

# Physikalisch- Technische Bundesanstalt




---

**Directriz  
DKD-R 8-1**

**Calibración de pipetas de pistón  
con cámara de aire**

---

Edición 12/2011

|   |   |           |         |
|---|---|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |   | Edición:  | 12/2011 |
|   |   | Revisión: | 0       |
|   |   | Página:   | 2       |

Publicado por el *Deutscher Kalibrierdienst* (DKD – Servicio Alemán de Calibración) con el patrocinio del *Physikalisch-Technische Bundesanstalt* (PTB – Instituto Nacional de Metrología de Alemania) como resultado de la cooperación entre el PTB y los laboratorios de calibración acreditados dentro del Comité Técnico de “Masa / Balanzas / Volumen / Densidad”.

Derechos de autor © 2011 del DKD

Esta obra, incluyendo cada una de sus partes, está protegida por derechos de autor. Está prohibido y será sancionado el uso no autorizado de éste documento fuera de los límites estrictos de la Ley de Derechos de Autor. Esto aplica especialmente para duplicaciones, traducciones, microfilmaciones y el almacenamiento y procesamiento en sistemas electrónicos.

### **Deutscher Kalibrierdienst (DKD) – Servicio Alemán de Calibración**

Desde su fundación en 1977, en el DKD se reunieron laboratorios de calibración de empresas industriales, institutos de investigación, autoridades técnicas, instituciones de control y prueba. El 3 mayo de 2011 se realizó la reforma del DKD como Comité Técnico del PTB y de los laboratorios acreditados.


Este comité lleva el nombre de *Deutscher Kalibrierdienst* (DKD – Servicio Alemán de Calibración) y está bajo la dirección del PTB. Las directrices y las guías elaboradas por el DKD representan el estado de la técnica en la especialidad técnica correspondiente, estando disponible para el organismo de acreditación alemán, la *Deutsche Akkreditierungsstelle GmbH* (DAkKS) para la acreditación de laboratorios de calibración.

Los laboratorios de calibración acreditados son acreditados y supervisados por la DAkKS como sucesora legal del organismo de acreditación del DKD. Los certificados de calibración que emiten son una evidencia de la trazabilidad a los patrones nacionales requerida por la familia de normas DIN EN ISO 9000 y la norma DIN EN ISO/IEC 17025.

Las calibraciones de los laboratorios acreditados brindan al usuario la seguridad de resultados de medición confiables, aumentan la confianza del cliente y la competitividad en el mercado nacional e internacional y sirven como una base metrológica para el control de los instrumentos de medición y ensayo en el marco de las medidas de aseguramiento de la calidad.


#### **Contacto:**

Deutscher Kalibrierdienst (DKD)  
 con el patrocinio del Physikalisch-Technische Bundesanstalt (PTB)  
 Oficina en el PTB  
 Bundesallee 100 38116 Braunschweig  
 Casilla de correo 33 45 38023 Braunschweig  
 Teléfono secretaria: (05 31) 5 92-8021


|   |   |           |         |
|---|---|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |   | Edición:  | 12/2011 |
|   |   | Revisión: | 0       |
|   |   | Página:   | 3       |

## ÍNDICE

|   |    |
|---|----|
| Prefacio.....   | 5  |
| 1. Objeto y ámbito de aplicación.....   | 6  |
| 2. Símbolos.....  | 7  |
| 2.1 Abreviaturas y símbolos de fórmula.....   | 7  |
| 2.2 Unidades.....   | 8  |
| 3. Definiciones.....  | 8  |
| 4. Objetivo de la calibración.....  | 9  |
| 5. Requisitos generales para la aptitud de calibración de pipetas de pistón con cámara de aire.....                       | 9  |
| 5.1 Requisitos de la norma DIN EN ISO 8655.....   | 9  |
| 5.2 Requisitos provenientes de las informaciones del fabricante sobre el producto.....                                    | 10 |
| 5.3 Requisitos provenientes de la observación de la actividad de calibración.....   | 10 |
| 6. Condiciones ambientales.....   | 11 |
| 7. Procedimiento de calibración.....  | 11 |
| 7.1 Objetos a calibrar.....   | 12 |
| 7.2 Puntas de pipeta - accesorios para la entrega.....  | 12 |
| 7.3 Indicaciones adicionales para la calibración (complementarias a las de la norma DIN EN ISO 8655-6).....               | 13 |
| 8. Incertidumbre de medida.....   | 13 |
| 8.1 Generalidades.....  | 15 |
| 8.2 Contribución a la incertidumbre debido a la balanza.....  | 15 |
| 8.3 Contribuciones a la incertidumbre de medida debidas a la temperatura/ densidad del agua.....                          | 16 |
| 8.4 Contribución a la incertidumbre de medida debido a la temperatura del aire y la humedad relativa del aire.....        | 17 |
| 8.5 Contribución a la incertidumbre de medida debido a la presión atmosférica.....  | 18 |
| 8.6 Dilatación por temperatura del aparato de medida del volumen.....   | 18 |
| 8.7 Consideración de las influencias sistemáticas de las pipetas de pistón con cámara de aire durante la calibración..... | 18 |
| 8.7.1 Diferencias de temperatura entre agua – pipeta – aire.....  | 19 |
| 8.7.2 Humedad relativa del aire.....  | 19 |
| 8.7.3 Presión atmosférica.....  | 19 |
| 8.8 Repetibilidad.....  | 20 |
| 8.9 Contribución por el proceso de calibración y manejo de la pipeta.....   | 21 |
| 8.9.1 Influencias mecánicas.....  | 21 |
| 8.9.2 Influencias debidas al operador.....  | 21 |
| 8.9.3 Calor de la mano.....   | 22 |

|   |   |           |         |
|---|---|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |   | Edición:  | 12/2011 |
|   |   | Revisión: | 0       |
|   |   | Página:   | 4       |

|   |    |
|---|----|
| 8.9.4 Transporte .....                              | 22 |
| 9. Presupuestos de la incertidumbre de medida ..... | 22 |
| 10. Bibliografía .....                              | 22 |

|   |   |           |         |
|---|---|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |   | Edición:  | 12/2011 |
|   |   | Revisión: | 0       |
|   |   | Página:   | 5       |

## Prefacio


Las Directrices del DKD son documentos de aplicación para cumplir con los requisitos de la norma DIN EN ISO/IEC 17025. En las Directrices se describen procesos técnicos, organizativos y requeridos por el método que le sirven a los laboratorios de calibración acreditados como modelo para la definición de procedimientos y disposiciones internas. Las Directrices del DKD pueden ser parte de manuales de gestión de la calidad de los laboratorios de calibración. La implementación de esta directriz promueve que los equipos bajo calibración sean manipulados de manera semejante durante las tareas de calibración y se mejora la continuidad y la comparabilidad del trabajo de los laboratorios de calibración.

Las Directrices del DKD no deben impedir la continuidad del desarrollo de los métodos y de los procesos de calibración. Se permiten desviaciones respecto de las Directrices y métodos nuevos si tienen el acuerdo del organismo de acreditación, cuando existen motivos técnicos que así lo justifiquen.

La presente Directriz fue elaborada por el Subcomité Técnico "Volumen/Densidad" en cooperación con el PTB y laboratorios de calibración acreditados. Esta Directriz fue aprobada el 27.09.2011 en la reunión del Comité Técnico "Masa / Balanzas / Volumen / Densidad".

Como preparación para esta Directriz se realizó un estudio piloto nacional e internacional, con la integración de 13 participantes para la calibración de pipetas de pistón [4]. El objetivo del estudio piloto del 2010 fue la mejora de la comparabilidad de las mediciones para la calibración de las pipetas de pistón.

Además, se incorporaron en la Directriz los resultados de otros estudios sobre las influencias ambientales en el resultado del volumen entregado [2, 3, 5].

|   |   |           |         |
|---|---|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |   | Edición:  | 12/2011 |
|   |   | Revisión: | 0       |
|   |   | Página:   | 6       |

## 1. Objeto y ámbito de aplicación

Esta Directriz define los requisitos mínimos para el método de calibración, incluyendo la observación de influencias especiales y de las contribuciones a la incertidumbre de medida al calibrar pipetas de pistón con cámara de aire\*. La Directriz no se ocupa de las pipetas sin cámara de aire (de desplazamiento directo).


