



## Sprawdzanie i wzorcowanie pipet tłokowych o stałej i zmiennej objętości metodą grawimetryczną

dr Sławomir Janas, Centrum Metrologii Badań i Certyfikacji RADWAG – Laboratorium Badawcze, Toruńska 5, Radom 26-600, RADWAG.com



Analiza i przegląd rozwiązań konstrukcyjnych w kontekście dokładności i ergonomii stosowania

**© Copyright by RADWAG Wagi Elektroniczne**

Radom 2023

Wydanie I

RADWAG Wagi Elektroniczne

26-600 Radom, ul. Toruńska 5

Tel. 48 48 3848800, fax 48 48 3850010

e-mail: [radom@RADWAG.pl](mailto:radom@RADWAG.pl)

<http://www.RADWAG.com>

## Spis treści

1. Wstęp .....	4
2. Rodzaje pipet tłokowych.....	5
3. Wymagania normatywne.....	8
3.1. Wymagania konstrukcyjne dla układu wagowego .....	11
3.2. Precyzja pomiaru masy i objętości układu wagowego .....	17
4. Końcówki pipet tłokowych.....	19
5. Warunki pracy w laboratorium.....	20
6. Pobieranie i dozowanie cieczy .....	21
7. Część badawcza.....	23
7.1. Dobór wagi do procedury.....	23
7.2. Precyzja pomiaru układu automatycznego AP 12.5Y/ AP 12.1.5Y .....	24
7.3. Szybkość pracy układu automatycznego AP 12.5Y .....	26
7.4. Dokładność pomiarów w cyklu automatycznym .....	26
7.5. Kurtyna parowa mikrowag MYA i wag serii XA .....	27
7.6. Kurtyna parowa systemu automatycznego AP 12.5Y.....	28
7.7. Procedura wzorcowania pipet tłokowych .....	29
8. Załącznik 1.....	33
8.1. Zjawiska fizyczne i zasada pomiaru podczas kontroli pipet tłokowych.....	33
8.2. Załącznik 2 – maksymalne dopuszczalne błędy pipet tłokowych.....	36
8.3. Załącznik 3 – wartości wskaźników korygujących Z dla wody destylowanej.....	39
9. Spis rysunków .....	40
10. Spis tabel.....	40
11. Literatura.....	41

## 1. Wstęp

Płyny od zawsze były przedmiotem badań naukowych i laboratoryjnych a jak wiemy, ilość płynów w czasie badania jest kluczowa dla dokładności wykonywanej analizy. Początkowo do przenoszenia objętości wykorzystywano pipety, poprzez które badacz zaciągał ustami pewną ilość substancji. Wydaje się, że obecnie jest to już przeszłość, gdyż ta metoda była po prostu niebezpieczna – materiały wciągane do pipety przez operatora mogły dostać się do jego ust. Badacze byli więc narażeni na absorpcję niebezpiecznych środków chemicznych, organizmy zakaźne lub materiały radioaktywne. Pierwszy odnotowany przypadek przypadkowej infekcji spowodowanej pipetowaniem ustami pochodzi z 1893 r. (raport Dark Daily), „kiedy lekarz przypadkowo wciągnął do ust hodowlę prątków duru brzuszego”. W roku 1915 stwierdzono 47 podobnych przypadków w 57 sprawdzonych laboratoriach. Jak widać, problem bezpieczeństwa podczas pipetowania był istotny.



Rysunek 1. Dr. Adah Elizabeth Verder mouth pipetting.

Źródło: <https://www.flickr.com/photos/nihgov/38455898272>

Bezpieczeństwo podczas badań było i jest jednym z ważniejszych aspektów. Z tego powodu obecnie metoda pipetowania ustami jest w niektórych krajach zabroniona (np. w USA), a w pozostałych częściach świata – coraz rzadziej wykorzystywana. Zastosowanie mają mechaniczne lub elektroniczne przyrządy, takie jak pipety, biurety czy dilutory, które trwale wyeliminowały ryzyko związane z absorpcją czynników szkodliwych przez użytkownika. Obecnie, tak jak wcześniej, pomiary objętościowe i przenoszenie objętości odgrywa kluczową rolę w laboratorium. Z jednej strony, oczekuje się dokładności, co wpływa na przebieg dalszego procesu; tu istotne są zrozumienie aspektów metrologicznych i dobra praktyka pipetowania.

Z drugiej strony, dokładność pipetowania to także aspekt ekonomiczny, gdyż niektóre substancje są kosztowne, i bezpieczeństwo, bo jak wiemy, lek od trucizny różni się tylko wielkością dawki. Ciągłe rosną oczekiwania i wymagania laboratoriów w zakresie ergonomii i dokładności analiz, a odpowiedzią na te potrzeby są ergonomiczne pipety o stałej i zmiennej objętości, jakie oferuje firma RADWAG. Ich zastosowanie umożliwia szybką i wydajną pracę przy najwyższym stopniu bezpieczeństwa, dokładności i precyzji.



Rysunek 2. Pipety tłokowe RADWAG o zmiennej objętości.

Pipety te reprezentują nową linię produktów z serii „liquid handling”, przeznaczonych do szybkiego odmierzenia i przenoszenia niewielkich objętości cieczy. Charakteryzują się wysoką dokładnością dozowania oraz ergonomiczną i solidną budową. Mechanizm pipety zapewnia wyjątkową dokładność i powtarzalność przy zmniejszonej wymaganej sile nacisku. Główne cechy tej serii pipet to:

- duży i czytelny wskaźnik objętości, który jest w pełni widoczny podczas pipetowania,
- innowacyjny miękki uchwyt zabezpieczający przed transferem ciepła do wnętrza pipety,
- prosty mechanizm zmiany objętości „by click”,
- możliwość autoklawowania całej pipety,
- odporność na działanie promieniowania ultrafioletowego UV,
- kompatybilność z większością końcówek dostępnych na rynku.

## 2. Rodzaje pipet tłokowych

Zasada działania pipety tłokowej jest zawsze taka sama niezależnie od jej konstrukcji – nacisk ręczny lub automatyczny na tłok wypycha ciecz z otworu pipety w celu dozowania. Pipety o stałej objętości pozwalają na dozowanie tylko określonej dozy cieczy bez możliwości regulacji jej ilości. Jednak w przypadku występowania nadmiernego błędu systematycznego istnieje możliwość niewielkiej regulacji ilość dozowanej cieczy tak, żeby skompensować błędy pipety wykryte podczas jej wzorcowania.

Z drugiej strony, dzięki tej niewielkiej regulacji możliwe jest doregulowanie pipety do dokładnego dozowania cieczy o właściwościach innych niż woda. Objętość nominalna pipet o zmiennej objętości pokazuje górną granicę zakresu objętości, jaka może być przeniesiona. Poniżej tego zakresu możliwa jest regulacja dozowanej objętości w takim zakresie, w jakim to przewidział producent pipety.

Inny podział pipet dotyczy sposobu pobierania cieczy do wnętrza pipety. Możliwe jest zassanie dozy cieczy w taki sposób, że ciecz jest odseparowana od tłoka pipety (jest to pipeta typu A) poprzez tzw. „poduszkę powietrzną”, której objętość można nazwać strefą martwą powietrza pipety. W takim rozwiązaniu ryzyko zanieczyszczenia przenoszonej objętości jest mniejsze, ale niestety dla dozowania małych objętości uzyskuje się mniejszą dokładność ze względu na ściśliwość strefy martwej powietrza. Celem ograniczenia niekorzystnych efektów, jakie może generować strefa martwa powietrza, stosowany jest dwustopniowy ruch tłoka pipety. W pierwszym cyklu ruchu tłoka usuwana jest ciecz zgromadzona w końcówce pipety, a podczas drugiego ruchu tłoka wydmuchiwane jest powietrze wraz z pozostałościami cieczy, jakie mogą znajdować się jeszcze w końcówce.



Rysunek 3. Kontrola pipet tłokowych – stanowisko pomiarowe wag serii XA i mikrowag MYA.

W pipecie typu D zassana ciecz ma bezpośredni kontakt z tłokiem pipety, poprzez co ogranicza się problem niedokładności wynikający z istnienia „poduszki” powietrznej. To rozwiązanie jest dedykowane dla aplikacji, w których przenoszona objętość cieczy jest dość mała, np.  $V < 10 \mu\text{l}$ .

Rozwinięciem pipet jednokanałowych są pipety wielokanałowe, które pozwalają na jednoczesne dozowanie równych objętości przez wiele końcówek. Taki tryb pracy jest koniecznością dla wielu laboratoriów biochemicznych i patologicznych, a zastosowanie pipety wielokanałowej zwiększa możliwości badawcze i znacznie przyspiesza analizę próbek. Rozwój pipet jest na tyle dynamiczny, że obecnie dostępna jest szeroka gama ergonomicznych pipet. Ich główną cechą jest łatwość użycia przy jak najmniejszym obciążeniu operatora.

Poza pipetami obsługiwanymi ręcznie dostępne są pipety półautomatyczne sterowane elektronicznie. Ich główną zaletą jest eliminowanie tzw. czynnika ludzkiego podczas pobierania i wydalenia cieczy, co prowadzi do zmniejszenia błędów wynikających z nierównomiernego zasysania i podawania cieczy. Niezależnie od konstrukcji pipety jej zasada działania pozostaje niezmienna, a co za tym idzie, procedura kontroli jest taka sama. Mianowicie wymaga ona zmierzenia masy dozowanej przez pipetę cieczy, co przy znanej gęstości cieczy pozwala na wyznaczenie objętości cieczy, która jest równa objętości pipety.

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

gdzie: V objętość cieczy wydalonej z pipety (cm<sup>3</sup>)  
m masa cieczy (g)  
ρ gęstość cieczy (g/cm<sup>3</sup>)



Rysunek 4. Pipety tłokowe produkcji RADWAG.

### 3. Wymagania normatywne

Wymagania normatywne dla pipet tłokowych zawierają normy serii ISO 8655 – Tłokowe przyrządy do pomiaru objętości. Terminologia jest przedstawiona w części 1 normy, a konstrukcja i wymagania dotyczące właściwości metrologicznych pipet są podane w części drugiej, tj. ISO 8655-2 „Pipety”. Część nr 6 normy ISO 8655 opisuje referencyjną procedurę pomiaru grawimetrycznego stosowanego do wyznaczania i weryfikowania objętości pipet tłokowych.

Metoda ta może być wykorzystywana w ramach nadzoru nad wyposażeniem pomiarowym. Należy tu zauważyć, że konieczność nadzoru nad wyposażeniem pomiarowym, jakim jest pipeta tłokowa, wynika z wymagań normy ISO 17025:2018-02 „Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących – pkt. 6.4 Wyposażenie” i z wymagań normy PN-EN ISO 9001:2015-10 „Systemy zarządzania jakością – pkt. 7.1.5.2 Spójność pomiarowa”.

Niezależnie od wymagań normatywnych w ramach tzw. cyklu życia przyrządu pomiarowego, należy go okresowo sprawdzać i weryfikować jego dokładność przy zachowaniu spójności pomiarowej. Ocena działania pipety dotyczy głównie jej właściwości metrologicznych, takich jak poprawność i precyzja pomiarów, ale może się rozciągać na inne obszary, takie jak ergonomia, ekonomia stosowania itd. Przykładowy cykl życia przyrządu pomiarowego przedstawiono na rysunku 5.



Rysunek 5. Cykl życia pipety tłokowej.

Norma ISO 8655 poza wymaganiami konstrukcyjnymi podaje także wartości dla błędów granicznych dopuszczalnych, jakie może wykazywać pipeta tłokowa. Te normatywy stanowią wytyczne głównie dla producentów pipet tłokowych, ale także są stosowane jako kryteria akceptacji dla użytkowników pipet tłokowych. Podobnie jak dla wielu przyrządów pomiarowych, również dla pipet tłokowych określono dwa rodzaje błędów:

- błąd systematyczny  $e_s$
- błąd przypadkowy CV.



BŁĄD SYSTEMATYCZNY to różnica między średnią wartością objętości pipety, jaką wyznaczono z serii co najmniej 10 pomiarów, a wartością nominalną objętości, jaka podlegała badaniu. Z metrologicznego punktu widzenia parametr ten nosi nazwę „poprawność”. Sposób jego kalkulacji zawierają równania: 2 i 2-1.

$$e_s = \bar{V} - V_s \quad (2)$$

$$\eta_s = 100\% \cdot \frac{\bar{V} - V_s}{V_s} \quad (2-1)$$

gdzie:  $e_s$  błąd systematyczny pomiaru wyrażony w jednostkach objętości

$V_s$  wybrana objętość testowa pipety tłokowej

$\eta_s$  względny błąd systematyczny pomiaru wyrażony w procentach

Średnia objętość dozy cieczy, jaka jest wydalana z pipety w kolejnych cyklach badawczych, jest określana z wykorzystaniem zależności 3.

$$\bar{V} = \frac{\sum_{i=1}^n V_{i,ref}}{n} \quad (3)$$

gdzie:  $\bar{V}$  średnia podawana objętość

$V_{i,ref}$  każda podawana objętość znamionowa

$n$  liczba powtórzeń



Rysunek 6. Kontrola pipety tłokowej o objętości 200  $\mu$ l.

