

マイクロピペットの校正と 不確かさ評価事例

2016年9月7日

一般財団法人 日本品質保証機構

高尾明寿

講演内容

- はじめに
- 構造と性能
- 校正の概要
- 校正の不確かさ
- おわりに

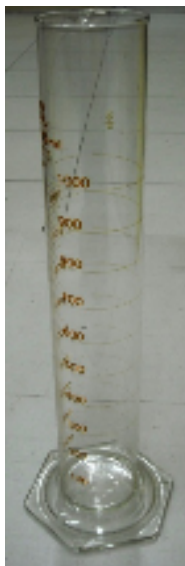
はじめに

- 体積計の種類

フラスコ・メスシリンダー

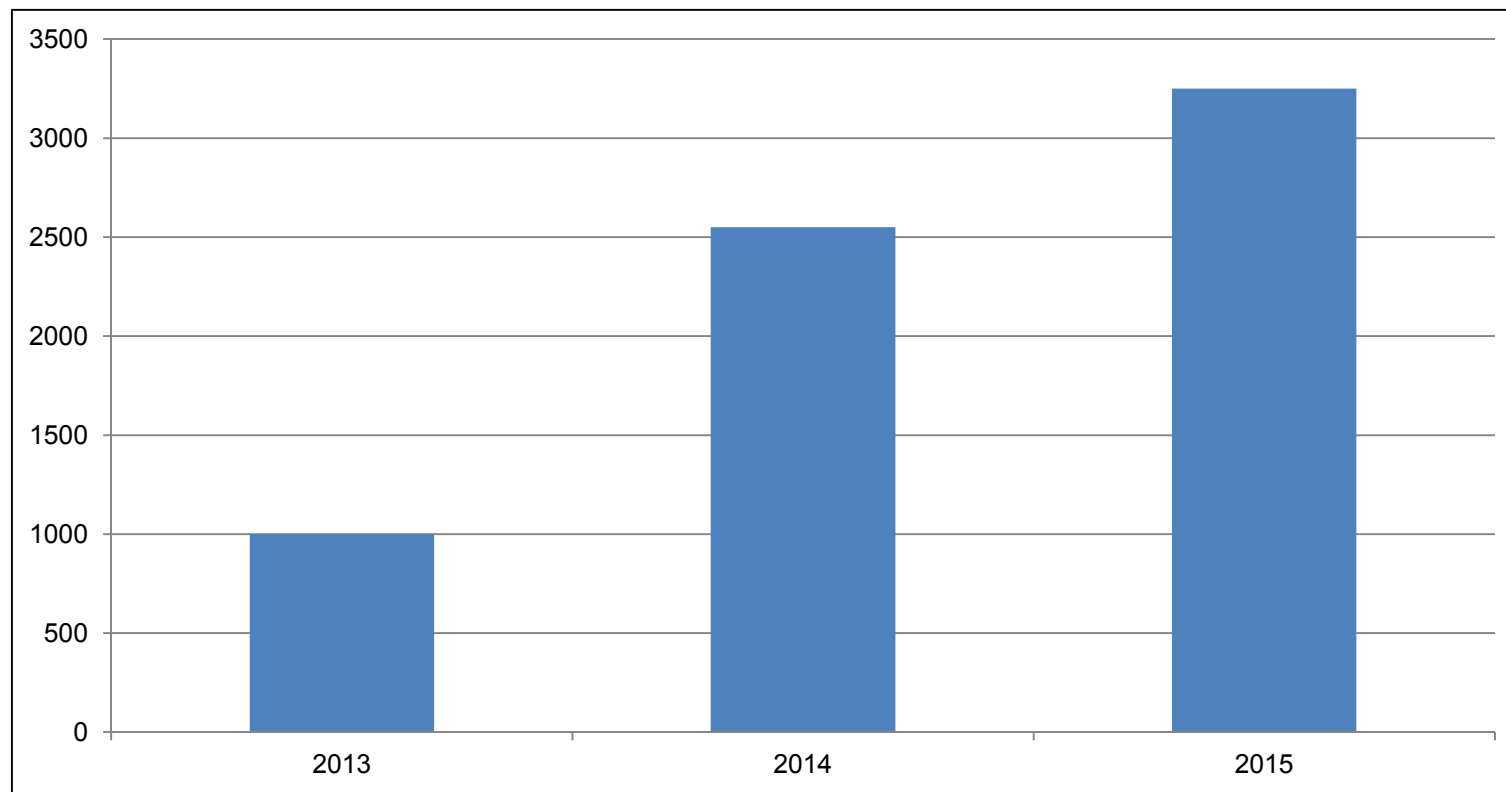
全量ピペット・ビュレット

マイクロピペット



はじめに

- マイクロピペットの校正件数(JCSS)



製品評価技術基盤機構公開資料 JCSS校正証明書発行件数より

はじめに

- マイクロピペットに関する規格等

ISO 8655 (2002) Piston-operated volumetric apparatus

- — *Part 1: Terminology, general requirements and user recommendations*
- — *Part 2: Piston pipettes*
- — *Part 3: Piston burettes*
- — *Part 4: Dilutors*
- — *Part 5: Dispensers*
