



中华人民共和国国家计量技术规范

JJF 1821—2020

聚合酶链反应分析仪温度校准装置 校准规范

Calibration Specification of Temperature Calibration Devices
for Polymerase Chain Reaction Analyzers

2020-01-17 发布

2020-04-17 实施

国家市场监督管理总局发布

聚合酶链反应分析仪 温度校准装置校准规范

Calibration Specification of
Temperature Calibration Devices for
Polymerase Chain Reaction Analyzers

JJF 1821—2020

归口单位： 全国温度计量技术委员会

起草单位： 上海市计量测试技术研究院
中国计量科学研究院

参加起草单位： 辽宁省计量科学研究院
江苏省计量科学研究院
广东省计量科学研究院
上海宏石医疗科学仪器有限公司

本规范委托全国温度计量技术委员会负责解释

本规范主要起草人：

张丽萍（上海市计量测试技术研究院）

金志军（中国计量科学研究院）

高运华（中国计量科学研究院）

参加起草人：

董 亮（辽宁省计量科学研究院）

王 征（江苏省计量科学研究院）

梁显友（广东省计量科学研究院）

秦 荣（上海宏石医疗科学仪器有限公司）

目 录

引言	II
1 范围	1
2 引用文件	1
3 术语	1
4 概述	1
5 计量特性	2
6 校准条件	2
7 校准项目和校准方法	3
8 校准数据的处理	5
9 校准结果的表达	6
10 复校时间间隔	6
附录A 原始记录参考格式	7
附录B 校准证书（内页）格式	8
附录C 等温块结构说明	9
附录D 等温块温度均匀性和波动性的测试方法	10
附录E 不确定度评定示例	12

引　　言

本规范依据JJF 1071-2010《国家计量校准规范编写规则》制定，其中不确定度的评定按照JJF 1059. 1-2012《测量不确定度评定与表示》进行。

本规范为首次发布。

聚合酶链反应分析仪温度校准装置校准规范

1 范围

本规范适用于测量范围为(0~120)℃以内的聚合酶链反应分析仪温度校准装置的校准。

2 引用文件

本规范引用下列文件：

JJG 160-2007 标准铂电阻温度计检定规程

JJF 1030-2010 恒温槽技术性能测试规范

JJF 1527-2015 聚合酶链反应分析仪校准规范

YY/T 1173-2010 聚合酶链反应分析仪

凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本规范；凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本规范。

3 术语

3.1 聚合酶链反应分析仪 (polymerase chain reaction analyzer)

基于聚合酶链反应(PCR)技术原理，模拟DNA或RNA的复制过程，在模板、引物、聚合酶等存在的条件下，特异扩增已知序列，对其进行检测分析的仪器设备。也称基因扩增仪。

4 概述

聚合酶链反应分析仪温度校准装置由单通道或多通道测温模块、数据采集模块、数据线和显示器（计算机）等组成，其测温模块的结构能够模拟聚合酶链反应分析仪（以下简称PCR仪）样品反应管的外形结构，主要用于校准PCR仪的温度特性，其组成框图如图1所示。



图1 PCR仪温度校准装置组成框图

5 计量特性

5.1 温度示值

PCR 仪温度校准装置温度示值的最大允许误差为 $\pm 0.20^{\circ}\text{C}$ 。

注：上述指标不作为合格判定依据。

6 校准条件

6.1 环境条件

6.1.1 环境温度：(15~25) $^{\circ}\text{C}$ ；

环境湿度： $\leq 85\% \text{RH}$ 。

6.1.2 电测设备对环境温湿度等另有要求时，应满足其相应规定。

6.1.3 校准时，供 PCR 仪温度校准装置、恒温设备和电测设备使用的电源应分别符合相应要求。

6.2 测量标准及其他设备

校准时，可选用表 1 所示的测量标准及其他设备。

表1 校准用测量标准及其他设备

序号	设备名称	技术要求	用途	备注
1	标准铂电阻温度计	准确度等级：二等及以上 测量范围：(0~419.527) $^{\circ}\text{C}$	温度标准器	可使用满足要求的其他测量标准
2	电测设备	0.005 级。配接温度标准器后，最小分辨力相当于 0.001 $^{\circ}\text{C}$ 。	与标准铂电阻温度计配套使用	

3	恒温槽及等温块	恒温槽	温度范围: (0~120) °C 温度均匀性: ≤0.01°C 温度波动性: ≤0.01°C/10min 工作区域深度: ≥300mm	提供恒定温场	
		等温块	温度均匀性: ≤ 0.03°C 温度波动度: ≤ 0.02°C/10min		
4	水三相点瓶	$\delta=0.001^{\circ}\text{C}$ $k=2$		测量标准铂电阻温度计的水三相点值	