Miarą BŁĘDU PRZYPADKOWEGO, jaki występuje w serii pomiarów, jest odchylenie standardowe  $s_r$ , gdy błąd ten jest wyrażany w jednostkach objętości, lub współczynnik zmienności  $C_v$ , gdy wartość tego błędu podaje się w procentach.

$$s_r = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (V_i - \bar{V})^2}{n - 1}} \quad (4)$$

$$C_v = 100\% \cdot \left(\frac{s_r}{\bar{V}}\right) \quad (4-1)$$

gdzie:  $s_r$  odchylenie standardowe wyrażone w jednostkach objętości

W procesie badania pipet tłokowych metodą grawimetryczną jest zawsze rejestrowana masa wydalonej cieczy. W związku z tym należy dokonać konwersji wyników ważenia na objętość. W tym celu należy wybrać jedną z dwu metod. W pierwszej metodzie należy wykorzystać ogólny wzór (5) pozwalający wyliczyć objętość cieczy z uwzględnieniem takich czynników jak:

- efekt parowania cieczy w cyklu,
- gęstość powietrza atmosferycznego,
- gęstość wzorca masy,
- gęstość wody,
- współczynnik rozszerzalności cieplnej pipety,
- temperatura badania

$$V_{i,ref} = (m_L - m_E + m_{evap}) \times \frac{1}{\rho_w - \rho_a} \times \left(1 - \frac{\rho_a}{\rho_b}\right) \times [1 - \gamma(t_w - t_{ref})] \quad (5)$$

gdzie:  $V_{i,ref}$  obliczona objętość cieczy w temperaturze znamionowej w ml  
 $m_L$  wskazanie wagi dla naczynka wagowego po podaniu cieczy w g  
 $m_E$  wskazanie wagi dla naczynka wagowego przed podaniem cieczy w g ( $m_{mi} = 0$  w przypadku tarowania wagi naczynkiem wagowym)  
 $m_{evap}$  szacunkowa masa odparowana w cyklu testowym w g  
 $\rho_A$  gęstość powietrza w g/ml podczas badania  
 $\rho_B$  gęstość wzorca masy (8 g/ml)  
 $\rho_w$  gęstość wody w temperaturze badania (w °C) w g/ml  
 $\gamma$  połączony współczynnik rozszerzalności cieplnej objętościowej pipety (°C<sup>-1</sup>)  
 $t_w$  temperatura pipety – przyjmuje się, że jest równa temperaturze cieczy testowej w °C  
 $t_{ref}$  temperatura znamionowa pipety (20°C lub 27°C)

Metoda druga jest prostsza, gdyż wszystkie w/w czynniki zostały uwzględnione w tzw. wskaźniku korygującym  $Z$  (równanie 6). Konwersja masy cieczy do objętości polega na zastosowaniu odpowiedniej wartości wskaźnika, którego wartość już uwzględnia gęstość wody, ciśnienia atmosferycznego i temperatury, w jakim jest prowadzone badanie. Wartości współczynnika  $Z$  są podane tabelarycznie w załączniku A normy 8655-6 i załączniku 1 tego dokumentu.

$$V_i = m_i \times Z \quad (6)$$

$$V_{i,ref} = m_i \times Z \times [1 - \gamma(t_w - t_{ref})] \quad (6-1)$$

gdzie:  $\gamma$  połączony współczynnik rozszerzalności cieplnej objętościowej pipety

$t_w$  temperatura pipety (zazwyczaj równa temperaturze cieczy)

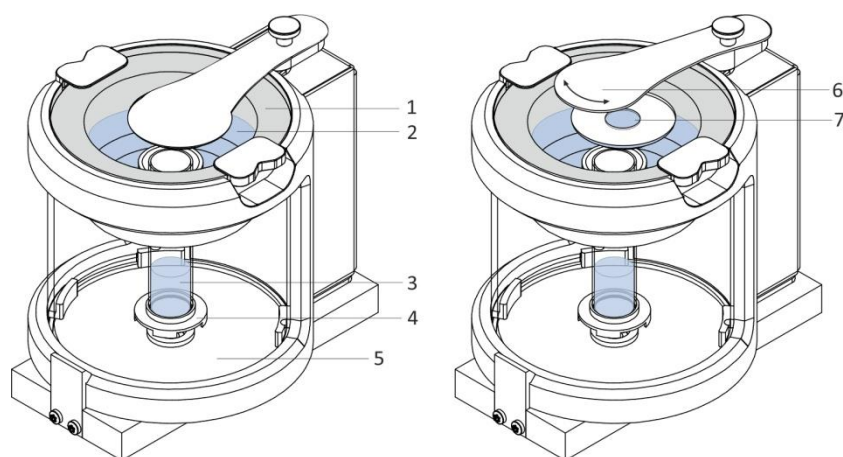
$t_{ref}$  temperatura znamionowa pipety (20°C lub 27°C)

Zależność 6-1 może być wykorzystywana, gdy znana jest wartość współczynnika rozszerzalności cieplnej pipety.

Dokładny opis zależności fizycznych, jakie występują podczas pipetowania przedstawiono w załączniku 1 tej publikacji. Są to rozważania naukowe, których efekt został wykorzystany częściowo w normie ISO 8655. Zrozumienie tych zjawisk może być pomocne podczas oceny jakości sprawdzanych pipet tłokowych i wskazania obszarów o potencjalnie największym poziomie ryzyka.

### 3.1. Wymagania konstrukcyjne dla układu wagowego

Wagi wykorzystywane podczas sprawdzania i wzorcowania pipet mają nieco inną konstrukcję względem tradycyjnych wag, ponieważ konstrukcja ta musi uwzględniać specyficzne cechy realizowanego procesu. Istota pomiaru objętości cieczy, jaka jest wydalana z pipety, polega na szybkim pomiarze masy cieczy w stabilnych warunkach temperatury przy zwiększonym poziomie wilgotności względnej otoczenia. Jak wiadomo, precyzja pomiaru masy jest zależna od wielu czynników środowiskowych, ale także od czasu trwania cyklu pomiarowego, który powinien być w tym przypadku możliwie krótki. Z tego względu optymalizacja konstrukcji wagi dotyczy wielkości szalki, wielkości naczynia, do którego jest wydalana woda, i zapewnienia takiego środowiska, przy którym efekt parowania ważonej cieczy jest zminimalizowany. Przykład takiej konstrukcji pokazano na rysunku 7.



Rysunek 7. Automatyczna komora dla procesu pipetowania z wykorzystaniem wag serii XA.

W miejsce typowej szalki, jaką posiada waga, zainstalowano specjalną przystawkę (5) z szalką (4) dopasowaną rozmiarem do naczynia (3), do którego jest wydalana ciecz z pipety. W górnej części przystawki znajduje się tzw. kurtyna parowa (1) wypełniona wodą (2). Na wierzchu kurtyny parowej jest szczelna szklana osłona, dzięki czemu wilgotność wewnątrz kurtyny parowej utrzymuje się na poziomie ok. 90%. Takie rozwiązanie eliminuje w znacznym stopniu efekt parowania cieczy, która znajduje się w naczyniu (3).

W momencie dozowania cieczy następuje automatyczny ruch osłony (6), co powoduje odsłonięcie otworu iniekcyjnego – ciecz z pipety może być dozowana do wnętrza naczynia wagowego (3). Po przeniesieniu cieczy z pipety do naczynia następuje automatyczne zamknięcie otworu iniekcyjnego, co pozwala wykonać dokładny pomiar masy. Zainstalowaną przystawkę wewnątrz wagi serii XA 5Y pokazano na rysunku 8.



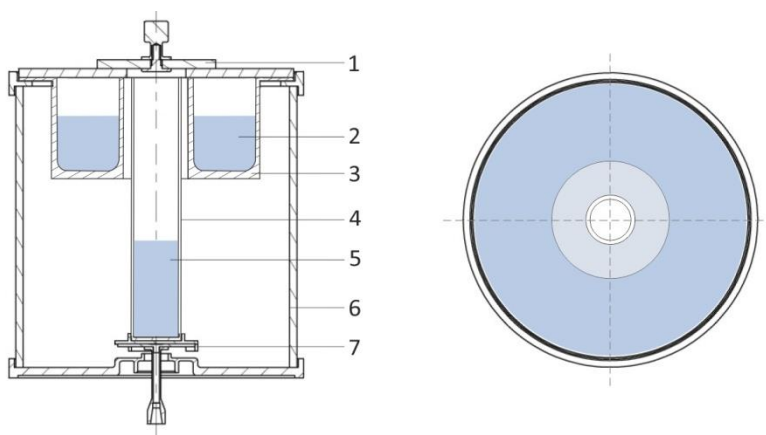
Rysunek 8. Waga XA – manualny system dla kontroli objętości pipet tłokowych.

Zastosowanie kurtyny parowej w układzie wagowym do pipetowania jest zgodne z zaleceniami, jakie podaje norma ISO 8655-6 w kontekście efektu parowania cieczy – patrz pkt. 9.1 ISO 8655-6. Szyby komory ważenia wagi można w prosty sposób bez użycia narzędzi zdemontować, dzięki czemu uzyskuje się bezpośredni dostęp do naczynia wagowego z każdej strony.

W przypadku innych wag zastosowano prostsze rozwiązanie, w którym na osłonie kurtyny parowej znajduje się szklana osłona. W czasie cyklu pomiarowego należy ją przesuwać ręcznie, co jednak nie stanowi problemu do personelu. Takie rozwiązanie jest powszechnie stosowane, gdy kontrola jednokanałowych pipet tłokowych jest wykonywana z wykorzystaniem mikrowag serii MYA – przykład takiego rozwiązania pokazano na rysunkach: 9 i 10.



Rysunek 9. Kontrola objętości pipet tłokowych z wykorzystaniem mikrowag serii MYA.



Rysunek 10. Szkic kurtyny parowej mikrowag serii MYA i wag analitycznych serii XA.

Legenda	1 – osłona otworu iniekcyjnego	2 – woda kurtyny parowej
	3 – kurtyna parowa	4 – naczynie wagowe do wydalania wody z pipety
	5 – doza wody	6 – przystawka do kalibracji pipet
	7 – szalka wagi	

Istotnym czynnikiem w procesie pipetowania jest ergonomia pracy, która musi zapewniać użytkownikowi taki zestaw przyrządów pomiarowych oraz taką konstrukcję systemu pomiarowego, dzięki którym możliwe jest realizowanie szybkich, dokładnych i cyklicznych cykli badawczych. Należy także wspomnieć o laborancie, który powinien mieć zapewniony komfort pracy przy możliwie niewielkim obciążeniu fizycznym. Jest to jeden z istotnych czynników mający realny wpływ na wielkość błędu przypadkowego, jaki występuje w każdym cyklu pipetowania.

Znaczny poziom ergonomii pracy jest zapewniony przy zastosowaniu tzw. stanowiska do kalibracji pipet (rys. 11). Jest to zintegrowane miejsce pracy wyposażone w czujniki temperatury, wilgotności, ciśnienia, program komputerowy i wagę (wagi), co pozwala na szybką i dokładną ocenę każdej pipety, niezależnie od wielkości badanej objętości.



Rysunek 11. Stanowisko do sprawdzania i wzorcowania pipet tłokowych.

Powyższe rozwiązania konstrukcyjne są dedykowane dla pipet jednokanałowych, niezależnie od ich typu i konstrukcji. Sprawdzanie pipet wielokanałowych jest wprawdzie możliwe nawet dla tych konstrukcji, na co wskazuje pkt. 8.4.b normy ISO 8655, ale jest to proces mało efektywny, długotrwały i nieekonomiczny.

Podczas kontroli pipet wielokanałowych stosuje się systemy automatyczne które umożliwiają jednoczesne dozowanie cieczy z każdego kanału do dedykowanych kontenerów. W cyklu pomiarowym następuje automatyczne tarowanie, a następnie ważenie każdego kontenera pustego lub z porcją cieczy. Masa netto cieczy dla każdego kanału jest kalkulowana jako różnica masy kontenera przed dozowaniem cieczy i po wydaleniu porcji cieczy z każdego kanału pipety do wnętrza kontenera. Takie rozwiązanie skraca czas badania pipety wielokanałowej co najmniej kilkukrotnie. System pomiarowy stosowany do kontroli pipet wielokanałowych pokazano na rysunku 12 i 13.

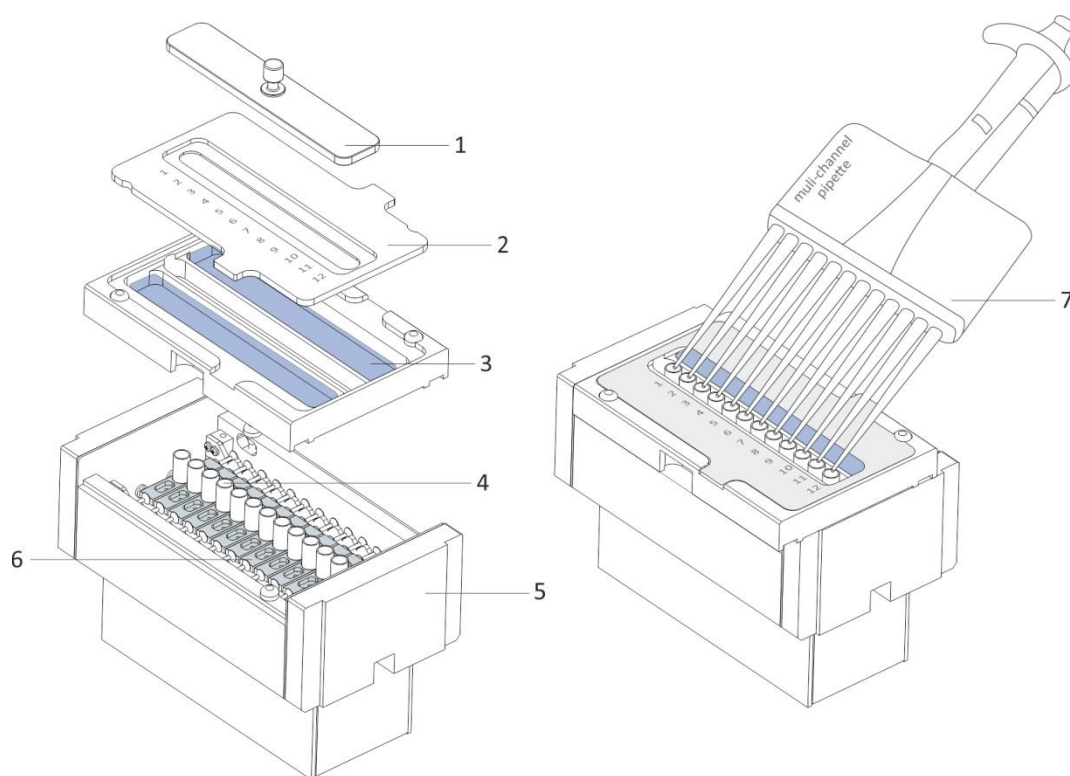


Rysunek 12. System automatyczny AP 12.5Y dedykowany do badania pipet wielokanałowych.

Wprowadzenie automatyzacji do procesu sprawdzania i wzorcowania pipet tłokowych daje dodatkowe korzyści, zwłaszcza podczas oceny dokładności działania urządzenia (kwalifikacja operacyjna). W układzie manualnym każdy test wymaga pracy operatora, który za pomocą wzorców masy musi ustalić relacje między wskazaniem wagi a wartością wzorca – jest to błąd systematyczny wagi. Natomiast poprzez obserwację rozproszenia wyników w serii pomiarów możliwe jest oszacowanie wartości błędu losowego dla wagi. Należy zauważyć, że obydwie testy wykonywane są za pomocą wzorców masy, a kontrola objętości pipety dotyczy pomiaru masy wody. Przyjmuje się jednakże, że nie zachodzą istotne różnice metrologiczne między tymi pomiarami, wzorec masy – woda.

W układzie automatycznym wyznaczenie wartości błędu systematycznego dla wagi również wymaga zastosowania wzorców masy, ale ocena błędu losowego może być zrealizowana w cyklu automatycznym.

Precyzję pomiarów masy można wyznaczyć przy zastosowaniu funkcji Autotest, która jest dostępna dla użytkownika. Zasada działania tej funkcji polega na cyklicznym przemieszczaniu każdego z kontenerów (pojemników na wodę) z miejsca bazowego ma stanowisko pomiaru masy. Liczbę tych cykli pomiarowych można określić poprzez to, co po zakończeniu procedury AP 12.5Y eksponuje wartości odchylenia standardowego dla każdego kontenera. Jest to miara precyzji, z jaką będzie ważona woda wydalana z pipety wielokanałowej podczas rzeczywistych pomiarów – weryfikacja, proces wzorcowania. Taki test należy wykonać w ramach kwalifikacji operacyjnej urządzenia (tj. AP 12.5Y) bez udziału wody. Wprowadzenie nawet niewielkiej ilości wody do wnętrza kontenera powoduje efekt parowania cieczy, który zniekształca wynik badania, którego celem jest sprawdzenie precyzji ważenia automatycznego. Jest to bardziej realistyczne podejście do oceny precyzji, która jest jednym z bardziej istotnych parametrów metrologicznych każdego urządzenia. Oczywiście możliwe są modyfikacje tej metody badawczej, na przykład w kierunku oceny skuteczności kurtyny parowej. Schemat głównych elementów układu automatycznego AP 12.5Y pokazano na rysunku 13.



Rysunek 13. Schemat budowy i zasada układu automatycznego AP 12.5Y.

- Legenda:
- 1 – osłona toru pomiarowego
  - 2 – osłona kurtyny parowej
  - 3 – kurtyna parowa
  - 4 – otwór iniekcyjny kontenera
  - 5 – transporter kontenerów
  - 6 – kontener na wydalana ciecz
  - 7 – pipeta wielokanałowa



Kluczowym elementem mającym wpływ na precyzję badania jest stabilność wagi zainstalowanej w układzie AP 12.5Y. Typowo jest to układ mikrowagi o obciążeniu maksymalnym 52 g z działką elementarną  $d = 0,01$  mg. W drugiej wersji układ pomiarowy ma obciążenie maksymalne 21 g i działkę elementarną  $d = 0,001$  mg. To rozwiązanie zostało wyposażone dodatkowo w zewnętrzną osłonę toru pomiarowego, co izoluje proces ważenia od negatywnych czynników zewnętrznych – głównie ruchu powietrza.

Praca układu jezdnego transportera kontenerów w każdym modelu została zoptymalizowana, co zapewnia szybkość i dużą precyzję podczas badania. Wszystkie pomiary są gromadzone w bazie danych układu automatycznego AP 12.5Y, a po zakończeniu generowany jest raport z badania pipety. Inne rozwiązanie to bezpośredni transfer każdego pomiaru masy dozy cieczy do zewnętrznej aplikacji klienta, gdzie informacja ta podlega weryfikacji. Przesłanie wyniku ważenia jest możliwe poprzez kabel (RS 232, Ethernet) lub zdalnie poprzez Wi-Fi, FreeLink.

### 3.2. Precyzja pomiaru masy i objętości układu wagowego

W przypadku pomiaru masy małych wielkości\* (ciecz, ciało stałe) jedynym istotnym parametrem mającym wpływ na jakość/ dokładność prowadzonej analizy jest precyzja pomiaru. Precyzja zazwyczaj jest wyrażana poprzez miary nieprecyzyjności pokazujące, jak duże jest rozproszenie pomiarów w serii. Najczęściej jest to odchylenie standardowe, które jest najważniejszym parametrem metrologicznym podczas kontroli i wzorcowania pipet tłokowych. Należy zauważyć, że średnia wartość objętości pipety wykorzystywana do oceny błędu systematycznego (równanie 2) może mieć taką samą wartość dla serii pomiarów o małym rozproszeniu jak dla serii, w której wyniki są skrajnie rozproszone. Z tego powodu dla wag stosownych do kontroli pipet tłokowych określono graniczne wartości odchylenia standardowego. Inne czynniki metrologiczne takie jak błąd liniowości, błąd centryczności są nieistotne, choć mogą być uwzględniane w budżecie niepewności. Wymagania odnośnie precyzji pomiaru zależnie od objętości znamionowej pipety podano w tabeli 1.

\*) – mała wielkość masy to wielkość masy mniejsza niż umowny limit, który dla wag elektronicznych jest określany jako 5 % maksymalnego obciążenia wagi ( $m < 5 \% \text{ Max}$ ).

Tabela 1. Minimalna wymagania dotyczące wag

Objętość znamionowa badanego przyrządu (V)	Działka elementarna (d)	Powtarzalność (s) <sup>a</sup>	Niepewność rozszerzona pomiaru $U(k=2)$ <sup>a, b</sup>
	mg	mg	mg
$0,5 \mu\text{l} \leq V < 20 \mu\text{l}$	0,001 <sup>c</sup>	0,006 <sup>c, e</sup>	0,012 <sup>c, e</sup>
	0,1 <sup>d</sup>	0,03 <sup>d</sup>	0,06 <sup>d</sup>
$20 \mu\text{l} \leq V < 200 \mu\text{l}$	0,01	0,025	0,05
$200 \mu\text{l} \leq V \leq 10 \text{ ml}$	0,1	0,2	0,4
$10 \text{ ml} < V \leq 1\,000 \text{ ml}$	1	2	4
$1\,000 \text{ ml} < V \leq 2\,000 \text{ ml}$	10	10	40

a – wartość powtarzalności i zastosowanej niepewności rozszerzonej pomiaru podane w tej tabeli dotyczą wyznaczania objętości dla pipety jednokanałowej. Gdy waga jednokanałowa służy wyłącznie do wyznaczania objętości w pipetach wielokanałowych, wartości powtarzalności i zastosowanej niepewności rozszerzonej pomiaru są dwukrotnie wyższe od wartości podanych w tej tabeli.

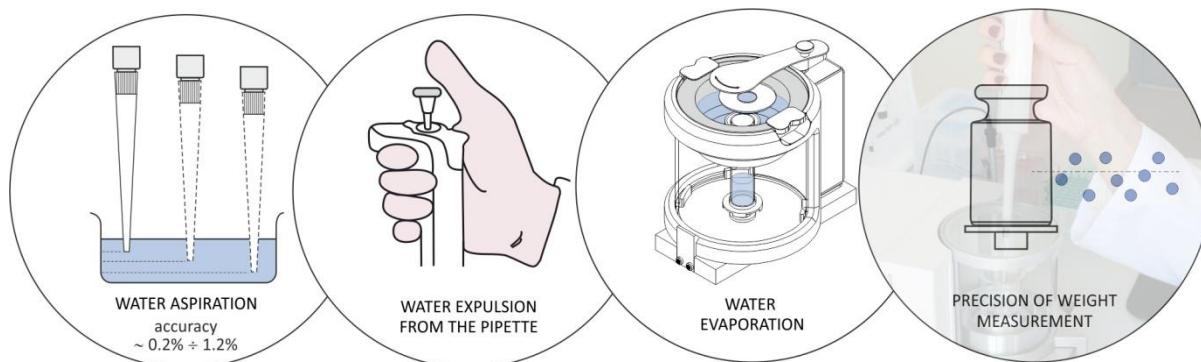
b – zastosowaną niepewność rozszerzoną pomiaru można oszacować na podstawie przewodników EURAMET cg-18, ver. 4.0 lub ASTM E898 dla wartości objętości znamionowej. Zastosowana niepewność rozszerzona pomiaru obejmuje nieskorygowane błędy, jak również możliwy dryft i wpływ otoczenia na czułość wagi. Zastosowana niepewność rozszerzona pomiaru może być zaczerpnięta ze świadectwa wzorcowania wagi lub obliczona oddzielnie.

c – waga jednokanałowa.

d – waga wielokanałowa, tak jak na przykład AP 12.5Y produkcji RADWAG, zastosowanie do badania pipet wielokanałowych. Wagi wielokanałowe z działką elementarną 0,01 mg mogą być używane do prób pipet wielokanałowych o objętościach znamionowych poniżej 20  $\mu\text{l}$  tylko wtedy, gdy niepewność rozszerzona pomiaru jest mniejsza niż jedna czwarta maksymalnego dopuszczalnego błędu systematycznego dla pipety.

e – w przypadku pipet jednokanałowych o objętości znamionowej mniejszej niż 2  $\mu\text{l}$  należy zastosować wagę, której powtarzalność i niepewność rozszerzona jest lepsza niż wartości podane w tabeli. Wymaganie: niepewność rozszerzona powinna być mniejsza niż jedna czwarta maksymalnego dopuszczalnego błędu systematycznego pipety.

Należy zauważyć, że precyzja pomiaru jest stałą cechą każdej wagi – w idealnie stałych warunkach pracy, bez istotnych zakłóceń precyzja ma stałą wartość. Niestety zmienność warunków otoczenia jest faktem jak również to, że pomiar jest zakłócany poprzez pracę operatora (udary, brak powtarzalności w cyklach), efekty sorpcji i desorpcji cieczy itd. Nie należy zapominać, że na precyzję pomiaru masy istotny wpływ ma również precyzja wydalania cieczy z pipety – pipeta to także przyrząd pomiarowy. Potencjalne źródła błędów jakie mogą występować podczas pipetowania pokazano na rysunku 14.