- — *Part 6: Gravimetric methods for the determination of measurement error*
- — *Part 7: Non-gravimetric methods for the assessment of equipment performance*

ISO/TR 20461 (2000) Determination of uncertainty for volume measurements made using the gravimetric method

JIS K 0970 (2013) ピストン式ピペット

性能と構造

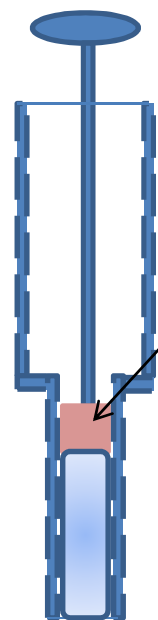
- 種類と型式及びチャネル

種類	種類の細区分	形式	チャネル
空気置換式	――	固定容量形	シングルチャネル
		可変容量形	シングルチャネル
			マルチチャネル
直接置換式	(ピストンと細管) 再利用タイプ 使い捨てタイプ	固定容量形	シングルチャネル
		可変容量形	マルチチャネル

構造と性能

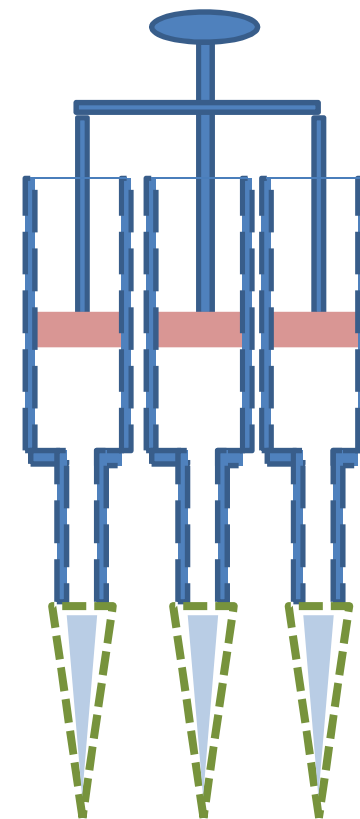
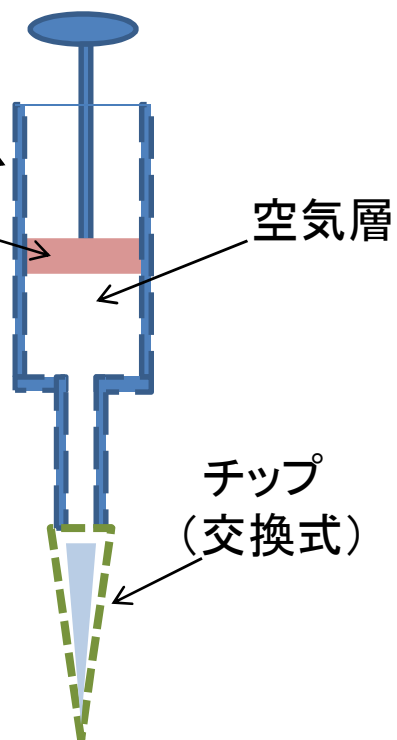
- 構造

