

Wyznaczanie błędów pipet tłokowych metodą grawimetryczną

RADWAG Wagi Elektroniczne

W pomiarach chemicznych (np. w analizie miareczkowej) bardzo istotne znaczenie ma dokładne odmierzenie objętości cieczy. Przeprowadza się je za pomocą różnych naczyń miarowych. Obecnie stosowane są szklane przyrządy pomiarowe, jak zlewki, kolby, itp. (do odmierzenia większych objętości), oraz szklane pipety miarowe (do mniejszych objętości). Służą one do bardzo dokładnych pomiarów, a stosowane są od około 70-tych lat ubiegłego wieku.

Przetworniki tensometryczne

W roku 1964 podczas XII Konferencji Miar dopuszczono oficjalnie do stosowania jednostkę pomiaru objętości spoza układu SI „litr”, przy zależności, że jeden decymetr sześcienny (dm³) jest równy jednemu litrowi (l). W chemii analitycznej dużo wygodniejsze jest wyrażanie objętości w litrach i tak jest ona wyrażana w różnych dokumentach normatywnych oraz publikacjach.

Rozwój nauki pociąga również za sobą rozwój w dziedzinie metrologii wszelkich wielkości. Możemy cały czas obserwować coraz doskonalsze i coraz dokładniejsze przyrządy pomiarowe. Nie inaczej jest w technikach odmierzenia cieczy za pomocą pipet, technikach popularnie nazywanych „liquid handling”. Dzisiaj mamy do dyspozycji nowoczesne pipety tłokowe, które dozują objętości już na poziomie dziesiątych części mikrolitra [μl].

Metrologia pomiarów objętości – pipety tłokowe

Istotną sprawą w odniesieniu do wszystkich przyrządów pomiarowych stosowanych szczególnie w laboratoriach, jest odpowiedni nadzór nad wyposażeniem pomiarowym. Z nadzorem związane jest między innymi wzorcowanie i sprawdzanie przyrządów pomiarowych. Pipety tłokowe, jak wiele przyrządów pomiarowych, mają swoje regulacje normatywne. Obecnie międzynarodowym standardem dla pipet tłokowych jest międzynarodowa

norma, mająca również status normy polskiej i europejskiej, PN-EN ISO 8655-2:2003 Tłokowe naczynia do pomiaru objętości – Część 2: Pipety tłokowe (dalej w treści ISO 8655-2). Norma zawiera wymagania konstrukcyjne, które są istotne dla producentów pipet, ale również błędy graniczne dopuszczalne, które stanowią normatywy dla producentów, ale mogą również stanowić kryteria akceptacji dla użytkowników pipet.

Dla pipet tłokowych określone są dwa rodzaje błędów: błąd systematyczny e_s oraz błąd przypadkowy CV.

W celu wyznaczenia wspomnianych wyżej błędów pipet tłokowych stosuje się metodę wagową, której opis postępowania jak również sposób obliczenia błędów jest określony w normie PN-EN ISO 8655-6:2003 Tłokowe naczynia do pomiaru objętości – Część 6: Grawimetryczne metody określania błędu pomiaru (dalej w treści ISO 8655-6).

Metoda grawimetryczna określenia błędu pomiaru najogólniej polega na określeniu masy cieczy wydalonej z pipety tłokowej do odpowiedniego naczynia, przy zastosowaniu odpowiedniej wagi analitycznej oraz konwersja otrzymanego wyniku w jednostce masy na jednostkę objętości jaką jest, jak już wspomniano wcześniej, mililitr lub mikrolitr. Z zależności fizycznej opisanej równaniem:

$$V = \frac{m}{\rho} \quad (1)$$

gdzie: V – jest to objętość
m – jest to masa
Z – jest to gęstość

wynika, że objętość zależy od masy oraz gęstości danego ciała lub substancji.

Aby określić objętość cieczy stosowanej do sprawdzania pipety tłokowej należy skorzystać z równania:

$$V_i = m_i \cdot Z \quad (2)$$

gdzie: V_i – jest to wartość objętości
 m_i – jest to wartość masy otrzymana w wyniku ważenia wydalonej cieczy
Z – jest to współczynnik korygujący zależny od temperatury i ciśnienia atmosferycznego w jednostkach [μl/mg]

Wartość masy jest odczytana bezpośrednio z urządzenia wskazującego wagi analitycznej natomiast współczynnik Z jest wyznaczony z zależności:

$$Z = \frac{1}{\rho_w} \times \frac{1 - \frac{\rho_a}{\rho_b}}{1 - \frac{\rho_a}{\rho_w}} = \frac{1}{\rho_b} \times \frac{\rho_b - \rho_a}{\rho_w - \rho_a} \quad (3)$$

gdzie: ρ_w – jest to gęstość wody

ρ_a – jest to gęstość powietrza

ρ_b – jest to gęstość wzorca masy użytego do wzorcowania wagi (wg R111 OIML dla stali nierdzewnej gęstość ρ_b wynosi około 8000 kg/m³)

i jest określony dla poszczególnych wartości temperatury i ciśnienia atmosferycznego w załączniku A normy ISO 8655-6.