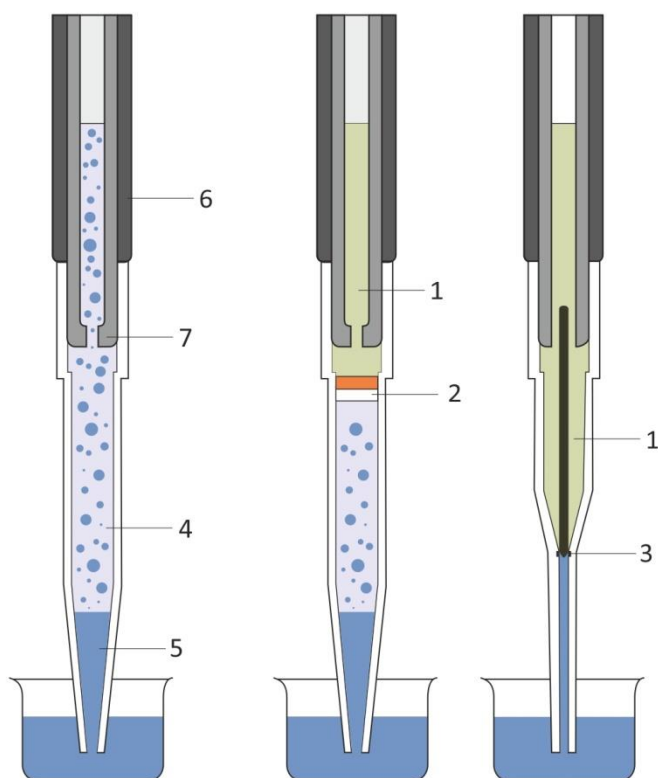


Rysunek 14. Źródła błędów w procesie pipetowania.

#### 4. Końcówki pipet tłokowych

Dobłą praktyką jest stosowanie takiego typu końcówek pipety, jaką zaleca producent. Pozwoli to zminimalizować ryzyko błędów w pomiarach przy zachowaniu pewności, że będą one prawidłowo pasować do pipety i mieć odpowiednią objętość wewnętrzną. Należy zauważyć, że potencjalne zanieczyszczenia może być przenoszone z próbki do pipety, z pipety do próbki lub z próbki do próbki. W pierwszym przypadku ciecz lub jej aerozole są przenoszone do stożka pipety, głównie w efekcie błędu operatora. Transfer zanieczyszczeń z pipety do próbki to głównie efekt pochłaniania aerozoli, na przykład drobnych frakcji cieczy, kurzu gromadzących się w stożku pipety. Zanieczyszczenie może przylgnąć do wewnętrznej powierzchni stożka pipety i być usunięte dopiero podczas kolejnych cykli pipetowania.

Bardziej zaawansowanym rozwiązaniem są końcówki wyposażone w filtry (rys. 15), które są przydatne, gdy używane są materiały radioaktywne, zakaźne lub gdy istnieje ryzyko zanieczyszczenia krzyżowego. To rozwiązanie eliminuje w znacznym stopniu problemy przenoszenia zanieczyszczeń wewnątrz konstrukcji pipety. W innych rozwiązaniach pipety wypornościowe są wyposażone w tłok z uszczelnieniem, który zapobiega przemieszczaniu się zanieczyszczeń do wnętrza pipety.



Rysunek 15. Pobieranie cieczy dla pipet o różnej konstrukcji.

W przypadku pipet wyporowych (typ A) końcówkę pipety, zwykle wykonanej z tworzywa sztucznego, zakłada się na stożek pipety, a po przeniesieniu objętości – usuwa bez podejmowania prób jej czyszczenia. Zastosowanie mają także końcówki pipet wykonane z takich materiałów jak metal, szkło, plastik powlekany teflonem, które można szybko czyścić, na przykład metodami ultradźwiękowymi.

- Legenda
- 1 – obszar bezpieczny
  - 2 – filtr
  - 3 – zabezpieczenie krawędzi tłoka pipety
  - 4 – obszar niezabezpieczony pipety (możliwość przenoszenia zanieczyszczeń)
  - 5 – doza cieczy pobrana do pipety
  - 6 – pipeta
  - 7 – stożek pipety

## 5. Warunki pracy w Laboratorium

Ergonomia pracy w laboratorium powinna być zachowana nawet wtedy, gdy nie przewiduje się wykonywania wielu powtarzalnych testów. Ergonomia to bardzo ogólne sformułowanie, ale pod tym pojęciem należy rozumieć taką lokalizację, konstrukcję, wyposażenie i rozmiar stanowiska pracy, które zapewnia stabilne warunki pracy oraz minimalizuje jednocześnie obciążenie operatora i ryzyko popełnienia błędów (rysunek 14).

Elementem pomiarowym podczas kontroli pipet tłokowych jest waga, więc oczekuje się niezmienniej temperatury otoczenia, stabilnej wilgotności, braku istotnych drgań podłoża i nadmiernego ruchu powietrza. Stabilność temperatury otoczenia jest również istotna dla pipety i końcówek ze względu na efekt rozszerzalności termicznej i transfer ciepła. Należy zauważyć, że zalecana temperatura stabilizacji i badania jako 20°C może być trudna do uzyskania dla wielu laboratoriów. Zastosowanie tradycyjnej klimatyzacji naściennej zawsze powoduje nadmierny ruch powietrza, co zdecydowanie zakłóca pomiar masy. W efekcie badanie pipety może być błędne.



Rysunek 16. Stanowisko do sprawdzania pipet tłokowych o różnych objętościach.

Najlepszym rozwiązaniem jest tzw. klimatyzacja laminarna, w której powietrze jest zaciągane od dołu poprzez układ kilku kratki wentylacyjnych, a następnie transportowane do układu rozpraszającego zainstalowanego zazwyczaj w suficie lub ponad sufitem laboratorium. Wewnątrz instalacji powietrze jest oczyszczane, nawilżane, ogrzewane lub chłodzone.

## 6. Pobieranie i dozowanie cieczy

Pomimo pozornej prostoty proces pipetowania jest dość skomplikowany, gdyż wymaga od operatora takich działań, które dają finalnie płynną i regularną pracę tłoka pipety. Warto pamiętać, że zazwyczaj w trakcie badań wykonuje się serię ok. 10 powtórzeń, a miarą dokładności i precyzji pipety jest wartość średnia lub odchylenie standardowe z serii pomiarów. Należy pamiętać że na metodykę pipetowania składają się także takie elementy jak sposób wyciągania końcówki pipety z naczynia, głębokość zanurzenia końcówki pipety, czas utrzymywania pipety w cieczy itd.

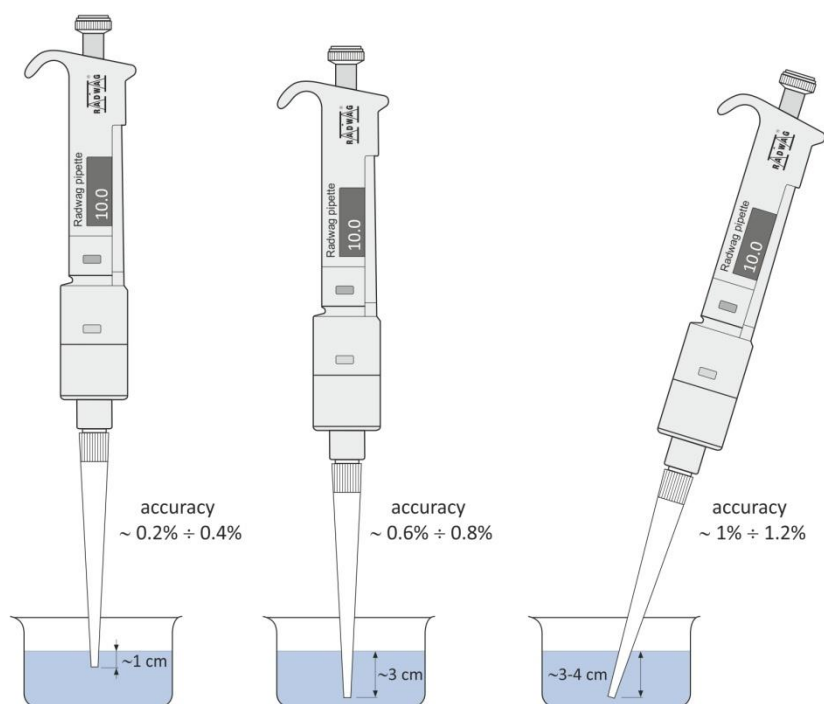
Regułą jest pionowa pozycja pipety podczas zasysania cieczy. Odstępstwa od tego schematu mogą być przyczyną niedokładności ze względu na różne ciśnienie cieczy w końcówce pipety. Istotne znaczenie ma także głębokość zanurzenia końcówki, a wartość ta może być różna w zależności od rozmiaru, typu i marki pipety – należy sprawdzić zalecenia producenta. Gdy takich zaleceń nie wskazano, można stosować ogólne wytyczne podane w tabeli 2.

Tabela 2. Głębokość zanurzenia końcówki pipety zależnie od objętości nominalnej pipety.

Objętość pipety (μl)	Głębokość zanurzenia końcówki pipety (mm)	Czas oczekiwania (sek.)
≤ 1	1 ÷ 2	1
> 1 ÷ 100	2 ÷ 3	1
> 100 ÷ 1 000	2 ÷ 4	1
> 1 000 ÷ 5 000	3 ÷ 5	3

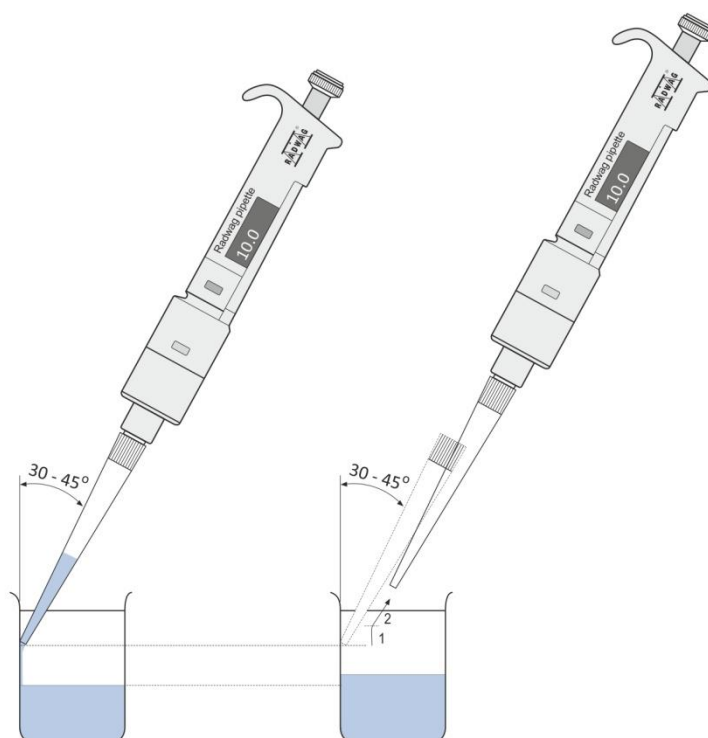
Stwierdzono doświadczalnie, że kilkukrotne wstępne zwilżanie końcówki pipety jest pomocną czynnością dla utrzymania dokładności działania pipety, gdyż ogranicza możliwość zasysania pęcherzyków powietrza. Wstępne zwilżanie dodatkowo stabilizuje strefę martwą objętości powietrza pipety między cieczą a tłokiem pipety. Zwilżanie końcówki pipety jest koniecznością, gdy cieczą przenoszoną jest ciecz hydrofobowa lub ciecz o znacznej lepkości. Jest to szczególnie istotne w przypadku cieczy w wysokim ciśnieniu pary. W przypadku pipet wyporowych o objętości mniejszej niż ok. 10 μl wstępne zwilżanie nie jest konieczne (Blues, Bayliss & Buckley – Measurement Good Practice Guide No. 69. The Calibration and Use of Piston Pipettes).

Po pobraniu cieczy krople przylegające do jej końcówki należy ostrożnie usunąć. Jeżeli obserwowany jest nadal nadmiar cieczy przylegający do zewnętrznej powierzchni końcówki, można ostrożnie go usunąć odpowiednim materiałem i uniknąć przy tym zanieczyszczenia przenoszonej cieczy. Gdy na końcówce pipety tworzą się kolejne krople, może to wskazywać na źle dopasowaną końcówkę lub niestabilność objętości martwego powietrza, szczególnie w przypadku cieczy o dużej prężności pary. Niewłaściwe pobieranie cieczy może być czynnikiem generującym znaczne błędy, co pokazano na rysunku 17.



Rysunek 17. Potencjalne błędy pomiaru przy pobieraniu wody.

Dozowanie cieczy to procedura, podczas której delikatnie dotyka się końcówką pipety ścianki naczynia tuż nad powierzchnią cieczy pod kątem około 30° do 45°, a następnie przejechaniu końcówką pionowo w górę po wewnętrznej ścianie naczynia na wysokość 8–10 mm po zakończeniu dozowania.



Rysunek 18. Metoda wydalania cieczy z pipety.

## 7. Część badawcza

Najważniejszym parametrem metrologicznym każdej wagi wykorzystywanej do kontroli objętości pipet tłokowych jest powtarzalność wskazań, której miarą jest odchylenie standardowe. W przypadku wag dedykowanych dla pipet jednokanałowych ocena precyzji pomiarów dotyczyła procesu w którym szalka wagi cyklicznie jest obciążana tym samym wzorcem masy. Taka metoda oceny precyzji pomiaru nie uwzględnia błędów, jakie może generować operator podczas badania pipety (udary, pęcherze powietrza, kąt pochylenia pipety itd.). Zakłada się tu, że wpływ tzw. błędu ludzkiego można znacząco ograniczyć poprzez szkolenia. Warto wspomnieć, że niepewność rozszerzona wagi jako miara użyteczności/ poprawności dopasowania wagi do objętości badanej pipety zawiera w sobie także inne czynniki jak: dryft wagi, efekt parowania cieczy itd. Część badawcza wag dedykowanych dla pipet jednokanałowych zawiera zatem ocenę ich powtarzalności wskazań (tabela 3) i dynamiki parowania cieczy z naczynia wagowego. Są to dwa czynniki, na które w zasadzie operator nie ma wpływu.

W przypadku systemu automatycznego AP 12.5Y masa dozowanej cieczy jest wyliczana na podstawie różnicy mas kontenera przed iniekcją i po iniekcji. Konsekwencją tego jest podwójny pomiar masy kontenera co z metrologicznego punktu widzenia nie jest korzystne. W pierwszym etapie precyzję określono dla pomiarów masy skupionej jaką była wewnętrzna masa adiustacyjna. Celem tego badania było stwierdzenie tego czy układ pomiarowy działa poprawnie. W drugim etapie sprawdzono precyzję ważenia wszystkich kontenerów. Czynnikiem zmiennym w tym badaniu był dynamiczny ruch układu jezdnego, który nakładał cyklicznie kolejne kontenery i w konsekwencji powodował niewielkie udary. Ostatnim badaniem było określenie wpływu braku kurtyny parowej na pomiar masy – dynamika parowania cieczy z naczynia wagowego.

### 7.1. Dobór wagi do procedury

Dobór wagi do procedury sprawdzania czy też wzorcowania pipety tłokowej w pierwszej kolejności dotyczy powtarzalności wskazań wagi. Jest to wymaganie obligatoryjne, które znalazło potwierdzenie w normie ISO 8655-6, patrz tabela 1. Poza wartością powtarzalności wagi istotna jest także wartość niepewności rozszerzonej, która musi być odniesiona do wartości maksymalnych błędów systematycznych pipety. W tabeli 3 wymagania zawarte w ISO 8655-6 zostały dopasowane do konkretnych typów wag, co stanowi pomocne rozwiązanie dla tych użytkowników, którzy są na etapie projektowania własnego stanowiska pomiarowego.

Tabela 3. Dobór wagi do badanej objętości pipety tłokowej.

	Obciążenie Max.	Działka elementarna	Powtarzalność Odch. Stand.	Objętość pipety
MYA 21.5Y.P <sup>1)</sup>	21 g	d = 1 µg	S = 1,0 µg	1 µl ≤ V ≤ 10 µl 10 µl < V ≤ 100 µl 100 µl < V ≤ 1000 µl 1 ml < V ≤ 10 ml
XA 6/21.5Y.M.A.P <sup>2)</sup>	6/21 g	d = 1/2 µg	S = 1,3 µg	
XA 21.5Y.M.A.P <sup>2)</sup>	21 g	d = 1 µg	S = 1,3 µg	
XA 21/52.5Y.M.A.P <sup>2)</sup>	21/52 g	d = 1/5 µg	S = 1,5 µg	
XA 53.5Y.M.A.P <sup>2,3)</sup>	52 g	d = 1 µg	S = 1,5 µg	
XA 52.5Y.M.A.P <sup>2,3)</sup>	52 g	d = 5 µg	S = 2,2 µg	10 µl < V ≤ 100 µl 100 µl < V ≤ 1000 µl 1 ml < V ≤ 10 ml
XA 82/220.5Y.A <sup>4)</sup>	82/220 g	d = 0,01/0,1 mg	S = 5 µg	
XA 120/250.5Y.A <sup>4)</sup>	120/250 g	d = 0,01/0,1 mg	S = 5 µg	

1) – współpraca z przystawką do kalibracji pipety typu MY 11

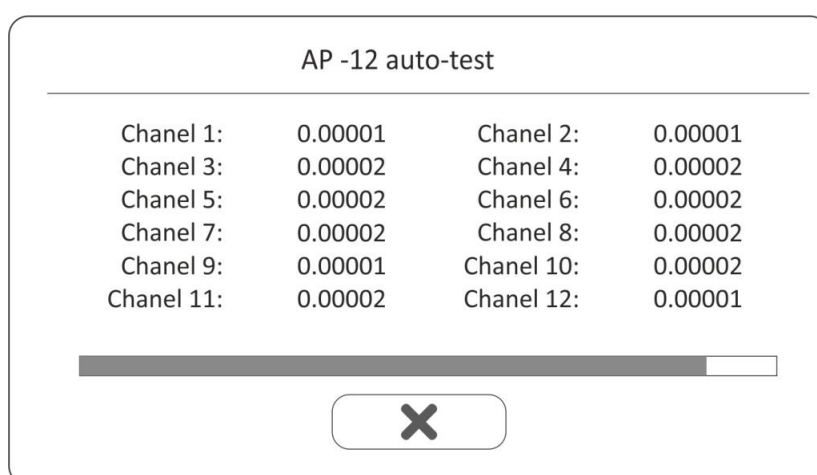
2) – współpraca z przystawką do kalibracji pipety typu XA 11

3) – współpraca z przystawką do kalibracji pipety typu XA 17

4) – współpraca z przystawką do kalibracji pipety typu XA 100

## 7.2. Precyzja pomiaru układu automatycznego AP 12.5Y / AP 12.1.5Y

Precyzję pomiarów dla AP 12.5Y wyznaczono metodą automatyczną, która polegała na cyklicznym ważeniu każdego kontenera umieszczonego na pozycjach od 1 do 12 (funkcja Autotest). Zerowanie wskazania wagi odbywało się tylko przed rozpoczęciem serii pomiarów. Wyniki precyzji pomiarów na rysunku 19.



Rysunek 19. Wyniki z automatycznej procedury kontroli – odchylenie standardowe z serii 10 pomiarów.

Precyzja pomiarów masy kontenerów mierzona w cyklu automatycznym zawiera się w granicach 0,01 mg ÷ 0,02 mg. Jest to zgodne z wymaganiami normy ISO 8655-6.



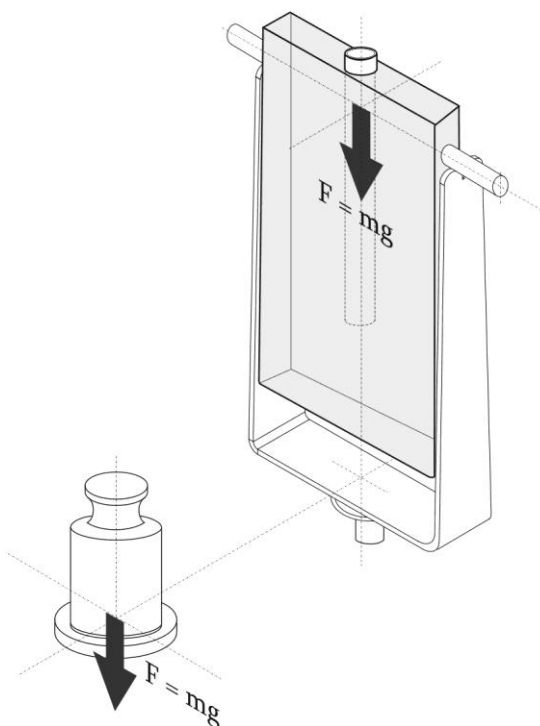
Dla układu automatycznego AP 12.1.5Y z działką elementarną  $d = 1 \mu\text{g}$  precyzję pomiaru masy określono metoda półautomatyczną – kolejne kontenery przesuwano na stanowisko wagowe za pomocą aplikacji serwisowej. W takim trybie wykonano 6 serii pomiarowych. Czas konieczny dla uzyskania pomiaru stabilnego dla pojedynczego ważenia wyniósł ok. 10 sekund.

Tabela 4. Precyzja pomiaru masy AP 12.1.5Y, działka elementarna  $d = 1 \mu\text{g}$ .

Nr kont.	seria 1	seria 2	seria 3	seria 4	seria 5	seria 6	$\bar{x}$	S ( $\mu\text{g}$ )
1	9,229802	9,229802	9,229796	9,229797	9,229800	9,229797	9,229799	2,68
2	9,263251	9,263250	9,263244	9,263248	9,263246	9,263244	9,263247	2,99
3	9,257741	9,257741	9,257736	9,257736	9,257738	9,257736	9,257738	2,45
4	9,256452	9,256449	9,256444	9,256441	9,256446	9,256443	9,256446	4,07
5	9,283330	9,283327	9,283324	9,283321	9,283326	9,283326	9,283326	3,01
6	9,234612	9,234610	9,234608	9,234603	9,234609	9,234608	9,234608	3,01
7	9,230830	9,230823	9,230822	9,230818	9,230822	9,230824	9,230823	3,92
8	9,216691	9,216687	9,216688	9,216682	9,216686	9,216689	9,216687	3,06
9	9,235992	9,235988	9,235987	9,235981	9,235989	9,235987	9,235987	3,61
10	9,197869	9,197863	9,197864	9,197858	9,197865	9,197864	9,197864	3,54
11	9,300828	9,300822	9,300823	9,300821	9,300822	9,300823	9,300823	2,48
12	9,245068	9,245059	9,245062	9,245057	9,245062	9,245061	9,245062	3,73

Precyzja pomiaru masy kontenerów zawiera się w zakresie od  $2,45 \mu\text{g}$  do  $4,07 \mu\text{g}$ . Są to wartości nieco większe niż te, jakie utrzymuje się podczas badań tego samego parametru masą skupioną. Zasadnicza różnica między metodami badania dotyczy punktu zawieszania środka ciężkości badanej masy.

W przypadku wzorca zewnętrznego lub wewnętrznej masy adiustacyjnej środek ciężkości ważonego obiektu znajduje się dość nisko. Ze względu na specyfikę pomiarów środek ciężkości kontenera, do którego jest wydalana ciecz, znajduje się znacznie wyżej. To niekorzystne dla układu sił, jakie występują podczas ważenia (rys. 20).



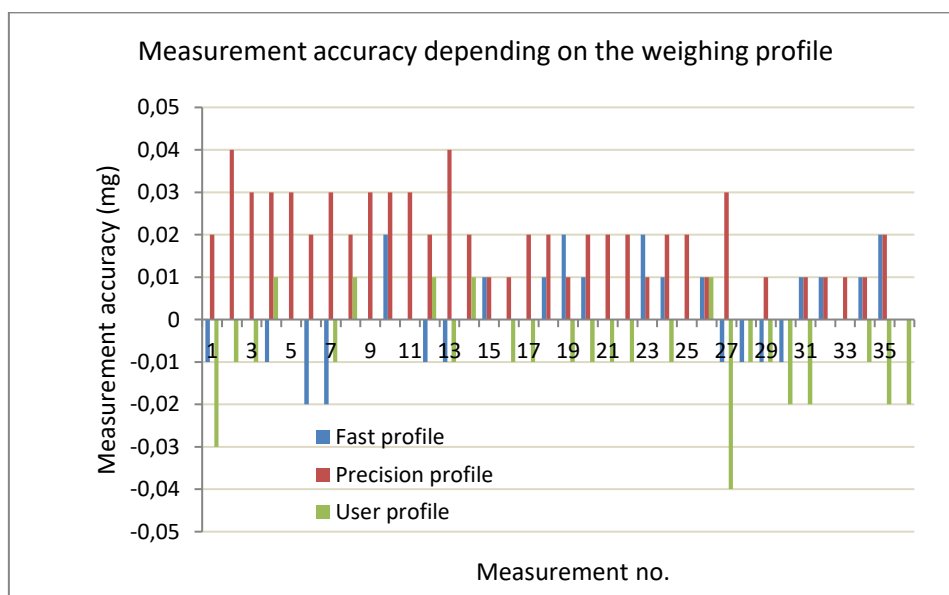
Rysunek 20. Ważenie kontenera

### 7.3. Szybkość pracy układu automatycznego AP 12.5Y

Główną zaletą automatyzacji w każdym obszarze jest wzrost szybkości i wydajności pracy, tak jak w przypadku systemu AP 12.5Y. W tym rozwiązaniu dokonano optymalizacji urządzenia w zakresie mechanicznym, elektronicznym i metrologicznym. Określenie masy dozowanej wody dla pipety 12-kanalowej wymaga przeprowadzenia dokładnych pomiarów masy każdego kontenera (każdej dozy cieczy). W tym celu wykorzystano tzw. mechanizm pracy buforowej, dzięki której uzyskano odpowiednią szybkość pracy przy zachowaniu dokładności pomiaru. Czas pomiaru masy pojedynczego kontenera wynosi ok. 5 sekund, a całkowity czas potrzebny dla określenia masy dozy cieczy pipety 12-kanalowej wynosi ok. 85 sekund. Podczas badania pipety 12-kanalowej zgodnie z wymaganiami normy PN-EN ISO 8655-6:2022 w cyklu 10 pomiarów dla 3 objętości, całkowity czas badania wynosi ok. 50-55 min., po uwzględnieniu konieczności 30 doz wody i obsługi oprogramowania.

