

《荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范》

试验报告

针对《荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范》中规定的计量性能要求，规范起草小组在前期租用了厦门斯坦道科学传感器股份有限公司、杭州纳清光电科技有限公司、美国 YSI 公司、中国科学院安徽光学精密机械研究所、德国 WALZ 公司 5 个厂家 5 种型号的荧光法叶绿素 a 测定仪进行了反复多次的方法验证试验。

表 1 样品设备

制造商	型号	编号
厦门斯坦道科学传感器股份有限公司	ESTD-1020	S10202100001
杭州纳清光电科技有限公司	OSA-ChlA	71B20G002
美国 YSI 公司	EXO6	13A102232
中国科学院安徽光学精密机械研究所	AGHJ-AFA-III	AGHJ-AFA-SN2023002
德国 WALZ 公司	PHYTO-C	PPAA0221

一、试验记录

(一)

表 2 试验相关信息（样品 1）

样品名称	叶绿素传感器	型号	ESTD-1020
制造厂商	厦门斯坦道科学传感器股份有限公司	出厂编号	S10202100001
试验地点	安徽省计量科学研究院	试验环境	温度：20℃；湿度：60%RH
检定/校准人员	规范起草组	核验人员	规范起草组

1、线性误差：

按照荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范第 6.1 条的要求，仪器开机预热后，在仪器常用测量范围（0.2~200） $\mu\text{g/L}$ 内，按照均匀取点的原则设置 0.2 $\mu\text{g/L}$ 、50 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 、150 $\mu\text{g/L}$ 、200 $\mu\text{g/L}$ 等 5 个标准叶绿素 a 标准点，配制罗丹明 B 系列标准溶液。分别进行 3 次重复测量，用最小二乘法拟合罗丹明 B 标准溶液的浓度值和仪器的叶绿素 a 浓度示值平均值绘制标准曲线得到仪器的线性方程，

按照方程计算出的罗丹明 B 浓度值与罗丹明 B 标准溶液浓度值进行比较（不包含最低浓度值），得到线性误差，结果见表 3：

表 3 ESTD-1020 线性误差结果

叶绿素 a 标准浓度值 ($\mu\text{g/L}$)	罗丹明 B 标准浓度值 ($\mu\text{g/L}$)	仪器测量值 ($\mu\text{g/L}$)				线性方程计算 罗丹明 B 浓度值 ($\mu\text{g/L}$)	线性 误差 (%)
		1	2	3	平均值		
50	715	47.85	47.9	47.86	47.87	671.78	-6.04
100	1430	105.14	105.11	105.11	105.12	1449.63	+1.37
150	2140	156.43	156.42	156.47	156.44	2146.92	+0.32
200	2860	208.65	208.63	208.61	208.63	2856.02	-0.14
截距		-1.5731		斜率		0.0736	

该样品的线性误差，符合计量校准规范条款 4 的要求。

2、重复性：

按照荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范第 6.2 条的要求，选用对应叶绿素浓度为 $20\mu\text{g/L}$ 的罗丹明 B 标准溶液重复测量 7 次，校准结果见表 4。

表 4 ESTD-1020 重复性结果

标准值 ($\mu\text{g/L}$)	测量值 ($\mu\text{g/L}$)							平均值 ($\mu\text{g/L}$)	标准偏差 ($\mu\text{g/L}$)	重复性 (%)
20.3	20.28	20.28	20.27	20.27	20.28	20.26	20.28	20.27	0.01	0.04

该样品的重复性，符合校准规范条款 4 的要求。

3、稳定性：

按照荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范第 6.3 条的要求，选用对应叶绿素浓度为 $20\mu\text{g/L}$ 的罗丹明 B 标准溶液进行测定。记录初始测量值，之后每隔 10 min 测定 1 次，连续测定 1h，校准结果见表 5。

表 5 ESTD-1020 稳定性结果

标准值 ($\mu\text{g/L}$)	测量值 ($\mu\text{g/L}$)							稳定性 (%)
	0min	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min	
20.3	20.28	20.27	20.36	20.36	20.36	20.30	20.32	0.48

该样品的稳定性，符合校准规范条款 4 的要求。

4、示值误差：

按照荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范第 6.4 条的要求，选取叶绿素 a 浓度值在仪器量值测量范围内的水样，分成 2 份，作为仪器的校准标准液。取其中 1

份试样，依据附录 B 中的分光光度法测量试样中的叶绿素 a 浓度值。再取另外 1 份试样，用仪器进行重复测量 3 次，计算出 3 次测量值的平均值。结果见表 6：

表 6 ESTD-1020 示值误差结果

分光光度法测量值 ($\mu\text{g/L}$)	仪器测量值 ($\mu\text{g/L}$)			平均值 ($\mu\text{g/L}$)	示值误差 (%)
	1	2	3		
9.54	10.82	10.81	10.83	10.82	+13.42

该样品的示值误差，符合校准规范条款 4 的要求。

(二)

表 7 试验相关信息（样品 2）

样品名称	在线式叶绿素分析仪	型号	OSA-ChlA
制造厂商	杭州纳清光电科技有限公司	出厂编号	71B20G002
试验地点	安徽省计量科学研究院	试验环境	温度：20℃；湿度：60%RH
检定/校准人员	规范起草组	核验人员	规范起草组

1、线性误差：

按照荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范第 6.1 条的要求，仪器开机预热后，在仪器常用测量范围（0.2~200） $\mu\text{g/L}$ 内，按照均匀取点的原则设置 0.2 $\mu\text{g/L}$ 、50 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 、150 $\mu\text{g/L}$ 、200 $\mu\text{g/L}$ 等 5 个标准叶绿素 a 标准点，配制罗丹明 B 系列标准溶液。分别进行 3 次重复测量，用最小二乘法拟合罗丹明 B 标准溶液的浓度值和仪器的叶绿素 a 浓度示值平均值绘制标准曲线得到仪器的线性方程，按照方程计算出的罗丹明 B 浓度值与罗丹明 B 标准溶液浓度值进行比较（不包含最低浓度值），得到线性误差，结果见表 8：

表 8 OSA-ChlA 线性误差结果

叶绿素 a 标准浓度值 ($\mu\text{g/L}$)	罗丹明 B 标准浓度值 ($\mu\text{g/L}$)	仪器测量值 ($\mu\text{g/L}$)				线性方程计算 罗丹明 B 浓度值 ($\mu\text{g/L}$)	线性 误差 (%)
		1	2	3	平均值		
50	715	52.02	52.03	51.98	52.01	717.09	+0.29
100	1430	103.43	103.49	103.43	103.45	1427.59	-0.17
150	2140	155.65	155.73	155.63	155.67	2148.86	+0.41
200	2860	206.94	206.90	207.04	206.96	2857.29	-0.09
截距		0.0925		斜率		0.0724	

该样品的线性误差，符合计量校准规范条款 4 的要求。

2、重复性：

按照荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范第 6.2 条的要求，选用对应叶绿素浓度为 20 $\mu\text{g/L}$ 的罗丹明 B 标准溶液重复测量 7 次，校准结果见表 9。

表 9 ESTD-1020 重复性结果

标准值 ($\mu\text{g/L}$)	测量值 ($\mu\text{g/L}$)							平均值 ($\mu\text{g/L}$)	标准偏差 ($\mu\text{g/L}$)	重复性 (%)
20.3	21.19	21.19	21.19	21.21	21.20	21.19	21.21	21.20	0.01	0.04

该样品的重复性，符合校准规范条款 4 的要求。

3、稳定性：

按照荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范第 6.3 条的要求，选用对应叶绿素浓度为 20 $\mu\text{g/L}$ 的罗丹明 B 标准溶液进行测定。记录初始测量值，之后每隔 10 min 测定 1 次，连续测定 1h，校准结果见表 10。

表 10 ESTD-1020 稳定性结果

标准值 ($\mu\text{g/L}$)	测量值 ($\mu\text{g/L}$)							稳定性 (%)
	0min	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min	
20.3	21.19	21.11	21.05	21.23	21.22	21.05	21.21	0.85

该样品的稳定性，符合校准规范条款 4 的要求。

4、示值误差：

按照荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范第 6.4 条的要求，选取叶绿素 a 浓度值在仪器量值测量范围内的水样，分成 2 份，作为仪器的校准标准液。取其中 1 份试样，依据附录 B 中的分光光度法测量试样中的叶绿素 a 浓度值。再取另外 1 份试样，用仪器进行重复测量 3 次，计算出 3 次测量值的平均值。结果见表 11：

表 11 OSA-ChlA 示值误差结果

分光光度法测量值 ($\mu\text{g/L}$)	仪器测量值 ($\mu\text{g/L}$)			平均值 ($\mu\text{g/L}$)	示值误差 (%)
	1	2	3		
21.21	19.23	19.24	19.26	19.24	-9.27

该样品的示值误差，符合校准规范条款 4 的要求。

(三)

表 12 试验相关信息（样品 3）

样品名称	多参数水质测试仪	型号	EXO6
制造厂商	美国 YSI 公司	出厂编号	13A102232
试验地点	安徽省计量科学研究院	试验环境	温度：20℃；湿度：60%RH
检定/校准人员	规范起草组	核验人员	规范起草组

1、线性误差：

按照荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范第 6.1 条的要求，仪器开机预热后，在仪器常用测量范围（0.2~200） $\mu\text{g/L}$ 内，按照均匀取点的原则设置 0.2 $\mu\text{g/L}$ 、50 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 、150 $\mu\text{g/L}$ 、200 $\mu\text{g/L}$ 等 5 个标准叶绿素 a 标准点，配制罗丹明 B 系列标准溶液。分别进行 3 次重复测量，用最小二乘法拟合罗丹明 B 标准溶液的浓度值和仪器的叶绿素 a 浓度示值平均值绘制标准曲线得到仪器的线性方程，按照方程计算出的罗丹明 B 浓度值与罗丹明 B 标准溶液浓度值进行比较（不包含最低浓度值），得到线性误差，结果见表 13：

表 13 EXO6 线性误差结果

叶绿素 a 标准浓度值 ($\mu\text{g/L}$)	罗丹明 B 标准浓度值 ($\mu\text{g/L}$)	仪器测量值 ($\mu\text{g/L}$)				线性方程计算 罗丹明 B 浓度值 ($\mu\text{g/L}$)	线性 误差 (%)
		1	2	3	平均值		
50	715	53.65	53.62	53.62	53.63	713.00	-0.28
100	1430	106.85	106.87	106.83	106.85	1411.42	-1.30
150	2140	163.24	163.28	163.26	163.26	2151.71	+0.55
200	2860	217.32	217.30	217.25	217.29	2860.77	+0.03
截距		-0.7004		斜率		0.0762	

该样品的线性误差，符合计量校准规范条款 4 的要求。

2、重复性：

按照荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范第 6.2 条的要求，选用对应叶绿素浓度为 20 $\mu\text{g/L}$ 的罗丹明 B 标准溶液重复测量 7 次，校准结果见表 14。

表 14 ESTD-1020 重复性结果

标准值 ($\mu\text{g/L}$)	测量值 ($\mu\text{g/L}$)							平均值 ($\mu\text{g/L}$)	标准偏差 ($\mu\text{g/L}$)	重复性 (%)
20.3	21.34	21.33	21.32	21.32	21.27	21.24	21.27	21.30	0.04	0.17

该样品的重复性，符合校准规范条款 4 的要求。

3、稳定性：

按照荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范第 6.3 条的要求，选用对应叶绿素浓度为 20μg/L 的罗丹明 B 标准溶液进行测定。记录初始测量值，之后每隔 10 min 测定 1 次，连续测定 1h，校准结果见表 15。

表 15 ESTD-1020 稳定性结果

标准值 (μg/L)	测量值 (μg/L)							稳定性 (%)
	0min	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min	
20.3	20.34	20.28	20.21	20.10	20.23	20.37	20.41	1.54

该样品的稳定性，符合校准规范条款 4 的要求。

4、示值误差：

按照荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范第 6.4 条的要求，选取叶绿素 a 浓度值在仪器量值测量范围内的水样，分成 2 份，作为仪器的校准标准液。取其中 1 份试样，依据附录 B 中的分光光度法测量试样中的叶绿素 a 浓度值。再取另外 1 份试样，用仪器进行重复测量 3 次，计算出 3 次测量值的平均值。结果见表 16：

表 16 EXO6 示值误差结果

分光光度法测量值 (μg/L)	仪器测量值 (μg/L)			平均值 (μg/L)	示值误差 (%)
	1	2	3		
37.85	34.93	34.91	34.93	34.92	-7.73

该样品的示值误差，符合校准规范条款 4 的要求。

(四)

表 17 试验相关信息（样品 4）

样品名称	水体藻类荧光光谱分析仪	型号	AGHJ-AFA-III
制造厂商	中国科学院 安徽光学精密机械研究所	出厂编号	AGHJ-AFA-SN2023002
试验地点	安徽省计量科学研究院	试验环境	温度：20℃；湿度：60%RH
检定/校准人员	规范起草组	核验人员	规范起草组

1、线性误差：

按照荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范第 6.1 条的要求，仪器开机预热后，在仪器常用测量范围（0.2~200）μg/L 内，按照均匀取点的原则设置 0.2 μg/L、50

μg/L、100 μg/L、150 μg/L、200 μg/L 等 5 个标准叶绿素 a 标准点，配制罗丹明 B 系列标准溶液。分别进行 3 次重复测量，用最小二乘法拟合罗丹明 B 标准溶液的浓度值和仪器的叶绿素 a 浓度示值平均值绘制标准曲线得到仪器的线性方程，按照方程计算出的罗丹明 B 浓度值与罗丹明 B 标准溶液浓度值进行比较（不包含最低浓度值），得到线性误差，结果见表 18：

表 18 AGHJ-AFA-III 线性误差结果

叶绿素 a 标准浓度值 (μg/L)	罗丹明 B 标准浓度值 (μg/L)	仪器测量值 (μg/L)				线性方程计算 罗丹明 B 浓度值 (μg/L)	线性 误差 (%)
		1	2	3	平均值		
50	715	52.80	52.40	52.90	52.70	722.34	+1.03
100	1430	103.71	103.74	103.71	103.72	1433.92	+0.27
150	2140	155.92	155.93	155.97	155.94	2162.23	+1.04
200	2860	204.46	203.48	205.53	204.49	2839.36	-0.72
截距		0.9080		斜率		0.0717	

该样品的线性误差，符合计量校准规范条款 4 的要求。

2、重复性：

按照荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范第 6.2 条的要求，选用对应叶绿素浓度为 20μg/L 的罗丹明 B 标准溶液重复测量 7 次，校准结果见表 19。

表 19 AGHJ-AFA-III 重复性结果

标准值 (μg/L)	测量值 (μg/L)							平均值 (μg/L)	标准偏差 (μg/L)	重复性 (%)
20.3	21.07	21.08	21.09	21.10	21.07	21.07	21.09	21.08	0.01	0.06

该样品的重复性，符合校准规范条款 4 的要求。

3、稳定性：

按照荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范第 6.3 条的要求，选用对应叶绿素浓度为 20μg/L 的罗丹明 B 标准溶液进行测定。记录初始测量值，之后每隔 10 min 测定 1 次，连续测定 1h，校准结果见表 20。

表 20 ESTD-1020 稳定性结果

标准值 (μg/L)	测量值 (μg/L)							稳定性 (%)
	0min	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min	
20.3	21.07	21.08	21.11	21.14	20.91	20.99	21.00	1.08

该样品的稳定性，符合校准规范条款 4 的要求。

4、示值误差：

按照荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范第 6.4 条的要求，选取叶绿素 a 浓度值在仪器量值测量范围内的水样，分成 2 份，作为仪器的校准标准液。取其中 1 份试样，依据附录 B 中的分光光度法测量试样中的叶绿素 a 浓度值。再取另外 1 份试样，用仪器进行重复测量 3 次，计算出 3 次测量值的平均值。结果见表 21：

表 21 AGHJ-AFA-III 示值误差结果

分光光度法测量值 ($\mu\text{g/L}$)	仪器测量值 ($\mu\text{g/L}$)			平均值 ($\mu\text{g/L}$)	示值误差 (%)
	1	2	3		
51.12	52.57	52.58	52.56	52.57	+2.84

该样品的示值误差，符合校准规范条款 4 的要求。

(五)

表 22 试验相关信息（样品 2）

样品名称	浮游植物荧光仪	型号	PHYTO-C
制造厂商	德国 WALZ 公司	出厂编号	PPAA0221
试验地点	安徽省计量科学研究院	试验环境	温度：20℃；湿度：60%RH
检定/校准人员	规范起草组	核验人员	规范起草组

1、线性误差：

按照荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范第 6.1 条的要求，仪器开机预热后，在仪器常用测量范围（0.2~200） $\mu\text{g/L}$ 内，按照均匀取点的原则设置 0.2 $\mu\text{g/L}$ 、50 $\mu\text{g/L}$ 、100 $\mu\text{g/L}$ 、150 $\mu\text{g/L}$ 、200 $\mu\text{g/L}$ 等 5 个标准叶绿素 a 标准点，配制罗丹明 B 系列标准溶液。分别进行 3 次重复测量，用最小二乘法拟合罗丹明 B 标准溶液的浓度值和仪器的叶绿素 a 浓度示值平均值绘制标准曲线得到仪器的线性方程，按照方程计算出的罗丹明 B 浓度值与罗丹明 B 标准溶液浓度值进行比较（不包含最低浓度值），得到线性误差，结果见表 23：

表 23 PHYTO-C 线性误差结果

叶绿素 a 标准浓度值 ($\mu\text{g/L}$)	罗丹明 B 标准浓度值 ($\mu\text{g/L}$)	仪器测量值 ($\mu\text{g/L}$)				线性方程计算 罗丹明 B 浓度值 ($\mu\text{g/L}$)	线性 误差 (%)
		1	2	3	平均值		
50	715	51.85	51.87	51.83	51.85	711.14	-0.54
100	1430	105.40	105.35	105.36	105.37	1436.35	+0.44

150	2140	155.11	155.16	155.15	155.14	2110.74	-1.37
200	2860	212.09	212.07	212.02	212.06	2882.01	+0.77
截距		-0.6325		斜率		0.0738	

该样品的线性误差，符合计量校准规范条款 4 的要求。

2、重复性：

按照荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范第 6.2 条的要求，选用对应叶绿素浓度为 20μg/L 的罗丹明 B 标准溶液重复测量 7 次，校准结果见表 24。

表 24 PHYTO-C 重复性结果

标准值 (μg/L)	测量值 (μg/L)							平均值 (μg/L)	标准偏差 (μg/L)	重复性 (%)
20.3	21.27	21.31	21.32	21.32	21.23	21.25	21.29	21.28	0.04	0.18

该样品的重复性，符合校准规范条款 4 的要求。

3、稳定性：

按照荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范第 6.3 条的要求，选用对应叶绿素浓度为 20μg/L 的罗丹明 B 标准溶液进行测定。记录初始测量值，之后每隔 10 min 测定 1 次，连续测定 1h，校准结果见表 25。

表 25 PHYTO-C 稳定性结果

标准值 (μg/L)	测量值 (μg/L)							稳定性 (%)
	0min	10 min	20 min	30 min	40 min	50 min	60 min	
20.3	21.28	20.97	21.29	21.21	21.05	21.23	21.11	1.51

该样品的稳定性，符合校准规范条款 4 的要求。

4、示值误差：

按照荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范第 6.4 条的要求，选取叶绿素 a 浓度值在仪器量值测量范围内的水样，分成 2 份，作为仪器的校准标准液。取其中 1 份试样，依据附录 B 中的分光光度法测量试样中的叶绿素 a 浓度值。再取另外 1 份试样，用仪器进行重复测量 3 次，计算出 3 次测量值的平均值。结果见表 26：

表 26 PHYTO-C 示值误差结果

分光光度法测量值 (μg/L)	仪器测量值 (μg/L)			平均值 (μg/L)	示值误差 (%)
	1	2	3		
83.07	88.25	88.24	88.24	88.24	+6.23

该样品的示值误差，符合校准规范条款 4 的要求。

二、试验结论

规范报审稿中的所有技术要求和方法，经验证，其技术要求合理，方法可行，可靠。

《荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范》起草组

2023 年 7 月