Zgodnie z wymaganiami normy ISO 8655-6 procedura pomiarowa przewiduje wykonanie 10 serii ważeń dla każdej badanej objętości oraz obliczenie średniej wartości objętości zgodnie z równaniem (2) obliczając wartość średnią wg zależności:

$$\bar{V} = \frac{1}{10} \times \sum_{i=1}^{10} V_i \quad (4)$$

W przypadku, kiedy temperatura w pokoju wagowym jest różna od temperatury regulacji określonej w normie ISO 8655-2 jako 20°C oraz znany jest współczynnik korygujący rozszerzalności cieplnej urządzenia (pipety) Y wtedy równanie (2) możemy zastąpić równaniem:

$$V_i = m_i \cdot Z \cdot Y \quad (5)$$

Współczynnik korygujący Y jest określony równaniem:

$$Y = 1 - \alpha_c (t_d - t_{d20}) \quad (6)$$

gdzie: α_c – jest to współczynnik rozszerzalności objętościowej wyrażony w °C⁻¹

t_d – jest to temperatura wyrażona w °C

t_{d20} – jest to stała temperatura 20 °C

Wartość współczynnika Y jest zbliżona dla jedności.

Charakterystyka błędów pipet tłokowych.

Jak już wspomniano wcześniej, norma ISO 8655-6 określa dwa charakterystyczne błędy dla pipet tłokowych.

Błąd systematyczny - /systematic error/

Błąd systematyczny, (przez niektórych nazywany błędem dokładności pipety), zgodnie z definicją Międzynarodowego Słownika Podstawowych i Ogólnych Terminów Metrologicznych (VIM) jest to różnica między średnią z nieskończonej liczby

pomiarów tej samej wielkości mierzonej, wykonanych w warunkach powtarzalności, a wartością prawdziwą wielkości mierzonej.

Norma PN-EN ISO 8655-1:2003 Tłokowe naczynia do pomiaru objętości – Część 1: Terminologia, ogólne wymagania i zalecenia użytkowania definiuje ten błąd dla potrzeb pipet tłokowych jako różnica między wartością pomiaru objętości a wartością nominalną lub wybraną objętością badaną pipety. Analizując obie definicje możemy stwierdzić, że są ze sobą zgodne.

Błąd systematyczny jest wyrażony w jednostkach objętości mikrolitach [μ l] i procentach [%]. Jest oznaczany symbolem e_s i obliczany według równań:

$$e_s = \bar{V} - V_s \quad (7)$$

w przypadku wyrażenia wartości błędu w mikrolitach oraz:

$$e_s = 100 \cdot (\bar{V} - V_s) / V_s \quad (8)$$

W przypadku wyrażenia wartości błędu w procentach

gdzie: V_s – jest to wartość badanej objętości.

W przypadku pipet o stałej objętości badana objętość V_s jest objętością nominalną V_0 i może być w równaniu (8) przez nią (objętość nominalną V_0) zastąpiona.

Błąd przypadkowy - /random error/

Błąd przypadkowy, (przez niektórych nazywany błędem powtarzalności pipety), zgodnie z definicją Międzynarodowego Słownika Podstawowych i Ogólnych Terminów Metrologicznych (VIM) jest to różnica między wynikiem pomiaru, a średnią z nieskończonej liczby wyników pomiarów tej samej wielkości mierzonej, wykonanych w warunkach powtarzalności (różnica między błędem pomiaru czyli różnicą między wynikiem pomiaru a wartością prawdziwą wielkości mierzonej minus błąd systematyczny), przy czym należy zauważyć, że można wykonać tylko skończoną liczbę pomiarów, dlatego można dokonać jedynie oszacowania błędu przypadkowego.

Norma PN-EN ISO 8655-1:2003 Tłokowe naczynia do pomiaru objętości – Część 1: Terminologia, ogólne wymagania i zalecenia użytkowania definiuje ten błąd dla potrzeb pipet tłokowych jako rozrzut wyniku pomiaru objętości wokół wartości średniej objętości. Analizując obie definicje możemy stwierdzić, że są ze sobą zgodne, przy założeniu, że miarą w obu przypadkach jest odchylenie standardowe.

Błąd przypadkowy jest wyrażony w jednostkach objętości mikrolitach [μ l] i procentach [%]. Błąd przypadkowy jest oznaczany symbolem CV. Miarą

błędu przypadkowego jest odchylenie standardowe obliczane według równania:

$$s_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (V_i - \bar{V})^2}{n-1}} \quad (9)$$

gdzie: n - jest to liczba powtórzeń wynosząca 10 serii.

Błąd przypadkowy może być również wyrażony procentowo, wówczas stosujemy równanie:

$$CV = 100 \cdot \frac{s_r}{\bar{V}} \quad (10)$$

Grawimetryczna metoda pomiaru.

