

# Physikalisch- Technische Bundesanstalt



---

**Richtlinie  
DKD-R 8-1**


**Kalibrierung von  
Kolbenhubpipetten  
mit Luftpolster**

---

Ausgabe 12/2011, Revision 1

<https://doi.org/10.7795/550.20240307>



	Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster <a href="https://doi.org/10.7795/550.20240307">https://doi.org/10.7795/550.20240307</a>	DKD-R 8-1	
		Ausgabe:	12/2011
		Revision:	1
		Seite:	2/28

## Deutscher Kalibrierdienst (DKD)


Im DKD sind Kalibrierlaboratorien von Industrieunternehmen, Forschungsinstituten, technischen Behörden, Überwachungs- und Prüfinstitutionen seit der Gründung 1977 zusammengeschlossen. Am 03. Mai 2011 erfolgte die Neugründung des DKD als *technisches Gremium* der PTB und der akkreditierten Laboratorien.

Dieses Gremium trägt die Bezeichnung Deutscher Kalibrierdienst (DKD) und steht unter der Leitung der PTB. Die vom DKD erarbeiteten Richtlinien und Leitfäden stellen den Stand der Technik auf dem jeweiligen technischen Fachgebiet dar und stehen der Deutschen Akkreditierungsstelle GmbH (DAkkS) für die Akkreditierung von Kalibrierlaboratorien zur Verfügung.

Die akkreditierten Kalibrierlaboratorien werden von der DAkkS als Rechtsnachfolgerin des DKD akkreditiert und überwacht. Sie führen Kalibrierungen von Messgeräten und Maßverkörperungen für die bei der Akkreditierung festgelegten Messgrößen und Messbereiche durch. Die von ihnen ausgestellten Kalibrierscheine sind ein Nachweis für die Rückführung auf nationale Normale, wie sie von der Normenfamilie DIN EN ISO 9000 und der DIN EN ISO/IEC 17025 gefordert wird.

### Kontakt:

Physikalisch-Technische Bundesanstalt (PTB)  
DKD-Geschäftsstelle  
Bundesallee 100      38116 Braunschweig  
Postfach 33 45      38023 Braunschweig  
Telefon Sekretariat: 0531 592-8021  
Internet:              [www.dkd.eu](http://www.dkd.eu)

	Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster <a href="https://doi.org/10.7795/550.20240307">https://doi.org/10.7795/550.20240307</a>	DKD-R 8-1	
		Ausgabe:	12/2011
		Revision:	1
		Seite:	3/28

*Zitiervorschlag für die Quellenangabe:*

*Richtlinie DKD-R 8-1 Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster, Ausgabe 12/2011, Revision 1, Physikalisch-Technische Bundesanstalt, Braunschweig und Berlin. DOI: 10.7795/550.20240307*

Das Werk einschließlich aller seiner Teile ist urheberrechtlich geschützt und unterliegt der Creative Commons Nutzerlizenz CC by-nc-nd 3.0 (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/de/>). In diesem Zusammenhang bedeutet „nicht-kommerziell“ (NC), dass das Werk nicht zum Zwecke der Einnahmenerzielung verbreitet oder öffentlich zugänglich gemacht werden darf. Eine Nutzung seiner Inhalte für die gewerbliche Verwendung in Laboratorien ist ausdrücklich erlaubt.




Autoren: Mitglieder des Fachunterausschusses *Volumen / Dichte*


Herausgegeben von der Physikalisch-Technischen Bundesanstalt (PTB) für den Deutschen Kalibrierdienst (DKD) als Ergebnis der Zusammenarbeit der PTB mit dem Fachausschuss *Chemische Messgrößen und Stoffeigenschaften* des DKD.

## Inhaltsverzeichnis

Vorwort.....	6
1. Zweck und Geltungsbereich .....	7
2. Symbole.....	8
2.1 Abkürzungen und Formelzeichen.....	8
2.2 Einheiten .....	9
3. Begriffsbestimmungen .....	9
4. Ziel der Kalibrierung.....	10
5. Allgemeine Anforderungen an die Kalibrierfähigkeit von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster.....	10
5.1 Anforderungen aus der Norm DIN EN ISO 8655.....	10
5.2 Anforderungen aus den Produktinformationen der Hersteller .....	11
5.3 Anforderungen von Beobachtungen aus der Kalibriertätigkeit .....	11
6. Umgebungsbedingungen.....	12
7. Kalibrierverfahren.....	12
7.1 Kalibriergegenstände .....	13
7.2 Pipettenspitzen – Zubehörteile für die Dosierung.....	13
7.3 Zusätzliche Hinweise bei der Kalibrierung.....	14
8. Messunsicherheit.....	14
8.1 Allgemeines.....	16
8.2 Unsicherheitsbeiträge der Waage .....	16
8.3 Messunsicherheitsbeiträge Wassertemperatur / -dichte.....	17
8.4 Messunsicherheitsbeiträge Lufttemperatur und relative Luftfeuchte .....	18
8.5 Messunsicherheitsbeitrag Luftdruck.....	18
8.6 Temperatúrausdehnung des Volumenmessgerätes.....	19
8.7 Betrachtungen der systematischen Einflüsse der Kolbenhubpipetten mit Luftpolster während der Kalibrierung .....	19
8.7.1 Temperaturdifferenzen Wasser - Pipette - Luft.....	20
8.7.2 Relative Luftfeuchte.....	20
8.7.3 Luftdruck.....	20
8.8 Wiederholbarkeit .....	21
8.9 Verfahrensbezogener Handlingszuschlag.....	21
8.9.1 Mechanische Einflüsse .....	22
8.9.2 Personeneinflüsse.....	22

	<b>Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster</b> <a href="https://doi.org/10.7795/550.20240307">https://doi.org/10.7795/550.20240307</a>	DKD-R 8-1	
		Ausgabe:	12/2011
		Revision:	1
		Seite:	5/28

8.9.3	Handwärme.....	22
8.9.4	Transport.....	22
9.	Messunsicherheitsbilanzen.....	23
10.	Literaturverzeichnis.....	24

	Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster <a href="https://doi.org/10.7795/550.20240307">https://doi.org/10.7795/550.20240307</a>	DKD-R 8-1	
		Ausgabe:	12/2011
		Revision:	1
		Seite:	6/28

## Vorwort

DKD-Richtlinien sind Anwendungsdokumente zu den Anforderungen der DIN EN ISO/IEC 17025. In den Richtlinien werden technische, verfahrensbedingte und organisatorische Abläufe beschrieben, die den akkreditierten Kalibrierlaboratorien als Vorbild zur Festlegung interner Verfahren und Regelungen dienen. DKD-Richtlinien können zum Bestandteil von Qualitätsmanagementhandbüchern der Kalibrierlaboratorien werden. Durch die Umsetzung der Richtlinien wird die Gleichbehandlung der zu kalibrierenden Geräte in den verschiedenen Kalibrierlaboratorien gefördert und die Kontinuität und Überprüfbarkeit der Arbeit der Kalibrierlaboratorien verbessert. Außerdem kann durch die Umsetzung der Richtlinien der Stand der Technik auf dem jeweiligen Gebiet in die Laborpraxis Eingang finden.

Die DKD-Richtlinien sollen nicht die Weiterentwicklung von Kalibrierverfahren und -abläufen behindern. Abweichungen von Richtlinien und neue Verfahren sind im Einvernehmen mit der Akkreditierungsstelle zulässig, wenn fachliche Gründe dafür sprechen.


Kalibrierungen der akkreditierten Laboratorien geben dem Anwender Sicherheit für die Verlässlichkeit von Messergebnissen, erhöhen das Vertrauen der Kunden und die Wettbewerbsfähigkeit auf dem nationalen und internationalen Markt und dienen als messtechnische Grundlage für die Mess- und Prüfmittelüberwachung im Rahmen von Qualitätssicherungsmaßnahmen.

Die vorliegende Richtlinie wurde vom Fachunterausschuss „Volumen / Dichte“ in Zusammenarbeit mit der PTB und akkreditierten Kalibrierlaboratorien erstellt. Am 27.09.2011 wurde die Richtlinie in der Fachausschusssitzung „Masse / Waagen / Volumen / Dichte“ verabschiedet.

In Vorbereitung dieser Richtlinie wurde eine Pilotstudie (Bericht [4]) für die Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit 13 Teilnehmern (national / international) durchgeführt. Das Ziel der Pilotstudie (Bericht [4]) von 2010 war die Verbesserung der Vergleichbarkeit von Messungen bei der Kalibrierung von Kolbenhubpipetten.

Darüber hinaus fließen in die Richtlinie die Ergebnisse von weiteren Untersuchungen zu Umgebungseinflüssen auf das Dosierergebnis ein [2, 3, 5].