直接置換式



シングルチャネル

空気置換式



マルチチャネル

性能と構造

- 系統誤差
分注容量と設定容量との差異の平均値
- 偶然誤差
分注容量の平均値周りのばらつき
(分注容量の標準偏差)

許容誤差は公称最大容量で規定されている。

性能と構造

- 空気置換式及び直接置換式の再利用タイプの最大許容誤差 (ISO8655-2より抜粋)

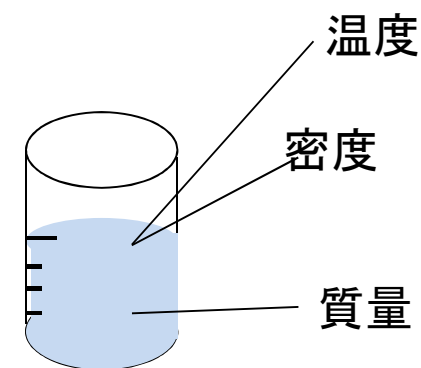
公称容量	最大許容系統誤差		最大許容偶然誤差	
μL	$\pm\%$	$\pm\mu\text{L}$	$\pm\%$	$\pm\mu\text{L}$
1	5.0	0.05	5.0	0.05
2	4.0	0.08	2.0	0.04
5	2.5	0.12	1.5	0.07
10	1.2	0.12	0.8	0.08
20	1.0	0.2	0.5	0.1
50	1.0	0.5	0.4	0.2
100	0.8	0.8	0.3	0.3
200	0.8	1.6	0.3	0.6

校正の概要

- 衡量法（重量法）

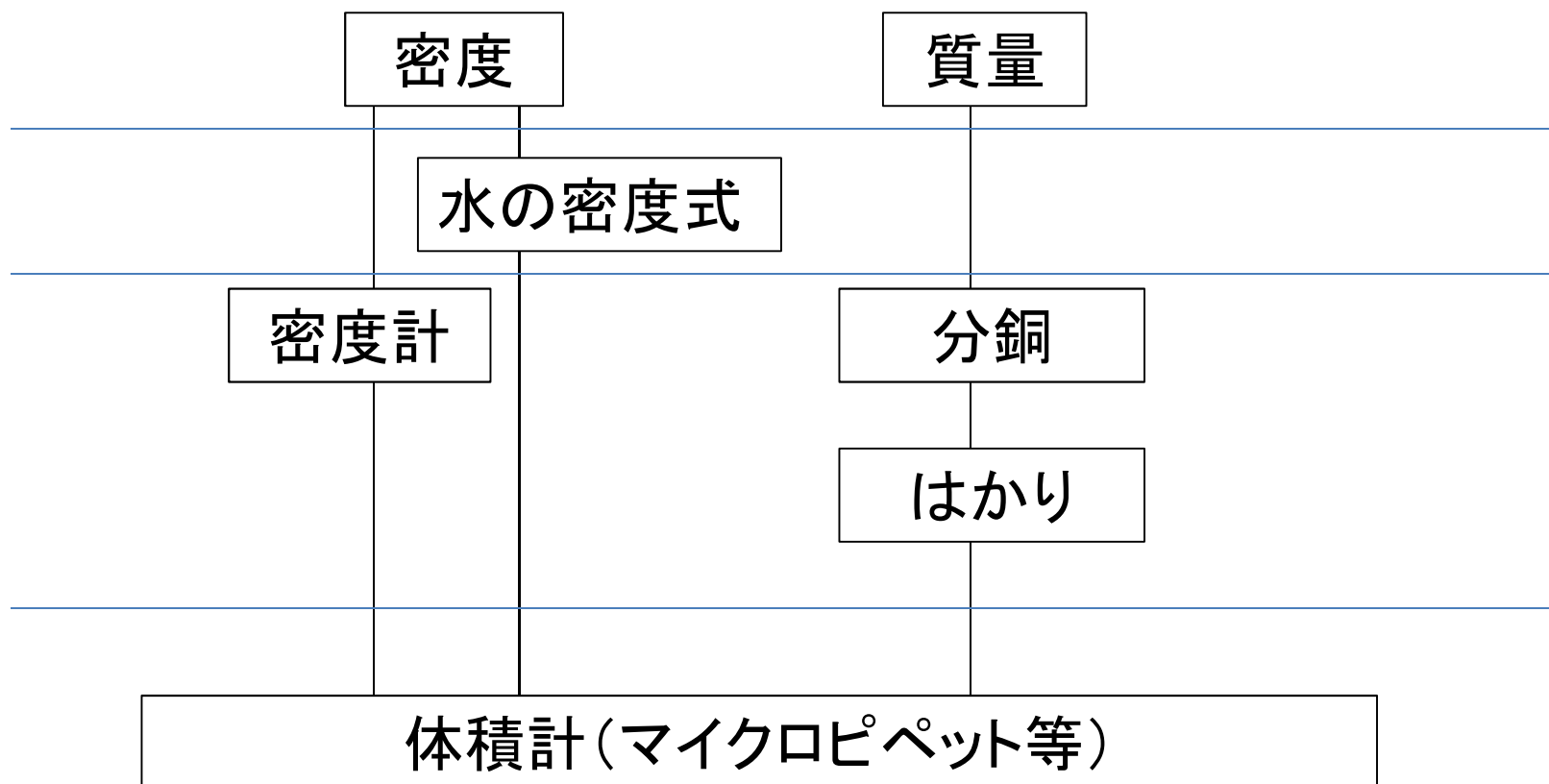
体積計に受け入れられた水の質量又は体積計から排出された水の質量、水の温度等から体積を計算で求める。