7 校准项目和校准方法

7.1 校准项目

PCR 仪温度校准装置的校准项目为温度示值。

7.2 校准方法

7.2.1 校准前的检查

7.2.1.1 外观检查

目测检查 PCR 仪温度校准装置应外观良好, 各通道温度传感器无弯折、断裂、污染, 传感器封装、引线插件接触良好。

7.2.1.2 显示功能检查

可在温度示值校准时进行检查。

PCR 仪温度校准装置各通道温度显示应符合其分辨力要求, 显示数字及图像应清晰, 小数点和状态显示应正确。当温度超出测温范围或传感器发生故障时, 应能实时显示其相应的通道号。

7.2.2 校准前的准备

- 开启电测设备进行预热, 预热时间至少 20min 或满足其使用说明书的相应要求;
- 预先冻制好水三相点瓶;
- 将标准铂电阻温度计放入冻制好的水三相点瓶中, 测量其水三相点值。将新测得的水三相点值输入配套电测设备使用;
- 按恒温槽使用说明书的要求, 保证其工作区域的液面处于规定液位;
- 备好图 2 所示的 PCR 仪温度校准装置校准用的全浸式专用等温块或局浸式专用等温块, 并保持其内部清洁。

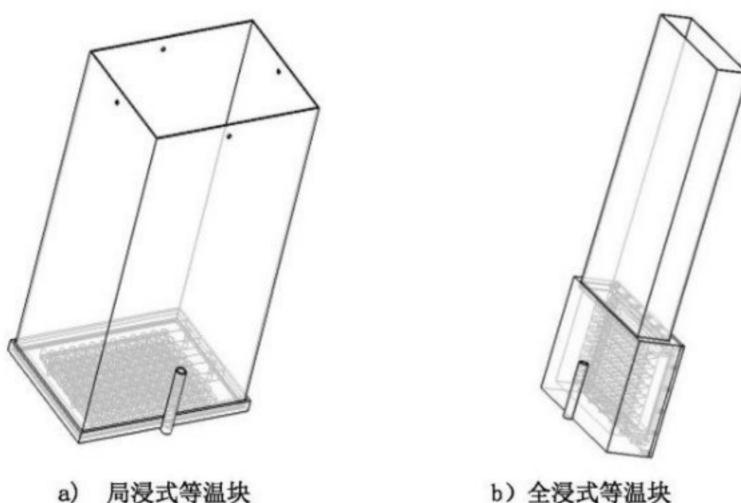


图 2 专用等温块示意图

f) 将 PCR 仪温度校准装置的测温模块安装于专用等温块中, 如图 3 所示。测温模块的温度传感器应无缝隙置入等温块测试孔内, 保证温度传感器与等温块贴合紧密。无自重结构的测温模块需在其上方加压封条, 使其与等温块接触紧密。等温块内应填充脱脂棉、泡沫塑料、真空隔热板等绝热材料, 使测温模块与外部环境绝热。