Do przeprowadzenia procedury kalibracji pipety tłokowej metodą grawimetryczną niezbędne jest odpowiednie wyposażenie pomiarowe, dla których wymagania metrologiczne są określone w normie ISO 8655-6.

Waga analityczna

Najważniejszym przyrządem pomiarowym jest waga analityczna, odpowiednio dobrana do objętości piety. Norma ISO 8655-6 określa dokładne wymagania dotyczące stosowanych wag:

| Badana objętość V | Działka elementarna d mg | Powtarzalność i liniowość mg | Standard. niepewność pomiaru mg |
|-----------------------|--------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| 1ul V < 10ul | 0,001 | 0,002 | 0,002 |
| 10 ul < V < 100 ul | 0,01 | 0,02 | 0,02 |
| 100 ul < V < 1 000 ul | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| 1 ml < V < 10 ml | 0,1 | 0,2 | 0,2 |
| 10 ml < V < 200 ml | 1 | 2 | 2 |

Tabela 1 Minimalne wymagania dla wag (wg ISO 8655-6)

W przypadku, kiedy znana jest niepewność standardowa pomiaru ważenia cieczy (na przykład ze świadectwa wzorcowania wagi), wówczas można ją użyć jako kryterium akceptacji zamiast powtarzalności i liniowości, przy założeniu, że niepewność standardowa nie jest większa niż dwu lub trzykrotność działki elementarnej wagi d.

W celu zachowania spójności pomiarowej waga używana do kalibracji pipet powinna w trakcie realizacji procedury posiadać aktualne świadectwo wzorcowania.

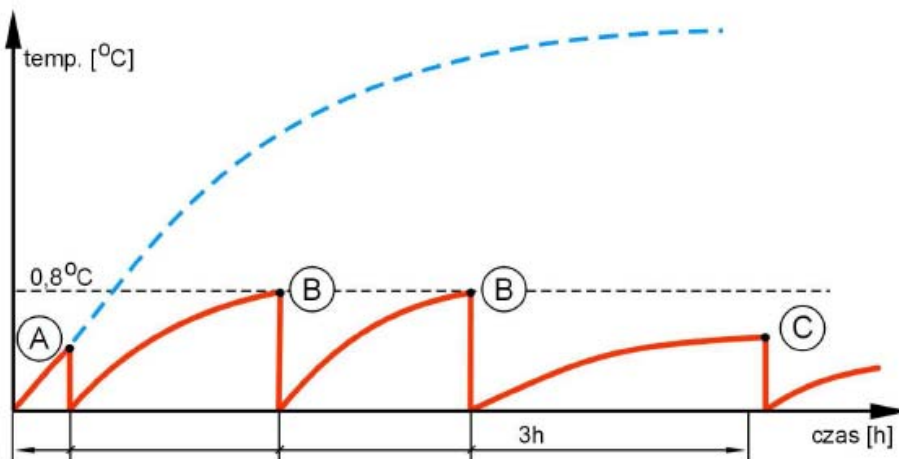
Przed rozpoczęciem pracy wagę przystosowaną do kalibracji pipet należy odpowiednio przygotować zgodnie z zaleceniami producenta wagi (z reguły zalecenia instalacyjne znajdują się w instrukcji obsługi). Zależnie od typu konstrukcji wagi, regulację związaną z dostosowaniem wagi do warunków aktualnie panujących w pokoju wagowym (np. błędy spowodowane zmianą przyspieszenia ziemskiego oraz warunków środowiskowych) czynność taką, zwaną adiustacją, wykonuje się:

- odpowiednio dobranym wzorcem adiustacyjnym (wzorcem masy przeznaczonym do adiustacji wagi); klasa oraz nominal wzorca adiustacyjnego jest określony przez producenta wagi,

- poprzez adiustację automatyczną, wewnętrznym wzorcem adiustacyjnym stanowiącym integralną część wagi (zabudowanym wewnątrz wagi).

Adiustacja polega na porównaniu masy wzorca adiustacyjnego (wewnętrznego lub wewnętrznego) z masą, która jest zapisana w pamięci wagi. W wyniku tego porównania następuje korekcja dokładności wagi. Dla wag wyposażonych konstrukcyjnie w adiustację wewnętrzną możemy wyróżnić trzy rodzaje adiustacji:

- adiustacja inicjalizacyjna (startowa), która uruchamia się automatycznie bezpośrednio po włączeniu wagi do zasilania elektrycznego; adiustacja inicjalizacyjna automatycznie kompensuje błędy wynikające z różnic wartości przyspieszenia ziemskiego pomiędzy miejscem kontroli producenta, a miejscem użytkowania wagi,
- adiustacja temperaturowa, która uruchamia się automatycznie po zmianie temperatury wewnątrz wagi o wartość większą niż wartość zadeklarowana w parametrach fabrycznych wagi,
- adiustacja czasowa (z uwzględnieniem upływu który jest mierzony od momentu ostatniej adiustacji), która uruchamia się automatycznie po upływie określonego czasu zadeklarowanego w parametrach fabrycznych wagi.



- A – adiustacja inicjalizacyjna (startowa)
- B – adiustacja temperaturowa
- C – adiustacja czasowa

Rys. 1 Dryft wskazania wagi w zależności od zmian temperatury np. w czasie nagrzewania własnego wagi

Linia przerywana pokazuje błąd wskazania wagi w przypadku, gdy adiustacja nie zostanie wykonana. Rys. 1 Dryft wskazania wagi w zależności od zmian temperatury np. w czasie nagrzewania własnego wagi

Z punktu widzenia pomiaru masy cieczy przy kalibracji pipet warto jednak zauważyć, że adiustacja temperaturowa oraz czasowa mogą mieć

negatywny wpływ na pomiary tak małych przyrostów masy z jakimi mamy do czynienia podczas realizacji procedury. Powodują to również ograniczenia temperaturowe, które są określone w normie ISO 8655-6.

Poniższa tabela przedstawia wartości dryftów czułości wag (temperaturowych) w przeliczeniu na wartość błędu:

| Waga | Maksymalne obciążenie wagi - Max | Działka elementarna wagi - d | Ilość działek elementarnych wagi - Max/d | Dryft czułości | Wartość błędu temperaturowego dla Max wagi | Wartość błędu temperaturowego dla $\Delta m = 100\text{mg}$ |
|-------------|----------------------------------|------------------------------|------------------------------------------|----------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| | [g] | [mg] | [dz.] | [ppm/°C] | [mg] | [mg] |
| MXA 31 | 31 | 0,001 | 31.000.000 | 2 | 6,200 | 0,000068 |
| XA 60/220/X | 60 | 0,01 | 6.000.000 | 2 | 4,80 | 0,000033 |

Tabela 2 Błędy temperaturowe wag

Analizując możliwe dryfty temperaturowe wag określone przez producentów w jednostkach ppm/°C (parts per milion) uwzględniając założenie, że dotyczy to zakresu temperatur od 18°C do 30°C możemy wnioskować, że istnieje potrzeba kompensacji błędów temperaturowych poprzez adiustację wagi. Jak już wspomniano wcześniej, wagi wyposażone są w system automatycznej adiustacji temperaturowej oraz czasowej. Wagi stosowane w obszarze regulowanym, czyli podlegające metrologii prawnej, system automatycznej adiustacji temperaturowej i czasowej musi być aktywny, bez możliwości wprowadzania jakichkolwiek zmian przez operatora. W przypadku wag stosowanych do kalibracji pipet uruchamianie się automatyczne adiustacji może być uciążliwe podczas realizacji procedury. Jak wynika z wyników przedstawionych w Tabeli 3 błędy temperaturowe dla małych przyrostów masy (np. przy pipetowa-

niu) są na tyle małe, że nie wpływają na wynik pomiaru. Warto przy tym przypomnieć, że procedura sprawdzania jednej objętości pipety odbywa się w krótkim odcinku czasu.

Stosowne zatem jest, aby wagi stosowane do sprawdzania pipet miały możliwość regulacji parametrów automatycznej kalibracji temperaturowej i czasowej. Tym samym najlepszym rozwiązaniem jest stosownie wagi nie podlegające metrologii prawnej, ponieważ tylko w takim przypadku możliwa jest ingerencja użytkownika w te parametry wagi.

Warunki środowiskowe przy kalibracji pipet

Pomiary związane z procedurą kalibracji pipet powinny być przeprowadzane w pokoju wagowym, który zapewnia stabilne środowisko, wolne od po-

dmuchów powietrza. Według wymagań normy odniesienia w pokoju wagowym temperatura powietrza powinna być utrzymywana na stałym poziomie nie przekraczającym odchyłań podczas wykonywania pomiarów $\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ w zakresie od 15°C do 30°C , natomiast wilgotność względna powinna być utrzymywana na poziomie około 50%.

Aby procedura pomiarowa przebiegała poprawnie, pipeta wraz końcówkami oraz woda destylowana powinny być poddane procesowi stabilizacji temperaturowej bezpośrednio w pokoju wagowym. Norma odniesienia zaleca, aby czas aklimatyzacji wynosił minimum 2 godziny tak, aby temperatura przyrządu i wody destylowanej zrównała się z temperaturą panującą w pokoju wagowym pokoju wagowego.

W celu realizacji procedury kalibracji pipet warunki środowiskowe panujące w pokoju wagowym powinny być stale monitorowane, ze szczególnym uwzględnieniem temperatury powietrza oraz ciśnienia atmosferycznego, które są niezbędne do wykonania obliczeń oraz wilgotności i temperatury wody destylowanej, stosowanej do pomiarów.

