

## Калибрация пипеток спектрофотометрическим методом

### Основной принцип

Идеальным и наиболее используемым методом калибровки пипеток является весовой метод, в котором (1) используются аналитические весы для измерения массы жидкости отмеренной пипеткой; (2) масса переводится в объем; и (3) устанавливается, является ли измеряемый объем достаточно близким по значению к ожидаемому объему. В таких случаях, необходим какой-либо альтернативный метод. В одном из таких методов применяется стандартный лабораторный спектрофотометр.

Для спектрофотометрического метода калибровки пипеток необходима желтая пищевая краска и несколько других основных материалов. Данная краска (ее можно приобрести в магазине) в составе водного раствора соответствует нормам Закона Бэра, если ее доля составляет 400 или 460 нм. Данный метод прост и превосходит и может быть изложен следующим образом: (1) подготовить два одинаковых раствора желтой краски, используя как стандартную гравиметрическую пипетку, так и некалиброванную пипетку и (2) сравнить оптическую плотность (ОП) каждого раствора. Например, для калибровки пипетки в 20  $\mu\text{L}$  данным методом, сначала необходимо приготовить раствор желтой краски. 100  $\mu\text{L}$  данной краски растворить в воде, используя стандартную гравиметрическую пипетку на 100  $\mu\text{L}$ . Затем, необходимо приготовить пять частей аналогичного раствора краски, используя пипетку в 20  $\mu\text{L}$  (т.е.  $5 \times 20 \mu\text{L} = 100 \mu\text{L}$ ). И в заключении, определить оптическую плотность каждого раствора и сравнить их.

### **Материалы:**

Спектрофотометр и кюветы по 2 мл  
Желтая пищевая краска  
Деионизированная вода  
Две тестовые пробирки  
Одна стандартная пипетка (100  $\mu\text{L}$ )  
Градулируемая пипетка  
Вспомогательная пипетка

### **Порядок действий:**

**Шаг 1:** Растворить две капли желтой пищевой краски в 10 мл деионизированной воды

**Шаг 2:** Используя мерную пипетку, переместить по 2 мл воды в каждую из двух тест пробирок.

**Шаг 3:** (а) Используя стандартную гравиметрическую пипетку в 100  $\mu\text{L}$ , добавить 100  $\mu\text{L}$  раствора краски (см. шаг 1) в одну из пробирок, упоминаемых в шаге 2.

(б) Используя пипетку для калибровки, добавить 100  $\mu\text{L}$  раствора краски (см. шаг 1) во вторую пробирку, упоминаемую в шаге 2.

**Шаг 4:** Установите спектрофотометр на 400 нм и сделайте контрольную пробу, используя 2мл кювету, наполненную водой.

*(Примечание: Возможен дрейф показаний [российского] спектрофотометра, поэтому перед тем как сделать какие-либо замеры, необходимо заблаговременно проверить инструмент)*

**Шаг 5:** Определить оптическую плотность обоих растворов, описанных в шаге 3.

*(Примечание: Оба раствора должны быть в пределах от 0,3 до 0,6. В противном случае необходимо откорректировать соотношение растворов)*

**Шаг 6:** Убедитесь, что значение оптической плотности раствора, приготовленного при помощи неградуированной пипетки, колеблется в пределах 5% от значения оптической плотности раствора, приготовленного с использованием стандартной пипетки. Например:

Значение оптической плотности раствора, приготовленного стандартной пипеткой равняется 0,500, умножьте данное значение на 0,95 и 1,05 (таким образом, оптическая плотность колеблется в пределах от 0,475 до 0,525, соответственно). Таким образом, если оптическая плотность раствора, приготовленного при помощи (ранее) неградуированной пипетки колеблется в данных пределах, вы можете быть уверены, что объем вашей пипетки был определен правильно, с погрешностью  $\pm 5\%$ .

**Шаг 7:** Дата и инициалы (на этикетке пипетки) о том, что объем пипетки находится в области допустимых значений.

**Шаг 8:** Заполните регистрационный журнал градуирования пипеток [Форма "LAB.PipCalibr"] чтобы документально подтвердить проведение градуирования.

#### **Частота проведения калибровки:**

Необходимо калибровать спектрофотометрическую пипетку раз в три месяца.

#### **Авторы**

Рон Ньютон, MT(ASCP) и Крис Гресенс, MD