片段，利用基因合成仪将特异性片段进行人工合成。

b. 利用 A-T 碱基的互补性，将人工合成的抗生素抗性基因的特异性片段连接到 T 载体（pUC57 Simple Vector）中，形成含有目的抗性基因的重组质粒。

c. 将重组质粒转入 *Trans1-T1* 感受态细胞中，并进行培养。

d. 阳性重组子的测序鉴定，从阳性克隆子中提取重组质粒，再次对重组质粒进行 PCR 验证，最终确定含有目的基因片段的标准质粒的制备是否成功。

e. 计算质粒拷贝数，换算公式为：

$$N = \frac{6.02 \times 10^{23} \times C}{B \times 660}$$

式中：

N——质粒拷贝数，单位拷贝数/ml；

C——质粒浓度，单位 g/ml；

B——碱基数；

660——每个碱基的分子量，单位为道尔顿（Da）；

6.02×10^{23} ——每摩尔 DNA 所拷贝的次数，单位次拷贝数/mol。

9.2.3 标准曲线的绘制

a. 质粒梯度稀释：根据以上计算的拷贝数，将质粒依次进行 10 倍梯度稀释，稀释剂为超纯水。

b. 绘制标准曲线：以稀释好的质粒为 DNA 模板，进行荧光定量 PCR 扩增，标准曲线通式可简写 $C_t = \lg N + b$ ，横坐标为起始拷贝数的对数，纵坐标为仪器测得的 C_t 值。

9.3 抗生素抗性基因荧光定量 PCR

采用 25 μL 的 qPCR 反应体系（2 $\times$ SYBR Green Master MiX 12.5 μL 、Forward Primer 1.0 μL 、Reverse Primer 1.0 μL 、ddH₂O 9.5 μL 、Template DNA 1 μL ）。每个 DNA 样品均设置三个平行样。反应程序为：

a. 预变性：94 $^{\circ}\text{C}$ ，保持 40 s。

b. 40 个循环扩增：94 $^{\circ}\text{C}$ ，保持 5 s，60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 15 s，72 $^{\circ}\text{C}$ ，保持 10 s。

c. 熔解曲线的检验：使用仪器默认熔解曲线采集程序。

9.3.1 空白制样

按照 qPCR 方法（9.3）体系配制空白式样（NTC）并进行 qPCR 测定。

10 数据处理

使用 qPCR 仪器软件进行数据分析，包括：

- a. 设定基线和阈值。
- b. 记录每个循环阈值（Ct 值）。
- c. 确保标准曲线的相关系数（ R^2 ）至少为 0.990 且扩增效率在 90%-110%。
- e. 阳性与阴性的判定：高于判定值为未检出，低于判定值判定为检出，判定依据见表 1。

表 1 抗生素抗性基因的检出判定

ARGs 类型	检出 Ct 值	检测结果表述
<i>tetO</i>	34.84	Ct>34.84 即为检出， 若 Ct<34.84 为未检出
<i>tetW</i>	34.56	Ct>34.56 即为检出， 若 Ct<34.56 为未检出
<i>sul1</i>	34.16	Ct>34.16 即为检出， 若 Ct<34.16 为未检出
<i>sul2</i>	33.60	Ct>33.60 即为检出， 若 Ct<33.60 为未检出
<i>ermB</i>	34.36	Ct>34.36 即为检出， 若 Ct<34.36 为未检出
<i>lnuB</i>	32.16	Ct>32.16 即为检出， 若 Ct<32.16 为未检出
<i>qnrA</i>	32.30	Ct>32.30 即为检出， 若 Ct<32.30 为未检出
<i>qnrS</i>	33.31	Ct>33.31 即为检出， 若 Ct<33.31 为未检出
<i>bla_{OXA-1}</i>	32.72	Ct>32.72 即为检出， 若 Ct<32.72 为未检出
<i>bla_{TEM-1}</i>	32.62	Ct>32.62 即为检出， 若 Ct<32.62 为未检出
<i>ant(6)-Ia</i>	33.44	Ct>33.44 即为检出， 若 Ct<33.44 为未检出
<i>ant(9)-Ia</i>	31.36	Ct>31.36 即为检出， 若 Ct<31.36 为未检出
<i>Int1</i>	31.40	Ct>31.40 即为检出， 若 Ct<31.40 为未检出