Die vorliegende Revision 1 stimmt fachlich mit der Revision 0 der DKD-R 8-1 überein. Die Liste der mitgeltenden Normen und Regelwerke sowie einige Bezeichnungen wurden aktualisiert. Der Bezug auf die DIN EN ISO/IEC 17025 wurde an die aktuelle Fassung dieser Norm angepasst.

	Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster <a href="https://doi.org/10.7795/550.20240307">https://doi.org/10.7795/550.20240307</a>	DKD-R 8-1	
		Ausgabe:	12/2011
		Revision:	1
		Seite:	7/28

## 1. Zweck und Geltungsbereich

Diese Richtlinie legt Mindestanforderungen an das Kalibrierverfahren einschließlich der Beachtung von speziellen Einflüssen und den Messunsicherheitsbeiträgen bei der Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster\* fest. Die Richtlinie beschäftigt sich nicht mit den Pipetten ohne Luftpolster (Direktverdränger).

Sie gilt für die Kalibrierung von:

- Einkanalkolbenhubpipetten mit festem Volumen
- Einkanalkolbenhubpipetten mit variablem Volumen
- Mehrkanalkolbenhubpipetten

\* Im Folgenden wird immer nur von Kolbenhubpipetten gesprochen.

## Mitgeltende Normen und Regelwerke


DIN EN ISO 8655:2022 Teil 1, 2, 6	Volumenmessgeräte mit Hubkolben
ISO/TR 20461	Determination of uncertainty for volume measurements of a piston-operated volumetric apparatus using a gravimetric method, Februar 2023
JCGM 100: 2008	Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement, September 2008
DKD-R 7-2	Richtlinie zur Kalibrierung nichtselbsttätiger Waagen; Ausgabe 01/2018 (Übersetzung von EURAMET cg-18 Version 4.0)
EURAMET cg-18	Guidelines on the Calibration of Non-Automatic Weighing Instruments, Version 4.0, November 2015
EURAMET cg-19	Guidelines on the Determination of Uncertainty in Gravimetric Volume Calibration, Version 3.0, September 2018
DIN ISO 3696	Wasser für analytische Zwecke, Juni 1991
EA-4/02 M: 2022	Ermittlung der Messunsicherheit bei Kalibrierungen, deutsche Übersetzung vom 31.08.2022, DAkkS

## 2. Symbole

### 2.1 Abkürzungen und Formelzeichen

Abkürzungen / Formelzeichen	Erläuterung
$a_0$ bis $a_4$	Konstanten (ITS-90 Temperaturskala) für die Berechnung der Wasserdichte
$c$	Sensitivitätskoeffizient
$CV$	Zufällige Messabweichung als Variationskoeffizient in Prozent angegeben
$e_s$	Systematische Messabweichung
$g$	Fallbeschleunigung
$h_w$	Steighöhe der Flüssigkeitssäule in der Pipettenspitze
$i$	Zählindex
$k_1$ bis $k_3$	Konstanten (ITS-90 Temperaturskala) für die Berechnung der Luftdichte
$m$	Die der Differenz der Waagenanzeigen entsprechende Masse der Prüflüssigkeit
$m_E$	Verdunstungsverlust
$n$	Anzahl der Einzelmessungen
$p_L$	Luftdruck
$s$	Zufällige Messabweichung
$t_w$	Temperatur der Prüflüssigkeit
$t_L$	Lufttemperatur während der Wägung
$t_{L0}$	273,15 K
$t_M$	Temperatur der Kolbenhubpipette während der Messung
$t_{M20}$	Bezugstemperatur der Kolbenhubpipette von 20 °C
$u$	Standardmessunsicherheit
$U$	Erweiterte Messunsicherheit ( $k = 2$ )
$V_0$	Nennvolumen
$V_S$	Gewähltes Volumen
$V_{20}$	Volumen bei der Bezugstemperatur von 20 °C
$V_T$	Volumen des Luftpolsters (Totvolumen)
$Z$	Korrekturfaktor, der den Zusammenhang zwischen der bei der Wägung ermittelten Masse und dem Volumen beschreibt
$\rho_L$	Luftdichte
$\rho_w$	Dichte des als Prüflüssigkeit verwendeten Wassers
$\rho_G$	Dichte der zur Kalibrierung der Waage verwendeten Standardgewichtstücke (entspricht 8000 kg/m <sup>3</sup> )
$\phi$	Relative Luftfeuchte
$\gamma$	Kubischer Ausdehnungskoeffizient des Materials, aus dem die Kolbenhubpipette hergestellt ist



	Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster <a href="https://doi.org/10.7795/550.20240307">https://doi.org/10.7795/550.20240307</a>	DKD-R 8-1	
		Ausgabe:	12/2011
		Revision:	1
		Seite:	9/28

## 2.2 Einheiten

Einheiten	Erläuterung
µl	Mikroliter
ml	Milliliter
g	Gramm
mg	Milligramm
K	Kelvin
°C	Grad Celsius
hPa	Hektopascal
%	relative Feuchte in Prozent
g/cm <sup>3</sup>	Gramm pro Kubikzentimeter
µl/mg	Mikroliter pro Milligramm

## 3. Begriffsbestimmungen

### **Kalibrierschein:**

Kalibrierscheine dokumentieren die Ergebnisse von Kalibrierungen einschließlich ihrer Messunsicherheit. Der Begriff „Kalibrierschein“ in der vorliegenden Richtlinie gilt eingeschränkt für die folgenden Dokumente:

- Kalibrierscheine von Kalibrierlaboratorien, deren Akkreditierungsstellen Unterzeichner des ILAC-MRA sind (s. [www.ilac.org](http://www.ilac.org))
- Kalibrierscheine von Nationalen Metrologie-Instituten mit CMC-Einträgen (Appendix C of the CIPM MRA, s. [www.bipm.org](http://www.bipm.org)).

Die folgenden Begriffe sind sinngemäß der DIN EN ISO 8655-1 entnommen.

### **Kolbenhubpipetten:**


Kolbenhubpipetten sind Volumenmessgeräte, die zur Aufnahme und Dosierung von festen oder variablen Flüssigkeitsmengen benutzt werden. Einkanalkolbenhubpipetten verfügen nur über einen Kolben / Zylindersatz. Mehrkanalkolbenhubpipetten verfügen über einen Kolben / Zylindersatz für jeden Kanal; das gleiche Flüssigkeitsvolumen kann gleichzeitig in mehrere Aufnahmebehältnisse dosiert werden. Man unterscheidet zwischen Kolbenhubpipetten mit und ohne Luftpolster (Direktverdränger).

### **Nennvolumen:**

Das Nennvolumen  $V_0$  eines Volumenmessgerätes ist das vom Hersteller für die Identifizierung und die Angabe des Messbereiches festgelegte Volumen. Bei Mehrkanalkolbenhubpipetten erfolgt die Angabe des Nennvolumens für einen Kanal.

### **Nutzvolumen:**

Das Nutzvolumen eines Volumenmessgerätes mit variablem Volumen ist ein Teilbereich des Nennvolumens, innerhalb dessen Dosierungen unter Einhaltung der in der internationalen Norm ISO 8655 festgelegten Fehlergrenzen durchführbar sind. Die Obergrenze des

	Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster <a href="https://doi.org/10.7795/550.20240307">https://doi.org/10.7795/550.20240307</a>	DKD-R 8-1	
		Ausgabe:	12/2011
		Revision:	1
		Seite:	10/28

Nutzvolumens ist stets das Nennvolumen. Soweit vom Anbieter nicht anderweitig festgelegt, beträgt die Untergrenze 10 % des Nennvolumens.

**Gewähltes Volumen:**

Das gewählte Volumen  $V_S$  eines Volumenmessgerätes mit variablem Volumen ist das vom Anwender eingestellte Volumen, um aus dem Nutzvolumen eines Kolbenhubgerätes ein ausgewähltes Volumen zu dosieren. Bei Volumenmessgeräten mit festem Volumen entspricht das gewählte Volumen dem Nennvolumen.

**Volumen des Luftpolsters (Totvolumen):**

Das Volumen des Luftpolsters  $V_T$  ist der geometrische Raum zwischen Kolben und Spitzenöffnung. Die Ausdehnung des Volumens des Luftpolsters wird durch den ersten Anschlag des Kolbens in der Pipette bestimmt.

**4. Ziel der Kalibrierung**

Die Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster dient der Feststellung der Abweichung des dosierten Volumens vom gewählten Prüfvolumen. Die messtechnische Richtigkeit einschließlich der Messunsicherheitsbetrachtung der ermittelten Messergebnisse sind entscheidend für die Umsetzung von qualitätsrelevanten messtechnischen Vorgaben in der Medizin, Pharmazie u. a. Dabei ist die metrologische Rückführung auf nationale oder internationale Normale zu sichern.

*Die Gewährleistung der Vergleichbarkeit von Kalibrierergebnissen wird durch nationale und internationale Ringvergleiche / Vergleichsmessungen nach DIN EN ISO/IEC 17025:2018 gefordert.*


**5. Allgemeine Anforderungen an die Kalibrierfähigkeit von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster**

Die allgemeinen Anforderungen an die Kalibrierfähigkeit von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster lassen sich in drei Schwerpunkte unterteilen:

- Anforderungen aus der Norm DIN EN ISO 8655
- Anforderungen aus den Produktinformationen der Hersteller
- Zusätzliche Anforderungen aus der gängigen Praxis

**5.1 Anforderungen aus der Norm DIN EN ISO 8655**

Für diese Anforderungen wird auf Teil 1, Teil 2 und Teil 6 der DIN EN ISO 8655 verwiesen.

	Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster <a href="https://doi.org/10.7795/550.20240307">https://doi.org/10.7795/550.20240307</a>	DKD-R 8-1	
		Ausgabe:	12/2011
		Revision:	1
		Seite:	11/28

## 5.2 Anforderungen aus den Produktinformationen der Hersteller

Diese Anforderungen unterscheiden sich je nach Angabe und Umfang der Produktinformationen des jeweiligen Herstellers. Zu den wichtigsten Anforderungen zählen:

- Angaben zur Sterilisierbarkeit der Kolbenhubpipetten sowie von Ersatzteilen
- Hinweise zu Bedienung, Einsatzausschlüsse, Pflege, Reinigung und Wartung
- Angabe einer Herstellerspezifikation mit den zulässigen Toleranzen der zufälligen und systematischen Messabweichung mit Bezug auf die Justage (In/Ex und Bezugstemperatur)
- Angabe der zu verwendenden bzw. verwendbaren Pipettenspitzen


## 5.3 Anforderungen von Beobachtungen aus der Kalibriertätigkeit

Die Anforderungen aus der gängigen Praxis betreffen hauptsächlich die unmittelbare Einsatzfähigkeit der Kolbenhubpipette. Dazu gehören u. a.:

- Beschriftung der Kolbenhubpipette mit
  - o Seriennummer oder einer anderen eindeutigen Identifikationsnummer
  - o Nennvolumen (Kolbenhubpipette mit festem Volumen)
  - o Volumenbereich (Kolbenhubpipette mit variablem Volumen)
  - o Einheitenbezeichnung, z. B. „µl“ oder „ml“
  - o Typ und Herstellerangabe
- Keine inneren und äußeren Beschädigungen, z. B.
  - o Risse, Sprünge
  - o Keine unabsichtliche Verstellung des Zählwerks bei Kolbenhubpipetten mit variablem Volumen
  - o Deformierter, verkratzter oder stark verschmutzter Pipettenschaft
- Keine Restflüssigkeiten und Schmutzpartikel in der Kolbenhubpipette
- Sichere und vollständige Abdichtung des Kolbens

Hinzu treten die Anforderungen an die Pipettenspitzen bzw. das System Kolbenhubpipette / Pipettenspitze:

- Verwendung von Originalspitzen des Herstellers oder vom Hersteller zugelassener Spitzen
- ausreichende Stabilität des Sitzes der Spitze auf dem Pipettenkonus
- sichere und vollständige Abdichtung am Pipettenschaftsystem
- die Spitzen müssen einen zusammenhängenden Flüssigkeitsablauf gewährleisten
- die Spitzen müssen eine gleichmäßige Mündungsöffnung haben
- die Prüflüssigkeit Wasser muss rückstandsfrei abgegeben werden können

	Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster <a href="https://doi.org/10.7795/550.20240307">https://doi.org/10.7795/550.20240307</a>	DKD-R 8-1	
		Ausgabe:	12/2011
		Revision:	1
		Seite:	12/28

In bestimmten Fällen kann es sinnvoll sein, eine Kalibrierung im Anlieferungszustand vorzunehmen („as found“), bei der nicht alle Kriterien der Kalibrierfähigkeit eingehalten sind.

## 6. Umgebungsbedingungen

Die Kalibrierung ist bei stabilen Umgebungstemperaturen durchzuführen.  
Die Umgebungsbedingungen

- Lufttemperatur
- relative Luftfeuchte
- Luftdruck\*

haben Einfluss auf

- Wägetechnik
- Kalibriergegenstand / Kolbenhubpipette
- Prüfflüssigkeit

und damit einen wesentlichen Einfluss auf das Kalibrierergebnis der Kolbenhubpipetten und der dazugehörigen Messunsicherheitsbilanz.

Die Einhaltung vorgegebener Umgebungsbedingungen durch Klimatisierung ist eine wichtige Voraussetzung für eine messtechnisch richtige Kalibrierung.

Die Kalibrierung ist nach Temperaturengleichung zwischen Kalibriergegenstand und Umgebung auszuführen. Eine Angleichzeit des Kalibriergegenstandes von mindestens 2 Stunden ist zu berücksichtigen.

Die Umgebungsbedingungen sind zu protokollieren.

Es ist darauf zu achten, dass auch die Schwankungen der Umgebungsbedingungen während der Kalibrierung beobachtet werden. Gegebenenfalls sind bei Abweichungen die Lufttemperatur, Luftdruck und die relative Luftfeuchte zu korrigieren.


\* Der aktuelle Luftdruck geht in die Berechnung der Luftdichte ein und wird berücksichtigt.  
Die Abhängigkeit des Luftdruckes von der Höhenlage ist zusätzlich zu beachten (Bericht [2]).

## 7. Kalibrierverfahren

Die Kalibrierung der Kolbenhubpipetten erfolgt nach dem gravimetrischen Verfahren entsprechend DIN EN ISO 8655-6.

Bei diesem Verfahren wird die Masse des Flüssigkeitsvolumens aus dem Wägewert unter Berücksichtigung des Luftauftriebs bestimmt und mittels dessen Dichte in das Volumen umgerechnet. Die metrologische Rückführung des Volumens erfolgt so auf die Messgröße Masse als Bezugsnormale.

Eine vollständige Kalibrierung beinhaltet die messtechnische Erfassung von 10 Messwerten pro Prüfvolumen und Pipettenkanal.

	<b>Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster</b> <a href="https://doi.org/10.7795/550.20240307">https://doi.org/10.7795/550.20240307</a>	DKD-R 8-1	
		Ausgabe:	12/2011
		Revision:	1
		Seite:	13/28

Die Messeinrichtungen sind Analysenwaagen, mit entsprechendem Zubehör (z. B. Wäagegefäß, Verdunstungsfalle, Windschutz u. a.), die speziell für die Pipettenkalibrierung modifiziert sind und zusammen mit einer Kalibriersoftware angeboten werden.

Als Prüfflüssigkeit wird für das gravimetrische Prüfverfahren nach DIN EN ISO 8655-6 Wasser der Qualität 3 gemäß DIN ISO 3696 gefordert.

## 7.1 Kalibriergegenstände

Es wird zwischen Ein- und Mehrkanalkolbenhubpipetten mit Luftpolster unterschieden. Einkanalkolbenhubpipetten sind als Volumenmessgeräte mit festem bzw. variablem Volumen verfügbar.

Mehrkanalkolbenhubpipetten werden mit variablem Volumen angeboten.

Ein- und Mehrkanalkolbenhubpipetten werden manuell oder elektronisch bedienbar angeboten.

Die Kolbenhubpipetten werden mit unterschiedlichen Messbereichen angeboten.

Typische Beispiele sind:

<b>Einkanalkolbenhubpipetten mit festem Volumen</b>	<b>Einkanalkolbenhubpipetten mit variablem Volumen</b>	<b>Mehrkanal- kolbenhubpipetten</b>
10 µl	0,1 µl bis 2,5 µl	0,5 µl bis 10 µl
20 µl	0,5 µl bis 10 µl	5 µl bis 50 µl
50 µl	2 µl bis 20 µl	10 µl bis 100 µl
100 µl	10 µl bis 100 µl	25 µl bis 250 µl
200 µl	20 µl bis 200 µl	30 µl bis 300 µl
250 µl	50 µl bis 200 µl	50 µl bis 300 µl
500 µl	100 µl bis 1000 µl	100 µl bis 1200 µl
1000 µl	500 µl bis 2500 µl	
2500 µl	500 µl bis 5000 µl	
	1000 µl bis 10000 µl	


Andere Zwischengrößen oder Messbereiche werden ebenfalls angeboten und in der Praxis eingesetzt.

