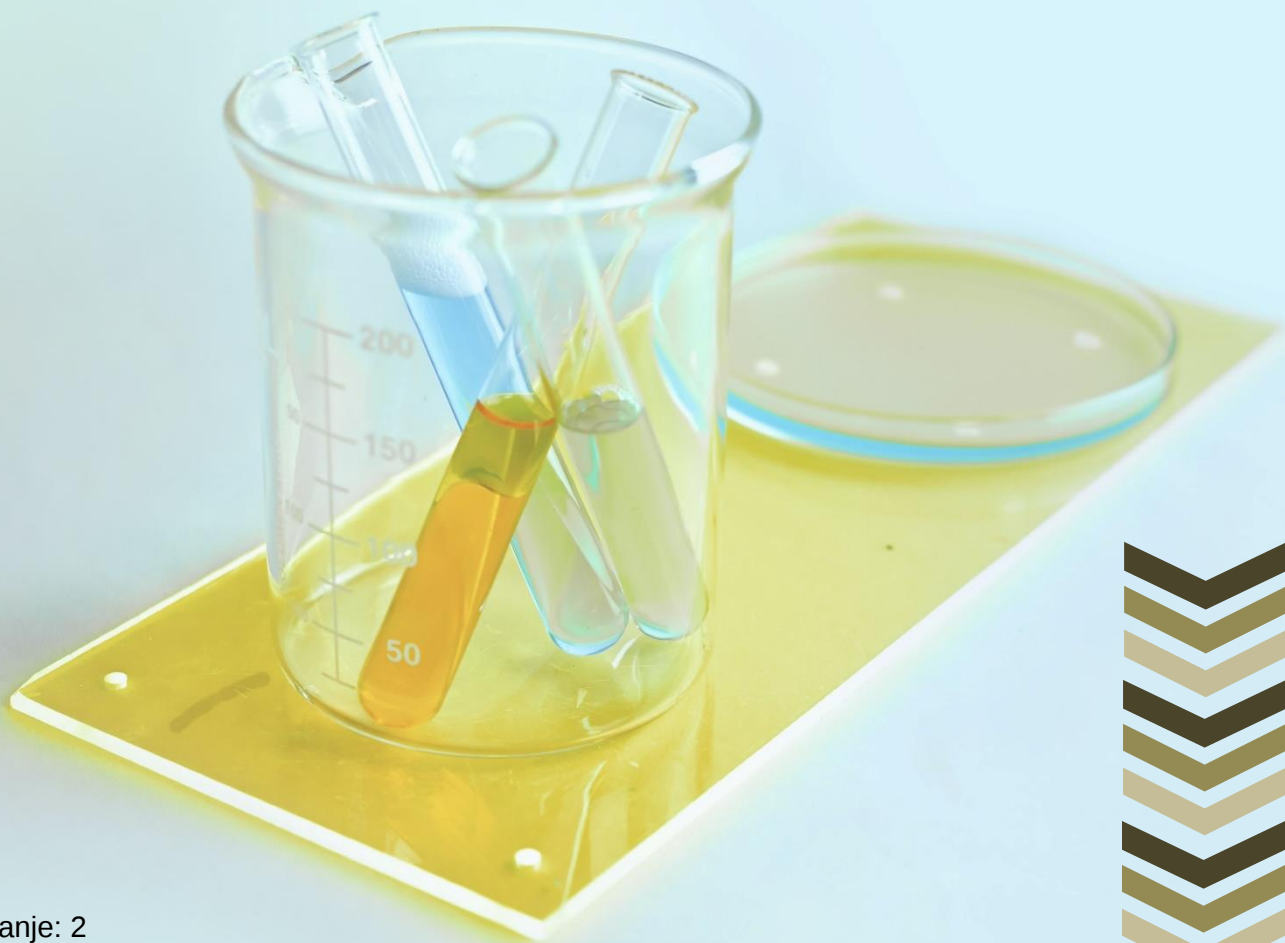
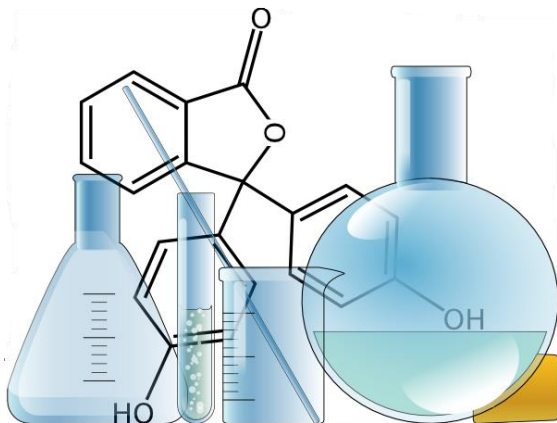




POSEBNA IZDANJA

ZNAČAJ I POTREBA KALIBRACIJE LABORATORIJSKOG POSUĐA I VOLUMETRIJSKIH APARATA SA KLIPOM

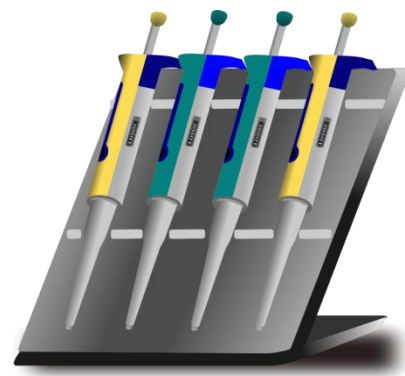




SADRŽAJ:

1. DIO I - LABORATORIJSKO POSUĐE	2
1.1 Opseg	2
1.2 Nazivni volumen	2
1.3 Klasifikacija / upotreba / označavanje	2
1.4 Kalibracija	4
2. DIO II - VOLUMETRIJSKI APARATI SA KLIPOM	6
2.1 Opseg	6
2.2 Nazivni volumen	6
2.3 Klasifikacija / upotreba / označavanje	6
2.4 Kalibracija	7
3. REFERENTNI DOKUMENTI	9
3.1 Standardi	9
3.2 Uputstva i instrukcije	10
3.3 Istraživanja, analize i dobra laboratorijska praksa	11

PRILOG: Interne međuprovjere



UVODNE NAPOMENE

Pouzdanost mjerenja se postiže isključivo (ispravno) kalibriranim mjerilima, a opći zahtjevi u pogledu kalibracije i ostvarivanja sljedivosti za mjerila i mjernu opremu su definirani standardom BAS EN ISO/IEC 17025.

Ovaj dokument sadrži preporuke i uputstva za kalibraciju, odnosno ostvarivanja sljedivosti za laboratorijsko posuđe i volumetrijske aparate sa klipom koje laboratorije koriste kao mjerila i/ili etalone u svom svakodnevnom radu. Značajno je da i vlasnici mjerila budu upoznati i sa procesom i zahtjevima kalibracije kako bi znali šta mogu tražiti, odnosno očekivati od kalibracijskih laboratorija.

