

荧光示值误差的校准不确定度评定示例

1 测量模型

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

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 ——仪器测得荧光的算术平均值，单位为微克每升（ $\mu\text{g/L}$ ）；

C_s ——荧光素钠标准溶液的浓度值，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 $u_{\text{rel}}(C_p)$ 。

以常用的 WETLabs 传感器为例，进行荧光示值误差的不确定度评定。

3 不确定度分量评定

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：

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

其中，校准曲线的标准差 s_R 按照式（D.3）计算：

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

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, $(x_i - \bar{x})^2 = 3171961$

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

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。

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。

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:

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

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 $\pm 0.01 \text{ mg}$, 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:

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

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:

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

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±5)°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:

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

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:

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

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:

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

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 μg/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 ±0.08 mL、±0.60 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:

$$u_{rel1}(V_{2-100}) = \frac{0.08}{100 \times \sqrt{3}} = 0.00046 \quad (11)$$

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

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 $u_{rel2}(V_2)$

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±5)°C，水的体积膨胀系数为 $2.1 \times 10^{-4} \text{ °C}^{-1}$ 。按矩形分布，包含因子 $k = \sqrt{3}$ ，由 100 mL、2000 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：

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

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

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

$$u_{rel}(C_{s2}) = \sqrt{u_{rel1}(V_{1-100})^2 + u_{rel1}(V_{1-2000})^2 + u_{rel2}(V_{2-100})^2 + u_{rel2}(V_{2-2000})^2} = 0.00098 \quad (15)$$

综上所述，荧光素钠使用液 200 μg/L 配制时引入的标准不确定度 $u(C_s)$ ，可用式 (16) 计算：

$$u(C_s) = 200 \times \sqrt{u_{rel}(C_{s1})^2 + u_{rel}(C_{s2})^2} = 1.52 \mu\text{g/L} \quad (16)$$

4 合成标准不确定度

表 2 标准不确定度一览表

不确定度来源	符号	标准不确定度 (μg/L)	灵敏系数
荧光素钠使用液	$u(C_s)$	1.52	-1
测量重复性	$u(C_p)$	1.23	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：

$$u(\Delta C) = \sqrt{c^2(C_s) \times u(C_s)^2 + c^2(C_p) \times u(C_p)^2} = 1.96 \mu\text{g/L} \quad (15)$$

5 扩展不确定度

本试验中，包含因子取 $k=2$ ，因此扩展标准不确定度 U 为：

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

海水叶绿素 a 传感器在各标准点上的扩展不确定度详见表 3。

表 3 各标准点的扩展不确定度一览表

各标准点浓度 ($\mu\text{g/L}$)	输入量的标准不 确定度 ($\mu\text{g/L}$) $u(C_s)$	输出量的标准不 确定度 ($\mu\text{g/L}$) $u(C_p)$	合成标准不确 定度 ($\mu\text{g/L}$) $u(\Delta C)$	扩展不确定度 ($\mu\text{g/L}$) $U(k=2)$
50.00	0.38	0.30	0.48	1.0
100.00	0.76	0.35	0.84	1.7
150.00	1.14	0.89	1.45	2.9
200.00	1.52	1.24	1.96	4.0

表 3 海水叶绿素 a 传感器在各标准点上的扩展不确定度一览表

各标准点 μg/L	标准不确定度分量		$u(\Delta C)$ μg/L	U μg/L $k=2$
	标准值μg/L $u(C_s)$	测量重复性μg/L $\bar{u}(\bar{C})$		
50.00	1.01	0.017	1.01	2.02
100.00	2.01	0.022	2.01	4.02
150.00	3.01	0.021	3.01	6.02
200.00	4.01	0.057	4.01	8.02