## 7.2 Pipettenspitzen – Zubehörteile für die Dosierung

Zur Volumendosierung mittels Kolbenhubpipetten werden Pipettenspitzen verwendet, die auf den Pipettenschaft aufgesteckt werden. Es dürfen ausschließlich vom Hersteller zugelassene unbenutzte Pipettenspitzen verwendet werden. Die Pipettenspitzen müssen wie die Kolbenhubpipetten für mindestens zwei Stunden vor Beginn der Kalibrierung im Messraum gelagert werden.

Nach DIN EN ISO 8655-2 wird ein Spitzenwechsel nach jeder Einzelmessung empfohlen. Von dieser Regelung kann abgewichen werden. Das heißt, die Kalibrierung einer Pipette gemäß dieser Richtlinie kann mit einer Pipettenspitze pro Kanal durchgeführt werden. Das fünfmalige Vorbefeuchten des Luftpolsters zu Beginn der Kalibrierung muss trotzdem durchgeführt werden. Ein Vorbefeuchten sollte ebenfalls bei der Veränderung des Volumens (Einstellung eines neuen Prüfvolumens) durchgeführt werden.

Wenn Rückstände in der Spitze bleiben, ist der Spitzenwechsel grundsätzlich durchzuführen.

	Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster <a href="https://doi.org/10.7795/550.20240307">https://doi.org/10.7795/550.20240307</a>	DKD-R 8-1	
		Ausgabe:	12/2011
		Revision:	1
		Seite:	14/28

Falls ein Spitzenwechsel erforderlich ist, muss ebenfalls ein fünfmaliges Vorbefeuchten der neuen Pipettenspitze erfolgen.

Falls nach der Empfehlung der DIN EN ISO 8655 mit Spitzenwechsel gearbeitet wird, so ist dies im Kalibrierschein zu dokumentieren.

### 7.3 Zusätzliche Hinweise bei der Kalibrierung (in Ergänzung zur DIN EN ISO 8655-6)

Nach Aufsaugen des Mediums Wasser und Einhalten der Wartezeit muss die Pipette ruckfrei und anfangs langsam ohne Berührung der Gefäßwand senkrecht aus dem Medium geführt werden.

Beim Zurückgleiten des Kolbens nach dem Abgeben darf sich die Pipettenspitze nicht zu nah über dem Wägegefäß bzw. Vorratsgefäß befinden. Damit ist sichergestellt, dass keine Restflüssigkeit bzw. feuchte Luft von der Wand des Wägegefäßes zurückgesaugt wird.

Die Kalibrierung sollte mit dem kleinsten Teilvolumen (ca. 10 % des Nennvolumens) begonnen werden.

Folgende Eintauchtiefen und Wartezeiten sollten eingehalten werden:

Volumenbereich	Eintauchtiefe in mm	Wartezeit in s
0,1 µl - 1 µl	1 - 2	1
> 1 µl - 100 µl	2 - 3	1
> 100 µl - 1000 µl	2 - 4	1
> 1000 µl	3 - 6	3

## 8. Messunsicherheit

Die Messunsicherheit ist ein Kennwert, der zusammen mit dem Messergebnis angegeben wird. Die Messunsicherheit wird durch das Messverfahren bestimmt und ist dem Messergebnis beigeordnet. Die Messunsicherheit charakterisiert einen Bereich von Werten, der der Messgröße durch die Messung vernünftigerweise zugeschrieben werden kann.

Die Messunsicherheitsberechnung erfolgt grundsätzlich nach der internationalen Richtlinie JCGM 100 „Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement“ bzw. nach EA-4/02 M: 2022 (deutsche Übersetzung).

Die Abhängigkeit der Messunsicherheit im Volumenbereich muss angemessen beschrieben werden. Dabei ist vom Nennvolumen auszugehen und die Aufteilung der Volumenbereiche muss bezogen auf die unterschiedlichen Messbereiche fachlich relevant erfolgen (siehe 7.1).

Eine Angabe in absoluten Volumeneinheiten in sehr enger Unterteilung der Volumenbereiche ist nicht hinreichend genau und nicht sinnvoll. D. h. die Zuordnung zwischen Nennvolumen und Messunsicherheit ist nicht über den gesamten Bereich gegeben.

Die Angabe der Messunsicherheit sollte in Prozent vorgenommen werden.

Eine Angabe für die Messunsicherheit der Teilvolumen ist vorzunehmen (siehe 9).

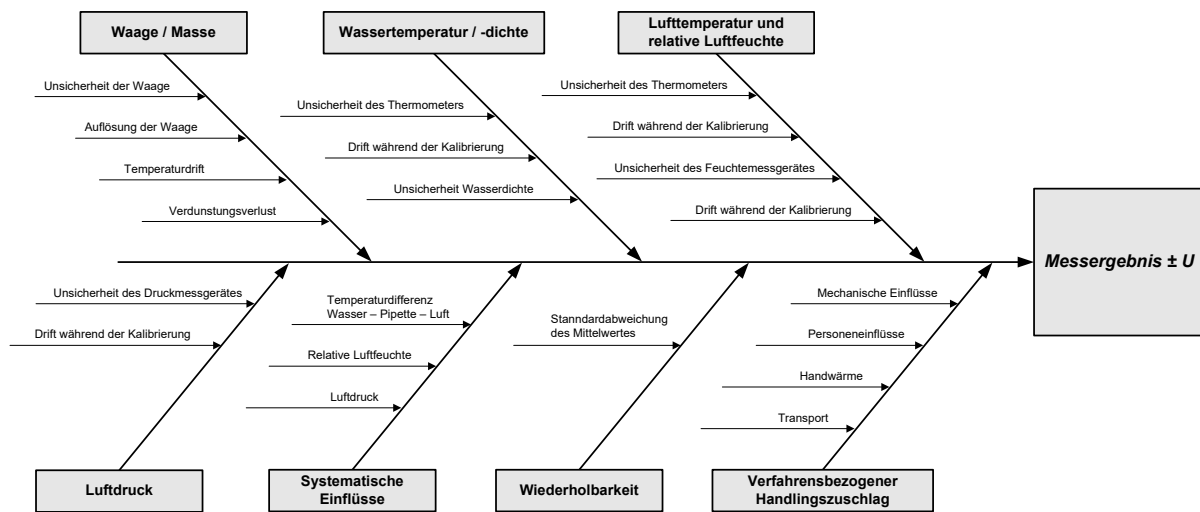
Die ISO/TR 20461 für die Messunsicherheitsbestimmung nach der gravimetrischen Methode wird in die Aufstellung der Messunsicherheitsbilanz mit einbezogen. Entsprechend ISO/TR 20461 wird das Volumen für die Referenztemperatur von 20 °C wie folgt berechnet:

$$V_{20} = \frac{m}{\rho_G} \cdot \frac{\rho_G - \rho_L}{\rho_W - \rho_L} \cdot [1 - \gamma(t_M - t_{M20})] \quad (1)$$


Es sind weiterhin die Berechnungsformeln für die Wasserdichte und die Luftdichte zu berücksichtigen. Für die Standardmessunsicherheit ergibt sich die folgende Gleichung:

$$u^2(V_{20}) = \left(\frac{\partial V_{20}}{\partial m}\right)^2 \cdot u^2(m) + \left(\frac{\partial V_{20}}{\partial t_w}\right)^2 \cdot u^2(t_w) + \left(\frac{\partial V_{20}}{\partial t_L}\right)^2 \cdot u^2(t_L) + \left(\frac{\partial V_{20}}{\partial p_L}\right)^2 \cdot u^2(p_L) + \dots \quad (2)$$

Eine umfassende Darstellung aller von dieser Richtlinie berücksichtigten Einflussfaktoren auf die Messunsicherheit gibt der folgende Fehlerbaum.



**Bild 1:** Einflüsse auf die Messunsicherheit bei der Kalibrierung von Kolbenhubpipetten

	Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster <a href="https://doi.org/10.7795/550.20240307">https://doi.org/10.7795/550.20240307</a>	DKD-R 8-1	
		Ausgabe:	12/2011
		Revision:	1
		Seite:	16/28

## 8.1 Allgemeines

Die akkreditierten Messunsicherheitsbilanzen für die Messgrößen und die Kalibrierverfahren bilden die Voraussetzung für eine Gewährleistung der Vergleichbarkeit von Messergebnissen auch über internationale Grenzen hinweg.

Die Aufstellung der Messunsicherheitsbilanzen für das gravimetrische Kalibrierverfahren von Kolbenhubpipetten beinhaltet:

- die Optimierung und Festlegung des Kalibrierverfahrens
- Festlegung konkreter Umgebungsbedingungen
- die messtechnische Bewertung der unterschiedlichen Kalibriergegenstände von verschiedenen Geräteherstellern
- die Berücksichtigung des verfahrensbezogenen Handlingsbeitrages.