11 准确度

11.1 精密度

采用 *sul1* 标准质粒进行 7 个梯度（10 倍稀释，10³-10⁸ 拷贝/μL）的 qPCR 测定，每个梯度 6 次重复。相对标准偏差（RSD）应≤15%。测定结果分别计算平均值、标准偏差和相对标准偏差，计算公式如下：

$$\bar{X} = \frac{(\sum_{i=1}^n X_i)}{n}, n = 10$$

$$S = \sqrt{\frac{(\sum_{i=1}^n X_i - \bar{X})}{n - 1}}, n = 10$$

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} \times 100\%$$

式中： $\bar{X}$ 为 n 次结果的平均值， X_i 为各次检测结果； S 为 n 次结果的标准偏差； CV 为重复性误差。

精密度数值见附录 D。

11.2 正确度

采用 *sul1* 标准质粒稀释至 10^3 拷贝作为标准值。本标准给出的 qPCR 体系和反应程序进行 6 次技术重复，基于标准曲线计算实际拷贝数，得出绝对误差及相对误差（RE），平均 RE<10% 符合正确度要求。计算公式如下：

$$E = X_i - X_T$$

X_i —测量值， X_T 为标准值

$$RE = \frac{E}{X_T} \times 100\%$$

E 为绝对误差， RE 为相对误差。

正确度数值见附录 D。

12 质量保证与质量控制

12.1 样品 DNA 的提取过程中，全程在无菌的环境中进行。

12.2 提取的 DNA 样品用 1% 琼脂糖凝胶电泳对 DNA 提取效果进行检测。

12.3 在进行实时定量 PCR 时，确保提取的核酸的浓度满足要求。

12.4 绘制标准曲线时，回归系数应大于 0.990，不少于 5 个取样点，扩增效率为（90-110%）。

12.5 被检测的样品核酸浓度应在标准曲线测定范围内，如不在标准曲线测定范围内，则需对样品核酸浓度进行适当调整后重新进行检测。

12.6 对样品进行检出判定。

12.7 平行样品重复性 $CV \leq 15\%$ 。

12.8 空白制样：每 12 组样品或批次测定至少测定 2 组空白式样，其测定结果应低于方法检出限。

13 废物处置

实验中产生的废物应集中收集，分类保存，并做好相应的标识，依法处置。

附 录 A
(规范性)
目标物测定方法的定量限与检出限

本标准目标物的方法定量限和检出限结果如下：

表 A.1 目标物测定方法的定量限与检出限

ARGs 类型	LOQ 对应 Ct 值	LOQ (copies per run)	LOD 对应 Ct 值	LOD (copies per run)
<i>tetO</i>	32.04	58.93	34.84	9.66
<i>tetW</i>	31.15	222.61	34.56	19.32
<i>sul1</i>	32.51	32.14	34.16	1.84
<i>sul2</i>	31.30	16.75	33.60	2.91
<i>ermB</i>	32.49	31.04	34.36	8.01
<i>lnuB</i>	31.46	10.21	32.16	6.27
<i>qnrA</i>	30.58	16.14	32.30	4.82
<i>qnrS</i>	31.47	20.96	33.31	5.78
<i>bla</i> _{OXA-1}	31.51	14.80	32.72	6.11
<i>bla</i> _{TEM-1}	30.37	17.32	32.62	3.28
<i>ant</i> (6)-Ia	31.17	38.67	33.44	7.54
<i>ant</i> (9)-Ia	30.28	32.40	31.36	15.06
<i>IntI1</i>	30.97	10.45	31.40	7.54

附录 B
(规范性)

抗生素抗性基因列表、分类及对应引物

本标准中目标物测定使用的 PCR 引物如下：

表 B.1 荧光定量 PCR 引物

抗生素类别	相应抗性基因	引物序列
四环素类	<i>tetO</i>	F-AGAATCTGCTGTTTGCCAGTG
		R-CGGAGTGTCAATGATATTGCA
	<i>tetW</i>	F-ATGAACATTCCCACCGTTATCTTT
		R-ATATCGGCGGAGAGCTTATCC
磺胺类	<i>sul1</i>	F-CACCGGAAACATCGCTGCA
		R-AAGTTCCGCCGCAAGGCT
	<i>sul2</i>	F-TCATCTGCCAAACTCGTCGTTA
		R-GTCAAAGAACGCCGCAATGT
大环内酯类	<i>ermB</i>	F-CTATCTGATTGTTGAAGAAGGATT
		R-GTTTACTCTTGGTTTAGGATGAAA
	<i>lnuB</i>	F-GATGTACGACGCACCAAACG
		R-CCAGTTCTTGGCGGTAAGGT
喹诺酮类	<i>qnrA</i>	F-CAGCAAGAGGATTTCTCACG
		R-AATCCGGCAGCACTATTACTC
	<i>qnrS</i>	F-GCAAGTTCATTGAACAGGGT
		R-GTCAGGAWAAACAACAATACC
β -内酰胺类	<i>bla_{OXA-1}</i>	F-TATCTACAGCAGCGCCAGTG
		R-CGCATCAAATGCCATAAGTG
	<i>bla_{TEM-1}</i>	F-CATTTTCGTGTCGCCCTTAT
		R-GGGCGAAAACCTCTCAAGGAT
氨基糖苷类	<i>ant(9)-Ia</i>	F-TTTGGTTCAGCAGTAAATGGTGGTT
		R-TTTGGAGGATATTGCCAAGGGAC
	<i>ant(6)-Ia</i>	F-TCGCCATGAGCTGCTGA
		R-CCTATCATACTCCGGATAGGCATA
一类整合子	<i>IntI1</i>	F-GGCTTCGTGATGCCTGCTT
		R-CATTCCTGGCCGTGGTTCT

