

*Marlena PINTERA-ZALASA  
Okręgowy Urząd Miar w Łodzi  
Wydział Termodynamiki*

## **ŹRÓDŁA NIEPEWNOŚCI WYSTĘPUJĄCE PODCZAS WZORCOWANIA TŁOKOWYCH NACZYŃ DO POMIARU OBJĘTOŚCI ORAZ ANALIZA WYNIKÓW PORÓWNAŃ MIĘDZYLABORATORYJNYCH**

W referacie przedstawiono rodzaje naczyń tłokowych do pomiaru objętości oraz źródła niepewności występujące podczas ich wzorcowania. Referat przedstawia również porównanie wyników wzorcowania otrzymanych w dwóch niezależnych laboratoriach wzorcujących: Okręgowym Urzędzie Miar w Łodzi oraz MERASERW – JANOWICZ w Kościanie.

## **UNCERTAINTY SOURCES OF CALIBRATION OF PISTON-OPERATED VOLUMETRIC APPARATUS AND ANALYSIS OF THE RESULTS OF INTERLABORATORY COMPARISON**

In the article presents the type of piston-operated volumetric apparatus and sources of uncertainty during their calibration. The article presents also comparasion the resuls of calibration obtained in two independent calibrating laboratory: The Regional Office of Measures in Łódź (OUM) and Meraserw-Janowicz in Kościan.

### **1. WSTĘP**

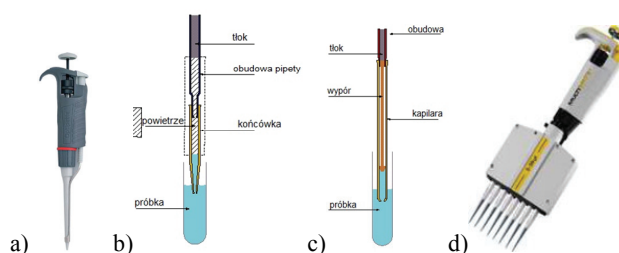
Tłokowe naczynia do pomiaru objętości w technice laboratoryjnej stosowane są już od dawna. Pierwszy prototyp mikropipety został wykonany w 1957 r. przez Heinricha Schnitgera w Instytucie Chemii Fizjologicznej Uniwersytetu w Marburgu. Wynikło to z potrzeby pobrania dużej liczby próbek do analizy o pojemnościach mniejszych niż 1 ml, zastępując w tym czasie zwykłą procedurę korzystania z cienkiej pipety szklanej, w której ciecz były zasysane ustami. Na początku lat sześćdziesiątych współzałożyciel firmy Eppendorf, dr Heinrich Netheler, odziedziczył prawa do mikropipet i rozpoczął ich komercyjną produkcję oraz zainicjował globalne użytkowanie mikropipet w laboratoriach. W latach 70 XX wieku poprzez współpracę grupy osób, głównie Warrena Gilsona i Henryego Lardy, na Uniwersytecie Wisconsin-Madison zostały wynalezione regulowane mikropipety, lecz dopiero niepełna dziesięć lat temu zostały znormalizowane wymagania metrologiczne dotyczące tych przyrządów pomiarowych. 15 września 2002 r. ukazało się pierwsze wydanie sześcioczęściowej normy ISO 8655. W Polsce zainteresowanie tymi przyrządami było tak duże, że w rok później Polski Komitet Normalizacyjny uchwałą z dnia 2 września 2003 r. uznał wszystkie sześć części wyżej wymienionej normy ISO za Polską Normę. W zakresie naczyń tłokowych w Polsce obowiązują obecnie następujące normy: PN-EN ISO 8655 :2003. Tłokowe naczynia do pomiaru objętości: Część 1: Terminologia, ogólne wymagania i zalecenia użytkowania, Część 2: Pipety tłokowe, Część 3: Biurety tłokowe, Część 4: Dilutory, Część 5: Dozowniki, Część 6: Grawimetryczne metody określania błędu pomiaru.

Początkowo w punktach serwisowych producentów tych przyrządów dokonywane były ich sprawdzenia na zgodność z wyżej wymienionymi normami. W miarę, jak tłokowe przyrządy do pomiaru objętości zaczęły wypierać z użycia szklane przyrządy pomiarowe, zaczęły powstawać akredytowane laboratoria wzorcujące, specjalizujące się we wzorcowaniu naczyń tłokowych. Pierwsze laboratorium otrzymało akredytację PCA w grudniu 2009 r. Obecnie w Polsce działają trzy laboratoria wzorcujące.

## 2. RODZAJE NACZYŃ TŁOKOWYCH DO POMIARU OBJĘTOŚCI

### 2.1. Jednokanałowe i wielokanałowe pipety tłokowe

Pipety tłokowe są stosowane do odbierania i odmierzania cieczy. Jednokanałowe pipety tłokowe posiadają tylko jeden zespół tłok – cylinder, natomiast każdy kanał wielokanałowej pipety tłokowej jest wyposażony w taki zespół. Wszystkie kanały pipety wielokanałowej mają wspólny mechanizm uruchamiający zasysanie i wydawanie (odmierzenie) cieczy tak, że jednakowa objętość cieczy może zostać odmierzona i dostarczona równocześnie do tylu zbiorników, ile kanałów ma pipeta. Pipety produkowane są o stałej lub zmiennej (regulowanej) objętości. Ze względu na konstrukcję zespołu tłok – cylinder rozróżniamy pipety typu A (z przestrzenią powietrzną pomiędzy powierzchnią tłoka a powierzchnią cieczy) oraz typu D (bez takiej przestrzeni powietrznej).



Rys. 1 Pipety tłokowe: a) jednokanałowa pipeta tłokowa; b) typu A; c) typu D, d) wielokanałowa pipeta tłokowa  
Fig. 1. Piston pipettes: a) single – channel piston pipettes; b) type A; c) type D, d) multi – channel piston pipettes

### 2.2. Biurety tłokowe

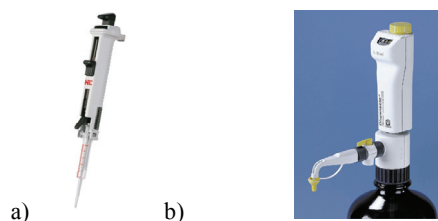
Biurety tłokowe są stosowane do odmierzania cieczy podczas miareczkowania lub sporządzania roztworów o określonym stężeniu. Odmierzona objętość jest widoczna na wyświetlaczu ciekłokrystalicznym; może być również rejestrowana przez program komputerowy. Napełnianie biurety może być ręczne (np. poprzez pokrętkę) lub mechaniczne (np. silniczek elektryczny, hydrauliczny lub pneumatyczny).



Rys. 2 Biureta tłokowa  
Fig. 2. Piston burettes

### 2.3. Dozowniki

Dozowniki stosowane są do stale powtarzającego się dozowania odmierzonej objętości cieczy. Ze względu na sposób pobierania cieczy, dozowniki mogą być bez zaworu (strzykawkowe) lub z zaworem (butelkowe), a ze względu na sposób dozowania – jednokrotnego dozowania dla każdego napełnienia dozownika – lub wielokrotnego dozowania podczas każdego jego napełnienia. Napełnianie dozownika może być ręczne (np. poprzez pokrętkę) lub mechaniczne (np. silniczek elektryczny, hydrauliczny lub pneumatyczny).



Rys. 3. Dozowniki: a) bez zaworu (strzykawkowy), b) dozownik z zaworem (butelkowy)  
Fig. 3. Dispensers: a) without valves, b) dispenser with valves

### 3. ŹRÓDŁA NIEPEWNOŚCI WYSTĘPUJĄCE PODCZAS WZORCOWANIA TŁOKOWYCH NACZYŃ DO POMIARU OBJĘTOŚCI

Metodę grawimetryczną wyznaczania błędów wskazań tłokowych naczyń do pomiaru objętości opisuje norma [1], natomiast źródła niepewności występujące podczas wzorcowania tych przyrządów dokładnie omawia raport techniczny [2].