Prvi dio ovog dokumenta se odnosi na laboratorijsko stakleno/plastično posuđe, a drugi dio na volumetrijske aparate sa klipom uključujući ručne, elektronske, fiksne, promjenjive, jedno i više-kanalne mikropipete, birete, dispensere, šprice itd.

U okviru uvodnih napomena važno je naglasiti slijedeće:

- Vlasnici mjerila i kalibracijske laboratorije trebaju prethodno pažljivo komunicirati i dogovoriti način ocjene usklađenosti predmeta kalibracije. Opći zahtjevi u pogledu kalibracije, uključujući i ocjenu usklađenosti koja podrazumijeva i mjernu nesigurnost (Decision Rules), su dati u standardu BAS EN ISO/IEC 17025. S druge strane, karakteristike većine mjerila malog volumena su date u pojedinačnim međunarodnim standardima koji, između ostalog, sadrže i podatke o maksimalno dozvoljenim greškama i koji u procesu ocjene usklađenosti ne uključuju mjernu nesigurnost. Ukoliko kalibracijski laboratorij pruža usluge ocjene usklađenosti koja podrazumijeva i mjernu nesigurnost, vlasnik mjerila može tražiti tu vrstu usluge ali obje strane trebaju biti svjesne činjenice da referentni dokumenti različito pristupaju načinu ocjene usklađenosti predmeta kalibracije.
- Prilikom kupovine novih mjerila proizvođači često dostavljaju i "Certifikat o kalibraciji" koji ne sadrži oznaku (simbol) ILAC MRA / EA MLA / CIPM MRA što znači da laboratorij koji je izdao Certifikat ne posjeduje kompetencije potvrđene od treće strane i da kao takva ne može obezbijediti potrebnu sljedivost rezultata kalibracije. Generalno, ovakvi "Certifikati" predstavljaju kontrolu kvaliteta koju provodi proizvođač na izlazu mjerila iz procesa proizvodnje.
- Vlasnici mjerila se trebaju detaljno upoznati sa opsegom i kalibracijskim i mjernim mogućnostima pojedinih laboratorija i to isključivo uvidom u prilog akreditaciji Instituta za akreditiranje Bosne i Hercegovine (www.bata.gov.ba) ili uvidom u kalibracijske i mjerne mogućnosti (Calibration and Measurement Capabilities – CMC) laboratorija Instituta za mjeriteljstvo Bosne i Hercegovine koje su potvrđene od Međunarodnog biroa za tegove i mjere i uvrštene u bazu podataka ključnih interkomparacija ([BIPM/KCDB/CMC - IMBIH](#)).
- U prilogu ovog dokumenta dat je način interne međuprovjere predmetnih mjerila. Važno je naglasiti da međuprovjere ni u kojem slučaju ne mogu zamijeniti redovne kalibracije, ali rezultati međuprovjera mogu biti korisni za utvrđivanje promjene karakteristika mjerila u vremenu (drift), što može biti korisno pri utvrđivanju perioda rekalkibracije.

1. DIO I - LABORATORIJSKO POSUĐE

1.1 OPSEG

U daljem tekstu izraz "laboratorijsko posuđe" se odnosi na posuđe koje je izrađeno od stakla ili od plastike u koje spadaju, kako slijedi:

- Tikvice sa jednom oznakom,
- Graduirane pipete i pipete sa jednom oznakom,
- Automatske pipete,
- Piknometri,
- Birete,
- Graduirani cilindri (menzure).

1.2 NAZIVNI VOLUMEN

Nazivni volumen za laboratorijsko posuđe je volumen koji mjerilo treba da sadrži ("In") ili da isporuči ("Ex") i koji može biti definiran rubom, jednom oznakom ili, u slučaju graduiranog posuđa gdje jedna od linija predstavlja nazivni volumen.

1.3 KLASIFIKACIJA / UPOTREBA / OZNAČAVANJE

1.3.1 Klasifikacija

Komercijalno dostupno laboratorijsko posuđe je obično izrađeno od slijedećih materijala:

- Obično staklo,
- Borosilikatno staklo,
- Termički otporni polimeri,
- Polipropilen (PP),
- Polimetilpenten (PMP).

Generalno, sve volumetrijske posude mogu biti namijenjene da sadrže ili isporučuju nazivni volumen. Svaki tip se dalje dijeli prema tome da li je namijenjen za pojedinačne ili za više volumena, tj. da li ima jednu ili više oznaka.

Laboratorijsko posuđe se prema točnosti svrstava u dvije klase:

- Klasa A, ili
- Klasa B

Razlika između ove dvije klase ogleda se u granicama maksimalno dozvoljene greške, kao što je to dato u relevantnim internacionalnim standardima. Uobičajeno je da su maksimalno dozvoljene greške za klasu B dvostruko veće nego za klasu A.

1.3.2 Upotreba

Laboratorijsko posuđe klase A treba da se koristi samo u slučajevima kada je točnost kritična za izvođenje konkretne metode što znači da takvo posuđe mora biti kalibrirano. U rijetkim slučajevima laboratorijsko posuđe ne mora biti kalibrirano ukoliko naznačena maksimalno dozvoljena greška ne prelazi jednu petinu točnosti mjerenja. Na primjer, ako zahtjev za mjerenjem volumena iznosi $100 \text{ cm}^3 \pm 0.1 \text{ cm}^3$, nema potrebe za upotrebom kalibriranog mjerila ukoliko maksimalno dozvoljena greška takvog mjerila iznosi $1/5$ zahtijevane točnosti, tj. $<0.1/5 \text{ cm}^3$ ($<0.02 \text{ cm}^3$).

Treba imati u vidu da su maksimalno dozvoljene greške laboratorijskog posuđa sa jednom oznakom dosta manje od graduiranih.

Pravila dobre prakse za upotrebu i održavanje su, kako slijedi:

- Preporučuje se da se kalibracija bireta, graduiranih pipeta i menzura izvodi u nekoliko točaka, radije nego u samo jednoj točki koja označava maksimalni volumen.
- Preporučuje se upotreba optičkih pomagala koja, kada je to potrebno, omogućavaju lakše i točnije očitavanje skale ili oznake volumena.
- Laboratorijsko posuđe se koristi i održava tako da se ne ošteti ili učine promjene koje mogu kompromitirati grešku mjerenja iskazanu u certifikatu o kalibraciji.
- Treba izbjegavati visoke temperature (uključujući čišćenje, sušenje, itd.).
- Izbjegavati rastvore, kiseline i soli koje mogu da oštete površinu posuđa.
- Izbjegavati strojno pranje.
- Svako onečišćenje unutar posuđa koje nije moguće ukloniti vodom treba ukloniti odgovarajućim rastvorom prije pranja.
- Treba se pridržavati preporuka proizvođača, posebno ukoliko se radi o plastičnom posuđu.
- Prije upotrebe potrebno je uvijek pažljivo provjeriti da li ima oštećenja /ili stranih materijala u posuđu.
- Treba biti pažljiv sa korištenjem ulja jer eventualno onečišćenje će pored kontaminacije prouzročiti i promjene nazivnog volumena.