### 7.4. Dokładność pomiarów w cyklu automatycznym

Dokładność ważenia podczas pracy automatycznej została sprawdzona poprzez określenie różnicy między masą kontenera, jaka została zarejestrowana podczas tarowania, a masą kontenerów podczas ich ważenia. Przyjęto założenie, że dla idealnie pracującego układu wartość zmierzonej masy kontenera powinna być taka sama lub nieistotnie różna względem wartości tary. W tym badaniu nie zastosowano kurtyny parowej, a kontenery były idealnie suche. Takie podejście było konieczne celem wyeliminowania dryftów wskazania masy, jakie występują wtedy, gdy wewnątrz kontenera znajduje się nawet niewielka ilość wody.

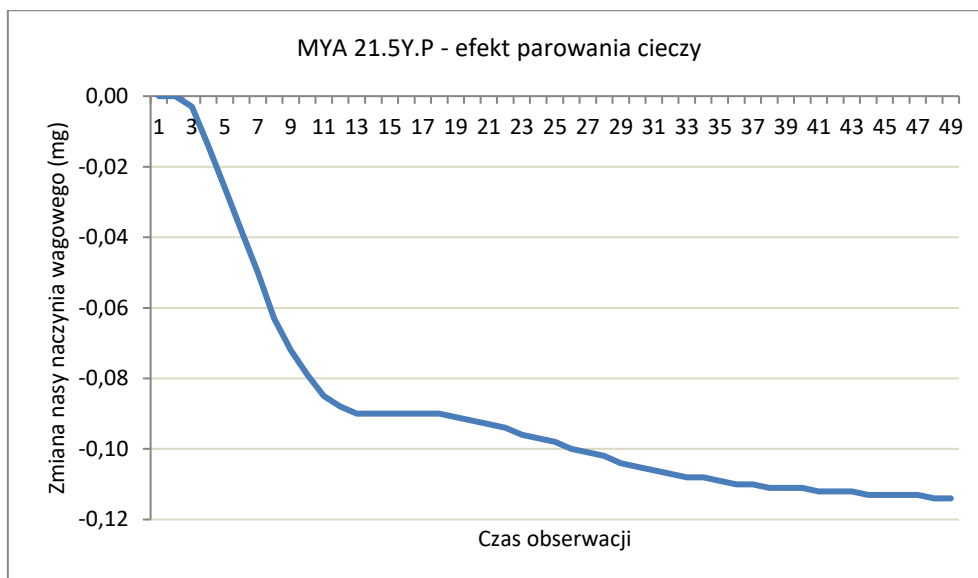


Rysunek 21. Dokładność pomiaru masy kontenerów w cyklu automatycznym.

Niezależnie od wybranego profilu ważenia masa dozowanej cieczy może być z odchyłką nie większą niż 0,02 mg, gdy zastosowany jest profil ważenia Fast i z odchyłką w zakresie 0,02 ÷ 0,03 mg dla profilu User. Nieco gorsze wyniki uzyskuje się dla profilu Precision. Domyślnym profilem podczas kontroli pipet jest profil Fast.

## 7.5. Kurtyna parowa mikrowag MYA i wag serii XA

Pomiary masy próbek, które są podatne na sorpcję lub desorpcję wilgoci, zawsze stanowią pewne wyzwanie, ponieważ dość trudno jest opracować metodę badania odporną na takie zjawisko. Szczególnym przypadkiem jest proces pomiaru masy cieczy, zwłaszcza gdy działka elementarna wagi wynosi 1  $\mu\text{g}$ . Nawet zamknięty układ wagowy zawsze dąży do uzyskania równowagi w zakresie wilgotności i ciśnienia. Brak kurtyny parowej podczas ważenia dozy cieczy skutkuje dynamiczną zmianą, którą przedstawia rysunek 22.



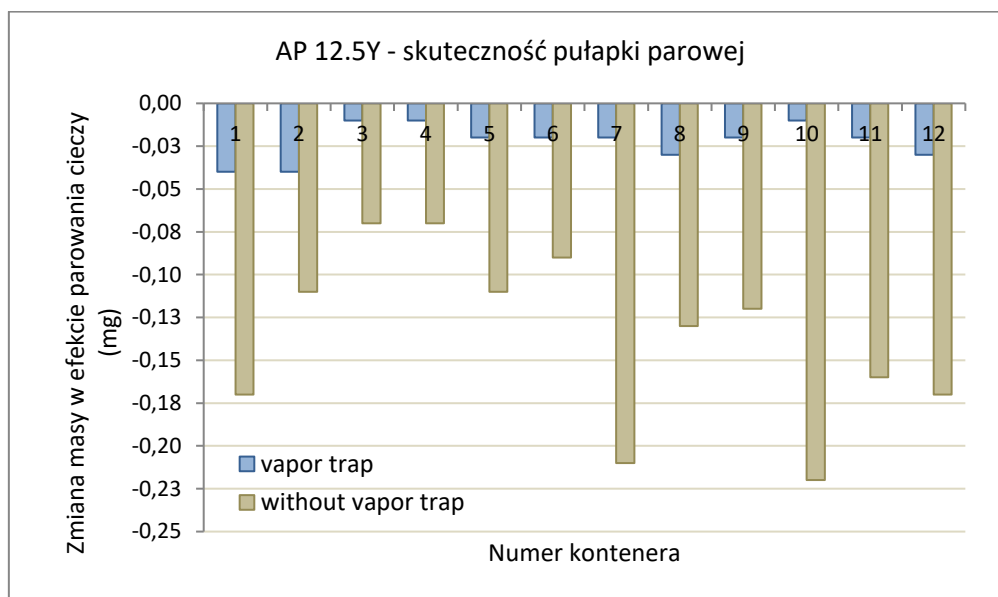
Rysunek 22. MYA 21.5Y.P – efekt parowania cieczy.



Rysunek 23. Mikrowaga MYA 21.5Y.P z kurtyną parową.

## 7.6. Kurtyna parowa systemu automatycznego AP 12.5Y

Ograniczenie parowania cieczy z naczynia wagowego jest kluczowe dla uzyskania poprawnego wyniku dla badanej objętości pipety. W przypadku pipet jednokanałowych proces pomiaru masy dozy wody jest dość szybki, więc zjawisko zmienności masy nie musi być istotne. Gdy analiza dotyczy pipety wielokanałowej, należy zauważyć, że tylko pierwsza doza z pierwszego kanału pipety jest ważona natychmiast. Im wyższy numer kanału pipety, tym dłuższy czas oczekiwania na pomiar masy. Z tego względu kurtyna parowa w układzie automatycznym i konstrukcja naczynia wagowego musi ograniczać proces parowania w najwyższym stopniu. Na rysunku 24 przedstawiono różnicę, jaka występuje w przypadku pracy układu bez kurtyny parowej i z kurtyną parową.



Rysunek 24. Efekt parowania cieczy z naczynia wagowego w układzie AP 12.5Y.

Zmiana masy kontenerów z cieczą wynosi tylko ok. 0,02 mg – 0,03 mg, ale trzeba pamiętać, że ta wartość jest obarczona błędem powtarzalności wskazań. Z tego względu można założyć, że efekt parowania jest znacznie mniejszy. Parowanie cieczy w przypadku braku pułapki parowej jest co najmniej kilkukrotnie większe i zawiera się w granicach 0,10 mg – 0,20 mg. To szybkie badanie pokazuje, jak ważne są optymalne warunki w procesie pipetowania.

## 7.7. Procedura wzorcowania pipet tłokowych

<b>RADWAG Wagi Elektroniczne Witold Lewandowski</b> 26-600 Radom, ul. Toruńska 5 <b>CENTRUM METROLOGII, BADAŃ I CERTYFIKACJI - LABORATORIUM POMIAROWE</b> 26-600 Radom, ul. Starowiejska 17A tel. /48/ 386 64 70; fax.: /48/ 385 00 11		 POLSKIE CENTRUM AKREDYTACJI WZORCOWANIE AP 069 
 Laboratorium wzorcujące akredytowane przez Polskie Centrum Akredytacji, sygnatariusza porozumień EA MLA i ILAC MRA dotyczących wzajemnego uznawania świadectw wzorcowania. Numer Akredytacji AP 069.		
<h1>ŚWIADECTWO WZORCOWANIA</h1>		
Data wydania: 18 lutego 2022 r.	Nr świadectwa: 2137/470/22	Strona: 1 / 2
<b>OBIEKT WZORCOWANIA</b>	Pipeta tłokowa jednokanałowa Typ: o zmiennej objętości Producent: Finn pipette Numer fabryczny: OH81643 Objętość: 20-200 µl Typ końcówki: dostarczone przez zleceniodawcę	
<b>ZGŁASZAJĄCY</b>		
<b>UŻYTKOWNIK</b>		
<b>MIEJSCE WZORCOWANIA</b>	RADWAG Wagi Elektroniczne Centrum Metrologii, Badań i Certyfikacji - Laboratorium Pomiarowe ul. Starowiejska 17 A, 26-600 Radom	
<b>METODA WZORCOWANIA</b>	Procedura wzorcowania: PW 05 wydanie II z dnia 14 października 2021 r.	
<b>WARUNKI ŚRODOWISKOWE</b>	Temperatura powietrza: ( 21,95 ÷ 22,11 ) ± 0,20 °C Wilgotność względna powietrza: ( 49,3 ÷ 51,2 ) ± 1,1 % Ciśnienie atmosferyczne: ( 987,3 ÷ 987,3 ) ± 0,6 hPa Temperatura wody: ( 21,27 ÷ 21,29 ) ± 0,20 °C	
<b>DATA WZORCOWANIA</b>	18 lutego 2022 r.	
<b>SPÓJNOŚĆ POMIAROWA</b>	Świadectwo jest wydane w ramach porozumienia EA MLA w zakresie wzorcowania i potwierdza spójność pomiarową wyników pomiarów z jednostkami miar Międzynarodowego Układu Jednostek Miar (SI).	
<b>WYNIKI WZORCOWANIA</b>	Podano na stronie 2 niniejszego świadectwa wraz z wartościami niepewności pomiaru.	
<b>NIEPEWNOŚĆ POMIARU</b>	Niepewność pomiaru została określona zgodnie z dokumentem EA-4/02 M:2021. Podane wartości niepewności stanowią niepewności rozszerzone przy prawdopodobieństwie rozszerzenia około 95 % i współczynniku rozszerzenia $k = 2$ .	
		
Niniejsze świadectwo może być okazywane lub kopiowane tylko w całości.		


Rysunek 25. Świadectwo wzorcowania pipety jednokanałowej.

**WYNIKI  
WZORCOWANIA**

Wyniki przeprowadzonego wzorcowania przedstawione poniżej, odnoszą się wyłącznie do obiektu wzorcowania opisanego na pierwszej stronie świadectwa.

Objętość nominalna $V_o$ $\mu\text{l}$	Wartość objętości zmierzona $V$ $\mu\text{l}$	Wartość bł. systemat. $e_s$ $\mu\text{l}$	Wartość bł. systemat. $e_s$ %	Wartość bł. przypad. $S_r$ $\mu\text{l}$	Wartość bł. przypad. $CV$ %	Niepewność pomiaru $U$ $\mu\text{l}$
200	197,21	-2,79	-1,40	0,15	0,07	0,53
50	98,64	-1,36	-1,36	0,20	0,21	0,27
20	20,29	0,29	1,46	0,02	0,11	0,07

Autoryzował: Tomasz Jędrzejewski



Rysunek 26. Świadectwo wzorcowania pipety jednokanałowej – wyniki.



Laboratorium wzorcujące akredytowane przez  
Polskie Centrum Akredytacji, sygnatariusza porozumień EA MLA  
i ILAC MRA dotyczących wzajemnego uznawania świadectw wzorcowania.  
Numer Akredytacji AP 069.