Zgodnie z wymaganiami normy ISO 8655-6 przyrządy powinny spełniać określone w normie wymagania co do niepewności standardowej:

- termometr, ze standardową niepewnością mniejszą lub równą $0,2^{\circ}\text{C}$;
- higrometr, ze standardową niepewnością mniejszą lub równą 10 %;
- barometr, ze standardową niepewnością mniejszą lub równą 0,5 kPa.

Wszystkie podane niepewności są określone dla współczynnika rozszerzenia $k = 1$.

Woda destylowana stosowana do procedury powinna spełniać wymagania klasy 3 lub powinna być przygotowana zgodnie ze specyfikacjami zawartymi w międzynarodowej normie ISO 3696 Woda stosowana w laboratoriach analitycznych – Wymagania i metody badań.

Parowanie

Ważnym aspektem podczas realizacji procedury pomiarowej przy sprawdzaniu pipet tłokowych jest zjawisko parowania cieczy podczas ważenia.

Parowanie jest naturalnym zjawiskiem fizycznym, w którym ciecz zmienia swój stan skupienia na gaz jakim jest para wodna. Proces ten z reguły zachodzi

na powierzchni cieczy. Szybkość procesu parowania zależy od temperatury, wilgotności oraz ciśnienia cząstkowego (parcjalnego), ciśnienia, jakie wywierałby dany składnik mieszaniny gazów, gdyby w tej samej temperaturze sam zajmował taką samą objętość, pary nad cieczą. Gdy ciśnienie pary jest równe ciśnieniu pary nasyconej w danej temperaturze, to parowanie nie zachodzi. Stan też określa się jako równowagę między parowaniem a skraplaniem. Podczas ważenia wody destylowanej zjawisko parowania występuje zawsze.

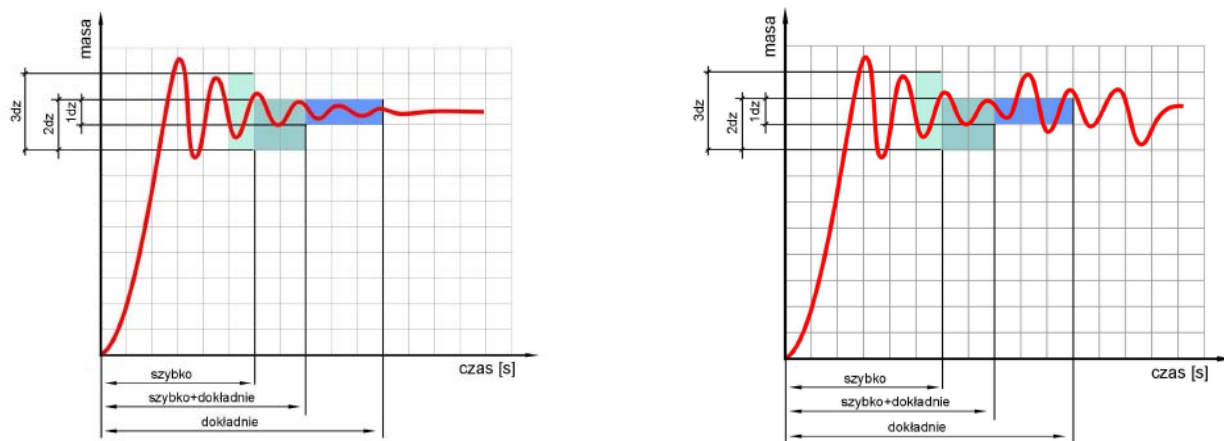
Norma ISO 8655-6 wymaga, aby proces parowania uwzględniać w obliczeniach oraz aby zmniejszyć ryzyko wystąpienia ewentualnych błędów pomiarów. Dla objętości poniżej 50 μl norma wyraźnie wymaga stosowania naczynia wagowego z przykryciem lub innych metod kompensujących niekorzystne zjawisko.

Norma wymaga również aby cykl pomiarów jednej objętości był możliwie jak najkrótszy (zalecany to około 60 sekund) ponieważ szybka i powtarzalna realizacja procedury pomiarowej może również korzystnie wpływać na zmniejszenie błędu pomiaru spowodowanego parowaniem.

W realizacji procedury kalibracji pipet znaczącą rolę ogrywa więc czas stabilizacji, związany z rzeczywistym czasem pomiaru. Na długi czas pomiaru wpływają takie czynniki zewnętrzne jak podmuchy, wibracje, dryfty wywołane temperatura itp. W większości wag, które spełniają wymagania dla kalibracji pipet, użytkownik ma dość duże możliwości w zakresie optymalizacji czasu ważenia względem istniejących warunków pracy, które w określonych przypadkach mogą nieznacznie odbiegać od typowych warunków określonych dla realizacji procedury kalibracji pipet.

Każda waga opuszczająca zakład producenta jest przygotowana do pracy w pewnych domyślnych warunkach. Generalnie przyjmuje się założenie, że warunki te będą zgodne z wymaganiami producenta w zakresie temperatury, wilgotności oraz ewentualnych zakłóceń. Jak pokazuje praktyka, takie założenie nie zawsze jest prawdziwe. Dla większości wag elektronicznych przystosowanie wagi do warunków pracy polega na:

- wyborze innej skali dla procesów filtrowania sygnału /filtr silniejszy lub słabszy/
- wyborze innego kryterium dla określenia, kiedy wynik należy uznać za stabilny.



Rys. 2 Wykres stabilizacji wskazań wagi

Ze względów praktycznych stosowane jest zewnętrznie w postaci filtru szybki, średni, wolny, bardzo wolny dla określenia procesów filtrowania. Natomiast kryterium dla określenia stabilizacji wyniku jest przedstawiane jako: szybko, szybko+dokładnie i dokładnie. Można sformułować generalną zasadę, która brzmi: wraz ze zwiększaniem się zakłócenia należy zwiększać wielkość filtrów

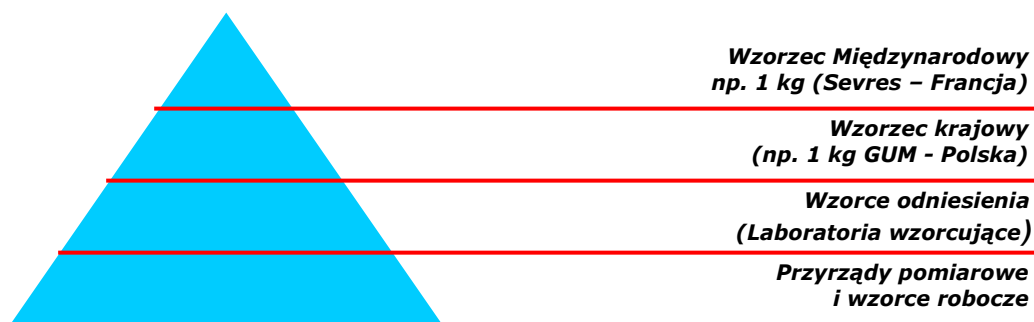
Konsekwencją takiego działania jest wydłużenie czasu pomiaru, ale czasami jest to jedyna możliwość dla osiągnięcia poprawnego wyniku pomiaru. Najlepszym jednak rozwiązaniem przy realizacji procedury kalibracji pięt jest wyeliminowanie źródła generującego zakłócenie.

Spójność pomiarowa przy kalibracji pipet metodą grawimetryczną

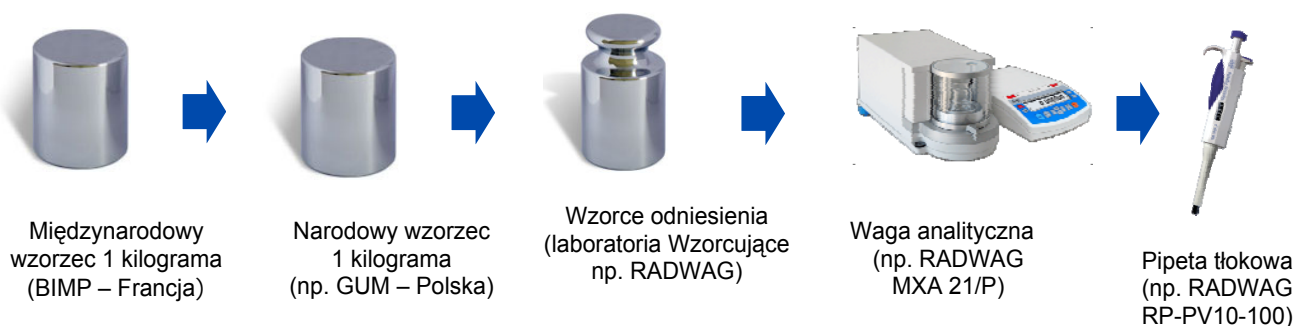
Jednym z najważniejszych elementów związanych z pomiarami i ich wynikami jest zachowanie spójności pomiarowej.

Spójność pomiarowa, jest to właściwość pomiaru lub wzorca jednostki miary polegająca na tym, że można go powiązać z określonymi odniesieniami, na ogół z wzorcami państwowymi lub międzynarodowymi jednostki miary, za pośrednictwem nieprzerwanego łańcucha porównań, z których wszystkie mają określone niepewności.

Zachowanie spójności pomiarowej jest warunkiem jednoznaczności wyników pomiarów, umożliwiającym ich wzajemne porównanie.



Rys. 3 Schemat spójności pomiarowej



Rys. 4 Wizualizacja spójności pomiarowej pipety tłokowej

Dla użytkowników przyrządów pomiarowych i wzorców roboczych najlepszym sposobem zapewnienia spójności pomiarowej jest ich wzorcowanie w akredytowanych laboratoriach wzorcujących oraz sprawdzanie według wewnętrznego harmonogramu wzorcowań i sprawdzeń wyposażenia pomiarowego używając odpowiedniego wyposażenia pomiarowego i wzorców w celu zachowania spójności pomiarowej.