Za laboratorijsko posuđe čiji rezultati mjerenja značajno utječu na provođenje metode potrebno je posjedovati validan certifikat o kalibraciji koji je izdao laboratorij sa potvrđenim kompetencijama.

Treba naglasiti da se kalibracija laboratorijskog posuđa provodi vodom poznate gustoće i da je, u osnovi, rezultat kalibracije volumena "dimenziona" veličina (cm^3 , dm^3) što znači da upotreba tekućine koje se značajno razlikuju od vode (viskozitet i/ili površinski napon) može rezultirati značajnim greškama mjerenja. U ovakvim slučajevima preporučuje se gravimetrijska priprema rastvora, ukoliko je primjenjivo.

1.3.3 Označavanje

U skladu sa relevantnim međunarodnim standardima svaki primjerak se označava, kako slijedi:

- 1) *Maksimalno dozvoljena greška*: Klasa A ili B (ne odnosi se na automatske pipete);
- 2) *Volumen*: ml, mL, cm^3 su dozvoljene oznake za jedinicu volumena;
- 3) *Referentna temperatura, odnosno temperatura kalibracije*: Može zavisiti od namjene i/ili upotrebe (obično 20°C);
- 4) *Identifikacijski broj*: Svo laboratorijsko posuđe klase A treba da nosi neizbrisiv identifikacioni broj. Za posuđe klase B identifikacijski broj nije obavezan. U slučaju kada posuđe posjeduje odvojive dijelove koji imaju utjecaj na mjerenje, isti moraju biti numerirani;
- 5) *Vrijeme istakanja i vrijeme okapavanja*: Birete i pipete sa jednom ili više oznaka klase A moraju imati naznačeno vrijeme istakanja a u nekim slučajevima i vrijeme okapavanja, što je propisano relevantnim međunarodnim standardima;
- 6) U skladu sa relevantnim standardima laboratorijsko posuđe mora posjedovati:
 - boju koda (pipete: BAS EN ISO 835, BAS EN ISO 648, a kod treba biti u skladu sa BAS ISO 1769),
 - oznaku ili ime proizvođača,

- oznaku "In" ili "Ex" kojom se definira da li je posuđe namijenjeno da sadrži ili isporuči naznačeni volumen;
- 7) Pipete sa više oznaka "blow-out" tipa moraju imati ugravirani bijeli prsten i oznaku "blow-out".

Postojeće i kalibracijske oznake na posuđu (naljepnice, i sl.) treba da omoguće lako i nedvosmisleno prepoznavanje odgovarajućih certifikata o kalibraciji. Kalibracijske oznake trebaju biti postavljene na način da ne uzrokuju nikakvu štetu na predmetu a oznaka treba biti pozicionirana izvan "kritičnih područja" kao što su oznaka tipa, skala i slično.

Posuđe koje je eventualno kalibrirano za specijalne potrebe ili uvjete treba biti jasno odvojeno od ostalog, "standardno" kalibiranog posuđa.

1.4 KALIBRACIJA

Kao što je prehodno spomenuto, kalibracija posuđa se obavezno radi u slučajevima kada je točnost mjerila od kritičnog značaja za realizaciju konkretne metode analize/ispitivanja/testiranja.

Kalibraciju mora provesti isključivo laboratorij koji ima potvrđene kompetencije od treće strane kroz akreditaciju ili jednakovrijednu proceduru (objavljen CMC) koja može dokazati sljedivost rezultata kalibracije do nacionalnih etalona.

1.4.1 Procedura kalibracije

Kalibracija posuđa mora biti izvršena u skladu sa zahtjevima standarda BAS EN ISO 4787 a volumen se određuje gravimetrijskom metodom, koristeći vodu koja odgovara zahtjevima BAS EN ISO 3696. Prije početka kalibracije, potrebno je provjeriti da li je posuđe čisto, a posebnu pažnju treba obratiti na eventualno prisustvo masnoće. Masa vode koju mjerilo sadrži ili isporučuje na datoj temperaturi treba biti točno izmjerena, a volumen se izračunava na standardnoj temperaturi i tlaku, ili po posebnom zahtjevu što ovisi od namjene ili načina korištenja.

Vaga koja se koristi u procesu kalibracija treba biti prikladna volumenu i kalibrirana na adekvatan način. Prikladnost vage koja se koristi se određuje prema rezoluciji i mjernoj nesigurnosti, kako je to dato u standardu BAS EN ISO 4787.

Nazivni volumen	Karakteristike vage		
	Rezolucija	Ponovljivost	Proširena mjerna nesigurnost U (k=2)
	(mg)	(mg)	(mg)
$100 \mu\text{L} \leq V \leq 10 \text{ mL}$	0.1	0.2	0.4
$10 \text{ mL} < V \leq 1000 \text{ mL}$	1	2	4
$V > 1000 \text{ mL}$	10	10	40

Korektna kalibracija i korištenje laboratorijskog posuđa, kao i svih volumetrijskih posuda generalno, značajno ovisi od temperature. Laboratorijsko posuđe se obično kalibrira na 20°C ali, u ovisnosti od namjene, referentna temperatura može biti bilo koja o čemu treba voditi računa prilikom podnošenja zahtjeva za kalibraciju. Kao posljedice termičke ekspanzije tekućine i (djelomično) materijala posuđa, greške koje rezultiraju njihovom upotrebom na temperaturama različitim od temperature kalibracije mogu biti značajne. U nekim slučajevima razlika temperature od 5°C može uzrokovati grešku mjerenja veću od 0.1 %.

Greška mjerenja utvrđena kalibracijom upoređuje se sa maksimalno dozvoljenom greškom deklariranom standardom za konkretno mjerilo (3.1) i donosi ocjena usklađenosti.

1.4.2 Interval kalibracije

Treba imati u vidu činjenicu da se volumen laboratorijskog posuđa mijenja u skladu sa uvjetima i načinom upotrebe što je posebno značajno za posuđe klase A. Kalibracija treba da se ponavlja u određenim intervalima koji ovise od prirode upotrebe. Period rekalkibracije utvrđuje se, praćenjem i dokumentovanjem promjena karakteristika kroz redovne međuprovjere i kalibracije.

U početnom periodu, dok se ne utvrdi stvarna promjena karakteristika mjerila (drift), period rekalkibracije ne treba biti duži od jedne godine, s tim što se ovaj period smatra minimalnim i za isti nije potrebna posebna validacija i dokazivanje stabilnosti.

Prema nekim iskustvima maksimalni (neobavezujući) period rekalkibracije laboratorijskog posuđa ne bi trebalo biti duži od 5 godina.