AP 069



## ŚWIADECTWO WZORCOWANIA

Data wydania: 18 lutego 2022 r.

Nr świadectwa: 2136/470/22

Strona: 1 / 2

### OBIEKT WZORCOWANIA

Pipeta tłokowa ośmiokanałowa  
Typ: o zmiennej objętości  
Producent: Eppendorf  
Numer fabryczny: J38259G  
Objętość: 10-100  $\mu$ l  
Typ końcówek: dostarczone przez zleceniodawcę

### ZGŁASZAJĄCY

### UŻYTKOWNIK

### METODA WZORCOWANIA

Procedura wzorcowania: PW 05 wydanie II z dnia 14 października 2021 r.

### WARUNKI ŚRODOWISKOWE

Temperatura powietrza: ( 21,73 ÷ 21,78 )  $\pm$  0,20  $^{\circ}$ C  
Wilgotność względna powietrza: ( 48,8 ÷ 50,2 )  $\pm$  1,2 %  
Ciśnienie atmosferyczne: ( 986,5 ÷ 995,1 )  $\pm$  0,7 hPa  
Temperatura wody: ( 21,20 ÷ 21,25 )  $\pm$  0,20  $^{\circ}$ C

### DATA WZORCOWANIA

18 lutego 2022 r.

### SPÓJNOŚĆ POMIAROWA

Świadectwo jest wydane w ramach porozumienia EA MLA w zakresie wzorcowania i potwierdza spójność pomiarową wyników pomiarów z jednostkami miar Międzynarodowego Układu Jednostek Miar (SI).

### WYNIKI WZORCOWANIA

Podano na stronie 2 niniejszego świadectwa wraz z wartościami niepewności pomiaru.

### NIEPEWNOŚĆ POMIARU

Niepewność pomiaru została określona zgodnie z dokumentem EA-4/02 M:2021. Podane wartości niepewności stanowią niepewności rozszerzone przy prawdopodobieństwie rozszerzenia około 95 % i współczynniku rozszerzenia  $k = 2$ .



KIEROWNIK  
Laboratorium Pomiarowego  
Tomasz Jędrzejewski

Niniejsze świadectwo może być okazywane lub kopiowane tylko w całości.

Rysunek 27. Świadectwo wzorcowania pipety wielokanałowej.

**WYNIKI  
WZORCOWANIA**

Wyniki przeprowadzonego wzorcowania przedstawione poniżej, odnoszą się wyłącznie do obiektu wzorcowania opisanego na pierwszej stronie świadectwa.

Objętość nominalna $V_o$ $\mu\text{l}$	Wartość objętości zmierzona $V$ $\mu\text{l}$	Wartość bł. systemat. es $\mu\text{l}$	Wartość bł. systemat. es %	Wartość bł. przypad. Sr $\mu\text{l}$	Wartość bł. przypad. CV %	Niepewność pomiaru U $\mu\text{l}$
100 $\mu\text{l}$ Kanał						
1	100,05	0,05	0,05	0,15	0,15	0,27
2	100,16	0,16	0,16	0,16	0,16	0,27
3	99,90	-0,10	-0,10	0,22	0,22	0,27
4	99,99	-0,01	-0,01	0,13	0,13	0,27
5	99,96	-0,04	-0,04	0,10	0,10	0,27
6	99,99	-0,01	-0,01	0,13	0,13	0,27
7	100,06	0,06	0,06	0,11	0,11	0,27
8	99,98	-0,02	-0,02	0,12	0,12	0,27
50 $\mu\text{l}$ Kanał						
1	49,79	-0,21	-0,43	0,07	0,13	0,17
2	49,88	-0,12	-0,24	0,12	0,24	0,17
3	49,90	-0,10	-0,21	0,13	0,25	0,17
4	49,86	-0,14	-0,28	0,08	0,16	0,17
5	49,85	-0,15	-0,30	0,07	0,14	0,17
6	49,90	-0,10	-0,21	0,06	0,12	0,17
7	49,80	-0,20	-0,41	0,08	0,15	0,17
8	49,80	-0,20	-0,40	0,05	0,10	0,17
10 $\mu\text{l}$ Kanał						
1	9,976	-0,024	-0,239	0,041	0,414	0,050
2	9,979	-0,021	-0,211	0,063	0,631	0,050
3	9,987	-0,013	-0,129	0,049	0,493	0,050
4	9,986	-0,014	-0,142	0,048	0,482	0,050
5	9,979	-0,021	-0,214	0,044	0,439	0,050
6	9,965	-0,035	-0,347	0,021	0,208	0,050
7	9,971	-0,029	-0,289	0,045	0,452	0,050
8	9,961	-0,039	-0,391	0,059	0,593	0,050

Autoryzował: Tomasz Jedrzejewski



Rysunek 28. Świadectwo wzorcowania pipety wielokanałowej – wyniki.



## 8. Załącznik 1

### 8.1. Zjawiska fizyczne i zasada pomiaru podczas kontroli pipet tłokowych

Ocena wszystkich czynników, jakie potencjalnie mogą wpływać na dokładność pobierania cieczy poprzez pipetę tłokową z poduszką powietrzną, wymaga przedstawienia tego procesu w postaci matematycznej. Procesem o podobnym charakterze jest proces izotermicznej zmiany stanu skupienia gazu doskonałego, który może być opisany równaniem (1).

$$P_a \times V_o = (P_a - P_h - P_s) \times (V_o - V_{str} - V) \quad (1)$$

gdzie:  $P_a$  ciśnienie powietrza  
 $P_h$  ciśnienie hydrostatyczne  
 $P_s$  ciśnienie kapilarne  
 $V_o$  objętość powietrza uwiecznionego  
 $V_{str}$  objętość skoku tłoka  
 $V$  objętość zasysanej cieczy

Wartość ciśnienia hydrostatycznego, jakie wywołuje słup cieczy (w końcówce pipety), jest zależna od kilku czynników, które zawiera równanie (2).

$$P_h = \rho_w \times g \times h \quad (2)$$

gdzie:  $\rho_w$  gęstość cieczy (wody)  
 $g$  przyspieszenie ziemskie  
 $h$  wysokość słupa cieczy wewnątrz końcówki

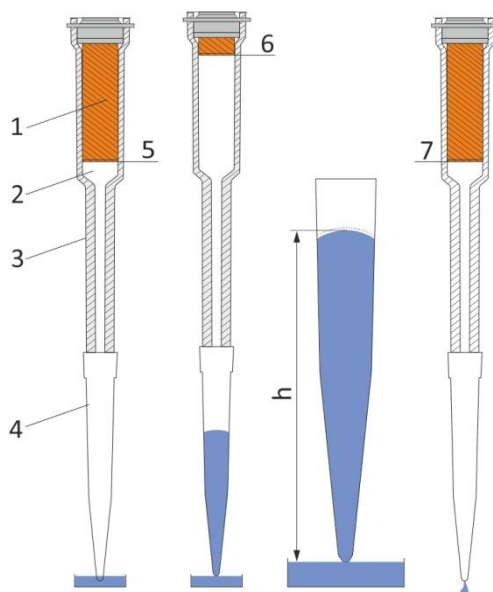
Uwzględniając zależności przedstawione w równaniu (1) i (2), objętość zasysanej cieczy \*) z uwzględnieniem efektów związanych z parowaniem cieczy, różnicami temperatur i obsługą pipety można wyliczyć według równania (3)

$$V = V_{str} - V_o \times \frac{(\rho \times g \times h) + P_s}{P_a - (\rho \times g \times h) - P_s} - V_{ev} \pm V_{Tdiff} \pm V_{handling} \quad (3)$$

gdzie:  
 $V_{ev}$  spadek objętości w efekcie parowania cieczy do poduszki powietrznej podczas zasysania  
 $V_{Tdiff}$  wpływ zmiany temperatury w poduszce powietrznej podczas zasysania  
 $V_{handling}$  zmiana objętości spowodowana różnymi efektami obsługi

Główne elementy i etapy pipetowania przedstawiono na rysunku 29. Przed rozpoczęciem pipetowania tłok pipety (1) znajduje się w pozycji początkowej (5), a pusta przestrzeń (2) zawiera tzw. poduszkę powietrzną. Końcówka pipety (4) jest lekko zanurzona w cieczy. Szczelność konstrukcji zapewnia obudowa pipety (3).

Po pobraniu cieczy tłok przesuwają się do pozycji końcowej (6), rozszerzając tym samym powietrze uwięzione w poduszce powietrznej, a ciecz napełnia przestrzeń końcówki do wysokości (h). W tym momencie następuje proces parowania cieczy do poduszki powietrznej, co skutkuje zwiększeniem jej objętości. Zwiększenie objętości poduszki powietrznej powoduje z kolei wypychanie niewielkiej ilości cieczy z końcówki pipety. W efekcie tego zjawiska objętość dostarczanej dozy cieczy jest mniejsza. Zmiany temperatury  $\Delta T/T$ , jakie mogą zachodzić w trakcie tego procesu, zmieniają objętość poduszki powietrznej  $V_{eff}$ , co także prowadzi do zmiany objętości dostarczanej cieczy.



Rysunek 29. Pipeta tłokowa – etapy pobierania cieczy.

Podczas wydalenia cieczy tłok przesuwają się do pozycji (7) a ciecz jest usuwana z końcówki pipety. Poza czynnikami fizycznymi istotny wpływ na dokładność pipetowania może mieć także czynnik ludzki. Można w tym zakresie wyróżnić takie czynniki jak:

- kąt nachylenia podczas pobierania cieczy,
- czas oczekiwania po aspiracji,
- czas, podczas którego końcówka jest nadal zanurzona w cieczy testowej,
- czas między kolejnymi aspiracjami,
- głębokość zanurzenia końcówki w cieczy testowej,
- siła robocza działająca na tłok,
- przenoszenie ciepła z dłoni operatora na konstrukcję pipety.

Równanie 3 opisuje fizyczne aspekty związane z przenoszeniem cieczy, takie jak parowanie czy zmiany temperaturowe. Bardzo szczegółowa analiza tego zjawiska może być przeprowadzona z wykorzystaniem równania 4, gdzie uwzględniono dodatkowo inne czynniki związane z procesem pipetowania.

$$V = V_{str} - V_o \times \frac{(\rho \times g \times h) + P_s}{P_a - (\rho \times g \times h) - P_s} + [A_{fl} \times P_d \times (1 - S) \times k \times t_{AnsW}] \pm \left[ V \times m \times \frac{\Delta T}{T} \right] - / + \left[ A_{fl} \times b \times \frac{\Delta T}{T} \right] \pm V_{handling} \quad (4)$$

- gdzie  $A_{fl}$  powierzchnia kontaktu między cieczą a poduszką powietrzną  
 $P_d$  prężność pary cieczy  
 $S$  nasycenie parą poduszki powietrznej w % RH  
 $t_{AnsW}$  czas aspiracji plus czas oczekiwania  
 $k$  współczynnik parowania (objętość na powierzchnię, ciśnienie pary i czas)  
 $V$  objętość zasysana  
 $M$  współczynnik uwzględniający promieniowe przewodzenie ciepła.  $m = 0,3 \dots 0,9$ , w zależności od rozmiaru pipety  
 $b$  współczynnik uwzględniający osiowe przewodzenie ciepła (objętość na powierzchnię, czas zależny od  $t_{AnsW}$ ).  
 $\Delta T/T$  względna zmiana temperatury w poduszce powietrznej

Wartości niektórych współczynników takich jak  $S$ ,  $k$ ,  $m$ , nie są znane i muszą być wyznaczone eksperymentalnie co stanowi pewne wyzwanie, głównie w sferze stanowiska badawczego.

\*) źródło: Feldmann, R., Lochner, K.H. Influences on volume in piston-operated air-displacement pipettes. Accred Qual Assur 21, 69–82 (2016). <https://doi.org/10.1007/s00769-015-1171-y>

## 8.2. Maksymalne dopuszczalne błędy pipet tłokowych

Tabela 5. Maksymalne dopuszczalne poziomy błędów dla pipet typu A i D1 (jednokanałowych).

Objętość pipetowania		Max dopuszcz. błąd systematyczny <sup>a</sup>	Max dopuszcz. błąd Losowy <sup>a</sup>
Objętości znamionowe $\mu\text{l}$	Wartość jako proporcja objętości znamionowej (%)	$\pm$ %	% b
1 do 3 <sup>c</sup>	100	2,5	2,0
	50	5,0	4,0
	10	25	20
> 3 do 5	100	2,5	1,5
	50	5,0	3,0
	10	25	15
> 5 do 10	100	1,2	0,8
	50	2,4	1,6
	10	12	8,0
> 10 do 50	100	1,0	0,5
	50	2,0	1,0
	10	10	5,0
> 50 do 5 000	100	0,80	0,30
	50	1,6	0,60
	10	8,0	3,0
> 5 000 do 20 000	100	0,60	0,30
	50	1,2	0,60
	10	6,0	3,0

<sup>a</sup> – aby obliczyć błędy w mikro litrach, pomnożyć wartości max dopuszczalnych błędów przez wybraną objętość.