Przykładowy budżet niepewności sporządzony dla wzorcowanej jednokanałowej pipety tłokowej przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1

Budżet niepewności wzorcowanej jednokanałowej pipety tłokowej  
Uncertainty budget of calibrated single-channel piston pipettes

Symbol wielkości	Estymata wielkości		Niepewność standardowa		Rozkład prawdopodobieństwa	Współczynnik wrażliwości		Udział w niepewności złożonej	
	$x_i$	Jedn.	$x_i$	Jedn.		$C_i$	Jedn.	$U_i(y)$	Jedn.
$\rho_b$	8	g/cm <sup>3</sup>	0,3	g/cm <sup>3</sup>	prostokątny	0,0180771	cm <sup>3</sup> μl/g	0,0054231280	μl
$m$	1,00228	g	0,000002437	g	prostokątny	1002,7861	μl/g	0,00244379	μl
$t_w$	20,107	°C	0,021	°C	prostokątny	-1,943269	μl/°C	-0,04080864	μl
$t_a$	20,4	°C	0,073	°C	prostokątny	-0,003912	μl/°C	-0,000285545	μl
$p_a$	974,9	hPa	0,39	hPa	prostokątny	0,0010485	μl/hPa	0,0004089	μl
$h_a$	59,651	%	0,529	%	prostokątny	-9,27E-05	μl/%	-0,000049019	μl
$\beta$	0,00045	1/°C	0,0000057735	1/°C	prostokątny	-107,5479	μl/°C	-0,000620928	μl
$\delta V_{20\text{-ml}}$	0	g	0,00011547	g	prostokątny	1002,7861	μl/g	0,115791766	μl
$\delta V_{20\text{-mpw1}}$	0	g	0,00011547	g	prostokątny	1002,7861	μl/g	0,115791766	μl
$\delta V_{20\text{-mpw2}}$	0	g	0,00011547	g	prostokątny	1002,7861	μl/g	0,115791766	μl
$\delta V_{20\text{-evap}}$	0	g	0,000011547	g	prostokątny	1002,7861	μl/g	0,011579171	μl
$\delta V_{20\text{-td}}$	0	°C	1,1547	°C	prostokątny	-0,452304	μl/°C	-0,522275873	μl
$\delta V_{20}$	0	μl	0,23034	μl	normalny	1	-	0,2303400	μl
$V_{20}$	<b>1005,0725</b>	μl							
$u(V_{20})$								<b>0,6065371</b>	μl

Z analizy powyższej tabeli wynika, iż źródła niepewności, które powinno się uwzględnić przy konstruowaniu budżetu są następujące: niepewność wyznaczenia umownej gęstości odważników ( $\rho_b$ ), niepewność pomiaru masy wody w naczynku wagowym wynikająca z rozdzielczości wagi ( $m$ ), niepewność pomiaru temperatury wody ( $t_w$ ), niepewność pomiaru temperatury powietrza ( $t_a$ ), niepewność pomiaru ciśnienia atmosferycznego ( $p_a$ ), niepewność pomiaru wilgotności względnej powietrza ( $h_a$ ), niepewność wyznaczenia współczynnika  $\beta$ , niepewność wynikająca z liniowości wagi ( $\delta V_{20\text{-ml}}$ ), niepewność wynikając z powtarzalności wagi ( $\delta V_{20\text{-mpw1}}$ ), niepewność pomiaru masy wynikająca z odparowania wody z naczynka wagowego ( $\delta V_{20\text{-evap}}$ ), niepewność wynikająca z wpływu temperatury ręki operatora ( $\delta V_{20\text{-td}}$ ), niepewność wynikająca z rozrzutu wskazań oraz pozostałych, nieznanymi niepewności generowanych przez wzorcowane naczynie tłokowe ( $\delta V_{20}$ ).

Z przedstawionego budżetu wynika, że największy udział w złożonej niepewności standardowej ma samo wzorcowane naczynie tłokowe oraz temperatura ręki operatora, niepewność standardowa poprawki  $u\delta V_{20}$  obliczana jest jako odchylenie standardowe eksperymentalne średniej z 10 pomiarów  $V_{20}$ , natomiast przedział zmienności wartości poprawki  $\delta V_{20-td}$  oszacowany został na  $\pm 2^\circ\text{C}$ .

#### 4. PORÓWNANIA MIĘDZYLABORATORYJNE

Laboratorium Pomiarów Objętości Okręgowego Urzędu Miar w Łodzi przeprowadziło porównania międzylaboratoryjne z Laboratorium Wzorcującym MERASERW - JANOWICZ w Kościanie. Obiektami tych porównań były:

1. jednokanałowa pipeta tłokowa typu A produkcji BIOHIT Oyi, o regulowanej pojemności, zakres użytkowy od 0,5  $\mu\text{l}$  do 10  $\mu\text{l}$ , numer fabryczny 10017966,
2. jednokanałowa pipeta tłokowa typu A produkcji PZ HTL S.A., o regulowanej pojemności, zakres użytkowy od 100  $\mu\text{l}$  do 1000  $\mu\text{l}$ , numer fabryczny 846061730,
3. jednokanałowa pipeta tłokowa typu A produkcji BIOHIT Oyi, o regulowanej pojemności, zakres użytkowy od 1000  $\mu\text{l}$  do 10000  $\mu\text{l}$ , numer fabryczny 10027803.

W Tabeli 2 zestawiono wyniki wzorcowań z tych porównań.

Tabela 2

Wyniki wzorcowań z porównań międzylaboratoryjnych  
Results of interlaboratory comparison

Nr obiektu wzorcowania	Laboratorium Pomiarów Objętości Wydziału Termodynamiki Okręgowego Urzędu Miar w Łodzi				Laboratorium Wzorcujące MERASERW – JANOWICZ w Kościanie			
	$V_s$ [ $\mu\text{l}$ ]	$V_{pr}$ [ $\mu\text{l}$ ]	$U(V_{pr})$ [ $\mu\text{l}$ ]	$U(\delta V_{20})$ [ $\mu\text{l}$ ]	$V_s$ [ $\mu\text{l}$ ]	$V_{pr}$ [ $\mu\text{l}$ ]	$U(V_{pr})$ [ $\mu\text{l}$ ]	$U(\delta V_{20})$ [ $\mu\text{l}$ ]
1	1	1,062	0,025	0,00283	1,000	1,036	0,020	0,00284
2	1000	1005,1	1,3	0,23034	1000,0	1004,4	1,3	0,34785
3	10000	9973,8	12,7	3,62476	10000,0	9966,9	15,4	5,09126

Niepewności rozszerzone  $U(V_{pr})$  określone zostały dla współczynnika rozszerzenia  $k = 2$

#### 5. PODSUMOWANIE

Porównując ze sobą wyniki wzorcowań z porównań międzylaboratoryjnych zestawione w tabeli 2 można stwierdzić, że dla każdej z wzorcowanych pojemności  $V_s$  uzyskane wartości pojemności prawdziwych  $V_{pr}$  różnią się od siebie nieznacznie. Liczby  $E_n$  wynoszą odpowiednio: 0,81; 0,38 i 0,35. Każda z tych wartości jest mniejsza od 1, co spełnia kryterium prawidłowości porównań. Obiekty wybrane do porównań charakteryzują się dużą stabilnością, świadczą o tym małe różnice pomiędzy odpowiednimi wartościami  $u(\delta V_{20})$ . Przedstawione powyżej wyniki uzyskano w ramach standardowego wzorcowania.

Jednakże wśród wszystkich czynników wpływających na wydajność pipety, najważniejsze są umiejętności i wiedza użytkownika. Wysokiej jakości pipety w rękę niewprawnego operatora są niewiarygodnym instrumentem i będą generować niedokładne wyniki.

#### LITERATURA

1. PN-EN ISO 8655-6:2003. Tłokowe naczynia do pomiaru objętości. Część 6: Grawimetryczne metody określania błęd pomiaru.
2. Technical Report ISO/TR 20461:2000 Determination of uncertainty for volume measurements made using the gravimetric method.
3. EA-4/02 Wyrażanie niepewności pomiaru przy wzorcowaniu, Główny Urząd Miar, Warszawa 2001 r.