$$\text{体積} = \frac{\text{質量}}{\text{密度}}$$



校正の概要

- トレーサビリティ体系



校正の概要

• 測定手順

1. チップをピペットに取り付ける

2. 水の吸引・排出（リンス）を行う。

3. 水を排出する
ひょう量容器をはかりに載せ指示値を記録するか風袋引きする。

4. 水をピペットに吸引する。

5. プッシュボタンを押して水をひょう量容器の中へ排出する。

6. はかりの指示値を記録する。

7. 3.から6.を必要回数繰り返す。

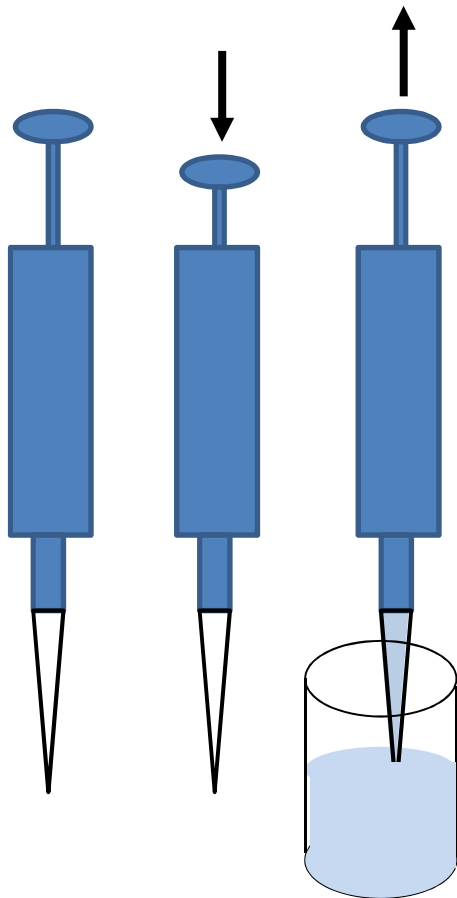
8. 水の温度と気温、湿度、気圧を測定する。

・測定は繰り返し10回行う。

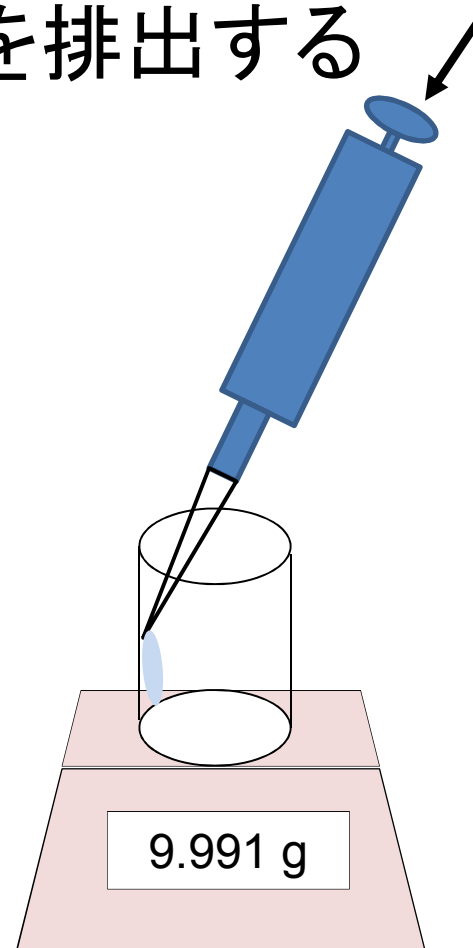
・校正する容量は、少なくとも公称容量の100%, 50%, 10%（または有効容量範囲の下限）の3水準

校正の概要

- 水を吸入する



- 水を排出する



校正の概要

- ダイヤル調整(可変式)

0	9	9	7
---	---	---	---



1	0	0	5
---	---	---	---



1	0	0	0
---	---	---	---

一度目標とする目盛を過ぎたところまでまわす

目的の目盛まで戻して
合わせる

校正の概要

- 体積値の算出式

$$V = M \cdot Z \cdot Y$$

V :標準温度20°Cにおける体積値(μL)
 M :排出された水の質量(mg)
 Z :補正係数
 Y :熱膨張補正係数

校正の概要

- 体積値の算出式

蒸留水用の補正係数 Z

温度 (°C)	気圧(hPa)			
	800	850	900	950
19.0	1.0024	1.0025	1.0025	1.0026
19.5	1.0025	1.0026	1.0026	1.0027
20.0	1.0026	1.0027	1.0027	1.0028
20.5	1.0027	1.0028	1.0028	1.0029
21.0	1.0028	1.0029	1.0029	1.0030
22.0	1.0031	1.0031	1.0032	1.0032