1.4.3 Certifikat o kalibraciji

Minimalni zahtjevi u pogledu sadržaja certifikata o kalibraciji su, kako slijedi:

- Opšti podaci o predmetu kalibracije;
 - naziv proizvođača,
 - tip i model,
 - klasa (A ili B) – ukoliko je primjenjivo,
 - serijski broj – ukoliko je primjenjivo,
 - nazivni volumen,
- Tip "In" ili "Ex" i referentna temperatura (20°C);
- Okolinski uvjeti tokom kalibracije (temperatura, atmosferski tlak i relativna vlažnost);
- Upućivanje na relevantne referentne dokumente (3);
- Podaci o korištenim etalonima i mjernoj opremi;
- Greška mjerenja i budžet mjerne nesigurnosti;
- Ocjena usklađenost (usporedba utvrđene greške mjerenja sa maksimalno dozvoljenom);
- Datum kalibracije;
- Lokacija kalibracije;
- Identifikacija osoblja koje je provelo kalibraciju.

2. DIO II - VOLUMETRIJSKI APARATI SA KLIPOM

2.1 OPSEG

U ovu skupinu spadaju volumetrijski aparati sa klipom, a sačinjavaju je slijedeća mjerila:

- Mehaničke i elektronske ručne pipete (mikropipete),
- Dispenseri (raspršivači),
- Dilutori (razrjeđivači),
- Klipne birete, i
- Šprice.

Aparati koji su u najširoj upotrebi su mehaničke i elektronske ručne pipete (mikropipete) i predstavljaju alternativu tradicionalnim staklenim pipetama. Proizvode se kao jedno i višekanalne i mogu imati fiksni ili promjenjivi volumen. Uzorak tekućine se usisava u nastavak, tzv. "tip", nakon čega se isti istiskuje. Točnost istisnutog volumena zavisi od gustoće i viskoziteta tekućine i drugih faktora kao što su temperatura, trenje, brzina punjenja, itd.

Ostali navedeni aparati uglavnom funkcioniraju na sličnom principu, tako da su i zahtjevi u pogledu kalibracije vrlo slični. Kao izuzetak se izdvajaju šprice koje se dijele u dvije osnovne kategorije: visoko kvalitetni metalni i stakleni instrumenti, obično napravljeni za posebnu upotrebu i jednokratne plastične šprice niske točnosti. Visoko kvalitetne šprice obično imaju točnost i preciznost bolju od 1%, dok je točnost plastičnih šprica obično oko 5%.

2.2 NAZIVNI VOLUMEN

Nazivni volumen predstavlja volumen koji je naznačio proizvođač, volumen koji mjerilo treba da sadrži ("In") ili da isporuči ("Ex") a koji se koristi za identifikaciju, odnosno prikaz mjernog opsega.

2.3 KLASIFIKACIJA / UPOTREBA / OZNAČAVANJE

2.3.1 Klasifikacija

Ne postoji posebna klasifikacija prema točnosti. Maksimalno dozvoljene sistematske i slučajne greške su date u standardima (BAS EN ISO 8655), s tim da i proizvođači mogu specificirati svoje vrijednosti. Maksimalno dozvoljene greške mikropipeta mogu značajno da variraju u ovisnosti od proizvođača i, u principu, su manje od onih koje su date u standardima.

2.3.2 Upotreba

Iako su ovi aparati i instrumenti izrađeni od inertnih materijala, potrebno je obratiti pažnju kada se upotrebljavaju korozivne tekućine ili u mikrobiološkim i/ili kliničkim primjenama.

Lako isparive tekućine mogu utjecati na brtvljenje što će imati direktan utjecaj na rezultate mjerenja. Npr. kod mikropipeta, radni medij smije doći samo u kontakt sa jednokratnim nastavkom ("tipom"), a nikako i sa kućištem mjerila.

Za neke primjene, može biti potrebno sterilizirati špricu u autoklavu što može dovesti do trajne promjene karakteristika, odnosno volumena šprice. Ukoliko se šprica koristi za metode koje traže visoku točnost, šprica se mora kalibrirati prije upotrebe.

Treba se dosljedno pridržavati priručnika i uputstava proizvođača koji se odnose na rukovanje, održavanje i čuvanje mjerila.

U slučaju mikropipeta posebnu pažnju treba posvetiti upotrebi nastavaka ("tipova"), tj. za najbolje rezultate mjerenja treba koristiti isključivo nastavke koje je preporučio proizvođač. U slučaju dugotrajnog, kontinuiranog rada sa mikropipetama dolazi do njihovog zagrijavanja što

može prouzročiti značajne greške u mjerenju (do 3%). Takođe, razlika u atmosferskom tlaku u kalibracijskom laboratoriju i na mjestu korištenja može prouzrokovati grešku mjerenja.

Za aparate promjenjivog volumena preporučuje se da se volumen uvijek postavlja u istom pravcu i, ako je moguće, da se točnost podešenog volumena provjeri prilikom svake promjene.

Ovdje treba napomenuti da se prije upotrebe mikropipeta promjenjivog volumena treba upoznati sa specifikacijama proizvođača u pogledu točnosti, naročito ukoliko je u pitanju opseg gdje je minimalni volumen manji od 20 μL . U nekim slučajevima deklarirana greška može biti veća od 40%, što ove i ovakve aparate diskvalificira kao mjerila koja imaju značaj za izvođenje konkretne metode.

Svakodnevna upotreba mjerila ovog tipa zahtjeva dobro obučeno, stručno osoblje.

U svakom slučaju, zahtjevi u pogledu kalibracije treba da odgovaraju upotrebi svakog konkretnog mjerila i mjerilo u upotrebi treba imati validan certifikat o kalibraciji.

2.3.3 Označavanje

Postojeće i kalibracijske oznake trebaju omogućiti lako i nedvosmisleno prepoznavanje odgovarajućih certifikata o kalibraciji. Kalibracijske oznake trebaju biti postavljene izvan "kritičnih područja" kao što su oznaka tipa, nazivni volumen i slično.

2.4 KALIBRACIJA

Kalibraciju mora provesti isključivo laboratorija koja ima potvrđene kompetencije od treće strane kroz akreditaciju ili jednakovrijednu proceduru (objavljen CMC) koja može dokazati sljedivost rezultata kalibracije do nacionalnih etalona.

2.4.1 Procedura kalibracije

Volumetrijski aparati sa klipom se kalibriraju u skladu sa standardima BAS EN ISO 8655. Volumen se određuje gravimetrijskom metodom na standardnoj temperaturi i tlaku, koristeći vodu koja odgovara zahtjevima BAS EN ISO 3696.

Zahtjevi u pogledu vaga koje se koriste za kalibraciju su date u standardu BAS EN ISO 8655-6.

