

РОЗРОБЛЕННЯ ВЕТЕРИНАРНИХ ПРЕПАРАТІВ ТА МЕТОДІВ ЇХ КОНТРОЛЮ

УДК 615.015.3:519.221

ОЦІНКА НЕВИЗНАЧЕНОСТІ ДОЗОВАНОГО ОБ'ЄМУ ОДНОКАНАЛЬНИМ ПІПЕТ-ДОЗАТОРОМ

*Н. В. Біронт, канд. біол. наук,
С. М. Мелікян, канд. біол. наук,
О. І. Федякова, канд. біол. наук,
Г. Л. Мисько, молодший науковий співробітник,
Д. В. Янович, д-р с.-г. наук*

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів
та кормових добавок
вул. Донецька, 11, м. Львів, 79019, Україна

У статті ідентифіковано фактори, які впливають на об'єм дозування (2 мл і 10 мл) піпет-дозатором, виробництва ULAB, і подано процедуру оцінки стандартної невизначеності основних факторів. Для розрахунку використано коефіцієнт розширення води, дані калібрування піпет-дозатора виробником та статистичні дані збіжності за зважування об'ємів води. Розрахована стандартна невизначеність впливу температури на об'єм дозованої води, стандартна невизначеність калібрування піпет-дозатора виробником та стандартна невизначеність збіжності результатів зважування. Перевірка величини кожного вкладу показує, що калібрування дає найбільший внесок у невизначеність. На основі цих даних розраховано сумарну стандартну невизначеність та розширену стандартну невизначеність.

Ключові слова: ПІПЕТ-ДОЗАТОР, СТАНДАРТНА НЕВИЗНАЧЕНОСТІ, СУМАРНА СТАНДАРТНА НЕВИЗНАЧЕНОСТІ, РОЗШИРЕНА НЕВИЗНАЧЕНОСТІ.

Сучасні вимоги щодо встановлення достовірності результатів випробувань ґрунтуються на концепції «оцінювання невизначеності вимірювань», яка є більш точною та дозволяє врахувати практично всі можливі впливи на результати випробувань, порівняно з концепцією «оцінювання похибки». Невизначеність вимірювання (*uncertainty*) – параметр, пов'язаний з результатом вимірювання, який визначає діапазон навколо середнього значення, в якому може бути очікуване значення, з передбачуваним рівнем ймовірності.

Згідно з п. 5.4.6.2. міжнародного стандарту ДСТУ ISO/IEC 17025:2006, випробувальні лабораторії повинні мати і застосовувати процедури оцінювання невизначеності вимірювання [1]. Оцінка невизначеності повинна враховувати усі виявлені чинники, що впливають на результат [2]. Наприклад, невизначеність фармацевтичного аналізу залежить від декількох випадкових величин (зважування, розведення розчинів, вимірювання на приладі тощо), які разом складають невизначеність процедури підготовки до вимірювання та невизначеність кінцевої аналітичної операції.

Невизначеність вимірювання представлена та розрахована як стандартне відхилення, називається стандартною невизначеністю вимірювання (*standard uncertainty*). Є різні методи

для її оцінки. Один ґрунтується на основі обрахунку стандартного відхилення ряду вимірювань: повторних зважувань, дозування об'ємів, зміни оптичної густини одного і того ж розчину. Це метод оцінки стандартної невизначеності типу А.

Метод оцінки стандартної невизначеності за допомогою використання інших методів, ніж статистичні, названий типом В. Це використання попереднього досвіду, попередніх результатів аналогічних визначень, технічних характеристик використовуваних приладів, реагентів чи вимірювальної хімічної посуду, які надані виробником.

Метою роботи було встановлення сумарної стандартної невизначеності та розширеної невизначеності дозованого об'єму піпет-дозатором із застосуванням методів оцінки типу А та В.

Матеріали і методи. Вимірюваною величиною є два номінальні об'єми води: 2 і 10 мл, дозовані одноканальним піпет-дозатором змінного об'єму, виробництва ULAB. Найменша поділка піпет-дозатора становить 0,1 мл.

