

# ISO 8655

## Revisione della norma per la calibrazione gravimetrica delle pipette

**Nel gennaio 2003, le norme nazionali all'interno dell'Unione europea relative alla calibrazione di strumenti volumetrici a stantuffo sono state sostituite dalla norma ISO 8655. Un totale di 22 Paesi hanno revisionato insieme questa normativa internazionale e poi l'hanno convertita nelle loro leggi nazionali. Inoltre molti Paesi non appartenenti all'UE usano la ISO 8655 come norma-guida.**

Per gli operatori dei centri di calibrazione di pipette o per gli utenti che si occupano dell'implementazione di un proprio sistema di qualità per il monitoraggio della precisione di pipette microlitro, si pone ora la domanda su quali prescrizioni risulteranno da questa nuova norma. In collaborazione con l'Istituto Fraunhofer per la Ricerca sui Silicati e la società Brandt GmbH, Sartorius AG ha tenuto il 1-2 luglio 2003 due seminari per i clienti allo scopo di dare maggiori delucidazioni sul tema.

### Seminario sulla calibrazione delle pipette\*

Nell'ambito di un workshop pratico, i partecipanti al seminario sono stati informati sul contenuto della nuova norma DIN EN ISO. Il Sig. Lochner dell'Istituto Fraunhofer per la Ricerca sui Silicati, egli stesso membro del comitato di standardizzazione per gli strumenti volumetrici, ha riferito in modo dettagliato sulle nuove prescrizioni di questa norma. Sulla base di propri test ha spiegato i parametri di disturbo che influenzano la qualità della calibrazione di pipette. Come gli stessi partecipanti hanno confermato nella successiva parte pratica, una delle maggiori fonti di errore rimane la persona stessa.

Il Sig. Romaguera della società tedesca Brandt ha integrato le informazioni del Sig. Lochner fornendo dei dettagli sulla calibrazione di vetreria volumetrica in conformità alla norma ISO 4787. La sua relazione è stata accolta con grande interesse dai partecipanti. Nelle discussioni con i partecipanti del seminario è risultato che non viene prestata molta attenzione al controllo della precisione delle pipette in vetro nel lavoro giornaliero in laboratorio, benché questo abbia la stessa importanza come il controllo dell'accuratezza degli strumenti volumetrici a stantuffo. Durante la parte pratica del seminario, i partecipanti hanno avuto la possibilità di provare diverse soluzioni software per la calibrazione di pipette delle società Brand e Sartorius [Fig. 1.]. Inoltre hanno elaborato dei protocolli per la validazione di un centro di calibrazione di pipette.

\* A richiesta la Sartorius AG fornisce il materiale del corso impiegato in questo seminario. Data la considerevole richiesta di partecipazione, Sartorius preparerà ulteriori seminari che, se il numero dei partecipanti sarà sufficiente, potranno essere tenuti presso i clienti stessi.

### ISO 8655

Le Parti 1-5 trattano le prescrizioni generali e i vari strumenti volumetrici, come per esempio le pipette a stantuffo, diluitori e dispensatori. La Parte 6 descrive i metodi gravimetrici per la determinazione dell'errore di misura (calibrazione delle pipette); la Parte 7 (non ancora valida) i metodi non gravimetrici. Per la calibrazione delle pipette gravimetriche, sono importanti le Parti 2 e 6. Gli utenti che applicano la vecchia norma industriale tedesca DIN 12650 devono tenere presente che questa non è più valida! La nuova norma internazionale agisce anche sulla valutazione dei risultati di calibrazione. La regolamentazione per l'applicazione degli errori massimi ammessi o degli errori di utilizzo non è più contenuta nella ISO 8655. In questa nuova norma, per la valutazione della pipetta vengono inclusi gli errori sistematici e casuali. Questi errori erano già noti nella DIN 12650, ma sono stati rielaborati nella norma ISO 8655. Per es., se l'errore massimo ammesso di una pipetta di 100  $\mu\text{l}$  nella norma DIN 12650 era di  $\pm 1.5 \mu\text{l}$  (= 1,5%), nella nuova ISO 8655 è di  $\pm 0.8 \mu\text{l}$  (= 0,8%). In base alla nuova norma, deve essere usato l'errore massimo assoluto ammesso del successivo volume nominale più alto per testare il volume intermedio. Al contrario, coloro che finora hanno lavorato secondo la norma tedesca DIN 12650 hanno usato gli errori massimi relativi ammessi del volume nominale più vicino o appena sotto questo volume (cfr. ISO 8655, Parte 2, Sez. 7.2). Per le pipette multicanale, la norma ISO stabilisce che ogni canale considerato singolarmente deve soddisfare i criteri di valutazione (gli errori sistematici massimi ammessi e gli errori casuali) e non soltanto la media derivata da tutti i canali come nelle norme precedenti.