Se aplica a la calibración de:

- pipetas de pistón monocanal de volumen fijo
- pipetas de pistón monocanal de volumen variable
- pipetas de pistón multicanal

\* En esta Directriz el término de “pipetas de pistón con cámara de aire” se simplifica para nombrarse como “pipetas de pistón”.

### Normas y reglamentaciones relacionadas


|                                |  |
|--------------------------------|--|
| DIN EN ISO 8655 partes 1, 2, 6 | Volumenmessgeräte mit Hubkolben<br>(Aparatos volumétricos accionados mediante pistón)  |
| ISO/TR 20461                   | Determination of uncertainty for volume measurements made using the gravimetric method, November 2000“<br>(Determinación de la incertidumbre de medidas volumétricas usando el método gravimétrico, noviembre de 2000)                           |
| JCGM 100: 2008                 | Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement, September 2008<br>(Evaluación de los datos de medición – Guía para la expresión de la incertidumbre de medida”, septiembre de 2008)                      |
| EURAMET/cg-18                  | Guidelines on the Calibration of Non-Automatic Weighing Instruments, March 2011<br>(Guía para la calibración de los instrumentos para pesar de funcionamiento no automático”, marzo de 2011)   |
| EURAMET/cg-19                  | Guidelines on the determination of uncertainty in gravimetric volume calibration, Version 2.0, March 2011<br>(Guía para la determinación de la incertidumbre de medida en la calibración gravimétrica de volúmenes”, versión 2.0, marzo de 2011) |
| DIN ISO 3696                   | Wasser für analytische Zwecke, Juni 1991<br>(Agua para uso en laboratorios analíticos, junio de 1991)  |
| DAkKS-DKD-3                    | Angabe der Messunsicherheit bei Kalibrierungen, 2010<br>(Indicación de la incertidumbre de medida en calibraciones, 2010)  |

|   |  |           |         |
|---|--|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con<br>cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |  | Edición:  | 12/2011 |
|   |  | Revisión: | 0       |
|   |  | Página:   | 7       |

## 2 Símbolos

### 2.1 Abreviaturas y símbolos de fórmula

| Abreviaturas/<br>símbolos de fórmula | Explicación   |
|--------------------------------------|---|
| $a_0, \dots, a_4$                    | Constantes (escala de temperatura ITS 90) para el cálculo de la densidad del agua.                              |
| $c$                                  | Coeficiente de sensibilidad   |
| $CV$                                 | Error aleatorio indicado como coeficiente de variación en forma de porcentaje                                   |
| $e_s$                                | Error sistemático   |
| $g$                                  | Aceleración de la gravedad  |
| $h_w$                                | Altura de la columna de líquido en la punta de la pipeta  |
| $i$                                  | Índice numérico   |
| $k_{1,\dots,k_3}$                    | Constantes (escala de temperatura ITS-90) para el cálculo de la densidad del aire                               |
| $m$                                  | Masa del líquido de prueba correspondiente a la diferencia de las lecturas de la balanza                        |
| $m_E$                                | Pérdida de masa debido a la evaporación   |
| $n$                                  | Número de mediciones individuales   |
| $p_L$                                | Presión atmosférica   |
| $s$                                  | Error aleatorio   |
| $t_w$                                | Temperatura del líquido de prueba   |
| $t_L$                                | Temperatura del aire durante el pesaje  |
| $t_{L0}$                             | 273.15 K  |
| $t_M$                                | Temperatura de la pipeta de pistón durante la medición  |
| $t_{M20}$                            | Temperatura de referencia de la pipeta de pistón de 20 °C   |
| $u$                                  | Incertidumbre típica de medida  |
| $U$                                  | Incertidumbre expandida de medida ( $k=2$ )   |
| $V_0$                                | Volumen nominal   |
| $V_S$                                | Volumen seleccionado  |
| $V_{20}$                             | Volumen a la temperatura de referencia de 20 °C   |
| $V_T$                                | Volumen de la cámara de aire (volumen muerto)   |
| $Z$                                  | Factor de corrección que describe la relación entre el volumen y la masa determinada por la balanza             |
| $\rho_L$                             | Densidad del aire   |
| $\rho_w$                             | Densidad del agua utilizada como líquido de prueba  |
| $\rho_G$                             | Densidad de las pesas utilizadas para la calibración de la balanza (puede tomarse como 8000 kg/m <sup>3</sup> ) |
| $\phi$                               | Humedad relativa del aire   |
| $\gamma$                             | Coeficiente de expansión cúbico del material del que está fabricado la pipeta de pistón                         |

|   |   |           |         |
|---|---|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |   | Edición:  | 12/2011 |
|   |   | Revisión: | 0       |
|   |   | Página:   | 8       |

## 2.2 Unidades

| Unidades          | Explicación                 |
|-------------------|-----------------------------|
| µL                | microlitro                  |
| mL                | mililitro                   |
| g                 | gramo                       |
| mg                | miligramo                   |
| K                 | kelvin                      |
| °C                | grado Celsius               |
| hPa               | hectopascal                 |
| %                 | porcentaje humedad relativa |
| g/cm <sup>3</sup> | gramo por centímetro cúbico |
| µL/mg             | microlitro por miligramo    |

## 3. Definiciones

### ***Certificado de calibración:***

Los certificados de calibración documentan los resultados de las calibraciones, incluyendo su incertidumbre de medida. La expresión “certificado de calibración” en la presente Directriz se aplica en forma limitada para los siguientes documentos:

- Certificados de calibración de laboratorios de calibración cuyos organismos de acreditación son firmantes del acuerdo de reconocimiento mutuo de ILAC (ver [www.ilac.org](http://www.ilac.org))
- Certificados de calibración de Institutos Nacionales de Metrología con CMCs registradas (anexo C del Acuerdo de Reconocimiento Mutuo del CIPM, ver [www.bipm.org](http://www.bipm.org))

Las siguientes definiciones se toman de la norma DIN EN ISO 8655-1.

### ***Pipetas de pistón:***

Las pipetas de pistón son aparatos volumétricos utilizados para aspirar y entregar cantidades fijas o variables de líquidos. Las pipetas de pistón monocal canal tienen un solo conjunto pistón/cilindro. Las pipetas de pistón multicanal tienen un conjunto de pistón/cilindro para cada canal; se puede entregar el mismo volumen de líquido en diferentes recipientes al mismo tiempo. Se diferencia entre pipetas de pistón con o sin cámara de aire (pipeta de desplazamiento de aire y pipeta de desplazamiento positivo).


### ***Volumen nominal:***

El volumen nominal ( $V_0$ ) de un aparato volumétrico es el volumen establecido por el fabricante para la identificación y la indicación del intervalo de medida. En las pipetas de pistón multicanal se indica el volumen nominal para cada canal.

### ***Intervalo de volumen útil:***

El intervalo de volumen útil de un aparato volumétrico de volumen variable es un sub-intervalo del volumen nominal; dentro de este sub-intervalo se pueden entregar volúmenes cumpliendo con los límites de error permisibles establecidos en la norma internacional ISO 8655. El límite superior del volumen útil es siempre el volumen nominal. Salvo que el fabricante establezca algo diferente, el límite inferior es el 10% del volumen nominal.



|   |   |           |         |
|---|---|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |   | Edición:  | 12/2011 |
|   |   | Revisión: | 0       |
|   |   | Página:   | 9       |

#### **Volumen seleccionado:**

El volumen seleccionado ( $V_S$ ) de un aparato volumétrico de volumen variable es el volumen ajustado por el usuario para entregar un volumen seleccionado dentro del intervalo de volumen útil de una pipeta de pistón. En los aparatos volumétricos de volumen fijo, el volumen seleccionado corresponde con el volumen nominal.

#### **Volumen de la cámara de aire (volumen muerto):**

El volumen de la cámara de aire ( $V_i$ ) es el espacio geométrico entre el pistón y la abertura de la punta de la pipeta. La expansión del volumen de aire de la cámara está determinada por el primer tope del pistón en la pipeta.