Фактори, які впливають на кінцевий результат дозованого об'єму піпет-дозатора, зображено на рисунку. Оскільки зважування та густина води мають дуже малий вклад, дозований об'єм залежатиме лише від результатів калібрування піпет-дозатора виробником (*cal*), температури в приміщенні вагової (*temp*) та збіжності результатів зважування (*rep*). Тому математичну модель можна зобразити формулою:

$$V = f(cal, temp, rep)$$

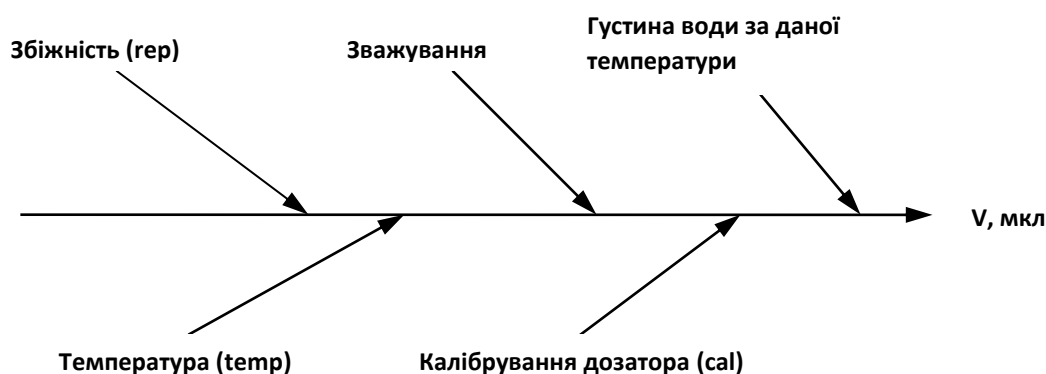


Рис. Причино-наслідкова діаграма факторів, які впливають на дозований об'єм.

Для кількісного описання складових невизначеності дозування кожен стандартну невизначеність $u(x_i)$ виражали як стандартне відхилення і представляли в одиницях об'єму (мкл). Калібрування і визначення неточності вимірювань (*imprecision*) об'ємів піпет-дозатором тестується на виробництві за температури 25 °С, відповідно до стандарту ISO 8655/DIN 12650. Оскільки, у сертифікаті виробу наведено відносне стандартне відхилення за дозування зазначених об'ємів (для 2 мл – 0,16 %, для 10 мл – 0,14 %), то для визначення стандартної невизначеності потрібно перетворити його у стандартне відхилення, з врахуванням розподілу – математичної функції, що описує поведінку випадкової величини в довгих серіях спостереження.

Розподіл може бути рівномірним, трикутним і нормальним. У передбаченні про рівномірний розподіл випадкової величини, в нашому випадку, розраховуємо невизначеність дозованого об'єму за калібрування піпет-дозатора виробником за формулою:

$$u(cal) = \frac{x \cdot RSD}{100\%} \text{ мкл}, \quad (1)$$

де: x – тестований об'єм;

RSD – відносне стандартне відхилення.

Передбачується, що температура в лабораторії змінюється в межах ± 5 °C. Коефіцієнт об'ємного розширення води: $\theta=2,1 \cdot 10^{-4}$ °C⁻¹. Тому невизначеність дозованого об'єму, яка залежить від зміни температури середовища вагової визначається добутком: $\pm V \cdot \theta \cdot T$ і передбачає рівномірний розподіл випадкової величини. Формула для розрахунку матиме вигляд:

$$u(temp) = \frac{\pm V \cdot \theta \cdot T}{\sqrt{3}} \text{ мкл}, \quad (2)$$

де: V – тестований об'єм;
 θ – коефіцієнт об'ємного розширення;
 T – межі зміни температури в лабораторії.

Для оцінки стандартної невизначеності збіжності результатів зважування $u(rep)$, по 10 окремих аліквот води зважували для кожного об'єму. Масу кожної аліквоти перераховували на об'єм з врахуванням густини води за наявної температури в лабораторії. Оскільки процедуру зважування проводили за температури 21,5 °C, тому для перерахунку на об'єм за цієї температури використовують поправочний коефіцієнт – 1,0036.

