



中华人民共和国国家计量技术规范

JJF XXXX-XXXX

海水叶绿素 a 传感器荧光性能 计量测试规范

Specification of Metrology Testing for Fluorescence Performance
of Seawater Chlorophyll a Sensor

(征求意见稿)

20XX-XX-XX 发布

20XX-XX-XX 实施

国家市场监督管理总局

发

海水叶绿素 a 传感器荧光性能 计量测试规范



Specification of Metrology Testing for Fluorescence

Performance of Seawater Chlorophyll a Sensor

归口单位：全国海洋专用计量器具计量技术委员会

主要起草单位：国家海洋标准计量中心

参加起草单位：国家海洋局北海标准计量中心

国家海洋技术中心

中国科学院深圳先进技术研究院

本规范委托全国海洋专用计量器具计量技术委员会负责解释

本规范主要起草人：

王爱军（国家海洋标准计量中心）

石超英（国家海洋标准计量中心）

王 聪（国家海洋标准计量中心）

参加起草人：

李明君（国家海洋局北海标准计量中心）

王 宁（国家海洋技术中心）

任永琴（国家海洋技术中心）

周志盛（中国科学院深圳先进技术研究院）

刘 玉（国家海洋技术中心）

李剑平（中国科学院深圳先进技术研究院）

目 录

目 录	I
引 言	II
1 范围	1
2 引用文件	1
3 概述	1
4 测试条件	2
4.1 环境条件	2
4.2 测量标准及其他设备	2
5 测试项目和校准方法	2
5.1 测试项目	2
5.2 测试方法	2
6 测试结果表达	4
6.1 测试记录	4
6.2 测试结果处理	4
7 复测时间间隔	4
附录 A 叶绿素标准贮备液配制方法	5
附录 B 海水叶绿素 a 传感器荧光性能计量测试记录表	7
附录 C 海水叶绿素 a 传感器荧光性能计量测试证书内页格式	8
附录 D 海水叶绿素 a 传感器荧光线性误差的不确定度评定示例	8

引 言

本规范依据 JJF 1071—2010《国家计量校准规范编写规则》的要求编写。

为了规范海水叶绿素 a 传感器荧光性能的计量测试工作,本规范主要参考 ASTM E2719 - 09 (2014)《荧光仪器校准和鉴定用标准指南》[Standard Guide for Fluorescence – Instrument Calibration and Qualification]制定。

本规范为首次发布。

海水叶绿素 *a* 传感器荧光性能计量测试规范

1 范围

本规范规定了海水叶绿素 *a* 传感器荧光性能测试条件、计量测试方法和测试报告等内容。

本规范适用于海水叶绿素 *a* 传感器荧光性能的计量测试，也适用于叶绿素 *a* 荧光检测系统的荧光性能计量测试。

2 引用文件

本规范引用了以下文件：

JJF 1059.1—2012 测量不确定度评定与表示

ASTM E2719 - 09 (2014) 《荧光仪器校准和合格的标准指南》[Standard Guide for Fluorescence – Instrument Calibration and Qualification]

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 概述

海水叶绿素 *a* 传感器（以下简称“传感器”）是用于测量海水中的叶绿素含量，具有体积小、功耗低、灵敏度高特点，搭载在 CTD、浮标上，为海洋生态环境保护、海洋水质监测、海洋灾害预警等提供重要的海洋生物环境信息。

该仪器由叶绿素 *a* 传感器和软件部分组成，直接将传感器投入海水中，光源发出的（430~490） nm 的蓝色激发光或 635nm 的红色激发光经过带通滤光片照射到被测水体，水中的浮游植物所含的叶绿素 *a* 受到激发后发出红色荧光，发出的荧光通常经过（680~690） nm 的滤光片后，被光电检测器接收并转换为电信号。荧光强度与被激发的叶绿素 *a* 的含量在一定范围内呈线性关系，根据电信号值的强弱可估算被测海水中叶绿素 *a* 的含量。

该仪器荧光性能计量测试的工作原理是以荧光物质的水溶液作为标准溶液，考察仪器在标准溶液中的电信号与标准溶液浓度的线性关系，从而实现对其荧光性能的测试。

4 测试条件

4.1 环境条件

环境温度：(15~25) °C；

相对湿度：≤85%；

其它：周围无影响仪器正常工作的电磁和其它光源干扰。

4.2 测量标准及其他设备

表 1 测量标准及其他设备的技术指标

标准设备/标准物质	测量范围	不确定度或准确度等级 或最大允许误差
荧光素钠	分析纯	纯度 99.9%
电子天平	(0~110) g	①
容量瓶	1 000 mL、2 000 mL	A 级
移液管	50 mL、100 mL	A 级
测试专用桶	黑色亚克力材质	
注：除非另作说明，本标准所用化学试剂均为分析纯（AR），水为去离子水或等效纯水。		

5 测试项目和测试方法

5.1 测试项目

荧光线性范围

荧光示值误差

荧光测量重复性

5.2 测试方法

首先检查仪器外观，确定没有影响计量特性的因素后再进行校准。

5.2.1 荧光线性范围

5.2.1.1 操作步骤

- 按照附录 A 的方法配制荧光贮备液。一般现用现配。
- 在仪器常用量程范围或常用测量范围 (0~200) µg/L 内，按照均匀取点的原则设置 5 个标准点配制荧光系列标准溶液，如在 (0~150) µg/L 范围，标准点为 0 µg/L、25 µg/L、50 µg/L、100 µg/L、150 µg/L。
- 按照仪器的操作方法，用去离子水清洗传感器 3 次，并用滤纸吸干。
- 将荧光系列标准溶液按序号倒入测试专用桶，然后将仪器置入测试专用桶中，按浓度

从小到大顺序依次测试该系列标准溶液，开启仪器待仪器电信号稳定后，选取数值稳定、连续的 10 个电信号值，求其算术平均值作为在该标准点下仪器的电信号平均值。每更换一次标准溶液均用去离子水清洗传感器并擦干。

- e) 以标准溶液的浓度值 (y) 和仪器的电信号平均值 (x) 绘制标准曲线，进行线性拟合，得到线性方程和相关系数 R^2 。取 $R^2 \geq 0.99$ 的浓度范围作为线性范围。若 $R^2 < 0.99$ 时，则去掉最高浓度点，按照均匀取点法调整标准点，重新绘制标准曲线； $R^2 \geq 0.99$ 则新范围作为线性范围。

5.2.2 荧光示值误差

5.2.2.1 操作步骤

按 5.2.1.1 中 d) 的 10 次重复性测定的某标准溶液的仪器电信号平均值，代入 e) 的拟合线性方程中，计算得到某标准溶液的荧光浓度测定值。

5.2.2.2 数据处理

按式 (1) 计算仪器的荧光示值误差：

$$\Delta C = C_p - C_s \quad \dots\dots\dots (1)$$

式中：

ΔC ——仪器测得的荧光示值误差，单位为微克每升 ($\mu\text{g/L}$)；

C_p ——仪器测量的荧光素钠浓度测定值，单位为微克每升 ($\mu\text{g/L}$)；

C_s ——荧光标准溶液的浓度值，单位为微克每升 ($\mu\text{g/L}$)。

5.2.3 测量重复性

在相同条件下，将仪器置于浓度最大校准点的标准溶液中，开启仪器重复测量 10 次，将其测量结果按贝塞尔公式法计算试验标准差。

$$s(x) = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (C_i - C_p)^2}{n - 1}} \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中：

$S(x)$ ——测量重复性，单位为微克每升 ($\mu\text{g/L}$)；

C_i ——第 i 次仪器的测定值，单位为微克每升 ($\mu\text{g/L}$)；

C_p ——仪器测量的算术平均值，单位为微克每升 ($\mu\text{g/L}$)；

n ——测量次数， $n=10$ 。

6 测试结果表达

6.1 测试记录

测试记录格式参见附录 B。

6.2 测试证书

应准确、客观和规范地报告测试结果，出具测试证书。测试证书应包括足够的信息，由封面和内页组成。测试证书内页格式参见附录 C。

测试证书至少包含以下内容和信息：

- a) 标题：“测试证书”；
- b) 测试机构名称和地址；
- c) 进行测试的地点（如果与实验室的地址不同）；
- d) 证书的唯一性标识（如编号），每页及总页数的标识；
- e) 客户、生产单位的名称和地址；
- f) 被测对象的描述和明确标识；
- g) 进行测试的日期，如果与测试结果的有效性和应用有关时，应说明被测对象接收日期；
- h) 如果与测试结果的有效性应用有关时，应对被测样品的抽样程序进行说明；
- i) 测试所依据的技术规范的标识，包括名称及代号；
- j) 本次测试所用测量标准的溯源性及有效性说明；
- k) 测试环境的描述；
- l) 测试结果及其测量不确定度的说明；
- m) 对测试规范的偏离说明；
- n) 测试证书签发人的签名、职务或等效标识、测试员和核验员的签名；
- o) 测试结果仅对被测对象有效的说明；
- p) 未经测试机构书面批准，不得部分复制报告的声明。

7 复测时间间隔

- a) 新购置或修理后的仪器，建议及时测试；
- b) 在使用过程中，如对仪器的技术指标产生怀疑，建议重新测试；
- c) 为确保仪器准确可靠，通常情况下建议仪器出海前后测试。

附录 A

叶绿素标准贮备液配制方法

A.1 范围

本方法适用于仪器荧光性能测试时的荧光素钠标准贮备液的配制。

A.2 环境条件

环境温度：(15~25)℃；相对湿度：≤85%。

A.3 试剂及配制方法

称取 4.0mg 荧光素钠，溶于少量水中，定容到 1 000mL 棕色容量瓶中，摇匀备用。

配制系列标准溶液，每次配制体积 2 000 mL，所需荧光素钠标准贮备液的体积按公式

(1) 计算：

$$C = \frac{C_0 \times V_1}{V_2} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

C ——各校准点的荧光素钠浓度值，单位为微克每升 (μg/L)；

V_2 ——定容体积，单位为毫升 (mL)；

V_1 ——所需荧光素钠标准贮备液的体积，单位为毫升 (mL)；

C_0 ——荧光素钠标准贮备液的浓度值，单位为微克每升 (μg/L)。

附录 B

表 B.1 海水叶绿素 a 传感器荧光性能测试记录表

产品名称				证书编号		
型号/规格				出厂编号		
仪器测量范围		最大允许误差		分辨率		
委托单位						
制造单位						
测试依据						
测试所使用的主要计量器具						
名称	测量范围	不确定度或准确度等级或最大允许误差		证书编号	有效期至	
测试时间、地点及其环境条件						
地点		时间	年 月 日			
温度 (°C)		相对湿度	%			
示值误差检测结果						
标准溶液浓度 (μg/L)	仪器电信号平均值	仪器荧光浓度测定值 (μg/L)			荧光示值误差 (μg/L)	
测量重复性检测结果						
标准溶液浓度 (μg/L)	仪器荧光浓度测定值 (μg/L)					荧光实验标准差 (μg/L)
	1	2	3	4	5	
	6	7	8	9	10	
备注						

测试员

核验员

附录 C

海水叶绿素 a 传感器荧光性能测试证书内页格式

校准项目：叶绿素

测试中使用的主要计量器具

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

测试日期、地点及环境条件

地点：		日期：	
温度：	℃	相对湿度：	

(叶绿素)测量结果

标准溶液浓度（μg/L）		仪器电信号平均值		仪器荧光浓度测定值（μg/L）		荧光示值误差（μg/L）	

$R^2=$ 测试结果的扩展不确定度为： $U=$, $k=$
以下空白

注：

1. XXXXX 仅对加盖“XXXXXX 测试专用章”的完整报告负责；未经书面批准，不得复制本报告。
- 2 本证书的测试结果仅对收到的样品负责；对证书内的所有信息负责，客户提供的信息除外（如送检产品信息等）。
- 3 送检单位如对本报告有异议，须在收到本报告十五日内提出复核申请，逾期不予受理。

附录 D

荧光示值误差的校准不确定度评定示例

D.1 测量模型

$$\Delta C = C_p - C_s \quad (D.1)$$

式中：

ΔC ——仪器测得的荧光示值误差，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）；

C_p ——仪器测得的荧光浓度测定值，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）；

C_s ——荧光标准溶液的浓度值，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）。

灵敏系数：

$$c(C_p) = 1 \quad c(C_s) = -1$$

D.2 测量不确定度来源分析

根据公式（1），可知海水叶绿素 a 传感器荧光示值误差的不确定度 $u_{\text{rel}}(\Delta C)$ 主要由以下两个分量组成：

- 1) 荧光素钠使用液配制引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(C_s)$ ；
- 2) 被测仪器引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(C_p)$ 。

以 200 $\mu\text{g/L}$ 标准点为例，进行荧光示值误差不确定度评定。

D.3 不确定度分量评定

D.3.1 输出量即被测仪器引入的标准不确定度 $u(C_p)$

按照式（D.2）计算线性最小二乘法校准的不确定度：

$$u(y) = s_R \times \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{(x_i - \bar{x})^2}{\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x})^2}} \quad (D.2)$$

其中，校准曲线的标准差 s_R 按照式（D.3）计算：

$$s_R = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (y_i - (a + bx_{si}))^2}{n-2}} \quad (D.3)$$

式中：

s_R ——线性方程的标准偏差；

a ——线性方程的截距；

b ——线性方程的斜率；

n ——标准溶液测量的总次数， $n=5$ ；

x_i ——由线性方程计算得到的用于计算示值误差的某标准点的传感器电信号；

x_{si} ——各标准点下的传感器电信号；

\bar{x} ——不同标准点的传感器电信号平均值；

y_i ——由线性方程计算得到的用于计算示值误差的各标准点的传感器示值。

表 D.1 用于拟合线性方程的测定结果

各标准点 ($\mu\text{g/L}$)	0	50	100	150	200
电信号值	53	1002	1914	2802	3669
扣除零点的 电信号值	0	949	1861	2749	3616
线性方程	$y=0.055x$				
注：该传感器要求的校准公式为 $y=a(x-x_0)$,其中 x_0 为零点电信号值。					

$$s_R=1.61 \mu\text{g/L}$$

$$\sum_{i=1}^n (x_{si} - \bar{x})^2 = 8160254$$

以 200 $\mu\text{g/L}$ 点为例, $(x_i - \bar{x})^2 = 3171961$

$$\text{则 } u(C_p) = u(y) = 1.23 \mu\text{g/L} \quad (\text{D.4})$$

D.3.2 输入量即荧光素钠使用液配制的标准不确定度 $u(C_s)$

荧光素钠使用液配制的不确定度主要包括荧光素钠贮备液的配制和稀释定容。

D.3.2.1 荧光素钠贮备液的配制引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(C_{s1})$

荧光素钠贮备液配制引入的标准不确定度分量主要有荧光素钠的纯度、质量和体积。

D.3.2.1.1 荧光素钠纯度引入的标准不确定度 $u(P)$

荧光素钠的纯度为 $99.9\% \pm 0.1\%$, 假设是矩形分布, 包含因子 $k=\sqrt{3}$, 则纯度引入的标准不确定度为:

$$u(P) = \frac{0.001}{\sqrt{3}} = 0.0006 \quad (\text{D.5})$$

D.3.2.1.2 荧光素钠称量引入的相对标准不确定度 $u(m)$

使用十万分位天平精密称量荧光素钠。天平检定证书表明其称量 (0~5) g 时的示值误差为 ± 0.01 mg, 称量重复性 (变动性) 为 0.05 mg。假设为矩形分布, 则荧光素钠称量引入的标准不确定度为:

$$u(m) = \sqrt{\left(\frac{0.01}{\sqrt{3}}\right)^2 + \left(\frac{0.05}{\sqrt{3}}\right)^2} = 0.029 \text{ mg} \quad (\text{D.6})$$

D.3.2.1.3 荧光素钠定容引入的标准不确定度 $u(V_1)$

a) 容量瓶容积引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(V_1)$

配制荧光素钠贮备液用到 1000 mL 容量瓶 1 次, 根据检定证书给出最大允许误差为 ± 0.40 mL, 属

于 B 类评定, 按矩形分布, 包含因子 $k=\sqrt{3}$ 。则容积引入的标准不确定度分别为:

$$u_1(V_{1-1000}) = \frac{0.40}{\sqrt{3}} = 0.23 \text{ mL} \quad (\text{D.7})$$

b) 容量瓶和溶液的温度与体积校准时的温度不一致引入的标准不确定度 $u(x_{12})$

根据证书容量瓶是在 20°C 进行校准, 而配制校准溶液的实验室温度在在 $(20\pm 5)^\circ\text{C}$, 水的体积膨胀系数为 $2.1\times 10^{-4} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$ 。按矩形分布, 包含因子 $k=\sqrt{3}$, 由 1 000 mL 容量瓶溶液体积因温度影响而引入的标准不确定度分别为:

$$u_2(V_{1-1000}) = \frac{2.1 \times 10^{-4} \times 5 \times 1000}{\sqrt{3}} = 0.61 \text{ mL} \quad (\text{D.8})$$

上述两种分量合成得到定容引入的标准不确定度 $u(V_1)$ 为:

$$u(V_1) = \sqrt{u_1(V_{1-1000})^2 + u_2(V_{1-1000})^2} = 0.65 \text{ mL} \quad (\text{D.9})$$

表 D.1 荧光素钠贮备液配制的数值与不确定度

	说明	数值 x	标准不确定度 $u(x)$	相对标准不确定度 $u(x)/x$
P	荧光素钠的纯度	99.9%	0.0006	0.0006
m	荧光素钠的质量	4.0 mg	0.029 mg	0.0074
V	荧光素钠贮备液定容	1 000 mL	0.65 mL	0.00065

因此荧光素钠贮备液配制引入的相对标准不确定度为:

$$u_{\text{rel}}(C_{s1}) = \sqrt{0.0006^2 + 0.0074^2 + 0.00065^2} = 0.0075 \quad (\text{D.10})$$

D.3.2.2 荧光素钠标准使用液稀释定容引入的标准不确定度 $u_{\text{rel}}(C_{s2})$

由附录 A 中的公式看出, 配制 2 000 mL $200 \mu\text{g/L}$ 的荧光素钠使用液, 需要用荧光素钠贮备液 100 mL 定容到 2 000 mL 容量瓶, 因此用 100 mL 移液管、2 000mL 量瓶各 1 次。

a) 容量瓶、移液管的容积引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(V_2)$

在稀释定容时用到的 100 mL 移液管、2 000 mL 容量瓶, 根据检定证书给出最大允许误差分别为 $\pm 0.08 \text{ mL}$ 、 $\pm 0.60 \text{ mL}$, 属于 B 类评定, 按矩形分布, 包含因子 $k=\sqrt{3}$ 。则容积引入的相对标准不确定度分别为:

$$u_{\text{rel}}(V_{2-100}) = \frac{0.08}{100 \times \sqrt{3}} = 0.00046 \quad (\text{D.11})$$

$$u_{\text{rel1}}(V_{2-2000}) = \frac{0.60}{2000 \times \sqrt{3}} = 0.00018 \quad (\text{D.12})$$

b) 溶液的温度与体积校准时温度不一致引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel2}}(V_2)$

根据证书容量瓶是在 20 °C 进行校准, 而配制溶液的实验室温度在在 $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$, 水的体积膨胀系数为 $2.1 \times 10^{-4} \text{ }^\circ\text{C}^{-1}$ 。按矩形分布, 包含因子 $k = \sqrt{3}$, 由 100 mL、2 000 mL 容量瓶溶液体积因温度影响而引入的相对标准不确定度分别为:

$$u_{\text{rel2}}(V_{2-100}) = \frac{2.1 \times 10^{-4} \times 5 \times 100}{100 \times \sqrt{3}} = 0.0006 \quad (\text{D.13})$$

$$u_{\text{rel2}}(V_{2-2000}) = \frac{2.1 \times 10^{-4} \times 5 \times 2000}{2000 \times \sqrt{3}} = 0.0006 \quad (\text{D.14})$$

则荧光素钠使用液稀释定容引入的相对标准不确定度 $u_{\text{rel}}(C_{s2})$ 为:

$$u_{\text{rel}}(C_{s2}) = \sqrt{u_{\text{rel1}}(V_{1-100})^2 + u_{\text{rel1}}(V_{1-2000})^2 + u_{\text{rel2}}(V_{2-100})^2 + u_{\text{rel2}}(V_{2-2000})^2} = 0.00098 \quad (\text{D.13})$$

综上所述, 荧光素钠使用液 200 $\mu\text{g/L}$ 配制时引入的标准不确定度 $u(C_s)$, 可用式 (15) 计算:

$$u(C_s) = 200 \times \sqrt{u_{\text{rel}}(C_{s1})^2 + u_{\text{rel}}(C_{s2})^2} = 1.52 \mu\text{g/L} \quad (\text{D.15})$$

D.4 合成标准不确定度

表 D.2 标准不确定度一览表

不确定度来源	符号	标准不确定度 ($\mu\text{g/L}$)	灵敏系数
荧光素钠使用液	$u(C_s)$	1.52	-1
测量重复性	$u(C_p)$	1.24	1

由于上述分量各自独立, 互不相关, 故合成标准不确定度为:

$$u(\Delta C) = \sqrt{c^2(C_s) \times u(C_s)^2 + c^2(C_p) \times u(C_p)^2} = 1.96 \mu\text{g/L} \quad (\text{D.16})$$

D.5 扩展不确定度

测试试验中, 包含因子取 $k=2$, 因此扩展标准不确定度 U 为:

$$U = 2 \times u(\Delta C) = 2 \times 1.96 = 4.0 \mu\text{g/L} \quad (\text{D.17})$$

D.6 评定结果报告

海水叶绿素 a 传感器在 200 $\mu\text{g/L}$ 标准点上的扩展不确定度列于表 D.3。

表 D.3 海水叶绿素 a 传感器在 200 $\mu\text{g/L}$ 标准点上的扩展不确定度

扩展不确定度 U	包含因子 k
4.0	2