### **4. Objetivo de la calibración**

La calibración de pipetas de pistón con cámara de aire se realiza para determinar la desviación del volumen entregado del volumen de prueba seleccionado. La precisión metrológica, incluyendo el análisis de la incertidumbre de medida de los resultados obtenidos, es decisiva para cumplir con los requisitos metrológicos relevantes para la calidad en medicina, farmacia, etc. Para ello debe asegurarse la trazabilidad metrológica a patrones nacionales o internacionales.

*De acuerdo con la norma DIN EN ISO/IEC 17025:2005 la comparabilidad de los resultados de calibración se garantiza a través de mediciones comparativas/intercomparaciones nacionales e internacionales.*


### **5. Requisitos generales para la aptitud de calibración de pipetas de pistón con cámara de aire**

Los requisitos generales para la aptitud de calibración de pipetas de pistón con cámara de aire se pueden dividir en tres grupos:

- Requisitos de la norma DIN EN ISO 8655
- Requisitos provenientes de las informaciones del fabricante sobre el producto
- Requisitos adicionales que se desprenden de la práctica común

#### **5.1 Requisitos de la norma DIN EN ISO 8655**

Para estos requisitos vea las partes 1, 2 y 6 de la norma DIN EN ISO 8655.

|   |   |           |         |
|---|---|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |   | Edición:  | 12/2011 |
|   |   | Revisión: | 0       |
|   |   | Página:   | 10      |

## 5.2 Requisitos provenientes de las informaciones del fabricante sobre el producto

Estos requisitos varían en función de la especificación y de la cantidad de información sobre el producto de cada fabricante. Entre los requisitos más importantes están:

- Indicaciones sobre la factibilidad de esterilización de las pipetas de pistón y de sus piezas de recambio
- Indicaciones sobre la operación, exclusiones de uso, el cuidado, la limpieza y el mantenimiento
- Indicación de una especificación del fabricante con las tolerancias permitidas para los errores aleatorios y sistemáticos con referencia al ajuste (In/Ex y temperatura de referencia)
- Indicación de las puntas de pipeta a utilizar aprobadas


## 5.3 Requisitos provenientes de la observación de la actividad de calibración

Los requisitos que se desprenden de la práctica común se refieren especialmente al uso inmediato de la pipeta de pistón. Esto incluye, entre otros:

- rotulación de la pipeta de pistón con
  - número de serie u otro número de identificación unívoco
  - volumen nominal (pipeta de pistón de volumen fijo)
  - intervalo del volumen (pipeta de pistón de volumen variable)
  - indicación de la unidad de medida, por ejemplo “ $\mu\text{L}$ ” o “mL”
  - indicación del tipo y del fabricante
- que no tenga daños internos ni externos, por ejemplo
  - fisuras, grietas
  - un desajuste involuntario del mecanismo contador en pipetas de pistón de volumen variable
  - punta de la pipeta deformada, rayada o muy sucia
- que no haya restos de líquido y partículas de suciedad dentro de la pipeta de pistón
- que tenga un sellado seguro y completo del pistón

A ello se agregan los requisitos para las puntas de las pipetas o el sistema pipeta de pistón/punta de la pipeta:

- utilización de puntas originales del fabricante o de puntas aprobadas por el fabricante
- estabilidad suficiente del asiento de la punta sobre el cono de la pipeta
- sellado ajustado y seguro sobre el cono de la pipeta
- las puntas deben asegurar una descarga continua del líquido
- las puntas deben tener una boca uniforme
- el líquido de prueba (agua) debe poder entregarse sin residuos

|   |   |           |         |
|---|---|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |   | Edición:  | 12/2011 |
|   |   | Revisión: | 0       |
|   |   | Página:   | 11      |

En determinados casos puede ser razonable realizar una calibración en el estado de entrega (“tal como se encuentra”), en el cual no se cumple con todos los criterios de la calibración.

## 6. Condiciones ambientales

La calibración debe realizarse a temperaturas ambientales constantes.  
Las condiciones ambientales

- temperatura del aire
- humedad relativa del aire
- presión atmosférica\*

tienen influencia sobre

- la técnica de pesaje
- el objeto a calibrar / la pipeta de pistón
- el líquido de prueba

y por lo tanto tienen una influencia importante sobre el resultado de calibración de las pipetas de pistón y los correspondientes presupuestos de incertidumbre de medida.

El mantenimiento de las condiciones ambientales establecidas mediante el uso de aire acondicionado es una condición previa importante para una calibración correcta desde el punto de vista metrológico.

La calibración debe realizarse después del equilibrio de la temperatura entre el objeto a calibrar y el medio ambiente. Se debe considerar un tiempo de adaptación del objeto a calibrar de al menos 2 horas.

Se deben registrar las condiciones ambientales.


Durante la calibración se deben monitorizar también las variaciones de las condiciones ambientales. En caso de desviaciones, deben corregirse la temperatura del aire, la humedad relativa del aire y la presión atmosférica.

\* El valor de la presión atmosférica actual se usa para el cálculo de la densidad del aire. Adicionalmente, se debe tomar en cuenta la dependencia entre la presión atmosférica y la altitud del lugar [2].

## 7. Procedimiento de calibración

La calibración de las pipetas de pistón se realiza usando el método gravimétrico según la norma DIN EN ISO 8655-6.

En este procedimiento, la masa del volumen de líquido se determina a partir de la lectura de la balanza, teniendo en cuenta el empuje del aire, y se convierte en volumen tomando en cuenta la densidad del agua. La trazabilidad metrológica del volumen se obtiene por lo tanto usando la masa como patrón de referencia.

|   |   |           |         |
|---|---|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |   | Edición:  | 12/2011 |
|   |   | Revisión: | 0       |
|   |   | Página:   | 12      |

Una calibración completa contiene el registro de 10 valores de medición por volumen de prueba y canal de la pipeta.

Los equipos de medición son balanzas analíticas con los accesorios correspondientes (por ejemplo recipiente de pesado, trampa de evaporación, protección contra corrientes de aire, etc.), modificados especialmente para la calibración de pipetas y que se ofrecen conjuntamente con un software de calibración.

Como líquido de prueba para el método gravimétrico según DIN EN ISO 8655-6 se requiere agua de la calidad 3 según DIN ISO 3696.

## 7.1 Objetos a calibrar

Los objetos a calibrar se clasifican como pipetas de pistón monocanal o multicanal con cámara de aire. Las pipetas de pistón monocanal están disponibles como aparatos volumétricos de volumen fijo o variable.

Las pipetas de pistón multicanal se fabrican con volumen variable.

Las pipetas de pistón monocanal y multicanal pueden operar en forma electrónica o manual.

Las pipetas de pistón se encuentran disponibles con distintos intervalos de medida.

Ejemplos típicos son:

### Pipetas de pistón monocanal de volumen fijo

10  $\mu\text{L}$   
 20  $\mu\text{L}$   
 50  $\mu\text{L}$   
 100  $\mu\text{L}$   
 200  $\mu\text{L}$   
 250  $\mu\text{L}$   
 500  $\mu\text{L}$   
 1000  $\mu\text{L}$   
 2500  $\mu\text{L}$

### Pipetas de pistón monocanal de volumen variable

0.1  $\mu\text{L}$  a 2.5  $\mu\text{L}$   
 0.5  $\mu\text{L}$  a 10  $\mu\text{L}$   
 2  $\mu\text{L}$  a 20  $\mu\text{L}$   
 10  $\mu\text{L}$  a 100  $\mu\text{L}$   
 20  $\mu\text{L}$  a 200  $\mu\text{L}$   
 50  $\mu\text{L}$  a 200  $\mu\text{L}$   
 100  $\mu\text{L}$  a 1000  $\mu\text{L}$   
 500  $\mu\text{L}$  a 2500  $\mu\text{L}$   
 500  $\mu\text{L}$  a 5000  $\mu\text{L}$   
 1000  $\mu\text{L}$  a 10000  $\mu\text{L}$


### Pipetas de pistón multicanal

0.5  $\mu\text{L}$  a 10  $\mu\text{L}$   
 5  $\mu\text{L}$  a 50  $\mu\text{L}$   
 10  $\mu\text{L}$  a 100  $\mu\text{L}$   
 25  $\mu\text{L}$  a 250  $\mu\text{L}$   
 30  $\mu\text{L}$  a 300  $\mu\text{L}$   
 50  $\mu\text{L}$  a 300  $\mu\text{L}$   
 100  $\mu\text{L}$  a 1200  $\mu\text{L}$

También se encuentran otros volúmenes o intervalos de medida intermedios, que se utilizan en la práctica.

## 7.2 Puntas de pipeta - accesorios para la entrega

Para la entrega de volúmenes mediante pipetas de pistón se utilizan puntas de pipeta que se insertan sobre la pipeta. Solamente deben emplearse puntas de pipeta no utilizadas y autorizadas por el fabricante. Al igual que las pipetas de pistón, las puntas de pipeta deben guardarse al menos dos horas en la sala de medida antes del comienzo de la calibración.

|   |   |           |         |
|---|---|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |   | Edición:  | 12/2011 |
|   |   | Revisión: | 0       |
|   |   | Página:   | 13      |

Según la norma DIN EN ISO 8655-2, se recomienda un cambio de punta después de cada medición individual. Sin embargo, pueden establecerse excepciones a esta regla. Esto significa que de acuerdo con ésta Directriz, la calibración de una pipeta puede realizarse con una punta de pipeta por canal. Pero igualmente la cámara debe pre-humidificarse 5 veces al comienzo de la calibración. También debería realizarse una humidificación previa cuando se cambia el volumen (ajuste de un nuevo volumen de prueba).

Cuando quedan restos en la punta, definitivamente se debe reemplazar la punta.

En el caso de que sea necesario reemplazar la punta, esta nueva punta de pipeta también debe pre-humidificarse 5 veces.

Cuando se trabaje de acuerdo con la recomendación de la norma DIN EN ISO 8655, haciendo el cambio de puntas, esto debe ser documentado en el certificado de calibración.

### 7.3 Indicaciones adicionales para la calibración (complementarias a las de la norma DIN EN ISO 8655-6)

Después de haber aspirado el agua y de haber respetado el tiempo de espera, la pipeta debe extraerse verticalmente del líquido, de forma suave y, al principio lentamente, sin tocar la pared del recipiente.

Cuando el pistón regresa después de hacer la descarga, la punta de la pipeta no debe estar demasiado cerca sobre el recipiente de pesaje o bien del recipiente con el líquido. Así se asegura que no se vuelve a aspirar ningún resto del líquido ni de aire húmedo de la pared del recipiente de pesaje.


La calibración debería iniciarse con el volumen parcial más pequeño (aproximadamente el 10% del volumen nominal).

Se deberían respetar las siguientes profundidades de inmersión y tiempos de espera:

| Intervalo de volumen | Profundidad de inmersión en mm | Tiempo de espera en s |
|----------------------|--------------------------------|-----------------------|
| 0.1 µL – 1 µL        | 1 - 2                          | 1                     |
| > 1 µL – 100 µL      | 2 - 3                          | 1                     |
| > 100 µL – 1 000 µL  | 2 - 4                          | 1                     |
| > 1 000 µL           | 3 - 6                          | 3                     |

## 8. Incertidumbre de medida

La incertidumbre de medida es un valor característico que debe indicarse conjuntamente con el resultado de medida. La incertidumbre de medida está determinada por el método de medida y está asociada al resultado de medida. La incertidumbre de medida caracteriza un intervalo de valores que, debido a la medición, puede ser razonablemente atribuido al mensurando. El cálculo de la incertidumbre de medida se realiza básicamente siguiendo la Guía internacional JCGM 100 "Evaluation of Measurement Data – Guide to the expression of

|   |  |           |         |
|---|--|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con<br>cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |  | Edición:  | 12/2011 |
|   |  | Revisión: | 0       |
|   |  | Página:   | 14      |

uncertainty in measurement” (Evaluación de los datos de medida - guía para la expresión de la incertidumbre de medida) o bien la Guía DAkKS-DKD-3.

Se debe describir adecuadamente la dependencia de la incertidumbre de medida dentro de un intervalo de volumen. Para ello se toma el volumen nominal como base y los intervalos de volumen deben seleccionarse en relación a los distintos intervalos de medida de una manera técnica (ver 7.1).

Una indicación en unidades absolutas de volumen, en una subdivisión muy estrecha de los intervalos de volumen, no es suficientemente exacta y no es práctica. O sea, la correlación entre el volumen nominal y la incertidumbre de medida no está dada para todo el intervalo. La indicación de la incertidumbre de medida debería realizarse en forma de porcentaje. Se debe indicar la incertidumbre de medida de los volúmenes parciales (ver 9).

Al preparar el presupuesto de la incertidumbre de medida se debe tomar en cuenta la ISO/TR 20461, usada para la determinación de la incertidumbre de medida según el método gravimétrico.

De acuerdo con la ISO/TR 20461, el volumen para la temperatura de referencia de 20 °C se calcula de la siguiente manera:

$$V_{20} = \frac{m}{\rho_G} \cdot \frac{\rho_G - \rho_L}{\rho_W - \rho_L} \cdot [1 - \gamma(t_M - t_{M20})] \quad (1)$$

Además, se deben tomar en cuenta las fórmulas de cálculo para la densidad del agua y la densidad del aire. Para la incertidumbre típica de medida se tiene el siguiente modelo de ecuación:

$$u^2(V_{20}) = \left(\frac{\partial V_{20}}{\partial m}\right)^2 \cdot u^2(m) + \left(\frac{\partial V_{20}}{\partial t_w}\right)^2 \cdot u^2(t_w) + \left(\frac{\partial V_{20}}{\partial t_L}\right)^2 \cdot u^2(t_L) + \left(\frac{\partial V_{20}}{\partial p_L}\right)^2 \cdot u^2(p_L) + \dots (2)$$

En el siguiente diagrama de causa-efecto se muestra una amplia representación de todos los factores de influencia sobre la incertidumbre de medida tomados en cuenta en esta Guía.

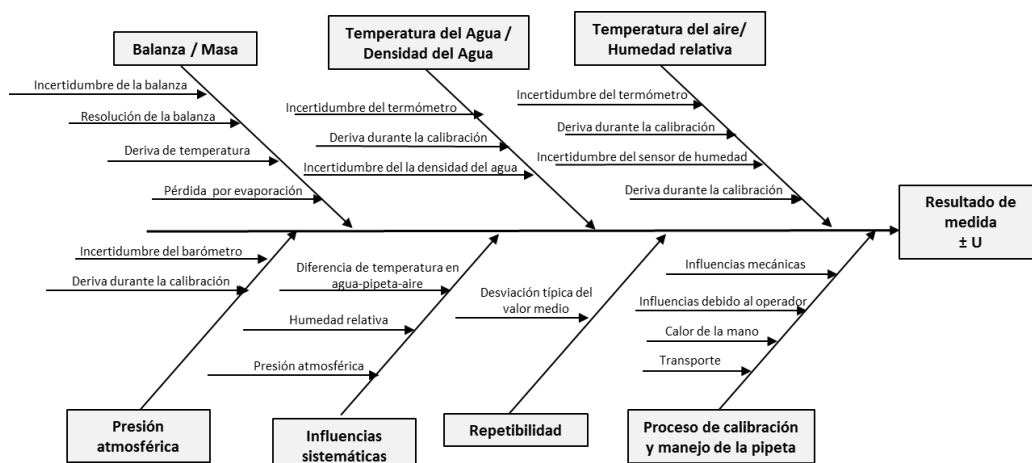



Fig. 1: Influencias sobre la incertidumbre de medida durante la calibración de pipetas de pistón

|   |   |           |         |
|---|---|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |   | Edición:  | 12/2011 |
|   |   | Revisión: | 0       |
|   |   | Página:   | 15      |

## 8.1 Generalidades

Los presupuestos de incertidumbre de medida acreditados para las magnitudes y procedimientos de calibración conforman la condición previa para garantizar la comparabilidad de resultados de medida incluso más allá de los límites internacionales.

El presupuesto de incertidumbre de medida para el método gravimétrico de calibración de pipetas de pistón incluye:

- la optimización y la definición del procedimiento de calibración
- la definición de condiciones ambientales concretas
- la evaluación metrológica de los distintos objetos de calibración de diferentes fabricantes de equipos
- tomar en cuenta la “contribución por el proceso de calibración y manejo de la pipeta”

La contribución por el proceso de calibración y manejo de la pipeta depende del operador y del diseño de las pipetas de pistón, por ejemplo, si es una pipeta monocal o multical. Este aporte a la incertidumbre de medida está compuesto por contribuciones aleatorias y sistemáticas.

Si no se pueden determinar exactamente las influencias individuales del resultado de calibración y su incertidumbre de medida, se deberá estimar y tomar en cuenta la contribución máxima posible a la incertidumbre. La base/fuente para esta estimación deberá ser indicada.

En lo posible deben describirse en forma completa las condiciones de medida de la calibración, ya que las incertidumbres de medida también dependen de las condiciones de uso.

En el caso de mediciones comparativas, se deben especificar las condiciones de calibración para asegurar la comparabilidad de los resultados de medida.


Las incertidumbres de medida descritas a continuación serán incorporadas a partir de ahora al anexo del certificado de acreditación como base para la “menor incertidumbre de medida asignable”.

La “menor incertidumbre de medida asignable” se puede alcanzar cuando todas las condiciones detalladas a continuación se observan estrictamente. En caso de que esto no se pueda cumplir, la incertidumbre de medida debe ajustarse correspondientemente y se deben tomar en cuenta las contribuciones adicionales en el presupuesto de incertidumbre de medida (ver también [2]). En consecuencia, la incertidumbre real obtenida puede ser mayor.

## 8.2 Contribución a la incertidumbre debido a la balanza

Como regla, se asume que las condiciones ambientales durante la calibración de la balanza y durante la calibración de la pipeta son aproximadamente las mismas.

Se deben conciliar mutuamente la tarea de calibración, el intervalo de medida, la resolución de la balanza y la incertidumbre de medida asociada para asegurar el uso especificado por el usuario, según EURAMET/cg-18.

|   |   |           |         |
|---|---|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |   | Edición:  | 12/2011 |
|   |   | Revisión: | 0       |
|   |   | Página:   | 16      |

La balanza debería calibrarse en forma específica para el uso pretendido por el usuario, por ejemplo, el intervalo de calibración de la pipeta debería corresponder con el intervalo de calibración de la balanza.

Se debe prestar atención a que el “cero” no es un punto de medición verdadero. Cuando el fabricante no indica una carga mínima, la calibración debería iniciarse con  $\geq 1$  mg.

Se debe asegurar la calibración de la balanza según EURAMET/cg-18 antes de calibrar las pipetas de pistón. De esta forma se garantiza que el certificado de calibración vigente incluye las contribuciones asociadas con el proceso de pesaje: resolución de la balanza, repetibilidad, excentricidad y no-linealidad.

El certificado de calibración de la balanza utilizada es la base para las demás consideraciones de incertidumbre de medida del método gravimétrico.

La contribución a la incertidumbre de medida debido a la “lectura” o por “resolución de la balanza”, respectivamente, se tiene que considerar dos veces en el presupuesto de incertidumbre de medida (peso de la tara y peso bruto). El resultado del pesaje es la diferencia de los valores indicados.

Otra fuente que se debe tomar en cuenta es la influencia de la temperatura ambiente de acuerdo con las indicaciones del fabricante. Esta contribución puede extraerse de las especificaciones del fabricante.

Otra fuente adicional surge de las derivas de la balanza por envejecimiento y desgaste. Esta influencia se puede determinar mediante verificaciones intermedias o por recalibración. Por lo tanto, es posible tener en cuenta esta fuente después de observaciones a largo plazo y se pueden sacar las conclusiones correspondientes.

Como la calibración de las pipetas de pistón se realiza según el método gravimétrico, es de gran importancia la observación regular de la balanza. De aquí se desprende la realización de verificaciones intermedias con pesas calibradas adecuadas (certificado de calibración) dentro del plazo de validez de la calibración.

Durante el proceso de entrega con pipetas de pistón hay superficies de líquido abiertas, por lo que debería tenerse en cuenta como fuente la pérdida por evaporación. La pérdida por evaporación se puede determinar o bien se puede estimar sobre la base de la experiencia propia, referida al volumen de la pipeta.

Para minimizar la influencia de la evaporación, las balanzas modernas para la calibración de pipetas de pistón están equipadas con trampas de evaporación.


### **8.3 Contribuciones a la incertidumbre de medida debidas a la temperatura/ densidad del agua**

Para la calibración de pipetas de pistón se utiliza como líquido de prueba agua destilada o desionizada. El agua debe ser como mínimo de calidad 3 según DIN ISO 3696 (conductividad electrolítica  $< 5 \mu\text{S}/\text{cm}$ ).

Antes y durante la calibración se debe asegurar que el agua utilizada no tenga burbujas y esté a la temperatura del aire (con una desviación  $< 0.5$  K).

Cuando se hacen mediciones para una comparación/intercomparación o bien en el caso de indicar la menor incertidumbre de medida asignable, debería observarse un límite más cerrado de 0.2 K.



|   |   |           |         |
|---|---|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |   | Edición:  | 12/2011 |
|   |   | Revisión: | 0       |
|   |   | Página:   | 17      |

En todos los otros casos, la incertidumbre de medida se debe adaptar correspondientemente.

La temperatura del aire debe elegirse en el intervalo de 20 °C a 25 °C. En países con la temperatura de referencia de 27 °C, el intervalo de temperatura puede adaptarse correspondientemente. Deben tomarse medidas para prevenir el enfriamiento por evaporación, por ejemplo tapando el recipiente o usando un termostato.

El cumplimiento de las condiciones ambientales indicadas para la “temperatura del aire/humedad relativa” durante la calibración se asegura mediante un sistema adecuado de aire acondicionado. Debido a esto, la estabilidad de la temperatura del agua se ve influenciada positivamente.

La temperatura del líquido de prueba (agua) se determina con un termómetro calibrado. El presupuesto de la incertidumbre de medida va a incluir la incertidumbre del termómetro y la variación de la temperatura del agua durante la calibración.

Se puede despreciar la influencia de la temperatura en el recipiente de pesaje.

La incertidumbre para el cálculo de la densidad del agua según [6] se estima en  $10 \cdot 10^{-6}$ , dado que no se conoce la relación exacta de isótopos y de contenido de gases disueltos. La densidad del agua se requiere para calcular el volumen del líquido de prueba.

#### **8.4 Contribución a la incertidumbre de medida debido a la temperatura del aire y la humedad relativa del aire**

En la calibración de pipetas de pistón, las condiciones ambientales “temperatura del aire” y “humedad relativa” se establecen en parámetros especificados mediante el aire acondicionado. Los datos de medición de las condiciones ambientales se registran y documentan usando termómetros y sensores de humedad adecuadamente calibrados.

La densidad del aire puede calcularse con la ecuación (4) de la EURAMET/cg-19.


En un estudio experimental [4] se demostró que las variaciones de la temperatura del aire durante la calibración deberían ser menores a 0.5 K. La temperatura del agua debería ajustarse a la temperatura del aire (ver sección 8.3).

La humedad relativa del aire debería ser del 45% al 60%. Humedades de aire menores producen una reducción de los volúmenes medidos.

*La calibración de pipetas de pistón con las incertidumbres de medida mínimas asignables obliga a mantener las condiciones ambientales dentro de límites de tolerancia pequeños.*

La temperatura del aire y la humedad relativa influyen también en el volumen entregado por la pipeta (ver sección 8.7).

Por tal motivo, la deriva de la temperatura del aire durante la calibración y la deriva de la humedad del aire no deberían superar los 0.5 K y el 5%, respectivamente.

|   |   |           |         |
|---|---|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |   | Edición:  | 12/2011 |
|   |   | Revisión: | 0       |
|   |   | Página:   | 18      |

## 8.5 Contribución a la incertidumbre de medida debido a la presión atmosférica

La presión atmosférica debería registrarse y documentarse usando un barómetro de precisión calibrado. La presión atmosférica es una magnitud necesaria para el cálculo de la densidad del aire y con ello del volumen. El barómetro de precisión utilizado debería tener una resolución de 1 hPa o mejor.

La presión atmosférica influye también sobre el volumen entregado por la pipeta (ver sección 8.7).