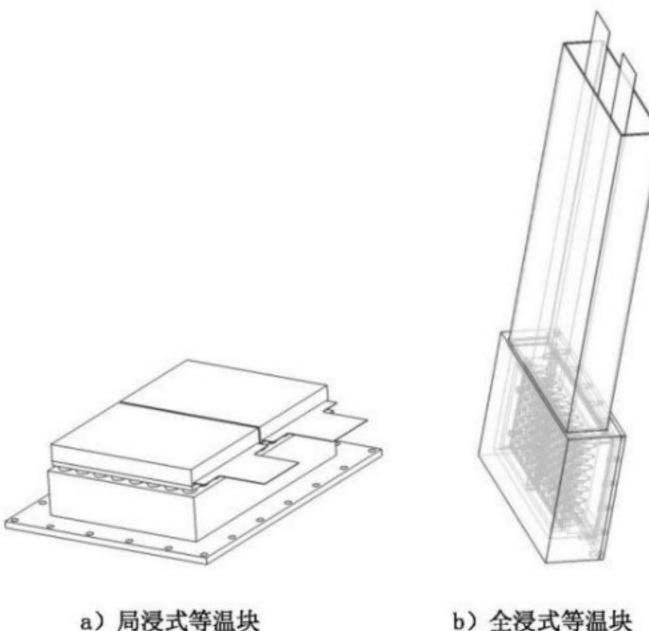


图 3 测温模块在专用等温块中的安装示意图

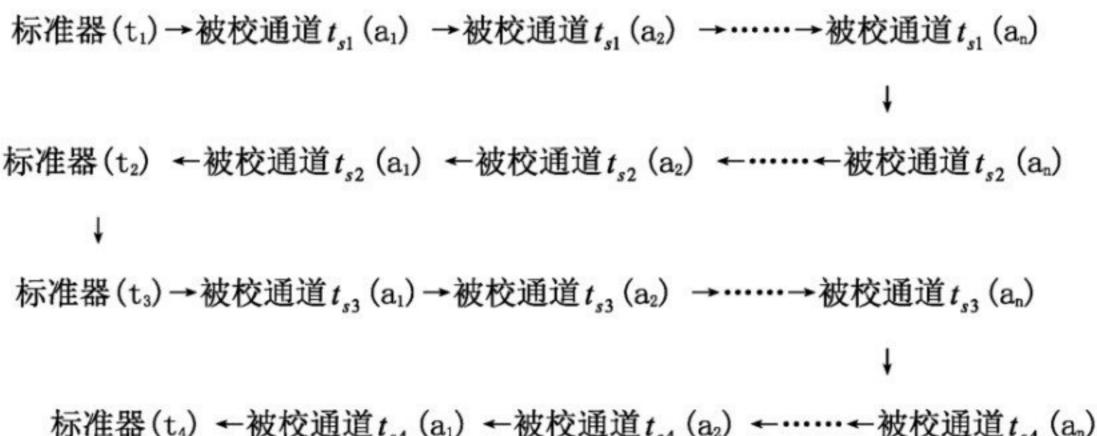
- g) 将安装了测温模块的等温块放置于恒温槽内, 等温块的浸没深度应不低于 180mm。
- h) 将标准铂电阻温度计插入专用等温块验证孔内, 插入深度应不低于 180mm, 其感温部分应与等温块底部保持水平。
- i) 将 PCR 仪温度校准装置的测温模块与其主机相连, 并开机预热, 进入测量状态,

预热时间至少 10min。

7.2.3 校准过程

7.2.3.1 PCR 仪温度校准装置温度示值的校准温度点一般选择在 30℃、50℃、60℃、70℃、90℃和 95℃6 个点上。用户有要求时，可按用户要求选择校准点。

7.2.3.2 将恒温槽温度设定在被校温度点上，启动恒温槽使其工作。当恒温槽实际温度不超过设定温度的±0.20℃（以二等标准铂电阻温度计示值为参考），并稳定 30min 以上时，分别测量标准器和 PCR 仪温度校准装置各通道的温度显示值，连续测量 4 次，并分别计算相应的平均值。测量顺序如下：



在以上读数过程中，恒温槽温度变化应不超过 0.01℃。

7.2.3.3 以温度上升的次序，重复上述步骤，依次对 30℃、50℃、60℃、70℃、90℃ 和 95℃ 温度点进行校准。

7.2.3.4 客户要求校准其它温度点时，根据客户要求按上述方法进行校准。

8 校准数据的处理

按公式（1）计算 PCR 仪温度校准装置的示值误差：

$$\Delta t_i = \bar{t}_i - \bar{t}_s \quad (1)$$

式中： Δt_i ——每一校准点上，PCR 仪温度校准装置第 i 通道的示值误差，℃；

\bar{t}_i ——每一校准点上，PCR 仪温度校准装置第 i 通道 4 次测量的平均值，℃；

\bar{t}_s ——每一校准点上，标准铂电阻温度计 4 次测量的温度平均值，℃。

标准铂电阻温度计温度测量值的计算按 JJG160-2007 进行， Δt_i 的值应修约到小数点后二位。

9 校准结果的表达

校准结果应在校准证书或校准报告上反映。校准证书或报告应至少包括以下信息：

- a) 标题，如“校准证书”或“校准报告”；
- b) 实验室名称和地址；
- c) 进行校准的地点（如果与实验室的地址不同）；
- d) 证书或报告的唯一性标识（如编号），每页及总页数的标识；
- e) 客户的名称和地址；
- f) 被校对象的描述和明确标识；
- g) 进行校准的日期，如果与校准结果的有效性和应用有关时，应说明被校对象的接收日期；
- h) 如果与校准结果的有效性应用有关时，应对被校样品的抽样程序进行说明；
- i) 校准所依据的技术规范的标识，包括名称及代号；
- j) 本次校准所用测量标准的溯源性及有效性说明；
- k) 校准环境的描述；
- l) 校准不确定度是校准结果的组成部分，建议在各校准项中给出。
- m) 对校准规范的偏离的说明；
- n) 校准证书或报告签发人的签名、职务或等效标识，以及签发日期；
- o) 校准结果仅对被校对象有效的声明；
- p) 未经实验室书面批准，不得部分复制证书的声明。

10 复校时间间隔

PCR 仪温度校准装置的复校时间间隔可根据其使用要求和环境条件等因素，由送校单位自主决定。但为了确保 PCR 仪温度校准装置在规定的技术性能下使用，建议复校时间间隔最长不超过 1 年。

附录 A**原始记录参考格式**

委托单位:	记录编号:
产品名称:	制造单位:
型号:	测量范围:
器号:	校准地点:
环境温度: _____ °C	环境湿度: _____ %RH
校准依据: JJF ××××-201× 《聚合酶链反应分析仪温度校准装置校准规范》	

主要计量标准器具

名 称	型号规格	最大允许误差/准确度等 级/不确定度	仪器编号	证书编号	复检(校) 日期

A. 1 温度示值的校准

校准温度:		测得值/°C					
测量次数	标准铂电阻温度计	通道 1	通道 2	通道 3	通道 n	
1							
2							
3							
4							
平均值							
示值误差							
扩展不确定度 $U(k=2)$:							

A. 2 外观检查结果**A. 3 显示功能检查结果**

备注: 标准铂电阻温度计水三相点值 $R_{tp}= \underline{\hspace{2cm}} \Omega$ 。

校准员: _____ 核验员: _____ 校准日期: _____

附录 B

校准证书内页参考格式

B.1 温度示值的校准结果

(°C)