附 录 C
(规范性)

DNA 样品质量判断标准

本标准对 DNA 质量判定方法如下：

表 C.1 DNA 样品质量判断标准

样品类型	检测结果	16S Ct 值	判定结论
微生物 DNA	两次检测	无降解 Ct≤17	A 类
	要求 c≥10		
	一次检测	轻微降解 17<Ct≤20	B 类
	要求 ng/μL		
	低于检测	重度降解 20<Ct	C 类
	要求 c<10		
	要求 ng/μL		

注 1：c—浓度（concentration）的缩写，此处指 DNA 浓度；
注 2：A 类样品应同时满足总量满足两次上机要求，c ≥ 10.0 ng/ μL，16S 扩增的 Ct ≤17，合格；
注 3：B 类样品应同时满足一次上机要求，c ≥ 10.0 ng/ μL，16S 扩增的 17 < Ct ≤20，合格；
注 4：C 类样品应满足少于一次上机要求的 80 %，20 < Ct，该样品判为 C 类，不完全合格。
注 5：DNA 降解情况示例胶图见附件 C：图 C.1~C.3。
注 6：本标准中加入 16S rRNA Ct 值，用于进一步排查提取的核酸中是否有动植物核酸残留过高的情况。

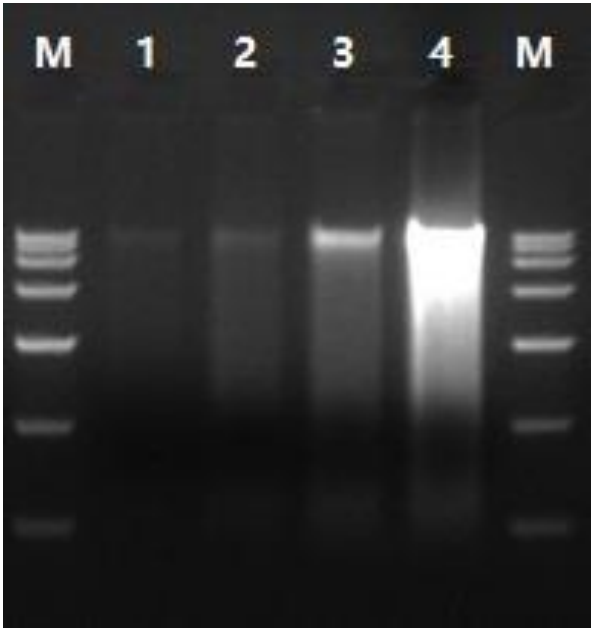


图 C.1 DNA 轻微降解胶图

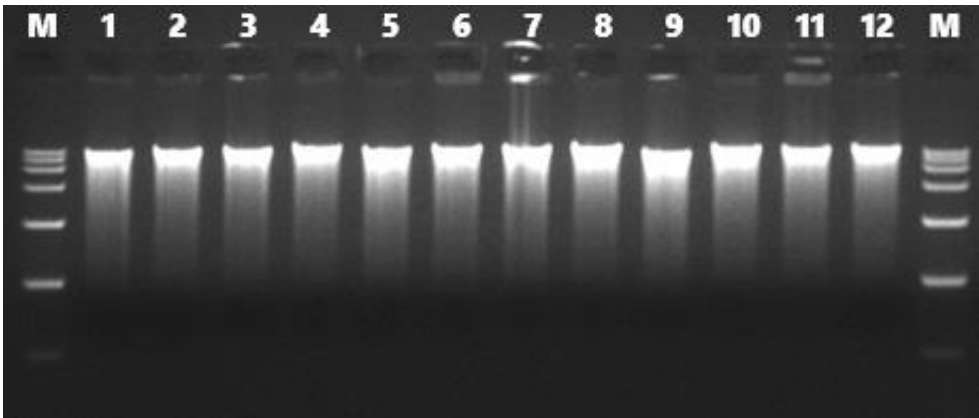


图 C.2 DNA 无降解胶图

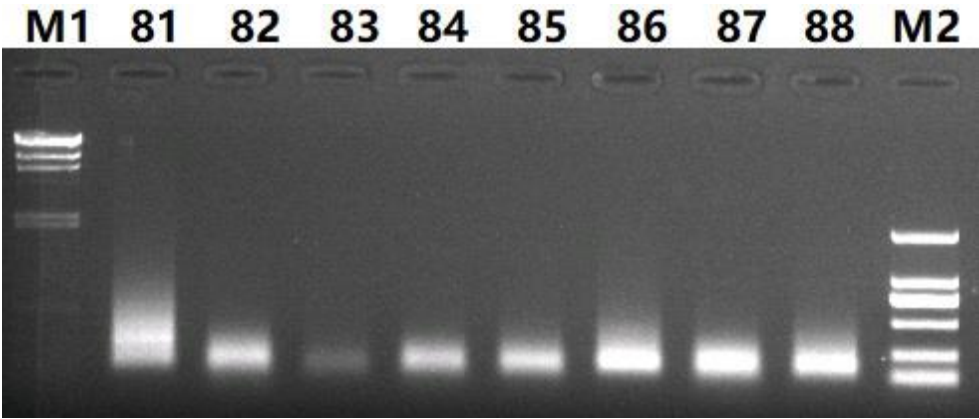


图 C.3 DNA 重度降解胶图

附 录 D
(规范性)
精密度与正确度

本标准中 qPCR 检测方法的精密度与正确度如下：

表 D.1 精密度

序号	Ct 值	Ct 值	Ct 值	Ct 值	Ct 值	Ct 值	标准偏差 SD	平均值	相对标准偏差
1	6.97	6.58	6.19	6.57	7.02	5.85	0.45	6.53	6.89%
2	10.34	10.09	9.88	10.09	10.28	9.75	0.23	10.07	2.28%
3	13.03	13.61	13.56	13.61	13.54	13.01	0.23	13.39	1.72%
4	16.74	17.13	17.25	17.12	16.80	16.72	0.21	16.96	1.24%
5	20.14	20.64	20.93	20.64	20.06	20.18	0.31	20.43	1.52%
6	24.56	24.16	23.39	24.17	23.32	24.50	0.54	24.02	2.25%

表 D.2 组 1 正确度

序号	标准值	组 1 平行	绝对误差 (E)	相对误差 (RE)