Niepewność pomiaru metody grawimetrycznej

Niepewność pomiaru jest nierozdzielnie związana z procedurami badawczymi lub pomiarowymi obowiązującymi w laboratoriach. Zgodnie z prawami obowiązującymi w przyrodzie, nie ma dokładnych pomiarów, możemy jedynie wyznaczyć przedział, w którym wartość wyniku pomiaru się znajduje. Wielkość przedziału zależy od przyjętego poziomu ufności. Istotną sprawą jest wnikliwa analiza wszystkich składowych niepewności. Źle przeprowadzona analiza budżetu niepewności może doprowadzić do sytuacji, w której może zostać zaakceptowany wynik niezgodny lub może zostać odrzucony wynik zgodny.

Niepewność pomiaru w ostatnich czasach jest wnikliwie analizowana zarówno przez ośrodki badawcze, laboratoria, jak i placówki naukowe.

Według Międzynarodowego Słownika Podstawowych i Ogólnych Terminów Metrologii niepewność pomiaru (uncertainty of measurement) jest to związany z wynikiem pomiaru parametr, charakteryzujący rozrzut wartości, które można w uzasadniony sposób przypisać wielkości mierzonej.

Takim parametrem może być na przykład odchylenie standardowe lub jego wielokrotność – odchylenie standardowe z serii pomiarów jest również niepewnością.

Niepewności pomiaru ze względu na pochodzenie parametrów – możemy podzielić ją na dwa rodzaje: typu A oraz typu B.

Metoda typu A obliczania niepewności standardowej polega na analizie statystycznej serii obserwacji.

Dla niepewności typu A przyjmuje się rozkład normalny, który graficznie przedstawia się za pomocą krzywej Gaussa.

Niepewność typu B wyznaczana jest za pomocą analizy naukowej opartej na wszystkich dostępnych informacjach na temat zmienności wielkości wejściowej. Tymi informacjami mogą być: dane uzyskane z wcześniej przeprowadzonych pomiarów, posiadane doświadczenie, właściwości odpowiednich materiałów i przyrządów pomiarowych. Wykorzystuje się też informacje pochodzące ze specyfikacji producenta oraz niepewności związa-

ne z danymi odniesienia, uzyskane z podręczników, publikacji naukowych lub też innych źródeł. Ważną informacją są oczywiście także dane uzyskane ze świadectw wzorcowania przyrządów pomiarowych, wzorców wielkości fizycznych lub też z innych certyfikatów.

Posiłkując się wspomnianą wcześniej wagą elektroniczną możemy określić dla niej składowe niepewności typu B, którymi są:

- wartość działki elementarnej d ,
 - powtarzalność wagi, której miarą może być odchylenie standardowe wyznaczone wcześniej przez operatora lub podczas wzorcowania,
 - błąd wskazania wagi określony w świadectwie wzorcowania,
 - niepewność wyznaczenia błędu wskazania.
- Oczywiście przy głębszej analizie można się doszukać wielu innych parametrów, jednak w zależności od dokładności pomiaru, mogą one nie mieć wpływu na wartość niepewności.

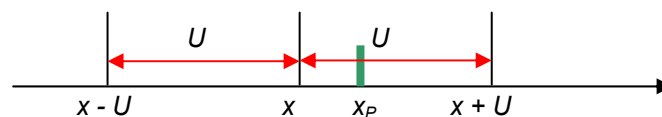
Niepewność złożona

Niepewność złożona – najprościej mówiąc – to połączona niepewność typu A i typu B. W praktyce występują zazwyczaj niepewności złożone, występują jednak pewne przypadki, gdzie cała analiza niepewności sprowadza się do typu B.

Niepewność rozszerzona

Niepewność rozszerzona to wielkość definiująca przedział wartości wokół wyniku pomiaru, który zgodnie z oczekiwaniami może obejmować dużą część rozkładu wartości, które w sposób uzasadniony przypisywane są wielkości mierzonej.

Zgodnie z Międzynarodowym Przewodnikiem Wyrażania Niepewności Pomiaru, do oznaczania niepewności przyjęto literę u , natomiast do oznaczania niepewności rozszerzonej przyjęto literę U . Graficznie niepewność pomiaru przedstawia poniższy rysunek:



Rys. 5 Graficzna interpretacja niepewności pomiaru

gdzie: x – wynik pomiaru

x_P – wartość mierzona

W wyniku pomiaru wielkości x_P otrzymano wynik x . Jak widać, wynik pomiaru nie jest równy wartości mierzonej – w przyrodzie nie ma dokładnych wyników pomiarów. Można jedynie mówić o przedziale, w którym wartość mierzona się znajduje. W zależności od dokładności pomiaru oraz od niepewności z tym pomiarem związanej, przedział

ten może mieć większy lub mniejszy zakres. Jest to zależne między innymi od zastosowanego wyposażenia pomiarowego, warunków środowiskowych podczas pomiarów, operatora, ale i również od poprawnej analizy niepewności pomiaru.