JIS K 0970 より抜粋

校正の概要

- 体積値の算出式

$$V = \left[\frac{M}{\rho_w} \right] \left\{ 1 + \rho_a \left(\frac{1}{\rho_w} - \frac{1}{\rho_b} \right) + \beta(20 - t) \right\}$$

V :標準温度20°Cにおける体積値(μL)

M :排出された水の質量(mg)

t :測定に用いた水の温度(°C)

ρ_w :t°Cの水の密度(g/cm³)

ρ_a :測定時の周囲の空気密度(g/cm³)

ρ_b :はかりの校正に用いた分銅の密度(g/cm³)

β :校正を行う体積計の体膨張係数(°C⁻¹)

(合成樹脂 $2 \times 10^{-4} \sim 4 \times 10^{-4} \text{ K}^{-1}$)

校正の概要

- 水の密度式（CIPM推奨式）

$$\rho_w = \alpha_5 \left[1 - \frac{(t + \alpha_1)^2 (t + \alpha_2)}{\alpha_3 (t + \alpha_4)} \right]$$

$$\alpha_1 = -3.983035 \text{ }^{\circ}\text{C}$$

$$\alpha_2 = 301.797 \text{ }^{\circ}\text{C}$$

$$\alpha_3 = 522528.9 \text{ }^{\circ}\text{C}$$

$$\alpha_4 = 69.34881 \text{ }^{\circ}\text{C}$$

$$\alpha_5 = 999.974950 \text{ kg/m}^3$$

校正の概要

- 空気密度の算出

$$\rho_a = \frac{0.34848p - 0.009(hr) \times \exp(0.061t)}{273.15 + t}$$

p :校正時の大気圧(hPa)

hr :校正時の相対湿度(%)

t :校正時の室温(°C)

校正の概要

- 蒸発による影響

1 μ Lは1mgに相当する微小な量

水の蒸発は正確な測定の妨げとなるので、、、
測定室の湿度を高めにする。

(50%以上)