Fig. 1. Esercitazione pratica presso un centro di calibrazione di pipette

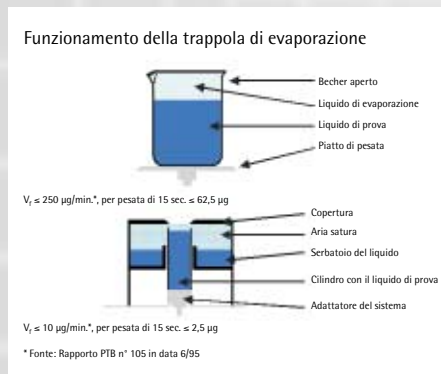


Fig. 2. Funzionamento di una trappola di evaporazione

## Riconoscere le fonti di errore = evitare gli errori

Oltre alla revisione degli errori di misura, la norma ISO 8655 dà molta importanza al riconoscimento e quindi alla possibilità di evitare errori causati da un uso sbagliato o da un'interpretazione errata. Importante è a riguardo la tabella nella Parte dell'Allegato B, in quanto vi sono elencati i parametri di influenza, gli errori risultanti nella misurazione e le misure correttive. Una delle maggiori fonti di errore durante la misurazione è l'evaporazione del liquido di prova. Specialmente per volumi  $< 50 \mu\text{l}$ , questo errore può essere decisivo nel determinare se una pipetta è misurata dentro o fuori il campo delle tolleranze. Per eliminare il più possibile questo errore, si è dimostrato adatto l'uso della cosiddetta trappola di evaporazione [Fig. 2.+3.]. Arricchendo l'aria circostante con vapore acqueo, la trappola riduce l'evaporazione del liquido di prova fino ad un grado che non è più rilevante per la misurazione volumetrica.

## Scegliere la giusta bilancia

Spesso gli utenti sono molto insicuri circa la risoluzione di pesata che deve avere la bilancia usata. Per questo motivo presentiamo qui una tabella [Tab. 1.] estratta dalla Parte 6, Sezione 4.1 della norma ISO 8655. Questa tabella indica le risoluzioni del display della bilancia per ogni volume nominale di una pipetta da testare:

Volume selezionato dello strumento da testare	Risoluzione (mg)
1 $\mu\text{l}$ – 10 $\mu\text{l}$	0,001
> 10 $\mu\text{l}$ – 100 $\mu\text{l}$	0,01
> 100 $\mu\text{l}$ – 1,000 $\mu\text{l}$	0,1
> 1 ml – 10 ml	0,1
> 10 ml – 200 ml	1

Tab. 1. Assegnazione del volume nominale da testare alla risoluzione del valore di pesata

Fig. 3. Trappola di evaporazione nella bilancia semimicro ME 215P-SD con una protezione contro le correnti d'aria di forma ridotta



Nonostante questo aiuto, gli utenti spesso raggiungono i limiti di precisione quando devono scegliere la giusta bilancia per misurare le masse più piccole, oppure come in questo caso i volumi più piccoli. Questo risulta molto evidente se consideriamo la calibrazione di una pipetta di 10  $\mu\text{l}$ .

Supponiamo che 10  $\mu\text{l}$  sia uguale a 10 mg, è chiaro che soltanto 0,01000 g = 1000 digit saranno visualizzati persino su una bilancia semimicro. Dato che uno strumento di misura ha l'incertezza relativa più alta all'inizio del suo campo di misurazione, cioè campo di pesata, i fattori fisici di influenza anche i più piccoli alterano in modo particolare la determinazione della deviazione standard. Per la stessa ragione esiste un carico minimo per le bilance omologabili, oppure nel settore farmaceutico viene determinato un peso minimo in conformità ai requisiti USP. In breve, l'impiego di una microbilancia per volumi di pipette relativamente piccoli porta ad una precisione di misura 10 volte maggiore (per 10  $\mu\text{l}$  = 0,010000 g). Per il controllo di volumi nominali  $< 10 \mu\text{l}$ , Sartorius ha realizzato una trappola di evaporazione per la microbilancia MC5 [Fig. 4.]. Se impiegata insieme ad una protezione contro le correnti d'aria leggermente modificata, che permette un maneggio ergonomico della pipetta, questa trappola di evaporazione assicura procedure di calibrazione precise e affidabili anche quando si lavora con volumi minuti.

Per il materiale scritto del seminario:  
Codice: 048  
Per informazioni sui corsi di training:  
Codice: 049



Fig. 4. Microbilancia MC5 con trappola di evaporazione