B.2 外观的检查结果

B.3 显示功能的检查结果

附录 C

等温块结构说明

C. 1 等温块推荐材料：金属铝、紫铜、铝合金。

C. 2 等温块推荐结构设计：验证孔开孔角度 17° ，深度 $\geq 11.5\text{mm}$ 。如图 C. 1 与 C. 2。

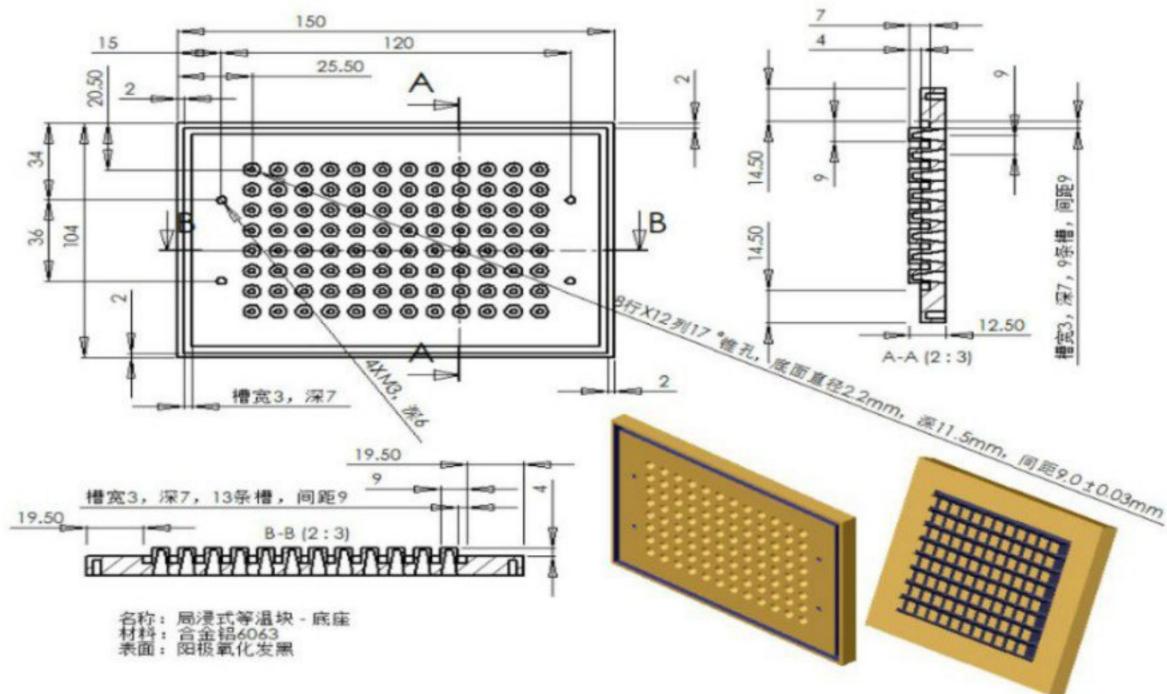


图 C. 1 局浸式等温块结构与材料

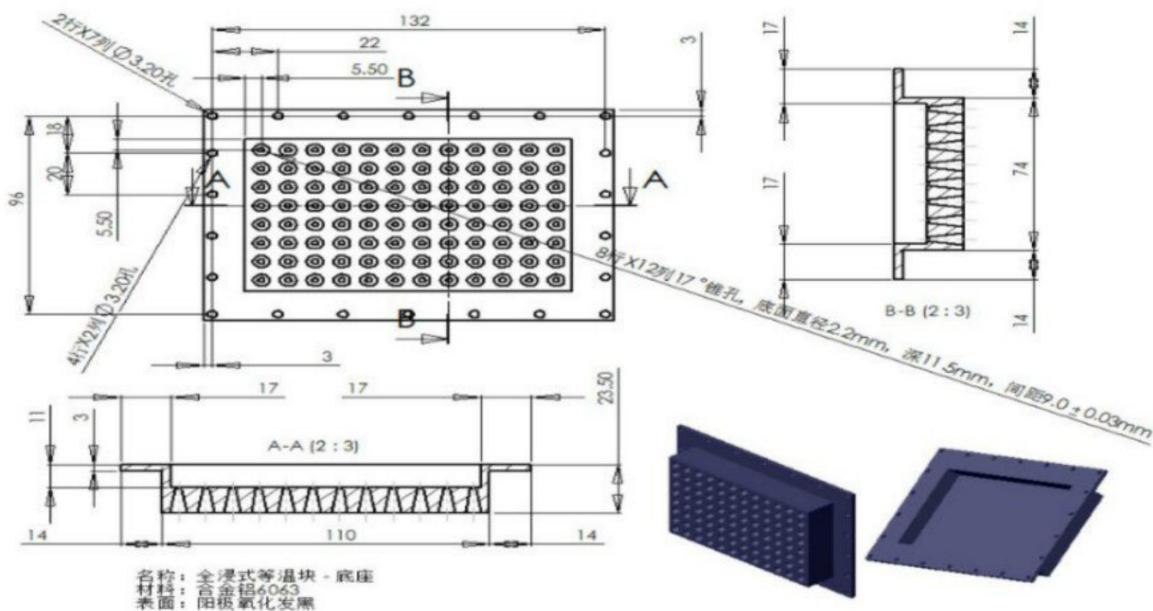


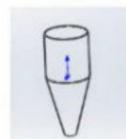
图 C. 2 局浸式等温块结构与材料

附录 D

等温块温度均匀性和波动性的测试方法

D. 1 测量标准

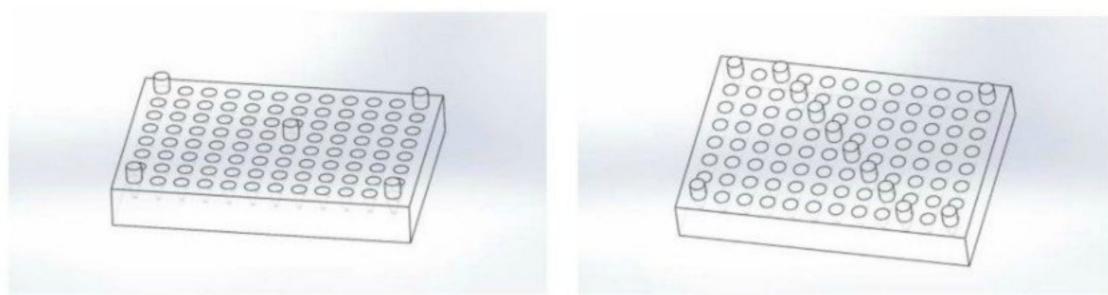
选择一套参考用多通道高精度测温系统（通道数 ≥ 5 ），温度传感器建议选用高精度热敏电阻测温探头，如图D.1，将其溯源至一等铂电阻温度计标准装置。校准后的参考用多通道高精度测温系统需满足在（0~120）℃温度范围内，温度分辨力优于0.01℃，各通道温度测量误差在±0.01℃范围内。



图D.1 参考用多通道高精度测温系统温度传感器结构示意图

D. 2 测试点及布放位置

将参考用多通道高精度测温系统温度传感器布放在等温块内，至少在等温块内布放5个测试点，布放位置如图D.2a)所示，其中4个测试点位于等温块四角的测试孔内，第5个测试点位于等温块平面中心位置附近的测试孔内。布放时，用压条压紧温度传感器，使温度传感器与等温块接触紧密。如果需要增加测试点，可根据实际情况在尽可能反映温度均匀性最差的地方布设测试点，如图D.2b)。



a)

b)