Nazivni volumen	Karakteristike vage		
	Rezolucija	Ponovljivost	Proširena mjerna nesigurnost
	(mg)	(mg)	(mg)
$0,5 \mu\text{L} \leq V < 20 \mu\text{L}$	0.001* 0.01**	0.006 0.03	0.012 0.06
$20 \mu\text{L} \leq V < 200 \mu\text{L}$	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
$1\,000 \text{ mL} \leq V \leq 2\,000 \text{ mL}$	10	10	40
* standardna vaga			
** specijalna vaga za kalibraciju višekanalnih mikropipeta			

Kao što se vidi iz prethodne tabele za aparate kojima se mjere volumeni manji od 20 μL , kalibracija zahtjeva korištenje vaga najviše točnosti i preciznosti, rezolucije $\leq 0.001 \text{ mg}$. Nije potrebno posebno naglašavati da se ovdje radi o izuzetno skupim mjernim instrumentima što

znači da se vlasnici mjerila trebaju detaljno upoznati sa opremom koju posjeduje laboratorija koja će provesti kalibraciju.

U slučajevima kada postoji značajna razlika u nadmorskoj visini, odnosno atmosferskom tlaku između laboratorija vlasnika mjerila i kalibracijskog laboratorija, preporučljivo je tražiti od kalibracione laboratorije da provede odgovarajuću korekciju rezultata jer iskazana greška može biti i višestruko veća od iskazane mjerne nesigurnosti.

Kada su u pitanju mikropipete od izuzetnog je značaja da se kalibracija provodi isključivo sa nastavcima ("tipovima") koji se koriste i u svakodnevnoj upotrebi. Broj mjerenja (ponavljanja) za jedan volumen ne treba biti manji od 10, kako je to specificirano u standardu, jer su nedavno provedene studije pokazale da manji broj ponavljanja značajno utiče na rezultate kalibracije.

Aparati sa promjenjivim volumenom se kalibriraju na nominalnom volumenu, 50 % od nominalnog volumena ili najbližu vrijednost 50 % (ukoliko su jednako udaljene, koristiti veću vrijednost) i minimalnom volumenu ili 10 % od nominalnog volumena (koristiti veću vrijednost).

Kod kalibracije je potrebno ispitati i utvrditi sistematsku i slučajnu grešku mjerenja isporučenog u odnosu na podešeni/zadati volumen i to na nekoliko različitih podešavanja u slučaju mjerila sa promjenjivim volumenom. Kada su u pitanju aparati sa podešavanjem volumena, točnost odabranog volumena može zavisi od toga da li je podešavanje napravljeno "prema gore" ili "prema dole".

Sistematska i slučajna greška mjerenja utvrđena kalibracijom uspoređuje se sa maksimalno dozvoljenim greškama deklariranim standardom (3.1) i donosi se ocjena usklađenosti.

U slučaju višekanalnih aparata, svaki kanal se kalibriše zasebno.

2.4.2 Interval kalibracije

Zbog prirode ovih mjernih aparata, te različite učestalosti i načina upotrebe nije moguće definirati ili preporučiti određeni period rekalkibracije. Potrebno je putem redovnih međuprovjera i kalibracija pratiti i dokumentirati promjene karakteristika mjerila ("drift") što će omogućiti utvrđivanje optimalnog perioda rekalkibracije za svaki konkretan slučaj.

2.4.3 Certifikat o kalibraciji

Minimalni zahtjevi u pogledu sadržaja certifikata o kalibraciji su, kako slijedi:

- Opći podaci o predmetu kalibracije;
 - naziv proizvođača
 - tip i model + (jedno ili više kanalni)
 - serijski broj
 - nazivni volumen + (fiksni ili promjenjivi volumen)
- Osnovna karakteristika "In" ili "Ex" i referentna temperatura (20°C);
- Podaci o korištenom nastavku (tipu) ili drugom odvojivom dijelu mjerila;
- Okolinski uvjeti tokom kalibracije (temperatura, atmosferski tlak i relativna vlažnost);
- Upućivanje na relevantne referentne dokumente (3);
- Podaci o korištenim etalonima i mjernoj opremi;
- Sistematska i slučajna greška, budžet mjerne nesigurnosti;
- Ocjena usklađenost (usporedba utvrđene sistematske i slučajne greške mjerenja sa maksimalno dozvoljenim);
- Datum kalibracije;
- Lokacija kalibracije;
- Identifikacija osoblja koje je provelo kalibraciju.

3. REFERENTNI DOKUMENTI

3.1 STANDARDI

BAS EN ISO 384:2017	Laboratorijsko stakleno i plastično posuđe – Principi dizajna i izrade volumetrijskog pribora
BAS EN ISO 4787:2023	Laboratorijsko stakleno i plastično posuđe – Volumetrijski instrumenti – Metode za ispitivanje kapaciteta i primjene
BAS EN ISO 385:2012	Laboratorijsko posuđe – Birete
BAS EN ISO 648:2011	Laboratorijsko stakleno posuđe – Pipete sa jednom oznakom volumena
BAS EN ISO 835:2011	Laboratorijsko stakleno posuđe – Graduisane pipete
BAS EN ISO 1042:2010	Laboratorijsko posuđe – Volumetrijsko posuđe sa jednom oznakom
BAS ISO 5215:2024	Laboratorijsko plastično posuđe – Volumetrijske tikvice
BAS ISO 1769:2013	Laboratorijsko posuđe – Pipete – Označavanje bojom
BAS ISO 3507:2013	Laboratorijsko posuđe – Piknometri
BAS EN ISO 4788:2010	Laboratorijsko posuđe – Menzure
BAS ISO 6706:2012	Plastično laboratorijsko posuđe – Menzure graduisane
BAS EN ISO 8655-1:2023	Klipna volumetrijska aparatura – Dio 1: Terminologija, opšti zahtjevi i preporuke za korisnika
BAS EN ISO 8655-2:2023	Klipna volumetrijska aparatura – Dio 2: Pipete
BAS EN ISO 8655-3:2023	Klipna volumetrijska aparatura – Dio 3: Birete
BAS EN ISO 8655-4:2023	Klipna volumetrijska aparatura – Dio 4: Razrjeđivači
BAS EN ISO 8655-5:2023	Klipna volumetrijska aparatura – Dio 5: Dispenzeri
BAS EN ISO 8655-6:2023	Klipne volumetrijske aparature – Dio 6: Gravimetrijska referentna mjerna procedura za određivanje volumena
BAS EN ISO 8655-7:2023	Klipne volumetrijske aparature – Dio 7: Alternativne mjerne procedure za određivanje volumena
BAS EN ISO 8655-8:2023	Klipne volumetrijske aparature – Dio 8: Fotometrijska referentna mjerna procedura za određivanje volumena
BAS EN ISO 8655-9:2023	Klipne volumetrijske aparature – Dio 9: Precizne laboratorijske šprice za ručnu upotrebu
ISO 8655-10:2024	Piston-operated volumetric apparatus – Part 10: User guidance and requirements for competence, training, and POVA suitability
BAS EN ISO 23783-1:2024	Automatizirani sistemi za rukovanje tečnostima – Dio 1: Rječnik i opći zahtjevi

BAS EN ISO 23783-2:2024	Automatizirani sistemi za rukovanje tečnostima – Dio 2: Postupci mjerenja za određivanje volumetrijske performanse
BAS EN ISO 23783-3:2024	Automatizirani sistemi za rukovanje tečnostima – Dio 3: Određivanje, specifikacija i izvještavanje o volumetrijskoj performansi
BAS ISO/TR 20461:2024	Određivanje mjerne nesigurnosti za mjerenje volumena volumetrijskog aparata s klipnim pogonom gravimetrijskom metodom
BAS EN ISO 3696:2008	Voda za korištenje u analitičkim laboratorijama – Specifikacije i metode ispitivanja

3.2 UPUTSTVA I INSTRUKCIJE

1. EURAMET Calibration Guide No. 19: Guidelines on the Determination of Uncertainty in Gravimetric Volume Calibration | TC-F | (Version 3.0, 09/2018),
2. EURAMET Calibration Guide No. 21: Guidelines on the Calibration of Standard Capacity Measures Using the Volumetric Method | TC-F | (Version 3.0, 02/2024),
3. US National Institute of Standards and Technology NIST: Special Publication 250-72: Calibration Services for Liquid Volume (03/2006),
4. US National Institute of Standards and Technology NIST: Standard Operating Procedures (Repozitorijum; Free Download),
5. United Kingdom Accreditation Service UKAS-LAB 15 – Traceability: Volumetric Apparatus (Edition 5, 12/2023), (za otvaranje ovog dokumenta potrebno je direktno u veb pretraživač iskopirati sljedeću veb adresu: "<https://www.ukas.com/wp-content/uploads/2023/05/LAB-15-Traceability-Volumetric-apparatus.pdf>")
6. Physikalisch-Technische Bundesanstalt PTB: Testing instructions (Repozitorijum; Engleski jezik–Komercijalno; Njemački jezik–Free Download),
7. Deutscher Kalibrierdienst DKD-R 8-1: Calibration of piston-operated pipettes with air cushion (12/2011),
8. Deutscher Kalibrierdienst DKD-R 8-2: Calibration of Multiple Delivery Dispensers (01/2018),
9. Deutscher Kalibrierdienst DKD-R 8-3: Calibration of single stroke dispensers and piston burettes (03/2020), (za otvaranje ovog dokumenta potrebno je direktno u veb pretraživač iskopirati sljedeću veb adresu: <https://oar.ptb.de/files/download/550.20200401.pdf>)
10. Tanaka, M., et. al: Recommended table for the density of water between 0°C and 40°C based on recent experimental reports (Metrologia, 2001, 38, 301-309),
11. Institut za akreditiranje BiH, BATA OD 07-3: Pravila za prihvatljivu sljedivost mjerenja (05/2021),
12. BIPM – Joint Committee for Guides in Metrology JCGM 100 GUM: Evaluation of measurement data – guide to the expression of uncertainty in measurement (2008),

13. BIPM – Joint Committee for Guides in Metrology JCGM 200 VIM: International Vocabulary of Metrology – Basic and General Concepts and Associated Terms (Edition 3, 2012).

3.3 ISTRAŽIVANJA, ANALIZE I DOBRA LABORATORIJSKA PRAKSA

1. EURAMET PROJECT 1295: Guide on the Calibration, Operation and Handling of Micropipettes (01/2019).
2. EURAMET Project no. 1486: Calibration of a motorized syringe (single stroke dispenser without valve) - Comparison between the procedure of ISO 8655-6 and the new working document ISO 8655-8 (02/2020).
3. US National Institute of Standards and Technology NIST: Good Laboratory Practices (Repozitorijum; Free Download).
4. US National Institute of Standards and Technology NIST: Good Measurement Practices (Repozitorijum; Free Download).
5. United Kingdom National Physical Laboratory NPL: Measurement Good Practice Guide No. 69: The Calibration and Use of Piston Pipettes (07/2004).
6. Deutscher Kalibrierdienst DKD-E 8-2: Analysis of influencing parameters on calibration of piston-operated pipettes with air cushions (05/2013).
7. Eppendorf – Userguide No. 21: Influence of physical parameters on the dispensed volume of air-cushion pipette (06/2015).
8. Study of Spaelti-TS AG: The influence of altitude on the volume result of a piston pipette with air cushion (12/2011).
9. Poster: COVID-19 Crisis & The use of pipettes in diagnostic tests.

PRILOG

– INTERNE MEĐUPROVJERE –

U nastavku se daje jedan, u osnovi, skraćeni postupak kalibracije laboratorijskog posuđa i volumetrijskih aparata sa klipom koji može poslužiti za provođenje internih međuprovjera.

Osnovna pretpostavka za provođenje validnih međuprovjera je da laboratorija posjeduje kalibrirane termometre i vage i sa karakteristikama koje su date ranije u tekstu.

Izraz za proračun volumena tečnosti gravimetrijskom metodom kalibracije je:

$$V_0 = (I_L - I_E) \cdot \frac{1}{\rho_w - \rho_A} \cdot \left(1 - \frac{\rho_A}{\rho_B}\right) \cdot [1 - \gamma(t - t_0)] \quad \dots (1)$$

gdje je:

V_0 – volumen, na referentnoj temperaturi t_0 (mL);

I_L – rezultat vaganja pune posude ili pomoćne posude – tekuće mjerenje (g);

I_E – rezultat vaganja prazne posude ili pomoćne posude – prethodno mjerenje (g);

ρ_w – gustoća vode na temperaturi kalibracije (°C) – Tanaka formula (g/mL);

ρ_A – gustoća zraka (g/mL);

ρ_B – gustoća utega korištenih prilikom kalibracije vage (7.95 g/mL);

γ – koeficijent kubnog toplinskog širenja materijala mjerila koje se kalibrira (°C⁻¹)

t – temperatura vode (°C);

t_0 – referentna temperatura (20°C).

Jednadžba (1) je kompleksna, ali za potrebe međuprovjera se može pojednostaviti:

$$V_0 = (I_L - I_E) \cdot Z \quad \dots (2)$$

gdje je:

$$Z = \frac{1}{\rho_w - \rho_A} \cdot \left(1 - \frac{\rho_A}{\rho_B}\right) \cdot [1 - \gamma(t - t_0)] \quad \dots (3)$$

Z-Faktor predstavlja korekciju za gustinu vode, efekat uzgona i toplotni efekat širenja materijala i izračunava se prema izrazu (3) ali se može predstaviti tabelarno, usvajajući pretpostavke koje neće značajno uticati na rezultate mjerenja koje se provodi u svrhu međuprovjera.

Tabelarni prikaz vrijednosti Z-Faktora u funkciji temperature vode i atmosferskog pritiska za neke od materijala koji se koriste za laboratorijsko stakleno i plastično posuđe i mikropipete je dat u nastavku. Pretpostavke su da je referentna temperatura vode 20°C a relativna vlažnost zraka u prostoriji/laboratoriji 50%.

Postupak međuprovjera je jednostavan (2). Razlika mase vode u konkretnoj ili pomoćnoj posudi (g) se množi Z-Faktorom koji je dat u tabelama u nastavku i dobiva se volumen vode na referentnoj temperaturi od 20°C (mL). Svako mjerenje treba ponoviti najmanje 3 puta.

Međuprovjere se mogu provoditi i manje pouzdanom volumetrijskom metodom, jednostavnim preljevanjem ili višekratnim naljevanjem u referentnu, prethodno kalibriranu, posudu. Potrebno je voditi računa o tome da se referentna posuda koristi samo i isključivo u svrhu međuprovjera.

Međuprovjere treba provoditi dobro obučeno osoblje sa višegodišnjim iskustvom na način i u skladu sa postupkom prilikom kalibracije ("In", "Ex", vrijeme istakanja, čekanja, itd.). Tokom međuprovjera potrebno je poduzeti mjere da se maksimalno smanji efekt isparavanja, pogotovo kada su u pitanju mali volumeni (mikrolitarsko područje).

Tabela 1: Laboratorijsko staklo

Temp. vode	Gustina vode	Z-Faktor (Borosilikatno staklo 3.3: $\gamma=9.9 \cdot 10^{-6} \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$)											
		Vazdušni pritisak (mbar)											
(°C)	(g/mL)	930	940	950	960	970	980	990	1000	1010	1020	1030	1040
15.0	0.999103	1.00193	1.00194	1.00195	1.00196	1.00197	1.00198	1.00199	1.00200	1.00202	1.00203	1.00204	1.00205
15.5	0.999026	1.00200	1.00201	1.00202	1.00203	1.00204	1.00205	1.00206	1.00208	1.00209	1.00210	1.00211	1.00212
16.0	0.998946	1.00207	1.00208	1.00210	1.00211	1.00212	1.00213	1.00214	1.00215	1.00216	1.00217	1.00218	1.00219
16.5	0.998863	1.00215	1.00216	1.00217	1.00218	1.00219	1.00220	1.00221	1.00222	1.00224	1.00225	1.00226	1.00227
17.0	0.998778	1.00223	1.00224	1.00225	1.00226	1.00227	1.00228	1.00229	1.00230	1.00231	1.00232	1.00234	1.00235
17.5	0.998689	1.00231	1.00232	1.00233	1.00234	1.00235	1.00236	1.00237	1.00239	1.00240	1.00241	1.00242	1.00243
18.0	0.998598	1.00240	1.00241	1.00242	1.00243	1.00244	1.00245	1.00246	1.00247	1.00248	1.00249	1.00250	1.00251
18.5	0.998504	1.00248	1.00249	1.00251	1.00252	1.00253	1.00254	1.00255	1.00256	1.00257	1.00258	1.00259	1.00260
19.0	0.998408	1.00257	1.00258	1.00260	1.00261	1.00262	1.00263	1.00264	1.00265	1.00266	1.00267	1.00268	1.00269
19.5	0.998309	1.00267	1.00268	1.00269	1.00270	1.00271	1.00272	1.00273	1.00274	1.00275	1.00276	1.00277	1.00278
20.0	0.998207	1.00276	1.00277	1.00278	1.00279	1.00281	1.00282	1.00283	1.00284	1.00285	1.00286	1.00287	1.00288
20.5	0.998102	1.00286	1.00287	1.00288	1.00289	1.00290	1.00291	1.00292	1.00293	1.00295	1.00296	1.00297	1.00298
21.0	0.997995	1.00296	1.00297	1.00298	1.00299	1.00300	1.00301	1.00303	1.00304	1.00305	1.00306	1.00307	1.00308
21.5	0.997885	1.00307	1.00308	1.00309	1.00310	1.00311	1.00312	1.00313	1.00314	1.00315	1.00316	1.00317	1.00318
22.0	0.997773	1.00317	1.00318	1.00319	1.00320	1.00321	1.00322	1.00323	1.00325	1.00326	1.00327	1.00328	1.00329
22.5	0.997658	1.00328	1.00329	1.00330	1.00331	1.00332	1.00333	1.00334	1.00335	1.00336	1.00337	1.00339	1.00340
23.0	0.997541	1.00339	1.00340	1.00341	1.00342	1.00343	1.00344	1.00345	1.00347	1.00348	1.00349	1.00350	1.00351
23.5	0.997421	1.00351	1.00352	1.00353	1.00354	1.00355	1.00356	1.00357	1.00358	1.00359	1.00360	1.00361	1.00362
24.0	0.997299	1.00362	1.00363	1.00364	1.00365	1.00366	1.00367	1.00369	1.00370	1.00371	1.00372	1.00373	1.00374
24.5	0.997174	1.00374	1.00375	1.00376	1.00377	1.00378	1.00379	1.00380	1.00381	1.00382	1.00383	1.00385	1.00386
25.0	0.997047	1.00386	1.00387	1.00388	1.00389	1.00390	1.00391	1.00393	1.00394	1.00395	1.00396	1.00397	1.00398

* Referentna temperatura vode 20°C / Relativna vlažnost vazduha u laboratoriji 50%

Tabela 2: Laboratorijska plastika

Temp. vode	Gustina vode	Z-Faktor (Polymethylpentene (PMP): $\gamma=3.6 \cdot 10^{-4} \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$)											
		Vazdušni pritisak (mbar)											
(°C)	(g/mL)	930	940	950	960	970	980	990	1000	1010	1020	1030	1040
15.0	0.999103	1.00368	1.00370	1.00371	1.00372	1.00373	1.00374	1.00375	1.00376	1.00377	1.00378	1.00379	1.00380
15.5	0.999026	1.00358	1.00359	1.00360	1.00361	1.00362	1.00363	1.00364	1.00365	1.00366	1.00368	1.00369	1.00370
16.0	0.998946	1.00348	1.00349	1.00350	1.00351	1.00352	1.00353	1.00354	1.00355	1.00356	1.00357	1.00358	1.00359
16.5	0.998863	1.00338	1.00339	1.00340	1.00341	1.00342	1.00343	1.00344	1.00345	1.00346	1.00347	1.00348	1.00349
17.0	0.998778	1.00328	1.00329	1.00330	1.00331	1.00332	1.00334	1.00335	1.00336	1.00337	1.00338	1.00339	1.00340
17.5	0.998689	1.00319	1.00320	1.00321	1.00322	1.00323	1.00324	1.00325	1.00326	1.00327	1.00328	1.00329	1.00330
18.0	0.998598	1.00310	1.00311	1.00312	1.00313	1.00314	1.00315	1.00316	1.00317	1.00318	1.00319	1.00320	1.00321
18.5	0.998504	1.00301	1.00302	1.00303	1.00304	1.00305	1.00306	1.00307	1.00308	1.00309	1.00311	1.00312	1.00313
19.0	0.998408	1.00293	1.00294	1.00295	1.00296	1.00297	1.00298	1.00299	1.00300	1.00301	1.00302	1.00303	1.00304
19.5	0.998309	1.00284	1.00285	1.00286	1.00287	1.00288	1.00290	1.00291	1.00292	1.00293	1.00294	1.00295	1.00296
20.0	0.998207	1.00276	1.00277	1.00278	1.00279	1.00281	1.00282	1.00283	1.00284	1.00285	1.00286	1.00287	1.00288
20.5	0.998102	1.00269	1.00270	1.00271	1.00272	1.00273	1.00274	1.00275	1.00276	1.00277	1.00278	1.00279	1.00280
21.0	0.997995	1.00261	1.00262	1.00263	1.00264	1.00265	1.00266	1.00267	1.00268	1.00269	1.00271	1.00272	1.00273
21.5	0.997885	1.00254	1.00255	1.00256	1.00257	1.00258	1.00259	1.00260	1.00261	1.00262	1.00263	1.00264	1.00265
22.0	0.997773	1.00247	1.00248	1.00249	1.00250	1.00251	1.00252	1.00253	1.00254	1.00255	1.00256	1.00257	1.00258
22.5	0.997658	1.00240	1.00241	1.00242	1.00243	1.00244	1.00246	1.00247	1.00248	1.00249	1.00250	1.00251	1.00252
23.0	0.997541	1.00234	1.00235	1.00236	1.00237	1.00238	1.00239	1.00240	1.00241	1.00242	1.00243	1.00244	1.00245
23.5	0.997421	1.00228	1.00229	1.00230	1.00231	1.00232	1.00233	1.00234	1.00235	1.00236	1.00237	1.00238	1.00239
24.0	0.997299	1.00222	1.00223	1.00224	1.00225	1.00226	1.00227	1.00228	1.00229	1.00230	1.00231	1.00232	1.00233
24.5	0.997174	1.00216	1.00217	1.00218	1.00219	1.00220	1.00221	1.00222	1.00223	1.00224	1.00225	1.00226	1.00227
25.0	0.997047	1.00211	1.00212	1.00213	1.00214	1.00215	1.00216	1.00217	1.00218	1.00219	1.00220	1.00221	1.00222

* Referentna temperatura vode 20°C / Relativna vlažnost vazduha u laboratoriji 50%

Tabela 3: Mikropipete (Polipropilen - PP)

Temp. vode	Gustina vode	Z-Faktor (Polipropilen: $\gamma=2.4 \cdot 10^{-4} \text{ }^{\circ}\text{C}^{-1}$)											
		Vazdušni pritisak (mbar)											
(°C)	(g/mL)	930	940	950	960	970	980	990	1000	1010	1020	1030	1040
15.0	0.999103	1.00308	1.00309	1.00310	1.00312	1.00313	1.00314	1.00315	1.00316	1.00317	1.00318	1.00319	1.00320
15.5	0.999026	1.00304	1.00305	1.00306	1.00307	1.00308	1.00309	1.00310	1.00311	1.00312	1.00313	1.00314	1.00316
16.0	0.998946	1.00300	1.00301	1.00302	1.00303	1.00304	1.00305	1.00306	1.00307	1.00308	1.00309	1.00310	1.00311
16.5	0.998863	1.00296	1.00297	1.00298	1.00299	1.00300	1.00301	1.00302	1.00303	1.00304	1.00305	1.00306	1.00307
17.0	0.998778	1.00292	1.00293	1.00294	1.00295	1.00296	1.00297	1.00298	1.00300	1.00301	1.00302	1.00303	1.00304
17.5	0.998689	1.00289	1.00290	1.00291	1.00292	1.00293	1.00294	1.00295	1.00296	1.00297	1.00298	1.00299	1.00300
18.0	0.998598	1.00286	1.00287	1.00288	1.00289	1.00290	1.00291	1.00292	1.00293	1.00294	1.00295	1.00296	1.00297
18.5	0.998504	1.00283	1.00284	1.00285	1.00286	1.00287	1.00288	1.00289	1.00290	1.00291	1.00292	1.00294	1.00295
19.0	0.998408	1.00281	1.00282	1.00283	1.00284	1.00285	1.00286	1.00287	1.00288	1.00289	1.00290	1.00291	1.00292
19.5	0.998309	1.00278	1.00279	1.00280	1.00281	1.00282	1.00284	1.00285	1.00286	1.00287	1.00288	1.00289	1.00290
20.0	0.998207	1.00276	1.00277	1.00278	1.00279	1.00281	1.00282	1.00283	1.00284	1.00285	1.00286	1.00287	1.00288
20.5	0.998102	1.00275	1.00276	1.00277	1.00278	1.00279	1.00280	1.00281	1.00282	1.00283	1.00284	1.00285	1.00286
21.0	0.997995	1.00273	1.00274	1.00275	1.00276	1.00277	1.00278	1.00279	1.00280	1.00282	1.00283	1.00284	1.00285
21.5	0.997885	1.00272	1.00273	1.00274	1.00275	1.00276	1.00277	1.00278	1.00279	1.00280	1.00281	1.00282	1.00283
22.0	0.997773	1.00271	1.00272	1.00273	1.00274	1.00275	1.00276	1.00277	1.00278	1.00279	1.00280	1.00281	1.00283
22.5	0.997658	1.00270	1.00271	1.00273	1.00274	1.00275	1.00276	1.00277	1.00278	1.00279	1.00280	1.00281	1.00282
23.0	0.997541	1.00270	1.00271	1.00272	1.00273	1.00274	1.00275	1.00276	1.00277	1.00278	1.00279	1.00280	1.00281
23.5	0.997421	1.00270	1.00271	1.00272	1.00273	1.00274	1.00275	1.00276	1.00277	1.00278	1.00279	1.00280	1.00281
24.0	0.997299	1.00270	1.00271	1.00272	1.00273	1.00274	1.00275	1.00276	1.00277	1.00278	1.00279	1.00280	1.00281
24.5	0.997174	1.00270	1.00271	1.00272	1.00273	1.00274	1.00275	1.00276	1.00277	1.00279	1.00280	1.00281	1.00282
25.0	0.997047	1.00271	1.00272	1.00273	1.00274	1.00275	1.00276	1.00277	1.00278	1.00279	1.00280	1.00281	1.00282

* Referentna temperatura vode 20°C / Relativna vlažnost vazduha u laboratoriji 50%