1	10.73	10.97	0.24	2.24%
2	12.90	12.34	-0.56	4.34%
3	16.74	16.03	-0.71	4.24 %
4	20.08	20.74	0.66	3.29%
5	23.02	22.14	0.88	3.82%
6	26.81	24.56	-2.25	8.39%

表 D.3 组 2 正确度

序号	标准值	组 2 平行	绝对误差 (E)	相对误差 (RE)
1	10.73	10.58	-0.15	1.40%
2	12.90	12.09	-0.81	6.28%
3	16.74	16.61	-0.13	0.78%
4	20.08	20.13	0.05	0.25%
5	23.02	23.64	0.62	2.69%
6	26.81	27.16	0.35	1.31%

表 D.4 组 3 正确度

序号	标准值	组 3 平行	绝对误差 (E)	相对误差 (RE)
1	10.73	10.19	-0.54	5.03%
2	12.90	12.88	-0.02	0.16%
3	16.74	17.56	0.82	4.90%
4	20.08	20.25	0.17	0.85%

5	23.02	22.93	-0.09	0.39%
6	26.81	27.39	0.58	2.16%

表 D.5 组 4 正确度

序号	标准值	组 4 平行	绝对误差 (E)	相对误差 (RE)
1	10.73	10.57	-0.16	1.49%
2	12.90	12.09	-0.81	6.28%
3	16.74	16.61	-0.13	0.78%
4	20.08	20.12	0.04	0.20%
5	23.02	23.64	0.62	2.69%
6	26.81	25.17	-1.64	6.12%

表 D.6 组 5 正确度

序号	标准值	组 1 平行	绝对误差 (E)	相对误差 (RE)
1	10.73	9.92	-0.81	7.55%
2	12.90	13.28	0.38	2.95%
3	16.74	16.54	-0.20	1.19%
4	20.08	19.80	-0.28	1.39%
5	23.02	23.06	0.04	0.17%
6	26.81	27.32	0.51	1.90%

表 D.7 组 6 正确度

序号	标准值	组 6 平行	绝对误差 (E)	相对误差 (RE)
1	10.73	10.85	0.12	1.12%
2	12.90	12.75	-0.15	1.16%
3	16.74	16.01	-0.73	4.36%
4	20.08	20.72	0.64	3.19%
5	23.02	23.18	0.16	0.70%
6	26.81	26.50	-0.31	1.16%