图D.2 参考用多通道高精度测温系统温度传感器布放位置示意图

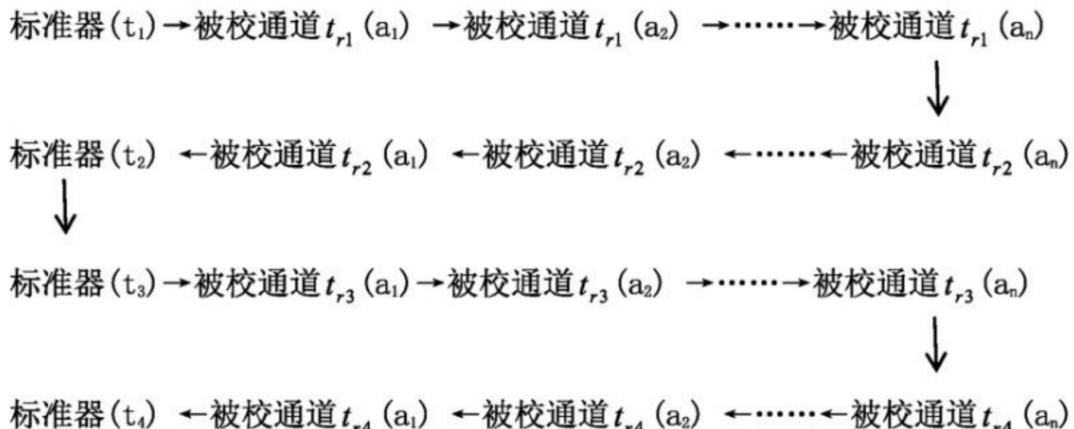
D. 3 测试方法

D. 3. 1 将布放了温度传感器的等温块浸没在恒温槽内，并在恒温槽中插入一等标准铂电阻温度计，等温块的浸没深度和一等标准铂电阻温度计的插入深度应保持一致，并且应大于180mm。

D. 3. 2 根据实际工作的需要设定恒温槽的控制温度，并启动恒温槽使其工作。

D. 3. 3 当恒温槽实际温度不超过设定温度的±0.20℃时（以一等标准铂电阻温度计示值为参考），使等温块在恒温槽内继续稳定 60min 以上，然后按以下测量顺序分别读取一等标准铂电阻温度计和参考用多通道高精度测温系统各通道 $t_{ri}(a_n)$ ($i = \text{第 } i \text{ 次读数}, n = \text{参考用多通道高精度测温系统通道号}$) 的温度显示值，连续测量 4 次。整个读数过程中由一等标准铂电阻温度计监控恒温槽温度，其 4 次读数的最大差值应≤0.01℃。

测量顺序如下：



D. 3. 4 分别计算每一次测量中各测试点上测得的实际温度值之间的最大差值，即：

$$\Delta t_{r1} = \max(t_{r1}(a_1), t_{r1}(a_2), \dots, t_{r1}(a_n)) - \min(t_{r1}(a_1), t_{r1}(a_2), \dots, t_{r1}(a_n))$$

$$\Delta t_{r2} = \max(t_{r2}(a_1), t_{r2}(a_2), \dots, t_{r2}(a_n)) - \min(t_{r2}(a_1), t_{r2}(a_2), \dots, t_{r2}(a_n))$$

$$\Delta t_{r3} = \max(t_{r3}(a_1), t_{r3}(a_2), \dots, t_{r3}(a_n)) - \min(t_{r3}(a_1), t_{r3}(a_2), \dots, t_{r3}(a_n))$$

$$\Delta t_{r4} = \max(t_{r4}(a_1), t_{r4}(a_2), \dots, t_{r4}(a_n)) - \min(t_{r4}(a_1), t_{r4}(a_2), \dots, t_{r4}(a_n))$$

取上述 4 个值的算术平均值即为等温块的温度均匀性。

D. 3. 5 在步骤 D. 3. 4 后，以 60 次/10min 的温度采样频率采集 10min 内的参考用多通道高精度测温系统各通道的温度显示值，分别计算各通道的 60 次温度示值之间的最大差值，取其中的最大值即为等温块的温度波动性。

附录 E

温度示值校准不确定度评定示例

E. 1 校准信息

采用二等标准铂电阻温度计、1594 测温电桥（准确度：4ppm）、深井恒温槽和专用等温块作测量标准及配套设备，按规定方法对温度范围为（0~105）℃的聚合酶链反应分析仪温度校准装置进行校准，校准温度点为 95℃。

E. 2 测量模型

$$\Delta t_i = \bar{t}_i - \bar{t}_s \quad (\text{E. 1})$$

式中： Δt_i ——每一校准点上，PCR 仪温度校准装置第 i 通道的示值误差，℃；

\bar{t}_i ——每一校准点上，PCR 仪温度校准装置第 i 通道 4 次测量的平均值，℃；

\bar{t}_s ——每一校准点上，标准铂电阻温度计 4 次测量的温度平均值，℃。

E. 3 标准不确定度来源

E. 3. 1 输入量 \bar{t}_i 导致的标准不确定度 $u(\bar{t}_i)$ 的评定

输入量 \bar{t}_i 导致的标准不确定度 $u(\bar{t}_i)$ 由 5 个分量构成。

E. 3. 1. 1 由被校 PCR 仪温度校准装置重复性引入的标准不确定度分量 $u(\bar{t}_{i1})$ ；

E. 3. 1. 2 由被校 PCR 仪温度校准装置温度显示分辨力引入的标准不确定度分量 $u(\bar{t}_{i2})$ ；

E. 3. 1. 3 由恒温槽和等温块提供温场不均匀性引入的标准不确定度分量 $u(\bar{t}_{i3})$ ；

E. 3. 1. 4 由被校 PCR 仪温度校准装置测温模块温度传感器与等温块接触不紧密引入的标准不确定度 $u(\bar{t}_{i4})$ ；

E. 3. 1. 5 由等温块插入恒温槽深度引入的标准不确定度分量 $u(\bar{t}_{i5})$ ；

E. 3. 2 输入量 \bar{t}_s 导致的标准不确定度 $u(\bar{t}_s)$ 的评定

输入量 \bar{t}_s 导致的标准不确定度 $u(\bar{t}_s)$ 由 5 个分量构成。

E. 3. 2. 1 由标准铂电阻温度计量值溯源引入的标准不确定度分量 $u(\bar{t}_{s1})$ ；

E. 3. 2. 2 由电测设备测量误差引入的标准不确定度分量 $u(\bar{t}_{s2})$ ；

E. 3. 2. 3 由测量电流引起的标准铂电阻温度计自热效应引入的标准不确定度 $u(\bar{t}_{s3})$ ；

E. 3. 2. 4 由标准铂电阻温度计稳定性引入的标准不确定度分量 $u(\bar{t}_{s4})$ ；

E. 3. 2. 5 由标准铂电阻温度计示值和等温块测试孔内部实际温度的偏差引入的标准不确定度 $u(\bar{t}_{s5})$ 。

E. 4 标准不确定度的评定

E. 4. 1 $u(\bar{t}_i)$ 的评定

E. 4. 1. 1 $u(\bar{t}_{i1})$ 的评定

在重复性条件下, 对被校 PCR 仪温度校准装置的 1 号通道进行 10 次测量, 测得的 PCR 仪温度校准装置温度显示值分别为: 94. 85°C, 94. 85°C, 94. 86°C, 94. 86°C, 94. 85°C, 94. 85°C, 94. 85°C, 94. 85°C, 94. 85°C。则该通道测量值的标准偏差为:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{10} (t_{i1} - \bar{t}_{i1})^2}{10 - 1}} = 0.0042^\circ\text{C}$$

实际测量中以 4 次测量的平均值作为测得值, 则标准不确定度为:

$$u(\bar{t}_{i1}) = s / \sqrt{4} = 0.0021^\circ\text{C}$$

E. 4. 1. 2 $u(\bar{t}_{i2})$ 的评定

被校 PCR 仪温度校准装置温度显示分辨力为 0.01°C, 则区间半宽 $a=0.005^\circ\text{C}$; 该分布服从均匀分布, 则 $k=\sqrt{3}$ 。则标准不确定度为:

$$u(\bar{t}_{i2}) = 0.005 / \sqrt{3} = 0.0029^\circ\text{C}$$

E. 4. 1. 3 $u(\bar{t}_{i3})$ 的评定

按附录 D. 2 和 D. 3 推荐方法, 测得恒温槽内配套专用等温块提供的温场均匀性在 95°C 时最大可以达到 0.03°C, 该分布服从均匀分布, 则标准不确定度为:

$$u(\bar{t}_{i3}) = 0.03 / \sqrt{3} = 0.0173^\circ\text{C}$$

E. 4. 1. 4 $u(\bar{t}_{i4})$ 的评定

被校 PCR 仪温度校准装置测温模块温度传感器与等温块接触不紧密引入的温度偏差为 0.01°C, 则区间半宽 $a=0.005^\circ\text{C}$; 该分布服从均匀分布, 则 $k=\sqrt{3}$ 。则标准不确定度为:

$$u(\bar{t}_{i4}) = 0.005 / \sqrt{3} = 0.0029^\circ\text{C}$$

E. 4. 1. 5 $u(\bar{t}_{i5})$ 的评定

由等温块插入恒温槽深度引入的垂直温度均匀性为 0.005°C, 则区间半宽

$\alpha=0.0025^{\circ}\text{C}$ ；该分布服从均匀分布，则 $k=\sqrt{3}$ 。则标准不确定度为：

$$u(\bar{t}_{s5})=0.0025/\sqrt{3}=0.0014^{\circ}\text{C}$$

E. 4. 2 $u(\bar{t}_s)$ 的评定

E. 4. 2. 1 $u(\bar{t}_{s1})$ 的评定

标准铂电阻温度计在 95°C 时， $U=0.005^{\circ}\text{C}$ ， $k=2$ ，则标准不确定度为：

$$u(\bar{t}_{s1})=0.005/2=0.0025^{\circ}\text{C}$$

E. 4. 2. 2 $u(\bar{t}_{s2})$ 的评定

标准铂电阻温度计是以电阻比的形式计算实际温度的，在 95°C 时标准铂电阻温度计的标称值为 34.5Ω ，校准时使用的 1594 测温电桥的准确度为 4ppm ，按均匀分布估计， $k=\sqrt{3}$ ，则由测温电桥引入的标准不确定度为：

$$u(\bar{t}_{s2})=\left(\frac{\sqrt{2} \times (W_{95}-1) \times 4 \times 10^{-6}}{(dW/dt)_{95}}\right)/\sqrt{3}=0.0004^{\circ}\text{C}$$

E. 4. 2. 3 $u(\bar{t}_{s3})$ 的评定

校准时，标准铂电阻温度计插在 95°C 的恒温槽内，由于温度较高，且恒温槽工作介质受到搅拌而流动较快，标准铂电阻因其工作电流产生的热量与恒温槽工作介质迅速达到热平衡，故自热影响可以忽略不计，则标准不确定度为

$$u(\bar{t}_{s3})=0^{\circ}\text{C}。$$

E. 4. 2. 4 $u(\bar{t}_{s4})$ 的评定

由于标准铂电阻温度计的 W_{95} 可根据标准铂电阻温度计检定证书中获得，引起温度的不确定度可以用周期稳定性来评估，值为 0.014°C ，按均匀分布估计， $k=\sqrt{3}$ ，则标准不确定度为

$$u(\bar{t}_{s4})=0.014/\sqrt{3}=0.008^{\circ}\text{C}。$$

E. 4. 2. 5 $u(\bar{t}_{s5})$ 的评定

标准铂电阻温度计示值和等温块测试孔内部实际温度的偏差可以评估为 0.01°C ，则区间半宽 $\alpha=0.01/2=0.005^{\circ}\text{C}$ ；该分布服从均匀分布， $k=\sqrt{3}$ ，则标准不确定度为

$$u(\bar{t}_{s5})=0.005/\sqrt{3}=0.003^{\circ}\text{C}$$

E. 5 合成标准不确定度的评定

标准不确定度汇总见表 E. 1。

表 E. 1 标准不确定度汇总表

标准不确定度	不确定度来源	分布	标准不确定度 (℃)
$u(\bar{t}_i)$			
$u(\bar{t}_{i1})$	被校装置重复性	统计	0.0021
$u(\bar{t}_{i2})$	被校装置分辨力	均匀	0.0029
$u(\bar{t}_{i3})$	温场不均匀性	均匀	0.0173
$u(\bar{t}_{i4})$	被校装置温度传感器与等温块接触不紧密	均匀	0.0029
$u(\bar{t}_{i5})$	等温块插入恒温槽深度	均匀	0.0014
$u(\bar{t}_s)$			
$u(\bar{t}_{s1})$	标准铂电阻量值传递	正态	0.0025
$u(\bar{t}_{s2})$	电测设备误差	均匀	0.0004
$u(\bar{t}_{s3})$	自热效应	均匀	0.0000
$u(\bar{t}_{s4})$	标准铂电阻温度计稳定性	均匀	0.0081
$u(\bar{t}_{s5})$	标准铂电阻温度计示值和等温块测试孔内部 实际温度的偏差	均匀	0.0029

E. 5.1 合成标准不确定度的计算

上述各不确定度分量间不相关，所以合成标准不确定度可按下式计算：

$$c_1 = \frac{\partial \Delta t_i}{\partial \bar{t}_i} = 1$$

$$c_2 = \frac{\partial \Delta t_i}{\partial \bar{t}_s} = -1$$

$$u_c(\Delta t_i) = \sqrt{[c_1 u(\bar{t}_i)]^2 + [c_2 u(\bar{t}_s)]^2} = 0.020^\circ\text{C}$$

E. 6 温度示值校准的扩展不确定度的计算

取 $k=2$ ，则温度示值校准的扩展不确定度 $U=k \times u_c(\Delta t_i) = 0.04^\circ\text{C}$

E. 7 不确定度的报告

聚合酶链反应分析仪温度校准装置温度示值测量结果不确定度为：

$$U=0.04^{\circ}\text{C} \quad k=2$$