機器を使って蒸発を抑制する。

ひょう量容器に蓋をすることでも効果あり。

校正の概要

- 蒸発量の測定

使用した天秤

分解能 0.001 mg

ピペットの校正と同じ時間

ひょう量容器の蓋を開放
して測定

標準偏差 0.0024 mg

回	指示値	差分	(mg)
1	-0.049	----	
2	-0.053	-0.004	
3	-0.056	-0.003	
4	-0.062	-0.006	
5	-0.069	-0.007	
6	-0.072	-0.003	
7	-0.080	-0.008	
8	-0.085	-0.005	
9	-0.091	-0.006	
10	-0.100	-0.009	
11	-0.110	-0.010	
平均蒸発量		-0.0061	

校正の不確かさ

- 不確かさの要因

水の質量測定

水の密度

空気密度

ピペットの体膨張係数

ピペットの温度

蒸発量

校正の不確かさ

- 水の質量測定

繰返し測定のはらつき

10回の測定の実験標準偏差

$$s = \sqrt{\frac{1}{n(n-1)} \sum_{i=1}^n (v_i - \bar{v})^2}$$

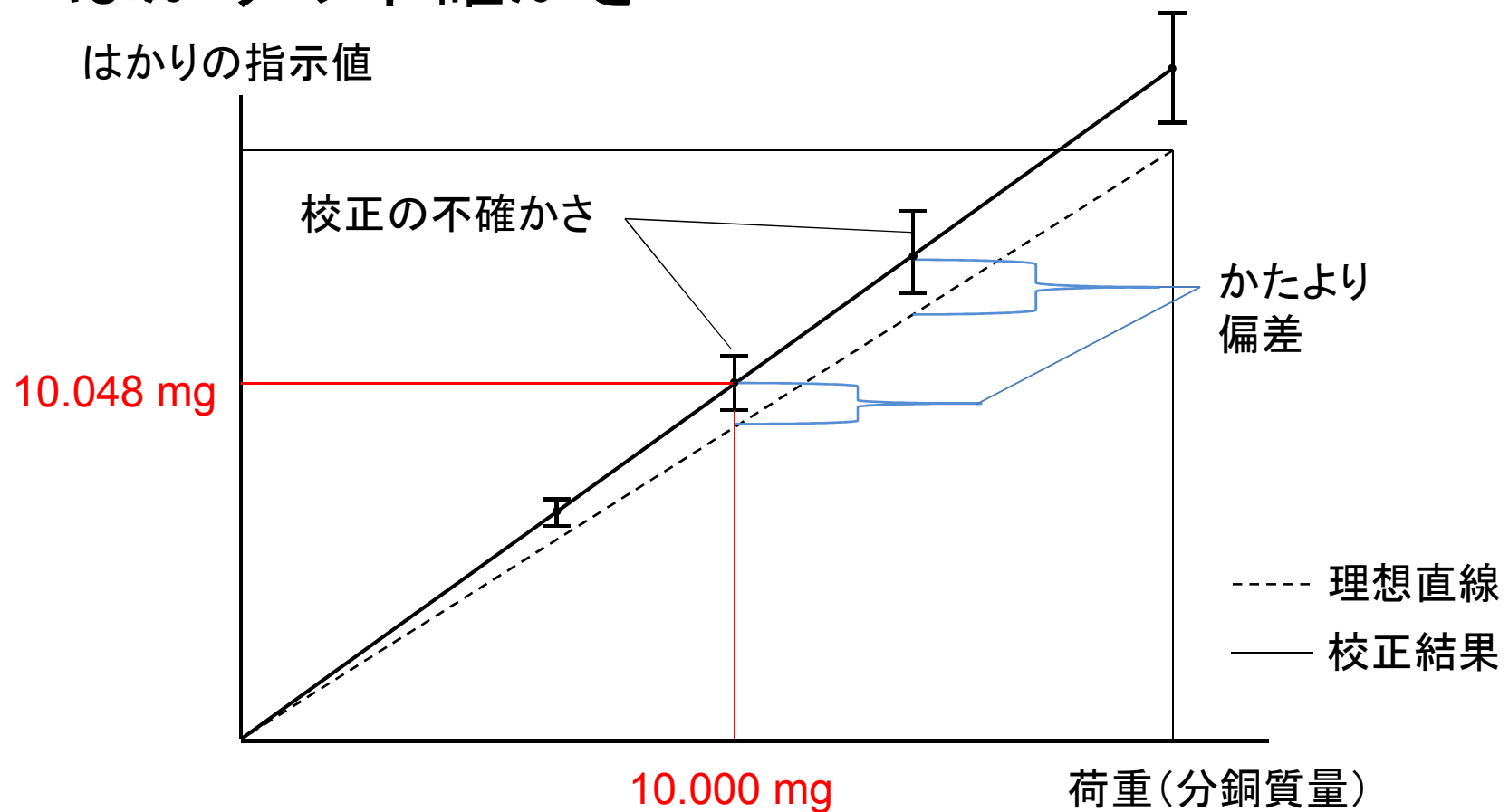
はかりの不確かさ

はかりの校正の不確かさ

はかりの偏差

校正の不確かさ

- はかりの不確かさ



校正の不確かさ

- 水の密度

水の温度変動による水の密度の変化を評価
校正中の水温の変化の観測値から算出

- 空気密度

校正環境下での空気密度変動による影響
校正中の温湿度、気圧の変動から空気密度
の最大値と最小値を算出

校正の不確かさ

- ピペットの体膨張係数

 - ピペットの膨張係数の不確かさ

 - 体膨張係数そのもののもつ不確かさ

- ピペットの温度

 - ピペット自体の温度による変化（熱膨張）

 - 校正時に手で持って扱うため、体温が伝わる

- 蒸発量

 - 蒸発量を補正する場合にその補正值の不確かさ

 - 補正值を算出したデータの標準偏差

校正の不確かさ

・計算例

10 μL のピペットで

10 μL を10回測定

平均値 10.02 μL

標準偏差 0.08 μL

回数	質量(mg)	体積(μL)
1	9.951	9.989
2	9.875	9.912
3	9.901	9.938
4	9.936	9.974
5	10.001	10.039
