



## Kalibrierstelle für Volumen und Temperatur



S SCHWEIZERISCHER KALIBRIERDIENST  
C SERVICE SUISSE D'ETALONNAGE  
S SERVIZIO DI TARATURA IN SVIZZERA  
S SWISS CALIBRATION SERVICE

Akkreditierungsnummer SCS109



## Servicestelle für Laborgeräte

Christoph Spälti  
Dominik Wächter  
Simon Zehnder



### Adresse:

Riedwiesstrasse 31  
5412 Gebenstorf  
Tel 056 223 33 77  
Fax 056 223 33 70  
E-Mail [info@spaelti-ts.ch](mailto:info@spaelti-ts.ch)  
[www.spaelti-ts.ch](http://www.spaelti-ts.ch)



# Genauigkeit und Messunsicherheiten von Kolbenhubpipetten

- **Einleitung**
- **Die Kolbenhubpipette ein Präzisionsmessinstrument**
- **Fehlereinflüsse beim Pipettieren**
- **einzelne Unsicherheitsbeiträge**
- **Messunsicherheitsbudget einer Verdünnungsreihe**
- **Hinweise / Fragen / verwendete Unterlagen**



## ■ Ziel

- Möglichkeiten und Fehlereinflüsse von Kolbenhubpipetten kennen
- Anteil der Messunsicherheit infolge Pipettieren ermitteln

## ■ Grundlagen

- ISO 8655-2
- Bedienungsanleitungen zu Pipetten
- Berichte von Eppendorf
- Richtlinie DKD 3: Angabe der Messunsicherheit bei Kalibrierungen
- Eigene Erfahrung



## ■ Pflege und Aufbewahrung

- Pipetten nur mit aufgesetzter Pipettenspitze verwenden
- Pipette nicht mit gefüllter Spitze ablegen
- Sicherheitsvorschriften betreffend Kontamination beachten
- Keine Flüssigkeiten in die Pipette eindringen lassen
- Pipette nicht mit Aceton oder aggressiven Lösungsmitteln reinigen
- Nur Original Pipettenspitzen verwenden

# Die Kolbenhubpipette



## ■ Bauformen



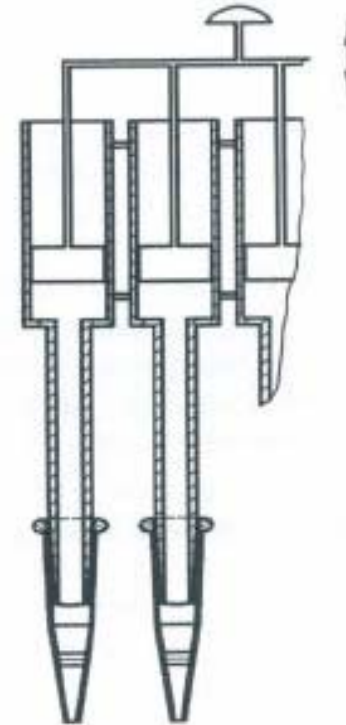
Form D

Direktverdränger



Form A

mit Luftpolster



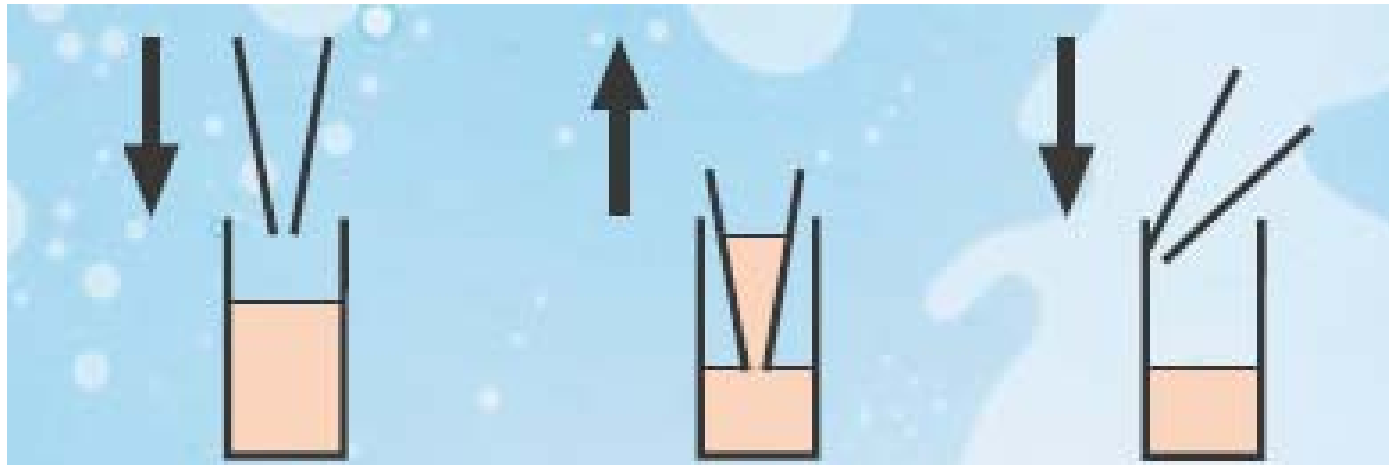
b) Mehrkanalkolbenhubpipetten

a) Einkanalkolbenhubpipetten



## ■ Technik des Pipettierens bei Luftpolsterpipetten

### ■ Vorwärts Pipettieren



1. Knopf bis zum ersten Anschlag betätigen, Spitze wenige Millimeter eintauchen

2. Knopf langsam loslassen, Spitze füllt sich

3. Flüssigkeit abgeben durch Drücken bis zum ersten Anschlag, danach durch Drücken bis zum zweiten Anschlag alle Flüssigkeit ausblasen

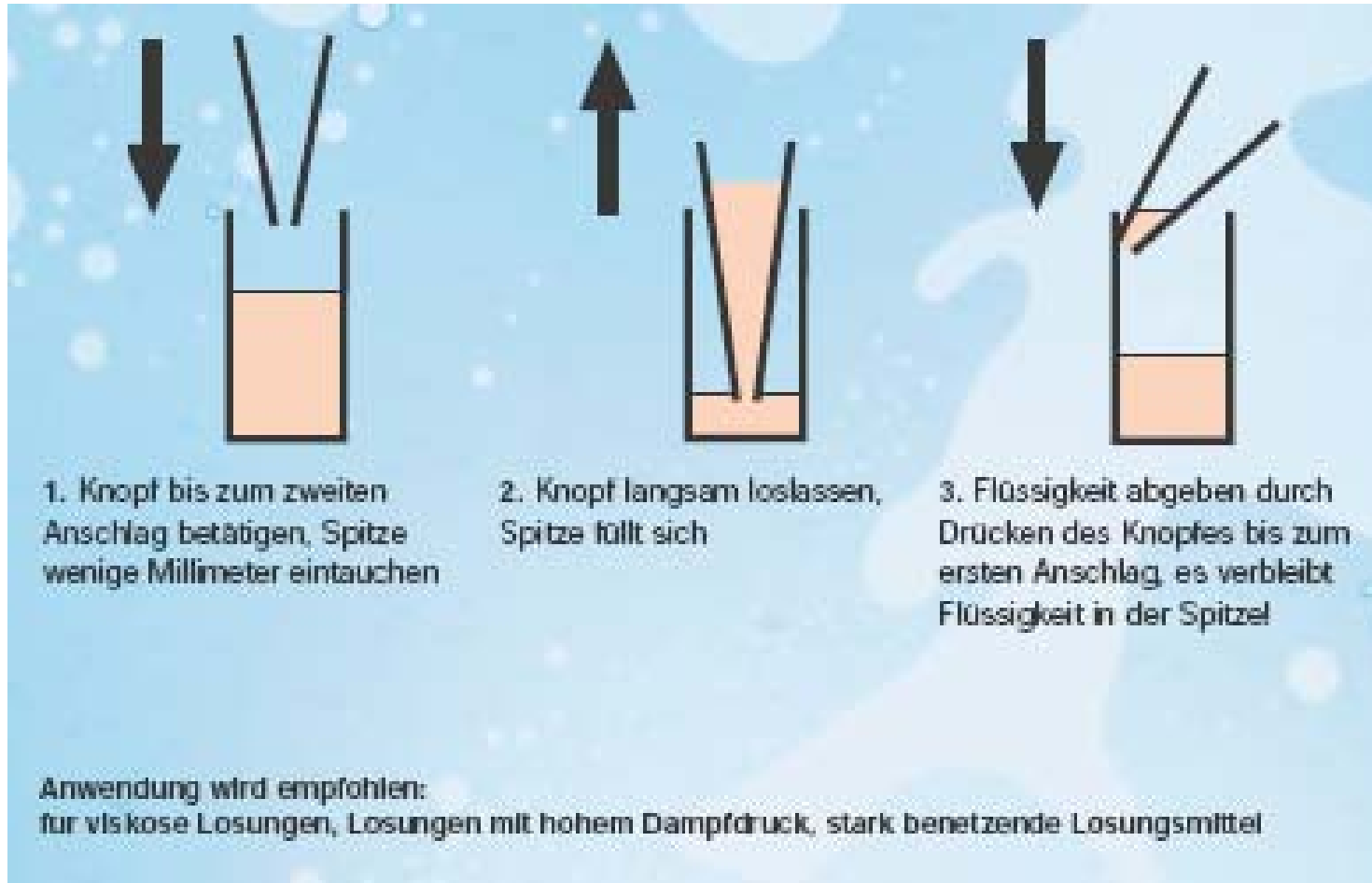
bei Volumina > 10 µl Spitze vorbenetzen

Anwendung wird empfohlen:  
für Standardlösungen wie Wasser, Puffer, verdünnte Salzlösungen, verdünnte Säuren und Laugen

# Die Kolbenhubpipette



## ■ Reverses Pipettieren





# Fehlereinflüsse beim Pipettieren

## Fehler

- **Pipette tropft, ist undicht**
  - Lose Spitze, ungeeignete Spitze
  - Zerkratzer Arbeitskonus
  - Dichtungen undicht
  
- **Ungleichmässige Kraftverlauf**
  - Ungleichmässiges durchdrücken
  - Ungleicher Rhythmus
  - Hubknopf schwergängig

## Auswirkung

- **Abweichung vom Sollvolumen  
1% bis 50%**
  
- **Abweichung vom Sollvolumen  
bis 1.5%**



## Fehler

- **Pipette schräg gehalten**
- **Temperaturunterschiede**

## Auswirkung

- **Es wird ein grösseres Volumen abgegeben**
- **0.5% bis 1% vom Sollvolumen**
- **Es wird ein kleineres Volumen abgegeben bis 0.3%/°C**

Beispiel:

Pipette 22°C / Probe 4°C: es wird ca. 5.4% weniger als das eingestellte Sollvolumen abgegeben



## Fehler

- **Pipette nicht vorbefeuchtet**
- **Aenderung der Luftfeuchtigkeit im Labor**
- **Geographische Lage / Aenderung des Luftdruckes**

## Auswirkung

- **Fehlergrenzen werden nicht eingehalten**
- **Bis 3% vom Sollvolumen**
- **Fehlermöglichkeit bis 3% vom Sollvolumen**
- **Abhilfe: Spitzen vorbefeuchten**
- **Einfluss im Grossraum Bern fast nicht nachweisbar**
- **< 0.1%**



## