

“沪苏浙皖”计量技术规范

《荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范》

编制说明

规范起草组
2023 年 7 月

“沪苏浙皖”计量技术规范

《荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范》

编制说明

一、任务来源

根据华东国家计量测试中心下达的“关于印发2021年度“沪苏浙皖”计量技术规范立项计划的通知”，由安徽省计量科学研究院、安徽省合肥生态环境监测中心、安徽省生态环境监测中心、厦门斯坦道科学仪器股份有限公司负责制定《荧光法叶绿素a在线监测仪校准规范》（审定会上专家组建议将规范名称更改为《荧光法叶绿素a测定仪校准规范》）。

二、编制依据和原则

1. 编制依据

本规范的编写以JJF 1001-2011《通用计量术语及定义》、JJF 1071-2010《国家计量校准规范编写规则》和JJF 1059.1-2012《测量不确定度评定与表示》为基础和依据，主要参考了GB/T 6682-2008《分析实验室用水规格和试验方法》和HJ 897-2017《水质 叶绿素a的测定 分光光度法》的部分内容。

2. 编制原则

参照荧光法叶绿素 a 测定仪相关的各类技术规范，对荧光法叶绿素 a 测定仪开展计量检测试验，反复进行重复性的实验，积累原始数据，分析荧光法叶绿素 a 测定仪的计量功能，合理地制定计量特性、校准条件、校准项目和校准方法、校准结果的处理和校准周期、测量不确定度评定等，从而编写出适用于荧光法叶绿素 a 测定仪的校准规范。在编制过程中起草小组掌握以下几个原则：

（1）应与现行相关国家标准或其他省级计量机构的检测方法、检定方法、校准方法类似；

（2）要体现目前技术的先进性；

（3）在实施时要有可操作性。

三、编制过程

1. 准备阶段

近年来，海洋“赤潮”遍及世界各大洲，我国太湖、巢湖等地也相继爆发“水华”。水体富营养化、水中浮游植物的大量繁殖是产生赤潮和水华的主要原因。它不仅使人类在经济上遭受重大损失，而且在健康甚至生命上受到重大威胁。因此，对水中浮游植物现存量进行实时有效的检测成为水质污染检测和治理的重要环节。叶绿素是植物进行光合作用的重要色素，在光合作用的光吸收中起核心作用。叶绿素分很多种，其中只有叶绿素a存在于所有绿色植物中，水体的富营养化可以通过跟踪检测水中叶绿素a的含量来实现。在环境保护中，通过测定叶绿素a的浓度，衡量水体受到的污染的程度，同时作为“水华”预警防治检测过程中最直接有效的方法之一。快速在线检测水中的叶绿素a含量，可以实时示踪水质的富营养化程度，预警水质污染。目前国内各河流湖泊的相关监测站和环境研究所大都开展了对水体叶绿素a含量的检测工作。叶绿素a测定仪采用荧光法，基于叶绿素a的荧光诱导原理，在特定波长下光照释放出荧光，荧光强度与叶绿素a的浓度成正比，从而得到叶绿素a的浓度值。荧光法叶绿素a测定仪凭借小型化、携带方便、低功耗、集成化等优势，已在水质检测领域中日益普及。

但是目前，国内尚无关于叶绿素a测定仪的国家或地方检定规程、校准规范，计量工作缺少相应的技术依据，尚不能进行规范的量值溯源。而调研表明，实际应用的叶绿素a测定仪计量性能的检测是质量控制的关键，目前很多生态环境检测领域的技术人员对叶绿素a测定仪的技术指标并没有很深入的了解，更谈不上对性能指标实施严格控制。

为贯彻执行中华人民共和国环境保护法、中华人民共和国水污染防治法，提高我国水体环境检测的能力，有必要对叶绿素a测定仪进行校准，来确保量值的准确可靠，完善其量值溯源体系。这项工作不仅有利于环境检测系统内部的设备管理，也可为生态环境检测领域的发展提供必要的计量技术支撑，从而达到地表水水质检测预警与污染源总量检测与控制的目的。因此，急需制定叶绿素a测定仪校准规范。本规范起草组以严谨的科学态度，经过长期的调研、资料查询和试验验证，认真分析了目前各地在用叶绿素a测定仪的现状，在参阅各类标准、方法的同时，听取了相关领域专家意见，提出了制定叶绿素a测定仪地方计量校准规范的应用。

叶绿素a不溶于水，而溶于丙酮、乙醇等有机溶剂中，若以叶绿素a的丙酮基体溶液校准，不仅耗时长、重复性差，而且与测定仪实际应用基体差异较大，不

能真实反映测定仪实际计量特性；而罗丹明B（标物编号GBW(E)100374）具有与叶绿素a类似的荧光诱导性质，溶于水，荧光稳定，生产技术成熟。综合二者的荧光特性、稳定性、可获得性和量值溯源，以及校准操作的便利性，本规范以罗丹明B标准溶液作为叶绿素a测定仪的标准试剂。

2. 起草阶段

规范制订期间，主要起草人收集多家荧光法叶绿素a测定仪的生产企业标准，对企业标准规定的计量性能普遍性、通用性进行统计分析，发现各企业标准计量性能具有一致性，并使用计量标准器具对荧光法叶绿素a测定仪计量性能作了大量试验，为规范的制订积累了充足的试验数据和经验，使规范得以顺利编制完成。具体过程如下：

2021年4月接到任务后，安徽省计量科学研究院、安徽省合肥生态环境监测中心、安徽省生态环境监测中心及厦门斯坦道科学仪器股份有限公司成立了规范制定起草小组，同时拟定了工作方案，共同负责《荧光法叶绿素a测定仪》计量校准规范的制定工作；

2021年5月~8月，完成了人员、设备和参考资料的准备工作；

2021年9月~2022年3月，完成荧光法叶绿素a测定仪选型及计量特性试验；

2022年4月，向有关专家对我起草组拟定的研制思路、流程以及校准设备等内容进行咨询。

2022年5月，通过对试验情况进行归纳总结，结合国内相关技术资料以及专家咨询情况，编写了规范的征求意见稿。

3. 第一轮征求意见及省内讨论阶段

2022年6月~7月，将征求意见稿发送至中国计量科学研究院、湖北省计量院、河南省计量院、贵州省计量院以及省内各相关单位专家进行征求意见，并于2022年7月28日，召开本规范的省内专家研讨初审会。

2022年8月，针对反馈意见进行讨论和论证，进行第一次修订。

4. 第二轮征求意见阶段

2022年9月，将第一次修订之后的文本及相关材料，在长三角范围内广泛征求同行专家意见。对回函所反馈的意见，起草小组进行了认真的讨论和论证，在此基础上编写成报审稿。

5. 报审阶段

2023年5月5日，华东国家计量测试中心会同上海市、江苏省、浙江省、安徽省市场监督管理局组织开展长三角计量技术规范《荧光法叶绿素a在线监测仪校准规范》审定工作。专家组审查了规范的《编制说明》《征求意见汇总表》《荧光法叶绿素a在线监测仪校准规范》（报审稿）等，并就相关问题对起草组进行了质询。

主要审定意见如下：

（1）规范名称改为《荧光法叶绿素a测定仪校准规范》，同时修改相应英文名称。

（2）完善规范的溯源性，并增加规范性附录。

（3）针对性地调整校准项目以及对应的校准方法。

（4）规范文本表述。

专家组认为，《荧光法叶绿素a在线监测仪校准规范》报审稿的内容完整，校准项目合理，方法科学，配套资料完善，审定结果通过。

6. 报批阶段

2023年5月~7月，起草组按照审定意见进行修改完善，报专家组长审核同意后，形成《荧光法叶绿素a测定仪校准规范》报批稿，上报“沪苏浙皖”市场监督管理局审批、发布。

四、编制主要技术内容说明

1. 与国际建议、国际文件、国内外标准、其他计量技术规范等技术文件的兼容情况：

本规范与相关法律、法规、规章及相关标准协调一致，没有冲突。本标准没有采用国际标准。本规范制定过程中未查到同类国际、国外标准。本规范水平为国内先进水平。

2. 对所起草技术规范中具体内容的说明：

规范主要包括：

（1）范围：

规定了本规范的适用范围。

（2）引用文件：

列出了本规范所引用的参考文件的有效版本。

(3) 概述:

介绍了荧光法叶绿素 a 测定仪的用途、分类,并简述了其测量原理及仪器结构。

(4) 计量特性:

规定了荧光法叶绿素 a 测定仪的计量特性要求。

(5) 校准条件:

规定了校准荧光法叶绿素 a 测定仪的校准条件,包括:环境条件、测量标准及其他设备。

(5.1) 环境条件

环境温度: $5^{\circ}\text{C}\sim 40^{\circ}\text{C}$ 。

电源电压及频率: AC $(220\pm 22)\text{V}$, $(50\pm 0.5)\text{Hz}$ 。

(5.2) 测量标准器及其他设备

(5.2.1) 罗丹明B有证标准物质: 相对扩展不确定度不大于3% ($k=2$), 标准溶液的配制方法见附录A。

(5.2.2) 吸量管、容量瓶: A级。

(5.2.3) 《HJ 897-2017 水质 叶绿素a的测定 分光光度法》第4章及第5章中使用的其它试剂及设备。

(6) 校准项目与校准方法:

(6.1) 线性误差

规定了荧光法叶绿素 a 测定仪线性误差测量方法、推荐测量点等。

(6.2) 重复性

规定了荧光法叶绿素 a 测定仪重复性测量方法、推荐测量点、重复性计算公式等。

(6.3) 稳定性

规定了荧光法叶绿素 a 测定仪稳定性测量方法、推荐测量点、稳定性计算公式等。

(6.4) 示值误差

规定了荧光法叶绿素 a 测定仪示值误差校准方法、误差计算公式等。

(7) 校准结果表达:

规定了荧光法叶绿素 a 测定仪校准结果的处理。

(8) 复校时间间隔:

建议荧光法叶绿素 a 测定仪复校时间间隔不超过 1 年。

(9) 附录 A:

给出了荧光法叶绿素a测定仪校准中使用的标准溶液的配制方法。

(10) 附录B:

给出了叶绿素a参考测定方法（分光光度法）。

(11) 附录C:

给出了荧光法叶绿素a测定仪校准记录参考格式。

(12) 附录D:

给出了荧光法叶绿素a测定仪校准证书内页参考格式。

(13) 附录E:

给出了荧光法叶绿素a测定仪线性误差测量不确定度评定示例。

3. 对立项论证或听证修改意见的回应情况:

《荧光法叶绿素 a 测定仪校准规范》（征求意见稿）向安徽省内、长三角范围内及至全国二十余个计量机构、仪器制造商、使用单位征求意见，各单位反馈了宝贵的意见和建议（发出征求意见稿 20 份，收到回函 16 份，反馈意见 38 条）。针对这些意见和建议，规范编写组经过认真讨论、分析、验证，并进行了相应修改。

4. 对重大分歧意见的处理结果和依据:

无。

五、对经济社会发展可能产生的影响，以及相关建议和措施

首先，调研结果表明，目前我国生态环境检测和科研等单位所使用的荧光法叶绿素a测定仪的技术特性检查尚没有开展，其计量性能长期处于失控状态，给仪器的使用人员及相关科研人员的工作带来较大不便。制定荧光法叶绿素a测定仪地方计量校准规范，可以填补国内荧光法叶绿素a测定仪的计量技术法规的空白，满足国内荧光法叶绿素a测定仪的量值溯源需求。并且能够解决以往荧光法叶绿素a测定仪验收时和使用中无法可依、无章可循的问题，在此基础上规范荧光法叶绿素a测定仪的产品市场，指导生产并提高产品的技术性能，为使用和生产荧光法叶绿素a测定仪的企事业单位提供计量服务和计量保障，满足国家对于

湖库开展叶绿素检测的要求。从而确保我国水质检测设备的发展和水质监管的效果，更好保护人民的环境安全。因此本规范实施后将创造较大社会效益。

其次开展此项目投入小，经济可行，可操作性强。根据我国十四五生态环境监测规划，将加强重点湖库富营养化的检测工作，优化新三湖（白洋淀、洱海、丹江口）、老三湖（太湖、巢湖、滇池）、三峡水库及其他藻类水华易发多发的敏感湖库开展蓝藻水华检测预警。随着叶绿素a测定仪的应用越来越广，对仪器的质量管理的需求也更加迫切。本规范实施后，具备能力的各级计量技术机构将可以开展叶绿素a测定仪的校准工作，同时创造良好的经济效益。