## 8.6 Dilatación por temperatura del aparato de medida del volumen

Debido a la diferente construcción y diseño de los diferentes tipos de pipetas, el coeficiente de dilatación cúbica no se puede determinar en una forma general.

El coeficiente de dilatación cúbica de una pipeta de pistón está compuesto por el coeficiente de dilatación lineal de las piezas unidas a los toques de la carrera del pistón y por el coeficiente de dilatación de la sección transversal del pistón.

Las propiedades de los materiales, la combinación de los materiales, así como las distintas geometrías y diseños influyen sobre el coeficiente de dilatación cúbica. Pero estas influencias no se pueden representar matemáticamente; por lo tanto, no pueden ser definidas por ninguno de los fabricantes.

*Por tal motivo, el coeficiente de dilatación cúbica se toma en cuenta en el presupuesto de la incertidumbre de medida con el valor "cero".*

Pero entonces el valor de medida se refiere a la temperatura medida durante la medición.

La temperatura de referencia para la calibración de pipetas de pistón es de 20 °C según DIN EN ISO 8655-1.


Si la calibración se realiza con otra temperatura, debe tenerse en cuenta esta desviación (por ejemplo, aumentando la incertidumbre de medida). Para ello debe disponerse de datos en relación a la termo-variabilidad del equipo, por ejemplo por parte del fabricante.

Es indispensable que se garantice un almacenamiento suficientemente largo (como mínimo 2 horas) de las pipetas de pistón con cámara de aire en el laboratorio de calibración. Dado que no es posible medir la temperatura de la pipeta directamente, se considera que la temperatura de la pipeta es igual a la temperatura ambiente. Debe estimarse la contribución a la incertidumbre de medida.

## 8.7 Consideración de las influencias sistemáticas de las pipetas de pistón con cámara de aire durante la calibración

La entrega del volumen de una pipeta de pistón con cámara de aire es un proceso termodinámico que comienza con la inmersión de la punta de la pipeta en el agua y que finaliza con su extracción (separación de la columna de líquido).

Se pueden encontrar explicaciones detalladas en los informes [2] y [5].

|   |   |           |         |
|---|---|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |   | Edición:  | 12/2011 |
|   |   | Revisión: | 0       |
|   |   | Página:   | 19      |

Las influencias dependen especialmente del tamaño de la cámara de aire y de la altura que alcanza el líquido en la punta de la pipeta. Se consideran las siguientes influencias:

- Diferencias de temperatura entre agua – pipeta – aire
- Humedad relativa
- Presión atmosférica

### 8.7.1 Diferencias de temperatura entre agua – pipeta – aire

Las diferencias de temperatura entre el agua, la pipeta y el aire en el sistema/punta de la pipeta tienen una gran influencia sobre el volumen entregado. Estas influencias son contribuciones determinantes en el presupuesto de la incertidumbre de medida.

**La diferencia entre la temperatura del aire y la temperatura del agua durante la calibración debería ser menor de 0.5 K [4].**

Para lograr la menor incertidumbre de medida asignable, o en el caso de mediciones comparativas y ensayos interlaboratorios, la diferencia de temperatura debería ser de 0.2 K máximo. (Sobre este valor se basa el presupuesto de incertidumbre de medida adjunto.)

### 8.7.2 Humedad relativa del aire

La influencia de la humedad relativa del aire es un criterio importante al definir las condiciones ambientales (ver la sección 8.4) y debe ser documentada en el procedimiento de calibración/manual de gestión de la calidad.


La evaporación del líquido de calibración depende directamente de la humedad relativa del aire, dado que durante el proceso de aspiración el líquido se evapora y aún la más pequeña cantidad de líquido evaporado conduce a un desplazamiento de volumen considerable en la cámara de aire (en un factor aproximado de 1250). Esta influencia se reduce pre-humedeciendo cinco veces.

Para lograr la menor incertidumbre de medida asignable o en el caso de mediciones comparativas y ensayos interlaboratorios se debería observar una humedad relativa del aire de  $(50 \pm 5)$  %. (Sobre este valor se basa el presupuesto de incertidumbre de medida adjunto.)

### 8.7.3 Presión atmosférica

Las calibraciones de pipetas de pistón con cámara de aire a diferentes altitudes mostraron tener una influencia significativa sobre los resultados de medida. La influencia de la altura sobre el resultado de medida se discutió en el informe [3] y se confirmó en un estudio experimental.

Ver también el trabajo [2], que sobre la base de un modelo teórico muestra que a una altura mayor se reduce notablemente el volumen entregado debido a la menor densidad del aire.

|   |   |           |         |
|---|---|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |   | Edición:  | 12/2011 |
|   |   | Revisión: | 0       |
|   |   | Página:   | 20      |

Para establecer la comparabilidad de los resultados de las calibraciones deben realizarse correcciones por altura. En el certificado de calibración debe indicarse la presión atmosférica vigente durante la medición.

La variación del volumen que resulta durante la calibración en un lugar X2 (con una presión atmosférica  $p_{L,X2}$ ) frente a un lugar X1 (con la presión atmosférica  $p_{L,X1}$ ) se obtiene con la siguiente fórmula:

$$\Delta V = -V_T \cdot \rho_w \cdot g \cdot h_w \cdot \left( \frac{1}{p_{L,X2} - \rho_w \cdot g \cdot h_w} - \frac{1}{p_{L,X1} - \rho_w \cdot g \cdot h_w} \right) \quad (3)$$

Nota: El valor de la altura que alcanza la columna de líquido en la punta de la pipeta ( $h_w$ ) puede considerarse, en una buena aproximación, igual en ambos lugares.

Para las variaciones de presión atmosférica debido a condiciones meteorológicas generales, se considera una contribución de  $\pm 20$  hPa (distribución triangular) en el presupuesto de incertidumbre de medida. No se realiza ninguna corrección.

## 8.8 Repetibilidad

La repetibilidad se establece como la desviación típica experimental del valor medio de una serie de 10 mediciones individuales. La desviación típica experimental caracteriza a la dispersión de los valores medidos bajo las mismas condiciones de medida durante la calibración de pipetas de pistón y se calcula con la siguiente fórmula:


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

La incertidumbre típica de medida (intervalo de confianza del valor medio) de la repetibilidad se determina utilizando “La evaluación de incertidumbre tipo A” (GUM) y se calcula con la siguiente fórmula (ver también [2]):

$$u(s) = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (5)$$

La desviación típica experimental es aproximadamente un tercio de la tolerancia indicada por el fabricante para la repetibilidad (error aleatorio máximo).

Por regla general, esto conlleva un valor más alto en las pipetas de pistón multicanal que en las pipetas monocanal.

|   |   |           |         |
|---|---|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |   | Edición:  | 12/2011 |
|   |   | Revisión: | 0       |
|   |   | Página:   | 21      |

## 8.9 Contribución por el proceso de calibración y manejo de la pipeta

La contribución mínima debido al “proceso de calibración y manejo de la pipeta” representa un valor que dista de ser despreciable y debería tomarse en cuenta en el presupuesto de incertidumbre de la siguiente manera:

- al menos 0.07% del volumen nominal en las pipetas de pistón monocal de volumen fijo y al menos 0.1% del volumen nominal en la pipetas de pistón monocal de volumen variable así como en las pipetas multicanal (valores empíricos para la incertidumbre típica basados en la experiencia).

Diferentes influencias contribuyen a la incertidumbre por el proceso de calibración y manejo de la pipeta. Las influencias más importantes son:

- Influencias mecánicas
- Influencias debidas al operador
- Calor de la mano
- Transporte

### 8.9.1 Influencias mecánicas


Bajo la expresión “influencias mecánicas” se entienden, entre otras, las siguientes influencias:

- La histéresis del mecanismo contador en las pipetas variables (no en las pipetas electrónicas)
- La reproducibilidad de la carrera del pistón

### 8.9.2 Influencias debidas al operador

Las influencias debidas al operador durante la calibración de pipetas de pistón dependen en gran medida de la experiencia del operador, la que debe desarrollarse y mantenerse mediante la realización de entrenamientos periódicos.

- Tiempo de espera después de la aspiración
- Uniformidad del ritmo de pipeteado
- Ángulo de inclinación de la pipeta durante la aspiración/descarga
- Fuerza de accionamiento (no en las pipetas electrónicas)
- Profundidad de inmersión

|   |   |           |         |
|---|---|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |   | Edición:  | 12/2011 |
|   |   | Revisión: | 0       |
|   |   | Página:   | 22      |

### 8.9.3 Calor de la mano

Otra influencia a considerar es el calor de la mano, que depende individualmente del analista y del diseño de la pipeta. Debido a la posición del pistón en la pipeta de pistón, el calor de la mano tiene su mayor efecto cuando la pipeta está cargada con el volumen nominal.

Para minimizar la influencia del "calor de la mano" debe reducirse al mínimo posible el contacto directo con el objeto a calibrar.

El calor de la mano produce una reducción del volumen (deriva temporal). Si durante la calibración ocurre que el calor de la mano tiene influencia, debe estimarse esta contribución y tenerlo en cuenta en la incertidumbre de medida.

### 8.9.4 Transporte


La influencia del transporte sobre la incertidumbre de medida se refiere solamente al envío en forma correcta de la pipeta de pistón, como por ejemplo las variaciones de temperatura y las vibraciones mecánicas que se producen durante el transporte.

## 9. Presupuestos de la incertidumbre de medida

Nota: En los anexos se adjuntan tres presupuestos de ejemplo.

- Anexo A      Ejemplo de presupuesto de incertidumbre de medida para la calibración de pipetas de pistón de volumen fijo, volumen nominal 1000  $\mu\text{L}$
- Anexo B      Ejemplo de presupuesto de incertidumbre de medida para la calibración de pipetas de pistón de volumen variable, volumen nominal 100  $\mu\text{L}$
- Anexo C      Ejemplo de presupuesto de incertidumbre de medida para la calibración de pipetas de pistón multicanal, volumen nominal 10  $\mu\text{L}$

Los presupuestos de incertidumbre de medida indicados aplican para los volúmenes nominales correspondientes. La incertidumbre expandida de medida para el volumen de prueba medio o bien inferior se calcula con el 75% o bien el 50%, respectivamente, de la incertidumbre expandida de medida del volumen nominal.

|   |   |           |         |
|---|---|-----------|---------|
|  | Calibración de pipetas de pistón con cámara de aire | DKD-R     |         |
|   |   | Edición:  | 12/2011 |
|   |   | Revisión: | 0       |
|   |   | Página:   | 23      |

## 10. Bibliografía

[1] H. WOLF: *“Volumenbestimmung im Mikroliterbereich”* (Determinación de volúmenes en la zona de los microlitros), Physikalisch-Technische Bundesanstalt, informe del PTB PTB-Th Ex-16, Braunschweig, 2001

[2] K.-H. LOCHNER, R. FELDMANN, J. PFOHL: *“Analyse der Einflussgrößen auf die Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster”* (Análisis de las magnitudes de influencia sobre la calibración de pipetas de pistón con cámara de aire), Informe de expertos del DKD-E 8.2, 2013

[3] CHR. SPÄLTI: *“Einfluss der Höhenlage auf das Volumenergebnis einer Kolbenhubpipette mit Luftpolster”* (Influencia de la altura sobre el resultado del volumen de una pipeta de pistón con cámara de aire), Informe de expertos DKD-E 8.3, 2013

[4] B. WERNER, U. BREUEL, N. SCHIERING: *“Experimentelle Studie zur Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster”* (Estudio experimental para la calibración de pipetas de pistón con cámara de aire), Informe de expertos DKD-E 8.1, 2013

[5] K.-H. LOCHNER: *“Untersuchung der Messgenauigkeit von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster”* (Estudio de la exactitud de medida de pipetas de pistón con cámara de aire), Informe de investigación AIF Nro. 9152), Forschungsgemeinschaft für Technisches Glas e.V., 1995

[6] M. TANAKA, G. GIRARD, R. DAVIS, A. PEUTO, N. BIGNELL: *“Recommended table for the density of water between 0 °C and 40 °C based on recent experimental reports”*, (Tabla recomendada para la densidad del agua entre 0 °C y 40 °C basada en informes experimentales recientes); Metrologia 2001, 38, 301-309





Ejemplo de presupuesto de incertidumbre de medida para calibrar pipetas de pistón con cámara de aire y volumen variable

Volumen nominal 100 µl

| Magnitud de entrada<br>$X_i$  | Valor estimado<br>$x_i$ | Miudad del ancho<br>de la<br>distribución<br>$a$ | Distribución<br>de<br>probabilidad<br>$P(x_i)$ | Divisor<br>$k$ | Incertidumbre<br>típica de medida<br>$u(x_i)$ | Coeeficiente de<br>sensibilidad<br>$c_i$ | Contribución<br>incertidumbre<br>$u_i(y)$ |
|---|-------------------------|--|--|----------------|---|--|---|
| <b>Balanza / masa</b>   |                         |  |  |                |   |  |   |
| Incertidumbre de la balanza   | 0 mg                    | 15 µg  | Normal   | 2              | 7,500 µg                                      | 0,001 µl/µg                              | 0,0075 µl                                 |
| Resolución de la balanza (con carga)                                    | 100,059 mg              | 0,5 µg   | Rectangular                                    | $\sqrt{3}$     | 0,289 µg                                      | 0,001 µl/µg                              | 0,0003 µl                                 |
| Resolución de la balanza (sin carga)                                    | 0,000 mg                | 0,5 µg   | Rectangular                                    | $\sqrt{3}$     | 0,289 µg                                      | 0,001 µl/µg                              | 0,0003 µl                                 |
| Deriva de la temperatura  | 0 mg                    | 0,2 K  | Rectangular                                    | $\sqrt{3}$     | 0,115 K                                       | 0,0001 µl/K                              | 1,2E-05 µl                                |
| Pérdida por evaporación   | 0 mg                    | 15 µg  | Rectangular                                    | $\sqrt{3}$     | 8,660 µg                                      | 0,001 µl/µg                              | 0,0087 µl                                 |
| <b>Temperatura / densidad del agua</b>                                  |                         |  |  |                |   |  |   |
| Incertidumbre del termómetro  | 21,70 °C                | 0,012 K  | Normal   | 2              | 0,006 K                                       | 0,021 µl/K                               | 0,0001 µl                                 |
| Deriva durante la calibración   | 0 °C                    | 0,2 K  | Rectangular                                    | $\sqrt{3}$     | 0,115 K                                       | 0,021 µl/K                               | 0,0024 µl                                 |
| Incertidumbre de la densidad del agua                                   | 997,84 kg/m³            | 10 ppm   | Rectangular                                    | $\sqrt{3}$     | 0,00001 mg/µl                                 | -100 µl²/mg                              | -0,0006 µl                                |
| <b>Temperatura del aire</b>   |                         |  |  |                |   |  |   |
| Incertidumbre del termómetro  | 21,8 °C                 | 0,13 K   | Normal   | 2              | 0,065 K                                       | 0,00045 µl/K                             | 2,9E-05 µl                                |
| Deriva durante la calibración   | 0 °C                    | 0,2 K  | Rectangular                                    | $\sqrt{3}$     | 0,115 K                                       | 0,00045 µl/K                             | 5,2E-05 µl                                |
| <b>Presión del aire</b>   |                         |  |  |                |   |  |   |
| Incertidumbre del barómetro   | 1009,0 hPa              | 0,05 hPa   | Normal   | 2              | 0,025 hPa                                     | 0,00012 µl/hPa                           | 3,0E-06 µl                                |
| Deriva durante la calibración   | 0 hPa                   | 1 hPa  | Rectangular                                    | $\sqrt{3}$     | 0,577 hPa                                     | 0,00012 µl/hPa                           | 6,9E-05 µl                                |
| <b>Humedad del aire</b>   |                         |  |  |                |   |  |   |
| Incertidumbre del sensor de humedad                                     | 53 % HR                 | 0,6 % HR   | Normal   | 2              | 0,300 % HR                                    | 0,00001 µl/% HR                          | 3,0E-06 µl                                |
| Deriva durante la calibración   | 0 % HR                  | 5 % HR   | Rectangular                                    | $\sqrt{3}$     | 2,887 % HR                                    | 0,00001 µl/% HR                          | 2,9E-05 µl                                |
| <b>Diferencia de temperat. medio-pipeta-aire</b>                        |                         |  |  |                |   |  |   |
| Deriva durante la calibración   | 0,0 °C                  | 0,2 K  | Rectangular                                    | $\sqrt{3}$     | 0,115 K                                       | 0,22 µl/K                                | 0,0254 µl                                 |
| <b>Humedad del aire</b>   |                         |  |  |                |   |  |   |
| Deriva durante la calibración   | 53 % HR                 | 5 % HR   | Rectangular                                    | $\sqrt{3}$     | 2,887 % HR                                    | 0,007 µl/% HR                            | 0,0202 µl                                 |
| <b>Presión del aire</b>   |                         |  |  |                |   |  |   |
| Deriva durante la calibración   | 1009,0 hPa              | 20 hPa   | Triangular                                     | $\sqrt{6}$     | 8,165 hPa                                     | 0,0012 µl/hPa                            | 0,0098 µl                                 |
| <b>Repetibilidad</b>  |                         |  |  |                |   |  |   |
| Repetibilidad   | 0 mg                    | 0,067 µl   | Normal   | $\sqrt{10}$    | 0,021 µl                                      | 1  | 0,0211 µl                                 |
| <b>Contribución por el proceso de calibración y manejo de la pipeta</b> |                         |  |  |                |   |  |   |
| Contribución por el proceso de calibración y manejo de la pipeta        | 0 mg                    | 0,10 µl  | Rectangular                                    | $\sqrt{3}$     | 0,058 µl                                      | 1  | 0,0577 µl                                 |
| <b>Y (Volumen)</b>  | 100,38 µl               |  |  |                |   |  |   |
|   |                         |  |  |                |   | $u(y) =$                                 | 0,071 µl                                  |
|   |                         |  |  |                |   | $U(y) =$                                 | 0,15 µl                                   |
|   |                         |  |  |                |   | $w(y) =$                                 | 0,07 %                                    |
|   |                         |  |  |                |   | $W(y) =$                                 | 0,15 %                                    |

DKD-R 8-1 Calibración de pipetas de pistón con cámara de aire  
Anexo C

Ejemplo de presupuesto de incertidumbre de medida para calibrar pipetas de pistón multicanal con cámara de aire

Volumen nominal 10 µl

| Magnitud de entrada $X_i$   | Valor estimado $x_i$ | Mitad del ancho de la distribución $a$ | Distribución de probabilidad $P(x_i)$ | Divisor $k$ | Incertidumbre típica de medida $u(x_i)$ | Coefficiente de sensibilidad $c_i$ | Contribución incertidumbre $u_i(y)$ |
|---|----------------------|--|---------------------------------------|-------------|---|------------------------------------|-------------------------------------|
| <b>Balanza / masa</b>   |                      |  |                                       |             |   |                                    |                                     |
| Incertidumbre de la balanza   | 0 mg                 | 15 µg                                  | Normal                                | 2           | 7,500 µg                                | 0,001 µl/µg                        | 0,0075 µl                           |
| Resolución de la balanza (con carga)                                    | 10,010 mg            | 0,5 µg                                 | Rectangular                           | $\sqrt{3}$  | 0,289 µg                                | 0,001 µl/µg                        | 0,0003 µl                           |
| Resolución de la balanza (sin carga)                                    | 0,000 mg             | 0,5 µg                                 | Rectangular                           | $\sqrt{3}$  | 0,289 µg                                | 0,001 µl/µg                        | 0,0003 µl                           |
| Deriva de la temperatura  | 0 mg                 | 0,2 K                                  | Rectangular                           | $\sqrt{3}$  | 0,115 K                                 | 1,0E-05 µl/K                       | 1,2E-06 µl                          |
| Pérdida por evaporación   | 0 mg                 | 10 µg                                  | Rectangular                           | $\sqrt{3}$  | 5,774 µg                                | 0,001 µl/µg                        | 0,0058 µl                           |
| <b>Temperatura / densidad del agua</b>                                  |                      |  |                                       |             |   |                                    |                                     |
| Incertidumbre del termómetro  | 22,20 °C             | 0,012 K                                | Normal                                | 2           | 0,006 K                                 | 0,0021 µl/K                        | 1,3E-05 µl                          |
| Deriva durante la calibración   | 0 °C                 | 0,2 K                                  | Rectangular                           | $\sqrt{3}$  | 0,115 K                                 | 0,0021 µl/K                        | 0,0002 µl                           |
| Incertidumbre de la densidad del agua                                   | 997,72 kg/m³         | 10 ppm                                 | Rectangular                           | $\sqrt{3}$  | 0,00001 mg/µl                           | -10 µl²/mg                         | -0,0001 µl                          |
| <b>Temperatura del aire</b>   |                      |  |                                       |             |   |                                    |                                     |
| Incertidumbre del termómetro  | 22,4 °C              | 0,13 K                                 | Normal                                | 2           | 0,065 K                                 | 0,000045 µl/K                      | 2,9E-06 µl                          |
| Deriva durante la calibración   | 0 °C                 | 0,2 K                                  | Rectangular                           | $\sqrt{3}$  | 0,115 K                                 | 0,000045 µl/K                      | 5,2E-06 µl                          |
| <b>Presión del aire</b>   |                      |  |                                       |             |   |                                    |                                     |
| Incertidumbre del barómetro   | 1009,0 hPa           | 0,05 hPa                               | Normal                                | 2           | 0,025 hPa                               | 0,000012 µl/hPa                    | 3,0E-07 µl                          |
| Deriva durante la calibración   | 0 hPa                | 1 hPa                                  | Rectangular                           | $\sqrt{3}$  | 0,577 hPa                               | 0,000012 µl/hPa                    | 6,9E-06 µl                          |
| <b>Humedad del aire</b>   |                      |  |                                       |             |   |                                    |                                     |
| Incertidumbre del sensor de humedad                                     | 53 % HR              | 0,6 % HR                               | Normal                                | 2           | 0,300 % HR                              | 0,000001 µl/% HR                   | 3,0E-07 µl                          |
| Deriva durante la calibración   | 0 % HR               | 5 % HR                                 | Rectangular                           | $\sqrt{3}$  | 2,887 % HR                              | 0,000001 µl/% HR                   | 2,9E-06 µl                          |
| <b>Diferencia de temperat. medio-pipeta-aire</b>                        |                      |  |                                       |             |   |                                    |                                     |
| Incertidumbre del sensor de temperatura                                 | 0,0 °C               | 0,2 K                                  | Rectangular                           | $\sqrt{3}$  | 0,115 K                                 | 0,019 µl/K                         | 0,0022 µl                           |
| Deriva durante la calibración   | 53 % HR              | 5 % HR                                 | Rectangular                           | $\sqrt{3}$  | 2,887 % HR                              | 0,001 µl/% HR                      | 0,0029 µl                           |
| <b>Humedad del aire</b>   |                      |  |                                       |             |   |                                    |                                     |
| Incertidumbre del sensor de humedad                                     | 1009,0 hPa           | 20 hPa                                 | Triangular                            | $\sqrt{6}$  | 8,165 hPa                               | 0,0003 µl/hPa                      | 0,0024 µl                           |
| Deriva durante la calibración   | 0 mg                 | 0,033 µl                               | Normal                                | $\sqrt{10}$ | 0,011 µl                                | 1                                  | 0,0105 µl                           |
| <b>Repetibilidad</b>  |                      |  |                                       |             |   |                                    |                                     |
| Incertidumbre del sensor de humedad                                     | 0 mg                 | 0,010 µl                               | Rectangular                           | $\sqrt{3}$  | 0,006 µl                                | 1                                  | 0,0058 µl                           |
| <b>Contribución por el proceso de calibración y manejo de la pipeta</b> |                      |  |                                       |             |   |                                    |                                     |
| <b>Y (Volumen)</b>  | 10,040 µl            |  |                                       |             |   |                                    |                                     |
|   |                      |  |                                       |             |   | $u(y) =$                           | 0,016 µl                            |
|   |                      |  |                                       |             |   | $U(y) =$                           | 0,032 µl                            |
|   |                      |  |                                       |             |   | $w(y) =$                           | 0,16 %                              |
|   |                      |  |                                       |             |   | $W(y) =$                           | 0,32 %                              |