

MICROPIPETAS - PIPETAGEM E CALIBRAÇÃO

As MICROPIPETAS são instrumentos volumétricos utilizados para a medição de um determinado volume de líquido quando são necessários valores na ordem dos microlitros. São instrumentos de medição muito importantes em áreas como a química, biologia, saúde, farmácia e genética, que trabalham com o doseamento volumétrico em pequena escala.

Tipos de micropipetas

- Micropipetas de deslocamento positivo utilizadas para líquidos específicos
- Micropipetas de deslocamento de ar utilizadas na grande maioria das atividades em laboratórios.

O princípio da operação de pipetagem é simples: o enchimento das micropipetas é realizado através dum êmbolo acionado manualmente que aspira o líquido de calibração. A quantidade de ar entre o êmbolo e a pipeta determina o volume pretendido. O mesmo êmbolo também provoca o escoamento do líquido por impulsão do ar.

Calibração

A calibração de micropipetas consiste na determinação do volume escoado de uma micropipeta através do método gravimétrico, utilizando água como líquido de calibração, à temperatura de referência de 20°C, utilizando fórmulas adequadas, e que permite obter o erro volumétrico associado à micropipeta.

O procedimento experimental é baseado na norma ISO 8655 (1) e consiste em efetuar cinco enchimentos sucessivos de forma a que a micropipeta atinja o equilíbrio de humidade, em seguida muda-se de seguida a ponteira e faz-se um novo enchimento.

Determina-se o peso do recipiente com água e pipeta-se o volume pretendido. Pesa-se o recipiente com água

e, por diferença, determina-se o valor do volume da micropipeta. Repete-se os ensaios de 3 a 5 vezes sem limpar o recipiente. Em cada medição deve-se registar o valor da massa. O valor médio dos ensaios corresponde à massa escoada da micropipeta.

Para se determinar qual o volume correspondente à massa escoada da micropipeta utiliza-se a seguinte fórmula descrita na ISO 4787 (2):

$$V_{20} = (I_L - I_E) \times \frac{1}{\rho_w - \rho_a} \times \left(1 - \frac{\rho_a}{\rho_b}\right) \times [1 - \gamma(t - 20)]$$

Nesta equação temos:

V_{20} – Volume, à temperatura de 20°C, em ml;

I_L – Resultado da pesagem com o recipiente cheio com água, em mg;

I_E – Resultado da pesagem com o recipiente vazio, em mg;

ρ_w – Massa da água, à temperatura de calibração t , em mg/ml;

ρ_a – Massa do ar, em mg/ml (para temperaturas muito próximas de 20°C e à pressão atmosférica normal pode ser usado o valor médio de 0,0012 mg/ml);

ρ_b – Massa de referência das massas da balança (para massas conformes com a OIML 3 3, normalmente utilizados, este valor é de 8,0 mg/ml);

γ – Coeficiente de expansão cúbica do material de que é constituída a micropipeta, em °C⁻¹;

t – Temperatura da água usada na calibração, em °C.

A temperatura do líquido de calibração é um elemento essencial para o cálculo do volume, uma vez que a sua variação implica a obtenção de diferentes valores de densidade. Assim, é de extrema importância que o líquido de calibração se encontre à temperatura de

- Assistência técnica especializada
- Calibração de instrumentos com rastreabilidade RBC/INMETRO
- Compra e venda de equipamentos
- Contratos de manutenção

trabalho do laboratório para que os valores obtidos na calibração possam ser utilizados no decorrer de ensaios laboratoriais.

A temperatura de referência deverá ser de (20 ± 0.5) °C. O líquido de calibração deverá ser água destilada com uma condutividade inferior a $5 \mu\text{S}/\text{cm}^3$.