6	10.149	10.182
7	9.970	10.008
8	10.064	10.102
9	9.965	10.003
10	10.000	10.038
平均値	9.9816444	10.01846
標準偏差	0.079	0.079

校正の不確かさ

要因	標準不確かさ		感度係数		変換した不確かさ	
水の質量	0.0462	mg	1.00	$\mu\text{L}/\text{mg}$	0.0462	μL
質量測定	0.03	mg				
はかり	0.0351	mg				
校正	0.0215	mg				
偏差	0.0277	mg				
水の密度	0.000067	$\text{mg}/\mu\text{L}$	-10.0	$(\mu\text{L})^2/\text{mg}$	0.00067	μL
空気密度	0.0000159	$\text{mg}/\mu\text{L}$	8.76	$(\mu\text{L})^2/\text{mg}$	0.000139	μL
体膨張係数	0.0000577	$^{\circ}\text{C}^{-1}$	-24.9	$\mu\text{L}\cdot^{\circ}\text{C}$	0.00144	μL
ピペット温度	1.154	$^{\circ}\text{C}$	-0.00299	$\mu\text{L}/^{\circ}\text{C}$	0.00344	μL
蒸発量	0.0200	μL	1.00	μL	0.0200	μL
合成標準不確かさ					0.0505	μL
拡張不確かさ					0.11	μL

校正の不確かさ

・最終結果

10 μL の校正結果

10.02 μL ± 0.11 μL

標準偏差: 0.08 μL

適合

10 μL のピペットの規格は

公称容量	最大許容系統誤差		最大許容偶然誤差	
μL	$\pm\%$	$\pm\mu\text{L}$	$\pm\%$	$\pm\mu\text{L}$
10	1.2	0.12	0.8	0.08

おわりに

校正では水を用いる

実際に水を量りとりとは限らない

その液体に応じた量りとりが重要になる

おわりに

校正をしたら終わりではなく、その校正したマイクロピペットを使用した測定が行われる。

測定をすると、その測定結果の不確かさを考慮する。

測定結果の不確かさには校正の不確かさが加味される。

おわりに

ご清聴ありがとうございました。