<sup>b</sup> – wyrażony jako współczynnik zmienności zgodnie z normami ISO 8655-6, ISO 8655-7 lub ISO 8655-8.

<sup>c</sup> – przetwarzanie małych ilości może być bardzo trudne.

Tabela 6. Maksymalne dopuszczalne poziomy błędów dla pipet typu A i D1 (wielokanałowych).

Objętość pipetowania		Max dopuszcz. błąd systematyczny <sup>a</sup>	Max dopuszczalny błąd losowy <sup>a</sup>
Objętości znamionowe $\mu\text{l}$	Wartość jako proporcja obj. znamionowej %	$\pm$ %	% <sup>b</sup>
2 <sup>c</sup>	100	8,0	8,0
	50	16	16
	10	25	25
> 2 do 5	100	5,0	3,0
	50	10	6,0
	10	25	25
> 5 do 10	100	2,4	1,6
	50	4,8	3,2
	10	24	16
> 10 do 20	100	2,0	1,0
	50	4,0	2,0
	10	20	10
> 20 do 50	100	2,0	0,80
	50	4,0	1,6
	10	20	8,0
> 50 do 2 000	100	1,6	0,60
	50	3,2	1,2
	10	16	6,0

<sup>a</sup> – aby obliczyć błędy w mikro litrach, pomnożyć wartości max dopuszczalnych błędów przez wybraną objętość.

<sup>b</sup> – wyrażony jako współczynnik zmienności zgodnie z normami ISO 8655-6, ISO 8655-7 lub ISO 8655-8.

<sup>c</sup> – przetwarzanie małych ilości może być bardzo trudne.

Tabela 7. Maksymalne dopuszczalne poziomy błędów dla pipet typu D2.

Objętość pipetowania		Max dopuszczalny błąd systematyczny <sup>a</sup>	Max dopuszczalny błąd losowy <sup>a</sup>
Objętości znamionowe $\mu\text{l}$	Wartość jako proporcja objętości znamionowej %	$\pm$ %	% <sup>b</sup>
5 <sup>c</sup>	100	2,5	1,5
	50	5,0	3,0
	10	25	15
> 5 do 10	100	2,0	1,0
	50	4,0	2,0
	10	20	10
> 10 do 20	100	2,0	0,80
	50	4,0	1,6
	10	20	8,0
> 20 do 100	100	1,4	0,60
	50	2,8	1,2
	10	14	6,0
> 100 do 1 000	100	1,2	0,40
	50	2,4	0,80
	10	12	4,0

<sup>a</sup> - aby obliczyć błędy w mikro litrach, pomnożyć wartości max dopuszczalnych błędów przez wybraną objętość.

<sup>b</sup> - wyrażony jako współczynnik zmienności zgodnie z normami ISO 8655-6, ISO 8655-7 lub ISO 8655-8.

<sup>c</sup> - przetwarzanie małych ilości może być bardzo trudne.

### 8.3. Wartości wskaźników korygujących Z dla wody destylowanej

Tabela 8. Wskaźniki korygujące Z dla wody destylowanej jako funkcja temperatury wody i ciśnienia powietrza – wartości Z podane w  $\mu\text{l}/\text{mg}$ .

Temperatura (°C)	Ciśnienie powietrza (Kpa)						
	80	85	90	95	100	101,3	105
15,0	1 001 7	1 001 8	1 001 9	1 001 9	1 002 0	1 002 0	1 002 0
15,5	1 001 8	1 001 9	1 001 9	1 002 0	1 002 0	1 002 0	1 002 1
16,0	1 001 9	1 002 0	1 002 0	1 002 1	1 002 1	1 002 1	1 002 2
16,5	1 002 0	1 002 0	1 002 1	1 002 1	1 002 2	1 002 2	1 002 2
17,0	1 002 1	1 002 1	1 002 2	1 002 2	1 002 3	1 002 3	1 002 3
17,5	1 002 2	1 002 2	1 002 3	1 002 3	1 002 4	1 002 4	1 002 4
18,0	1 002 2	1 002 3	1 002 3	1 002 4	1 002 5	1 002 5	1 002 5
18,5	1 002 3	1 002 4	1 002 4	1 002 5	1 002 5	1 002 6	1 002 6
19,0	1 002 4	1 002 5	1 002 5	1 002 6	1 002 6	1 002 7	1 002 7
19,5	1 002 5	1 002 6	1 002 6	1 002 7	1 002 7	1 002 8	1 002 8
20,0	1 002 6	1 002 7	1 002 7	1 002 8	1 002 8	1 002 9	1 002 9
20,5	1 002 7	1 002 8	1 002 8	1 002 9	1 002 9	1 003 0	1 003 0
21,0	1 002 8	1 002 9	1 002 9	1 003 0	1 003 1	1 003 1	1 003 1
21,5	1 003 0	1 003 0	1 003 1	1 003 1	1 003 2	1 003 2	1 003 2
22,0	1 003 1	1 003 1	1 003 2	1 003 2	1 003 3	1 003 3	1 003 3
22,5	1 003 2	1 003 2	1 003 3	1 003 3	1 003 4	1 003 4	1 003 4
23,0	1 003 3	1 003 3	1 003 4	1 003 4	1 003 5	1 003 5	1 003 6
23,5	1 003 4	1 003 5	1 003 5	1 003 6	1 003 6	1 003 6	1 003 7
24,0	1 003 5	1 003 6	1 003 6	1 003 7	1 003 7	1 003 8	1 003 8
24,5	1 003 7	1 003 7	1 003 8	1 003 8	1 003 9	1 003 9	1 003 9
25,0	1 003 8	1 003 8	1 003 9	1 003 9	1 004 0	1 004 0	1 004 0
25,5	1 003 9	1 004 0	1 004 0	1 004 1	1 004 1	1 004 1	1 004 2
26,0	1 004 0	1 004 1	1 004 1	1 004 2	1 004 2	1 004 3	1 004 3
26,5	1 004 2	1 004 2	1 004 3	1 004 3	1 004 4	1 004 4	1 004 4
27,0	1 004 3	1 004 4	1 004 4	1 004 5	1 004 5	1 004 5	1 004 6
27,5	1 004 5	1 004 5	1 004 6	1 004 6	1 004 7	1 004 7	1 004 7
28,0	1 004 6	1 004 6	1 004 7	1 004 7	1 004 8	1 004 8	1 004 8
28,5	1 004 7	1 004 8	1 004 8	1 004 9	1 004 9	1 005 0	1 005 0
29,0	1 004 9	1 004 9	1 005 0	1 005 0	1 005 1	1 005 1	1 005 1
29,5	1 005 0	1 005 1	1 005 1	1 005 2	1 005 2	1 005 2	1 005 3
30,0	1 005 2	1 005 2	1 005 3	1 005 3	1 005 4	1 005 4	1 005 4

## 9. Spis rysunków

Rysunek 1. Dr. Adah Elizabeth Verder mouth pipetting. ....	4
Rysunek 2. Pipety tłokowe RADWAG o zmiennej objętości .....	5
Rysunek 3. Kontrola pipet tłokowych – stanowisko pomiarowe wag serii XA oraz mikrowag MYA .....	6
Rysunek 4. Pipety tłokowe produkcji RADWAG.....	7
Rysunek 5. Cykl życia pipety tłokowej .....	8
Rysunek 6. Kontrola pipety tłokowej o objętości 200 $\mu$ l .....	9
Rysunek 7. Automatyczna komora dla procesu pipetowania z wykorzystaniem wag serii XA .....	11
Rysunek 8. Waga XA – manualny system dla kontroli objętości pipet tłokowych.....	12
Rysunek 9. Kontrola objętości pipet tłokowych z wykorzystaniem mikrowagi serii MYA .....	13
Rysunek 10. Szkic kurtyny parowej mikrowag serii MYA i wag analitycznych serii XA .....	13
Rysunek 11. Stanowisko do sprawdzania i wzorcowania pipet tłokowych. ....	14
Rysunek 12. System automatyczny AP 12.5Y dedykowany do badania pipet wielokanałowych .....	15
Rysunek 13. Schemat budowy i zasada układu automatycznego AP 12.5Y.....	16
Rysunek 14. Źródła błędów w procesie pipetowania .....	18
Rysunek 15. Pobieranie cieczy dla pipet o różnej konstrukcji .....	19
Rysunek 16. Stanowisko do sprawdzania pipet tłokowych o różnych objętościach.....	20
Rysunek 17. Potencjalne błędy pomiaru przy pobieraniu wody.....	22
Rysunek 18. Metoda wydalania cieczy z pipety.....	22
Rysunek 19. Wyniki z automatycznej procedury kontroli – odchylenie standardowe z serii 10 pomiarów.....	24
Rysunek 20. Ważenie kontenera .....	25
Rysunek 21. Dokładność pomiaru masy kontenerów w cyklu automatycznym .....	26
Rysunek 22. MYA 21.5Y.P – efekt parowania cieczy.....	27
Rysunek 23. Mikrowaga MYA 21.5Y.P z kurtyną parową. ....	27
Rysunek 24. Efekt parowania cieczy z naczynia wagowego w układzie AP 12.5Y .....	28
Rysunek 25. Świadectwo wzorcowania pipety jednokanałowej .....	29
Rysunek 26. Świadectwo wzorcowania pipety jednokanałowej - wyniki .....	30
Rysunek 27. Świadectwo wzorcowania pipety wielokanałowej.....	31
Rysunek 28. Świadectwo wzorcowania pipety wielokanałowej - wyniki.....	32
Rysunek 29. Pipeta tłokowa - etapy pobierania cieczy.....	34

## 10. Spis tabel

Tabela 1. Minimalna wymagania dotyczące wag.....	17
Tabela 2. Głębokość zanurzenia końcówki pipety zależnie od objętości nominalnej pipety.....	21
Tabela 3. Dobór wagi do badanej objętości pipety tłokowej. ....	24
Tabela 4. Precyzja pomiaru masy AP 12.1.5Y, działka elementarna $d = 1 \mu$ g.....	25
Tabela 5. Maksymalne dopuszczalne poziomy błędów dla pipet typu A i D1 (jednokanałowych).....	36
Tabela 6. Maksymalne dopuszczalne poziomy błędów dla pipet typu A i D1 (wielokanałowych) .....	37
Tabela 7. Maksymalne dopuszczalne poziomy błędów dla pipet typu D2 .....	38
Tabela 8. Wskaźniki korygujące Z dla wody destylowanej jako funkcja temperatury wody i ciśnienia powietrza – wartości Z podane w $\mu$ l/mg .....	39



## 11. Literatura

1. R. Feldmann and Karl Heinz Lochner, Influences on volume in piston-operated air-displacement pipettes, *Accred Qual Assur* (2016), 21, 69-82.
2. Guide on the Calibration, Operation and Handling of Micropipettes. Final REPORT. EURAMET PROJECT 1295, Ed. Zoe Metaxiotou, Hellenic Institute of Metrology (NQIS/EIM).
3. General European OMCL Network (GEON). Guideline Qualification of Equipment – Annex 6:Qualification of Piston Pipettes. 2018.
4. Kornelia Ewald, Fundamentals of dispensing - Userguide No. 19. Eppendorf AG, Hamburg, Germany. 2015
5. John Blues<sup>1</sup>, David Bayliss<sup>2</sup>, Mike Buckley<sup>3</sup>. Measurement Good Practice Guide No. 69. The Calibration and Use of Piston Pipettes. 2004.  
1) National Weights and Measures Laboratory  
2) National Physical Laboratory  
3) South Yorkshire Trading Standards Uni
6. PN-EN ISO 9001:2015-10. Systemy zarządzania jakością.
7. PN-ISO 5725-1:2002. Dokładność (poprawność i precyzja) metod pomiarowych i wyników pomiarów. Część -1. Ogólne zasady i definicje.
8. Pn-EN ISO/IEC 17025:2018-02. Ogólne wymagania dotyczące kompetencji laboratoriów badawczych i wzorcujących.
9. ISO 8655-2:2022. Tłokowe przyrządy do pomiaru objętości. Część 2 – pipety.
10. ISO 8655-6:2022. Tłokowe przyrządy do pomiaru objętości. Część 6 – referencyjna procedura pomiaru grawimetrycznego do wyznaczania objętości.
11. S. Janas. Pomiary w skali mikro – wydanie II. Centrum Metrologii Badań i Certyfikacji RADWAG Wagi Elektroniczne. 2022.



## RADWAG WAGI ELEKTRONICZNE

CENTRUM METROLOGII BADAŃ I CERTYFIKACJI  
LABORATORIUM BADAWCZE



26-600 RADOM, ul. Toruńska 5  
tel.: +48 (48) 386 60 00, Fax: +48 (48) 385 00 10  
[www.RADWAG.com](http://www.RADWAG.com)