Der verfahrensbezogene Handlingsbeitrag ist von der Bauart der Kolbenhubpipetten, z. B. Ein- oder Mehrkanal-pipette, und vom Bediener abhängig. Dieser Messunsicherheitsbeitrag setzt sich zusammen aus zufälligen und systematischen Anteilen.

Sollten einzelne Einflüsse auf das Kalibrierergebnis und seine Messunsicherheit nicht exakt bestimmt werden können, so muss ihr maximal möglicher Beitrag zur Unsicherheit abgeschätzt und berücksichtigt werden. Die Grundlage/Quelle für diese Schätzung ist anzugeben.

Die Messbedingungen der Kalibrierung sind möglichst vollständig zu beschreiben, da die Messunsicherheiten auch von den Nutzungsbedingungen abhängig sind.

Bei Vergleichsmessungen sollte eine Festlegung der Kalibrierbedingungen erfolgen, um die Vergleichbarkeit der Messergebnisse zu sichern.

Die im Folgenden beschriebenen Messunsicherheiten werden zukünftig als Grundlage für die „kleinste angebbare Messunsicherheit“ in die Anlage zur Akkreditierungsurkunde übernommen.

Die „kleinste angebbare Messunsicherheit“ kann erreicht werden, wenn alle im Folgenden aufgeführten Bedingungen exakt eingehalten werden. Falls dies nicht realisiert werden kann, ist die Messunsicherheit entsprechend anzupassen und durch zusätzliche Beiträge in der Messunsicherheitsbilanz zu berücksichtigen (siehe auch [2]). Die tatsächlich erreichte Messunsicherheit kann dadurch größer sein.


## 8.2 Unsicherheitsbeiträge der Waage

Grundsätzlich gilt die Annahme, dass die Umgebungsbedingungen bei der Kalibrierung der Waage und bei der Pipettenkalibrierung nahezu gleich sind.

Die Kalibrierungsaufgabe, der Messbereich und die Auflösung der Waage sowie die dazugehörige Messunsicherheit sind aufeinander abzustimmen, um die anwenderspezifische Nutzung nach DKD-R 7-2 sicherzustellen.

Die Waage sollte anwenderspezifisch kalibriert werden, d. h. der Messbereich der Kalibrierungsaufgabe (Pipette) sollte dem kalibrierten Wägebereich entsprechen.



	Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster <a href="https://doi.org/10.7795/550.20240307">https://doi.org/10.7795/550.20240307</a>	DKD-R 8-1	
		Ausgabe:	12/2011
		Revision:	1
		Seite:	17/28

Es ist darauf zu achten, dass „Null“ kein reeller Messpunkt ist. Wenn keine Mindestlast vom Hersteller angegeben ist, sollte bei der Kalibrierung mit  $\geq 1$  mg begonnen werden.

Die Kalibrierung der Waage nach DKD-R 7-2 ist vor einer Kalibrierung von Kolbenhubpipetten sicherzustellen. Damit sind die der Wägung zugeordneten Beiträge Auflösung der Waage, Wiederholbarkeit, Außermittigungsbelastung und Nichtlinearität im aktuellen Kalibrierschein enthalten.

Der Kalibrierschein der verwendeten Waage ist die Grundlage für die weiteren Messunsicherheitsbetrachtungen des gravimetrischen Verfahrens.

Der Messunsicherheitsbeitrag Ablesung bzw. die Auflösung der Waage geht zweimal in die Messunsicherheitsbilanz ein (Tara- und Bruttowägung). Das Ergebnis der Wägung ist die Differenz der Wägewerte.

Als weiterer Beitrag ist der Einfluss der Umgebungstemperatur nach Herstellerangaben zu berücksichtigen. Dieser Beitrag kann der Herstellerspezifikation entnommen werden.

Ein zusätzlicher Beitrag ergibt sich aus der Drift der Waage durch Alterung und Verschleiß. Dieser Einfluss kann durch Zwischenprüfung bzw. Rekalibrierung ermittelt werden. Daraus abgeleitet, kann dieser Beitrag nach Langzeitbeobachtungen berücksichtigt und Schlussfolgerungen gezogen werden.

Da die Kalibrierung von Kolbenhubpipetten nach dem gravimetrischen Verfahren durchgeführt wird, ist das regelmäßige Beobachten der Waage von großer Bedeutung. Hieraus resultiert die Durchführung von Zwischenprüfungen mit geeigneten kalibrierten Gewichtstücken (Kalibrierschein) innerhalb der Kalibrierfrist.

Beim Dosiervorgang mit Kolbenhubpipetten treten offene Flüssigkeitsoberflächen auf, so dass ein Verdunstungsverlust als Beitrag berücksichtigt werden sollte.

Der Verdunstungsverlust kann ermittelt bzw. aufgrund eigener Erfahrungen bezogen auf das Volumen der Pipette abgeschätzt werden.

Um den Einfluss der Verdunstung zu minimieren, sind moderne Wägeeinrichtungen für die Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Verdunstungsfallen ausgerüstet.

### 8.3 Messunsicherheitsbeiträge Wassertemperatur / -dichte


Für die Kalibrierung von Kolbenhubpipetten wird destilliertes oder deionisiertes Wasser als Prüfflüssigkeit verwendet. Das Wasser muss mindestens der Qualität 3 nach DIN ISO 3696 (elektrolytische Leitfähigkeit  $< 5 \mu\text{S}/\text{cm}$ ) entsprechen.

Vor und während der Kalibrierung ist darauf zu achten, dass das verwendete Wasser blasenfrei und der Lufttemperatur angeglichen ist (Abweichung von  $< 0,5$  K).

Eine engere Grenze von 0,2 K sollte bei Vergleichsmessungen/Ringvergleichen bzw. bei der Angabe der kleinsten angebbaren Messunsicherheit eingehalten werden.

Ansonsten ist die Messunsicherheit entsprechend anzupassen.

Die Lufttemperatur muss im Bereich  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  bis  $25 \text{ }^\circ\text{C}$  gewählt werden. In Ländern mit der Bezugstemperatur  $27 \text{ }^\circ\text{C}$  kann der Temperaturbereich entsprechend angepasst werden. Es müssen Maßnahmen gegen die Verdunstungsabkühlung getroffen werden, z. B. durch Abdecken oder Thermostatisieren.

	Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster <a href="https://doi.org/10.7795/550.20240307">https://doi.org/10.7795/550.20240307</a>	DKD-R 8-1	
		Ausgabe:	12/2011
		Revision:	1
		Seite:	18/28

Die Einhaltung der vorgegebenen Umgebungsbedingungen Lufttemperatur/relative Luftfeuchte während der Kalibrierung wird durch entsprechende Klimatechnik gesichert. Daraus abgeleitet ist auch die Stabilität der Wassertemperatur positiv beeinflusst.

Die Temperatur der verwendeten Prüfflüssigkeit (Wasser) wird mit einem kalibrierten Thermometer bestimmt. In der Messunsicherheitsbilanz werden die Unsicherheit des Thermometers und die Schwankung der Wassertemperatur während der Kalibrierung berücksichtigt.

Der Einfluss der Temperatur im Wägegefäß kann vernachlässigt werden.

Die Unsicherheit für die Berechnung der Wasserdichte nach [6] wird mit  $10 \cdot 10^{-6}$  abgeschätzt, da das genaue Isotopenverhältnis und der Gasgehalt nicht bekannt sind. Die Wasserdichte wird benötigt, um das Volumen der Prüfflüssigkeit zu berechnen.

#### 8.4 Messunsicherheitsbeiträge Lufttemperatur und relative Luftfeuchte

Bei der Kalibrierung von Kolbenhubpipetten werden die Umgebungsbedingungen Lufttemperatur und relative Luftfeuchte durch Klimatisierung in vorgegebenen Parametern realisiert. Die Messdaten der Umgebungsbedingungen werden mit geeigneten kalibrierten Thermometern und Feuchtesensoren erfasst und dokumentiert.

Die Luftdichte kann entsprechend der Gleichung (4) der EURAMET cg-19 berechnet werden.

In einer experimentellen Studie [4] konnte nachgewiesen werden, dass die Schwankungen der Lufttemperatur während der Kalibrierung  $< 0,5$  K sein sollten. Die Wassertemperatur sollte der Lufttemperatur (s. Kapitel 8.3) angeglichen sein.

Die relative Luftfeuchte sollte 45 % bis 60 % betragen. Geringe Luftfeuchten bewirken eine Reduzierung der gemessenen Volumina.

*Die Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit kleinsten angebbaren Messunsicherheiten bedingt die Einhaltung der Umgebungsbedingungen in kleinen Toleranzgrenzen.*


Die Lufttemperatur und die relative Luftfeuchte beeinflussen auch das dosierte Volumen in der Pipette (siehe Kapitel 8.7).

Das Driftverhalten der Lufttemperatur während der Kalibrierung sollte deshalb 0,5 K und das der relativen Luftfeuchte sollte 5 % nicht überschreiten.

#### 8.5 Messunsicherheitsbeitrag Luftdruck

Der Luftdruck sollte mit einem kalibrierten Präzisionsbarometer erfasst und dokumentiert werden. Der Luftdruck ist eine notwendige Messgröße für die Berechnung der Luftdichte und damit des Volumens. Das verwendete Präzisionsbarometer sollte eine Auflösung von 1 hPa oder besser besitzen.

Der Luftdruck beeinflusst auch das dosierte Volumen in der Pipette (siehe Kapitel 8.7).

	Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster <a href="https://doi.org/10.7795/550.20240307">https://doi.org/10.7795/550.20240307</a>	DKD-R 8-1	
		Ausgabe:	12/2011
		Revision:	1
		Seite:	19/28

## 8.6 Temperaturexpansion des Volumenmessgerätes

Wegen der unterschiedlichen Konstruktion und Bauart der einzelnen Pipettentypen ist der kubische Ausdehnungskoeffizient nicht allgemeingültig bestimmbar.

Der kubische Ausdehnungskoeffizient einer Kolbenhubpipette setzt sich aus dem Längenausdehnungskoeffizienten der die Hubanschlüsse verbindenden Bauteile und dem Ausdehnungskoeffizienten des Kolbenquerschnittes zusammen.

Materialeigenschaften, Materialpaarungen sowie unterschiedliche Geometrien und Bauformen beeinflussen den kubischen Ausdehnungskoeffizienten. Diese Einflüsse sind jedoch mathematisch nicht darstellbar und können somit von allen Herstellern nicht definiert werden. *Der kubische Ausdehnungskoeffizient wird deshalb in der Messunsicherheitsbilanz mit dem Wert „Null“ berücksichtigt.*

Der Messwert bezieht sich dann aber auf die gemessene Temperatur während der Messung.

Die Referenztemperatur für die Kalibrierung von Kolbenhubpipetten beträgt 20 °C nach DIN EN ISO 8655-1.

Wird die Kalibrierung bei einer anderen Temperatur durchgeführt, ist diese Abweichung zu berücksichtigen (z. B. Erhöhung der Messunsicherheit). Hierzu müssen Daten über den gesamten Temperaturgang des Gerätes vorliegen, z. B. von Seiten des Herstellers.

Es ist zwingend notwendig, dass eine ausreichend lange Lagerung (mindestens 2 Stunden) der Kolbenhubpipetten im Messraum gewährleistet ist. Da eine direkte Messung der Temperatur der Pipette nicht möglich ist, wird diese der Umgebungstemperatur gleichgesetzt. Der Messunsicherheitsbeitrag ist abzuschätzen.


## 8.7 Betrachtungen der systematischen Einflüsse der Kolbenhubpipetten mit Luftpolster während der Kalibrierung

Die Volumendosierung in einer Kolbenhubpipette mit Luftpolster ist ein thermodynamischer Vorgang, der mit dem Eintauchen der Pipettenspitze ins Wasser beginnt und mit dem Herausnehmen endet (Abriss der Flüssigkeitssäule).

Umfassende Darstellungen sind in den Berichten [2] und [5] zu entnehmen.

Die Einflüsse hängen insbesondere von der Größe des Luftpolsters und von der Steighöhe in der Pipettenspitze ab. Nachfolgend aufgeführte Einflüsse werden betrachtet:

- Temperaturdifferenzen Wasser - Pipette - Luft
- Relative Luftfeuchte
- Luftdruck

	Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster <a href="https://doi.org/10.7795/550.20240307">https://doi.org/10.7795/550.20240307</a>	DKD-R 8-1	
		Ausgabe:	12/2011
		Revision:	1
		Seite:	20/28

### 8.7.1 Temperaturdifferenzen Wasser - Pipette - Luft

Temperaturdifferenzen zwischen Wasser, Pipette und Luft im Pipettensystem/ Pipettenspitze führen zu großen Einflüssen auf das dosierte Volumen. Die Einflüsse sind bestimmend als Anteil in der Messunsicherheitsbilanz.

**Die Differenz zwischen Luft- und Wassertemperatur sollte während der Kalibrierung weniger als 0,5 K betragen [4].**

Zu Erreichung der kleinsten angebbaren Messunsicherheit oder bei Vergleichsmessungen und Ringvergleichen sollte die Temperaturdifferenz jedoch maximal 0,2 K betragen. (Hierauf basiert die anhängige Messunsicherheitsbilanz.)

### 8.7.2 Relative Luftfeuchte

Der Einfluss der relativen Luftfeuchte ist ein wichtiges Kriterium bei der Festlegung der Umgebungsbedingungen (siehe Kapitel 8.4) und erfordert die Dokumentation im Kalibrierverfahren/QMH.

Die Verdunstung der Kalibrierflüssigkeit hängt direkt von der relativen Luftfeuchte der Umgebung ab, da während des Ansaugvorganges eine Verdunstung der Flüssigkeit stattfindet und schon bei kleinsten verdunsteten Flüssigkeitsmengen zu einer großen Volumenverdrängung im Luftpolster führt (Faktor ca. 1250). Dieser Einfluss wird durch die fünfmalige Vorbefeuchtung verringert.

Zu Erreichung der kleinsten angebbaren Messunsicherheit oder bei Vergleichsmessungen und Ringvergleichen sollte dennoch die Einhaltung der relativen Luftfeuchte von  $(50 \pm 5) \%$  realisiert werden. (Hierauf basiert die anhängige Messunsicherheitsbilanz.)

### 8.7.3 Luftdruck

Kalibrierungen von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster in unterschiedlichen Höhenlagen haben einen signifikanten Einfluss auf die Messergebnisse ergeben. Der Einfluss der Höhenlage auf das Kalibrierergebnis ist im Bericht [3] erörtert und in einer experimentellen Untersuchung bestätigt.


Siehe hierzu auch die Arbeit [2], die anhand eines theoretischen Modelles zeigt, dass in großer Höhenlage aufgrund der geringen Luftdichte das dosierte Volumen deutlich abnimmt.

Zur Herstellung der Vergleichbarkeit von Kalibrierergebnissen sind Korrekturen zur Höhenlage vorzunehmen. Der aktuelle Luftdruck während der Messung ist im Kalibrierschein anzugeben.

Die Volumenänderung, die sich bei Kalibrierung an einem Ort X2 (mit Luftdruck  $p_{L,X2}$ ) gegenüber einem Ort X1 (mit Luftdruck  $p_{L,X1}$ ) ergibt, ist durch folgende Formel bestimmt:

$$\Delta V = -V_T \cdot \rho_w \cdot g \cdot h_w \cdot \left( \frac{1}{p_{L,X2} - \rho_w \cdot g \cdot h_w} - \frac{1}{p_{L,X1} - \rho_w \cdot g \cdot h_w} \right) \quad (3)$$

Anmerkung: Die Steighöhe  $h_w$  kann in guter Näherung an beiden Orten gleichgesetzt werden.

	Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster <a href="https://doi.org/10.7795/550.20240307">https://doi.org/10.7795/550.20240307</a>	DKD-R 8-1	
		Ausgabe:	12/2011
		Revision:	1
		Seite:	21/28

Für die allgemeinen meteorologischen Luftdruckschwankungen wird in der Messunsicherheitsbilanz ein Beitrag von  $\pm 20$  hPa (Dreiecksverteilung) berücksichtigt. Eine Korrektur wird nicht durchgeführt.

## 8.8 Wiederholbarkeit

Als Wiederholbarkeit, wird die empirische Standardabweichung des Mittelwertes einer Messreihe aus 10 Einzelmessungen angesetzt. Die empirische Standardabweichung charakterisiert die Streuung der Messwerte unter denselben Messbedingungen bei der Kalibrierung von Kolbenhubpipetten und berechnet sich nach folgender Formel:

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (V_i - \bar{V})^2}{n-1}} \quad (4)$$

Die Standardmessunsicherheit (Vertrauensbereich des Mittelwertes) der Wiederholbarkeit wird nach Ermittlungsmethode A (GUM) bestimmt und berechnet sich nach folgender Formel (siehe auch [2]):

$$u(s) = \frac{s}{\sqrt{n}} \quad (5)$$

Erfahrungsgemäß liegt die experimentelle Standardabweichung bei ca. einem Drittel der vom Hersteller für die Wiederholbarkeit (max. zufällige Messabweichung) angegebenen Herstellertoleranz.


Dies bedingt bei mehrkanaligen Kolbenhubpipetten in der Regel einen höheren Wert als bei Einkanalpipetten.

## 8.9 Verfahrensbezogener Handlungszuschlag

Der verfahrensbezogene Handlungszuschlag stellt einen Mindestwert dar, den man nicht unterschreiten kann. Er erfasst durch das Handling auftretende Beeinflussungen des dosierten Volumens während der Kalibrierung von Kolbenhubpipetten und sollte in der Unsicherheitsbilanz mit mindestens 0,07 % vom Nennvolumen bei Einkanalkolbenhubpipetten mit festem Volumen und 0,1 % vom Nennvolumen bei Einkanalkolbenhubpipetten mit variablen Volumen sowie Mehrkanalpipetten (Erfahrungswerte für die Standardunsicherheit) angesetzt werden.

Verschiedene Einflüsse tragen zum verfahrensbezogenen Handlungszuschlag bei. Die wichtigsten Einflüsse sind:

- Mechanische Einflüsse
- Personeneinflüsse
- Handwärme
- Transport

	Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster <a href="https://doi.org/10.7795/550.20240307">https://doi.org/10.7795/550.20240307</a>	DKD-R 8-1	
		Ausgabe:	12/2011
		Revision:	1
		Seite:	22/28

### 8.9.1 Mechanische Einflüsse

Unter dem Begriff „Mechanische Einflüsse“ versteht man u. a. folgende Einflüsse:

- Hysterese des Zählwerkes bei variablen Pipetten (nicht bei elektronischen Pipetten)
- Reproduzierbarkeit des Hubes

### 8.9.2 Personeneinflüsse

Die Personeneinflüsse bei der Kalibrierung von Kolbenhubpipetten hängen sehr stark von der Erfahrung des Prüfers ab und sind durch regelmäßiges Training zu entwickeln und aufrecht zu erhalten.

- Wartezeit nach dem Ansaugen
- Gleichmäßigkeit des Pipettierrhythmus
- Neigungswinkel der Pipette beim Ansaugen / Abstoßen
- Betätigungskraft (nicht bei elektronischen Pipetten)
- Eintauchtiefe

### 8.9.3 Handwärme


Als weiterer Einfluss ist auch die Handwärme zu berücksichtigen, die individuell vom Prüfer und von der Bauart der Pipette abhängig ist. Durch die Position des Hubkolbens in der Kolbenhubpipette wirkt sich die Handwärme am stärksten beim Nennvolumen aus.

Zur Minimierung des Einflusses „Handwärme“ ist der direkte Kontakt mit dem Kalibriergegenstand so gering wie möglich zu halten.

Die Handwärme bewirkt eine Abnahme des Volumens (zeitliche Drift). Tritt bei einer Kalibrierung ein Handwärmeeinfluss auf, so ist dieser Beitrag abzuschätzen und in der Messunsicherheit zu berücksichtigen.

### 8.9.4 Transport

Der Einfluss auf die Messunsicherheit durch den Transport bezieht sich nur auf die sachgerechte Versendung der Kolbenhubpipette, wie z. B. dabei auftretende Temperaturschwankungen und mechanische Erschütterungen.


	Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster <a href="https://doi.org/10.7795/550.20240307">https://doi.org/10.7795/550.20240307</a>	DKD-R 8-1	
		Ausgabe:	12/2011
		Revision:	1
		Seite:	23/28

## 9. Messunsicherheitsbilanzen

Hinweis: Als Anlage wurden drei Muster-Unsicherheitsbilanzen angefügt.

- Anlage A Muster-Messunsicherheitsbilanz für die Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit festem Volumen, Nennvolumen 1000 µl
- Anlage B Muster-Messunsicherheitsbilanz für die Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit variablem Volumen, Nennvolumen 100 µl
- Anlage C Muster-Messunsicherheitsbilanz für die Kalibrierung von Mehrkanalkolbenhubpipetten, Nennvolumen 10 µl

Die angegebenen Messunsicherheitsbilanzen gelten für die jeweiligen Nennvolumina. Die erweiterte Messunsicherheit für das mittlere bzw. untere Prüfvolumen berechnet sich zu 75 % bzw. 50 % der erweiterten Messunsicherheit des Nennvolumens.

	Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster <a href="https://doi.org/10.7795/550.20240307">https://doi.org/10.7795/550.20240307</a>	DKD-R 8-1	
		Ausgabe:	12/2011
		Revision:	1
		Seite:	24/28

## 10. Literaturverzeichnis

- [1] H. WOLF: „Volumenbestimmung im Mikroliterbereich“, Physikalisch-Technische Bundesanstalt, PTB-Bericht PTB-Th Ex-16, Braunschweig, 2001
- [2] K.-H. LOCHNER, R. FELDMANN, J. PFOHL: „Analyse der Einflussgrößen auf die Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster“, Expertenbericht DKD-E 8.2, 2013
- [3] CHR. SPÄLTI: „Einfluss der Höhenlage auf das Volumenergebnis einer Kolbenhubpipette mit Luftpolster“, Expertenbericht DKD-E 8.3, 2013
- [4] B. WERNER, U. BREUEL, N. SCHIERING: „Experimentelle Studie zur Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster“, Expertenbericht DKD-E 8.1, 2013
- [5] K.-H. LOCHNER: „Untersuchung der Messgenauigkeit von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster“ (Forschungsbericht AIF Nr. 9152), Forschungsgemeinschaft für Technisches Glas e.V., 1995
- [6] M. TANAKA, G. GIRARD, R. DAVIS, A. PEUTO, N. BIGNELL: Recommended table for the density of water between 0 °C and 40 °C based on recent experimental reports; Metrologia 2001, 38, 301-309



Anlage A

Muster-Messunsicherheitsbilanz für die Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster und festem Volumen

Nennvolumen 1000 µl

Größe $X_i$	Bester Schätzwert $x_i$	Halbe Weite der Verteilung $a$	Wahrscheinlichkeitsverteilung $P(x_i)$	Teiler $k$	Standardmessunsicherheit $u(x_i)$	Empfindlichkeitskoeffizient $c_i$	Unsicherheitsbeitrag $u_i(y)$
<b>Waage / Masse</b>							
Messabweichung der Waage	0 mg	30 µg	Normal	2	15,000 µg	0,001 µl/µg	0,015 µl
Auflösung der Waage (mit Last)	999,60 mg	5 µg	Rechteck	$\sqrt{3}$	2,887 µg	0,001 µl/µg	0,003 µl
Auflösung der Waage (ohne Last)	0,00 mg	5 µg	Rechteck	$\sqrt{3}$	2,887 µg	0,001 µl/µg	0,003 µl
Temperaturdrift	0 mg	0,2 K	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,115 K	0,001 µl/K	1,2E-04 µl
Verdunstungsverlust	0 mg	20 µg	Rechteck	$\sqrt{3}$	11,547 µg	0,001 µl/µg	0,012 µl
<b>Wassertemperatur / -dichte</b>							
Anzeige des Thermometers	21,60 °C	0,012 K	Normal	2	0,006 K	0,21 µl/K	0,001 µl
Drift während d. Kalibrierung	0 °C	0,2 K	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,115 K	0,21 µl/K	0,024 µl
Wasserdichte	997,86 kg/m <sup>3</sup>	10 ppm	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,00001 mg/µl	-1000 µl <sup>2</sup> /mg	-0,006 µl
<b>Lufttemperatur</b>							
Anzeige des Thermometers	21,8 °C	0,13 K	Normal	2	0,065 K	0,0045 µl/K	2,9E-04 µl
Drift während d. Kalibrierung	0 °C	0,2 K	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,115 K	0,0045 µl/K	5,2E-04 µl
<b>Luftdruck</b>							
Anzeige des Barometers	1008,0 hPa	0,05 hPa	Normal	2	0,025 hPa	0,0012 µl/hPa	3,0E-05 µl
Drift während d. Kalibrierung	0 hPa	1 hPa	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,577 hPa	0,0012 µl/hPa	6,9E-04 µl
<b>Luftfeuchte</b>							
Anzeige des Feuchtesensors	53 % r.F.	0,6 % r.F.	Normal	2	0,300 % r.F.	0,0001 µl/% r.F.	3,0E-05 µl
Drift während d. Kalibrierung	0 % r.F.	5 % r.F.	Rechteck	$\sqrt{3}$	2,887 % r.F.	0,0001 µl/% r.F.	2,9E-04 µl
<b>Temp.differenz Medium-Pipette-Luft</b>							
0,0 °C	0,2 K	0,2 K	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,115 K	2,2 µl/K	0,254 µl
<b>Luftfeuchte</b>							
53 % r.F.	5 % r.F.	5 % r.F.	Rechteck	$\sqrt{3}$	2,887 % r.F.	0,07 µl/% r.F.	0,202 µl
1008,0 hPa	20 hPa	20 hPa	Dreieck	$\sqrt{6}$	8,165 hPa	0,014 µl/hPa	0,114 µl
<b>Wiederholbarkeit</b>							
0 mg	0,67 µl	0,67 µl	Normal	$\sqrt{10}$	0,211 µl	1	0,211 µl
0 mg	0,70 µl	0,70 µl	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,404 µl	1	0,404 µl
<b>Verfahrensbezog. Handlungszuschlag</b>							
<b>Y (Volumen)</b>	1002,9 µl						
						$u(y) =$	0,57 µl
						$U(y) =$	1,2 µl
						$w(y) =$	0,06 %
						$W(y) =$	0,12 %

Anlage B

Muster-Messunsicherheitsbilanz für die Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster und variablem Volumen

Nennvolumen 100 µl

Größe $X_i$	Bester Schätzwert $x_i$	Halbe Weite der Verteilung $a$	Wahrscheinlichkeitsverteilung $P(x_i)$	Teiler $k$	Standardmessunsicherheit $u(x_i)$	Empfindlichkeitskoeffizient $c_i$	Unsicherheitsbeitrag $u_i(y)$
<b>Waage / Masse</b>							
Messabweichung der Waage	0 mg	15 µg	Normal	2	7,500 µg	0,001 µl/µg	0,0075 µl
Auflösung der Waage (mit Last)	100,059 mg	0,5 µg	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,289 µg	0,001 µl/µg	0,0003 µl
Auflösung der Waage (ohne Last)	0,000 mg	0,5 µg	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,289 µg	0,001 µl/µg	0,0003 µl
Temperaturdrift	0 mg	0,2 K	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,115 K	0,0001 µl/K	1,2E-05 µl
Verdunstungsverlust	0 mg	15 µg	Rechteck	$\sqrt{3}$	8,660 µg	0,001 µl/µg	0,0087 µl
<b>Wassertemperatur / -dichte</b>							
Anzeige des Thermometers	21,70 °C	0,012 K	Normal	2	0,006 K	0,021 µl/K	0,0001 µl
Drift während d. Kalibrierung	0 °C	0,2 K	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,115 K	0,021 µl/K	0,0024 µl
Wasserdichte	997,84 kg/m <sup>3</sup>	10 ppm	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,00001 mg/µl	-100 µl <sup>2</sup> /mg	-0,00006 µl
<b>Lufttemperatur</b>							
Anzeige des Thermometers	21,8 °C	0,13 K	Normal	2	0,065 K	0,00045 µl/K	2,9E-05 µl
Drift während d. Kalibrierung	0 °C	0,2 K	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,115 K	0,00045 µl/K	5,2E-05 µl
<b>Luftdruck</b>							
Anzeige des Barometers	1009,0 hPa	0,05 hPa	Normal	2	0,025 hPa	0,00012 µl/hPa	3,0E-06 µl
Drift während d. Kalibrierung	0 hPa	1 hPa	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,577 hPa	0,00012 µl/hPa	6,9E-05 µl
<b>Luftfeuchte</b>							
Anzeige des Feuchtesensors	53 % r.F.	0,6 % r.F.	Normal	2	0,300 % r.F.	0,00001 µl/% r.F.	3,0E-06 µl
Drift während d. Kalibrierung	0 % r.F.	5 % r.F.	Rechteck	$\sqrt{3}$	2,887 % r.F.	0,00001 µl/% r.F.	2,9E-05 µl
<b>Temp.differenz Medium-Pipette-Luft</b>							
Anzeige des Feuchtesensors	0,0 °C	0,2 K	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,115 K	0,22 µl/K	0,0254 µl
Drift während d. Kalibrierung	53 % r.F.	5 % r.F.	Rechteck	$\sqrt{3}$	2,887 % r.F.	0,007 µl/% r.F.	0,0202 µl
<b>Luftfeuchte</b>							
Luftdruck	1009,0 hPa	20 hPa	Dreieck	$\sqrt{6}$	8,165 hPa	0,0012 µl/hPa	0,0098 µl
<b>Wiederholbarkeit</b>							
Wiederholbarkeit	0 mg	0,067 µl	Normal	$\sqrt{10}$	0,021 µl	1	0,0211 µl
<b>Verfahrensbezog. Handlungszuschlag</b>							
Verfahrensbezog. Handlungszuschlag	0 mg	0,10 µl	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,058 µl	1	0,0577 µl
<b>Y (Volumen)</b>	100,38 µl						
						$u(y) =$	0,071 µl
						$U(y) =$	0,15 µl
						$w(y) =$	0,07 %
						$W(y) =$	0,15 %

Anlage C

Muster-Messunsicherheitsbilanz für die Kalibrierung von Mehrkanalkolbenhubpipetten mit Luftpolster

Nennvolumen 10 µl

Größe $X_i$	Bester Schätzwert $x_i$	Halbe Weite der Verteilung $a$	Wahrscheinlichkeitsverteilung $P(x_i)$	Teiler $k$	Standardmessunsicherheit $u(x_i)$	Empfindlichkeitskoeffizient $c_i$	Unsicherheitsbeitrag $u_i(y)$
<b>Waage / Masse</b>							
Messabweichung der Waage	0 mg	15 µg	Normal	2	7,500 µg	0,001 µl/µg	0,0075 µl
Auflösung der Waage (mit Last)	10,010 mg	0,5 µg	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,289 µg	0,001 µl/µg	0,0003 µl
Auflösung der Waage (ohne Last)	0,000 mg	0,5 µg	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,289 µg	0,001 µl/µg	0,0003 µl
Temperaturdrift	0 mg	0,2 K	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,115 K	1,0E-05 µl/K	1,2E-06 µl
Verdunstungsverlust	0 mg	10 µg	Rechteck	$\sqrt{3}$	5,774 µg	0,001 µl/µg	0,0058 µl
<b>Wassertemperatur / -dichte</b>							
Anzeige des Thermometers	22,20 °C	0,012 K	Normal	2	0,006 K	0,0021 µl/K	1,3E-05 µl
Drift während d. Kalibrierung	0 °C	0,2 K	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,115 K	0,0021 µl/K	0,0002 µl
Wasserdichte	997,72 kg/m <sup>3</sup>	10 ppm	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,00001 mg/µl	-10 µl <sup>2</sup> /mg	-0,0001 µl
<b>Lufttemperatur</b>							
Anzeige des Thermometers	22,4 °C	0,13 K	Normal	2	0,065 K	0,000045 µl/K	2,9E-06 µl
Drift während d. Kalibrierung	0 °C	0,2 K	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,115 K	0,000045 µl/K	5,2E-06 µl
<b>Luftdruck</b>							
Anzeige des Barometers	1009,0 hPa	0,05 hPa	Normal	2	0,025 hPa	0,000012 µl/hPa	3,0E-07 µl
Drift während d. Kalibrierung	0 hPa	1 hPa	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,577 hPa	0,000012 µl/hPa	6,9E-06 µl
<b>Luftfeuchte</b>							
Anzeige des Feuchtesensors	53 % r.F.	0,6 % r.F.	Normal	2	0,300 % r.F.	0,000001 µl/% r.F.	3,0E-07 µl
Drift während d. Kalibrierung	0 % r.F.	5 % r.F.	Rechteck	$\sqrt{3}$	2,887 % r.F.	0,000001 µl/% r.F.	2,9E-06 µl
<b>Temp.differenz Medium-Pipette-Luft</b>							
0,0 °C	0,0 °C	0,2 K	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,115 K	0,019 µl/K	0,0022 µl
53 % r.F.	53 % r.F.	5 % r.F.	Rechteck	$\sqrt{3}$	2,887 % r.F.	0,001 µl/% r.F.	0,0029 µl
1009,0 hPa	1009,0 hPa	20 hPa	Dreieck	$\sqrt{6}$	8,165 hPa	0,0003 µl/hPa	0,0024 µl
<b>Wiederholbarkeit</b>							
0 mg	0 mg	0,033 µl	Normal	$\sqrt{10}$	0,011 µl	1	0,0105 µl
<b>Verfahrensbezog. Handlungszuschlag</b>							
0 mg	0 mg	0,010 µl	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,006 µl	1	0,0058 µl
<b>Y (Volumen)</b>	10,040 µl						
						$u(y) =$	0,016 µl
						$U(y) =$	0,032 µl
						$w(y) =$	0,16 %
						$W(Y) =$	0,32 %



Herausgeber:

**Physikalisch-Technische Bundesanstalt**  
Deutscher Kalibrierdienst  
Bundesallee 100  
38116 Braunschweig

[www.dkd.eu](http://www.dkd.eu)  
[www.ptb.de](http://www.ptb.de)