Cálculo da incerteza

A incerteza de medição é o parâmetro associado ao resultado de uma medição, que caracteriza a dispersão dos valores que podem ser razoavelmente atribuídos à medida. Neste caso específico as componentes da incerteza vão ser as seguintes:

- Incerteza da pesagem (u_m)
- Incerteza da massa volumétrica da água (u_w),
- Incerteza dos pesos da balança (u_b) e do ar (u_a)
- Incerteza da temperatura (u_t)
- Incerteza da evaporação (u_{evao})
- Incerteza do coeficiente de expansão cúbica do material (u_c)

Para se obter a incerteza padrão multiplica-se cada componente pelo respectivo coeficiente de sensibilidade, que descreve como a grandeza V_{20} é influenciada pelas variações de cada um dos componentes da fórmula utilizada.

Assim, a fórmula de cálculo da incerteza padrão é a seguinte:

$$u(V_{20}) = \left[\left(\frac{\partial V_{20}}{\partial m} \right)^2 u^2(m) + \left(\frac{\partial V_{20}}{\partial \rho_w} \right)^2 u^2(\rho_w) + \left(\frac{\partial V_{20}}{\partial \rho_A} \right)^2 u^2(\rho_A) + \left(\frac{\partial V_{20}}{\partial \rho_B} \right)^2 u^2(\rho_B) + \left(\frac{\partial V_{20}}{\partial \gamma} \right)^2 u^2(\gamma) + \left(\frac{\partial V_{20}}{\partial t} \right)^2 u^2(t) + u(\delta V_{evap})^2 \right]^{\frac{1}{2}}$$

A incerteza padrão é de seguida multiplicada por um fator de conversão k (normalmente é 2 para um número de graus de liberdade superior a 50) para se obter a incerteza padrão expandida que corresponde a um intervalo de confiança de 95%. Assim, o resultado final da calibração irá ser representado por:

$$V_{20} = \text{Volume} \pm \text{Incerteza}$$

Variação do erro

A soma do módulo do erro obtido (diferença entre o volume nominal e o volume verdadeiro) com o módulo da incerteza deverá ser igual ou inferior à tolerância do instrumento, de forma a que o instrumento possa ser utilizado nos ensaios a que se destina.

Desempenho da pipetagem

O erro volumétrico obtido na calibração da micropipeta pode ser alterado indevidamente devido a vários fatores de manuseamento deficiente do material, tais como um mau funcionamento do êmbolo causado pela fadiga da mola da micropipeta ou erros associados ao tipo de ponta, entre outros.

Pipetagem

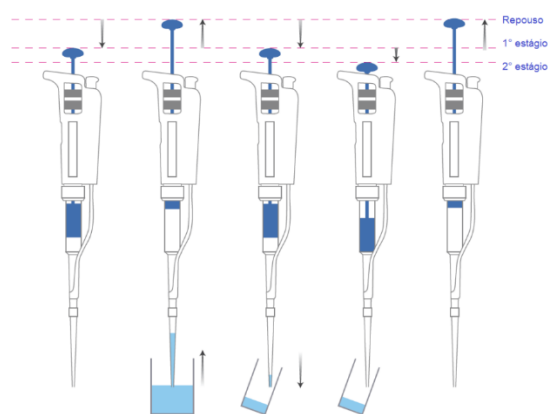


Figura 01 – Representação gráfica da técnica de pipetagem

Conclusão

A calibração das micropipetas é de muita importância para os testes analíticos, pois permite verificar quais os erros e incertezas associados ao material utilizado, sendo assim possível a correção do volume dosado nas análises realizadas, obtendo-se um resultado final mais correto e realista.

Referência

- 1- Importância da Calibração de Micropipetas nos Ensaio Analíticos
Elza Batista – Laboratório de Volume Instituto Português de Qualidade.
https://www.metroquality.com.br/pastas/artigo/OID49801/IQS11pg38_40.pdf

- Assistência técnica especializada
- Calibração de instrumentos com rastreabilidade RBC/INMETRO
- Compra e venda de equipamentos
- Contratos de manutenção

+55 11 2097-0882
+55 11 99918-0973
qualidade@century-sp.com.br

WWW.CENTURY-SP.COM.BR