У передбаченні про рівномірний розподіл формула стандартної невизначеності для збіжності результатів зважування має вигляд:

$$u(rep) = \frac{s}{\sqrt{3}} \text{ мкл}, \quad (3)$$

де: s - стандартне відхилення.

Для порівняння вкладу кожної складової розраховують відносну стандартну невизначеність за формулою:

$$\frac{u(x)}{x}, \quad (4)$$

де: $u(x)$ – стандартна невизначеність окремого фактору;
 x – номінальний об'єм дозування, для якого розраховується невизначеність.

Після кількісної оцінки стандартної невизначеності врахованих факторів визначають сумарну стандартну невизначеність $u_c(y)$. Сумарна стандартна невизначеність дозування об'ємів включає тільки суму факторів $y = cal + rep + temp$ і розраховується виразом, згідно з правилом 1, п. 8.2.6. [2]:

$$u_c(V) = \sqrt{u^2(cal) + u^2(rep) + u^2(temp)}, \text{ мкл} \quad (5)$$

За формулою (4) розраховують відносну сумарну невизначеність. Результати відносних стандартних невизначеносте складають бюджет невизначеності.

На останньому етапі сумарну стандартну невизначеність помножують на коефіцієнт охоплення k для отримання розширеної невизначеності U .

У більшості випадків застосувань для ймовірності охоплення (рівня довіри) приблизно 95 %, $k = 2$.

Результати й обговорення. 1. Розрахунок стандартної невизначеності калібрування піпет-дозатора виробником, згідно з формулою (1):

$$u(cal) = \frac{2000 \cdot 0,16\%}{100\%} = 3,2 \text{ мкл для об'єму 2 мл.}$$

$$u(cal) = \frac{10000 \cdot 0,14\%}{100\%} = 14,0 \text{ мкл для об'єму 10 мл.}$$

2. Розрахунок стандартної невизначеності дозованого об'єму, яка залежить від зміни температури середовища, згідно з формулою (2):

$$\pm V \cdot \theta \cdot T = \pm 2000(\text{мкл}) \cdot 2,1 \cdot 10^{-4}(\text{°C}^{-1}) \cdot 5\text{°C} = \pm 2,1 \text{ мкл.} \quad u(temp) = \frac{2,1}{\sqrt{3}} = 1,21 \text{ мкл;}$$

$$\pm V \cdot \theta \cdot T = \pm 10000(\text{мкл}) \cdot 2,1 \cdot 10^{-4}(\text{°C}^{-1}) \cdot 5\text{°C} = \pm 10,5 \text{ мкл.} \quad u(temp) = \frac{10,5}{\sqrt{3}} = 6,06 \text{ мкл.}$$

3. Розрахунок стандартної невизначеності збіжності результатів зважування, згідно з формулою (3):

Результати зважування дозованих об'ємів води перерахованих на об'єм та розрахунок стандартної невизначеності представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Розрахунок стандартної невизначеності збіжності дозування об'ємів води

2 мл		10 мл	
m, г	V, мкл	m, г	V, мкл
2,016	2,0233	9,830	9,8654
2,082	2,0895	9,748	9,783
2,017	2,0243	9,822	9,8574
2,083	2,0905	9,818	9,8533
2,048	2,0554	9,798	9,8333
2,010	2,0172	9,818	9,8533
2,017	2,0243	9,783	9,8182
2,069	2,0764	9,733	9,7680
2,072	2,0795	9,800	9,8353
2,012	2,0192	9,745	9,7801
Середнє значення (\bar{x})	2,04996	Середнє значення (\bar{x})	9,8247
Стандартне відхилення (s)	0,03137	Стандартне відхилення (s)	0,0358
Стандартна невизначеність, $u(rep)$	0,01811	Стандартна невизначеність, $u(rep)$	0,02067

4. Зведений бюджет невизначеності представлений в таблицях 2 і 3. Загальна картина бюджету невизначеності дозволяє оцінити значущість вкладу окремих факторів і, таким чином, виявити критичні параметри калібрування піпет-дозатора. Бюджет невизначеності показує, що внески невизначеностей впливу температури приміщення та збіжності результатів зважування є незначними (останній стовпчик таблиць).

Таблиця 2

Бюджет невизначеності, складений за отриманими даними для об'єму дозування 2 мл

Назва фактору	Стандартна невизначеність $u(x)$, мкл	Тип оцінки	Відносна стандартна невизначеність, $\frac{u(x)}{2000 \text{ мкл}} \cdot 10^{-2}$
Калібрування дозатора виробником	3,2	B	0,16
Температура	1,21	B	0,0605
Збіжність результатів зважування	0,01811	A	0,0009055
Сумарна стандартна невизначеність	3,83	A	0,1915

Згідно з п. 7.2.2. Керівництва [3], якщо одна із складових сумарної невизначеності менша 1/3 найбільшої складової, то її величиною можна знехтувати. У нашому випадку

кількість складників невизначеності невелика та невизначеність збіжності $u(rep)$ менша 1/3 найбільшої складової – невизначеності калібрування $u(cal)$ для дозування двох об'ємів. Тому впливом збіжності зважування на сумарну невизначеність дозування можна знехтувати. Цей результат розрахунку бюджету невизначеності можна врахувати для калібрування інших дозаторів з ціллю економії часу та розрахунків.

Проте, потрібно мати на увазі, що перед тим як знехтувати стандартною невизначеністю будь-якого вхідного параметра, її необхідно оцінити. Невизначеність дозування об'єму 2 мл і 10 мл піпет-дозатором може бути значно меншою від значення невизначеності інших джерел у пробопідготовці зразка. Проведена оцінка невизначеності допоможе це з'ясувати.

5. Розрахунок сумарної стандартної невизначеності, згідно з формулою (4).

$$u_c(2\text{мл}) = \sqrt{3,2^2 + 2,1^2 + 0,01811^2} = 3,8276 \text{ мкл};$$

$$u_c(10\text{мл}) = \sqrt{16^2 + 10,5^2 + 0,02067^2} = 19,1377 \text{ мкл}$$

Таблиця 3

Бюджет невизначеності, складений за отриманими даними для об'єму дозування 10 мл

Назва фактору	Стандартна невизначеність $u(x)$, мкл	Тип оцінки	Відносна стандартна невизначеність, $\frac{u(x)}{10000\text{мкл}} \cdot 10^{-2}$
Калібрування дозатора виробником	14,0	B	0,14
Температура	6,06	B	0,0606
Збіжність результатів зважування	0,02067	A	0,0002067
Сумарна стандартна невизначеність	19,14	A	0,1914

6. Розширена невизначеність потрібна, щоб вказати інтервал, в якому, як очікується, міститься більша частина розподілу значень, які з достатньою підставою можуть бути приписані вимірній величині. У більшості випадків застосувань для ймовірності охоплення (рівня довіри) приблизно 95%, коефіцієнт охоплення $k = 2$.

$$U(2 \text{ мл}) = k \cdot u_c(2 \text{ мл}) = 2 \cdot 3,8276 \text{ мкл} = 7,6554 \text{ мкл}.$$

$$U(10 \text{ мл}) = k \cdot u_c(10 \text{ мл}) = 2 \cdot 19,1377 \text{ мкл} = 38,2754 \text{ мкл}.$$

ВИСНОВКИ

Вимірний об'єм, дозований одноканальним піпет-дозатором змінного об'єму виробництва ULAB, становить $200,00 \pm 7,66$ мкл та $10000,00 \pm 38,28$ мкл з вказаною розширеною невизначеністю, обчисленою із застосуванням коефіцієнту охоплення $k = 2$, що відповідає рівню надійності $\sim 95\%$.

Перспективи досліджень. Описаний алгоритм оцінки розширеної невизначеності дозованого об'єму піпет-дозатора можна використати для розрахунку невизначеності інших об'ємів, чи інших дозаторів з наступною оцінкою невизначеності підготовки зразка чи результату вимірювання в цілому.

EVALUATION OF UNCERTAINTY OF DOSED VOLUME WITH ONE-CHANNEL PIPETTOR

N. V. Biront, S. M. Melikyan, O. I. Fedyakova, G. L. Mys'ko, D. V. Yanovych

State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products
and Feed Additives,
11, Donetska str., Lviv, 79019, Ukraine

S U M M A R Y

Uncertainty is a parameter associated with the result of a measurement that characterized the dispersion of the values that could reasonably be attributed to the measurand. In practice the uncertainty on the result may arise from many possible sources, including examples such as incomplete definition of the measurand, sampling, environmental conditions, uncertainties of masses and volumetric equipment, approximations and assumptions incorporated in the measurement method and procedure, and random variation.