Współczynnik rozszerzenia k jest to liczbowy współczynnik, zastosowany jako mnożnik złożonej niepewności standardowej, w celu otrzymania niepewności rozszerzonej.

Niepewność rozszerzoną opisuje więc zależność:

$$U = k \cdot u(x) \quad (13)$$

gdzie: U – niepewność rozszerzona
 k – współczynnik rozszerzenia
 $u(x)$ – niepewność złożona

Przy kalibracji pipet tłokowych możemy określić dwa źródła niepewności:

- niepewność związana z przyrządem (pipetą)
- niepewność związana z metodą pomiaru (metodą grawimetryczną).

Zgodnie z Międzynarodowym Przewodnikiem Wyrażania Niepewności Pomiaru (GUM), oba źródła niepewności muszą być poddane analizie i wzięte pod uwagę dla oszacowania złożonej niepewności przy wzorcowaniu. Taka ocena może być wymagana zaspokoić jakość protokołu ubezpieczeniowy. W normie ISO 8655-6 możemy doszukać się stwierdzenie, że udział niepewności wynikający z serii pomiarów wykonanych metodą grawimetryczną przy użyciu wyposażenia pomiarowego jest mały w porównaniu do wyników procesu pomiarowego, przy założeniu, że przyrządy użyte do wykonania procedury (waga, barometr, termometr, itp.) są użyte zgodnie ze specyfikacją określoną w normie. Dlatego stanowi to przesłankę do zaniebdania tego udziału w ocenie niepewności, i pozwala uwzględniać wyłącznie systematyczne i przypadkowe błędy pomiaru wynikające z serii dziesięciu powtórzeń pomiaru badanej objętości zapisane dla badanego urządzenia.

Należy podkreślić, że systematyczny błąd pomiaru nie wpływa na ocenę niepewności metody grawimetrycznej. Jest to wynik pomiaru, z uwzględnionym błędem przypadkowym, który charakteryzuje badane pojemności.

Przyjmując powyższe założenia norma ISO 8655-6 podaje uproszczone równanie niepewności, które może być wykorzystane dla oszacowania niepewności pomiaru kalibracji pipet tłokowych przy 95% poziomie ufności:

$$u = |e_s| + 2 \cdot s_r \quad (14)$$

Powodzenie w szacowaniu niepewności pomiaru zależy od wnikliwej i poprawnej analizy całego pro-

cesu pomiarowego. Ważnym jest, aby szacowanie niepewności pomiaru było odpowiednie do jego dokładności, ponieważ nie zawsze wszystkie składowe mogą mieć wpływ na wartość wyniku pomiaru. Dlatego dla bardzo niewielkich pojemności lub bardziej wnikliwej analizy (uzyskania więcej informacji o budżecie niepewności), równanie (12) nie powinno być stosowane. Szczegółowa procedura szacowania niepewności metody grawimetrycznej jest opisana w dokumencie ISO/TR 20461.

Źródła błędów pomiaru podczas sprawdzania pipet

Z analizy wymagań normy ISO 8655-6 jak również wyników przeprowadzonych przez RADWAG badań przedstawionych w rozdziale 2 wynika, że z pomiarami wykonywanymi przy kalibracji pipet tłokowych (jak również z innymi pomiarami) związana jest potencjalna możliwość wystąpienia błędów pomiarów. Badanie przeprowadzone przez Laboratorium Pomiarowe RADWAG miały na celu określenie ognisk występowania potencjalnych zagrożeń oraz określenie ich wpływu na wyniki pomiarów. Źródeł błędów można szukać między innymi w:

- nieodpowiednio zastosowanej wadze,
- nieodpowiednim naczyniu wagowym,
- parowaniu cieczy podczas ważenia,
- nieodpowiednich warunkach środowiskowych w pokoju wagowym lub braku ich ciągłego monitorowania,
- nieodpowiednim stanowisku pomiarowym (wpływ wibracji i podmuchów powietrza),
- nieodpowiedniej cieczy stosowana do kalibracji,
- błędach rachunkowych podczas wykonywania obliczeń,
- źle dobranych końcówkach pipety (inne niż zalecane przez producenta),
- nieodpowiednich warunkach fizjologicznych operatora (np. zbyt niska lub wysoka temperatura ciała operatora podczas wykonywania pomiarów),
- nieergonomicznym stanowisku pracy.

Większość z przedstawionych źródeł błędów zostało przeanalizowanych w niniejszej publikacji. Wnioski z przeprowadzonych badań związanych na przykład z nieodpowiednimi warunkami środowiskowymi w pokoju wagowym oraz braku ich monitorowania, z wibracjami i podmuchami powietrza zakłócającymi pracę wagi, błędami rachunkowymi oraz ergonomią stanowiska zostały przedstawione w rozdziale 3 jako oferta rozwiązań opracowanych przez konstruktorów i laboratoria RADWAG w zakresie sprawdzania pipet.