The factors that affect the volume of dispensing (2 ml and 10 ml) by the ULAB pipettor had identifies in the article. The relevant uncertainty sources were shown in the cause and effect diagram and had provided a procedure for assessing the standard uncertainty of the underlying factors.

Some of these components may be evaluated from the statistical distribution of the results of series of measurements and can be characterized by standard deviations. In our case, the standard uncertainty of the convergence of the weighing results were calculated.

The other components, which also can be characterized by standard deviations, are evaluated from assumed probability distributions based on experience or other information. In our case, the standard uncertainty of the effect of temperature on the volume of water and the standard uncertainty of calibration the pipette by manufacturer were calculated.

For example, according to the manufacturer the pipette has been calibrated at a temperature of 25 °C, whereas the laboratory temperature varies between the limits of ± 5 °C. The uncertainty from this effect can be calculated from the estimate of the temperature range and the coefficient of the volume expansion. The coefficient of volume expansion for water is 2.1×10^{-4} °C⁻¹, which leads to a volume variation of $\pm(2000 \cdot 2.1 \cdot 10^{-4}) = 2,1 \mu\text{l}$ and $\pm(10000 \cdot 2.1 \cdot 10^{-4}) = 10,5 \mu\text{l}$.

If there are not a large number of components, then those that less than a third of the largest, do not need to be evaluated in detail.

The preliminary assessment of the contribution of each component to the uncertainty should be made, and those that are not essential are eliminated. Checking the size of each contribution, the calibration is by far the largest.

Keywords: PIPETTOR, STANDARD UNCERTAINTY, COMBINED STANDARD UNCERTAINTY, EXPANDED UNCERTAINTY

ОЦЕНКА НЕОПРЕДЕЛЕННОСТИ ДОЗИРОВАННОГО ОБЪЕМА ОДНОКАНАЛЬНЫМ ПИПЕТ-ДОЗАТОРОМ

Н. В. Биронт, С. М. Меликян, О. И. Федякова, Г. Л. Мысько, Д. В. Янович

Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных
препаратов и кормовых добавок/кормовых добавок,
ул. Донецкая, 11, г. Львов, 79019, Украина

А Н Н О Т А Ц И Я

В статье идентифицировано факторы, влияющие на объем дозирования (2 мл и 10 мл) пипет-дозатором производства ULAB и представлена процедура оценки стандартной неопределенности основных факторов. Для расчета использованы коэффициент расширения воды, данные калибровки пипет-дозатора производителем, и статистические данные сходимости взвешивания объемов воды. Рассчитана стандартная неопределенность влияния температуры на объем дозированной воды, стандартная неопределенность калибровки пипет-дозатора производителем, и стандартная неопределенность сходимости результатов взвешивания.

Проверка величины каждого вклада показывает, что калибровка дает наибольший вклад в неопределенность. На основе этих данных рассчитан суммарную стандартную неопределенность и расширенную стандартную неопределенность.

Ключевые слова: ПИПЕТ-ДОЗАТОР, СТАНДАРТНАЯ НЕОПРЕДЕЛЁННОСТЬ, СУММАРНАЯ СТАНДАРТНАЯ НЕОПРЕДЕЛЁННОСТЬ, РАСШИРЕННАЯ НЕОПРЕДЕЛЁННОСТЬ.

ЛІТЕРАТУРА

1. ДСТУ ISO/IES 17025:2006 Національний стандарт України. Загальні вимоги до компетентності випробувальних та калібрувальних лабораторій.

2. Придатність аналітичних методів для конкретного застосування. Настанова для лабораторій з валідації методів та суміжних питань // За ред. Б. Магнуссона та У. Ернемарка. // Київ: ТОВ «Юрка Любченка», 2016 р. друге видання.

3. EURACHEM/CITACIG CG4, Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement, Third Edition, 2012.

Рецензент – Г. П. Ривак, к. с.-г. н., ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок.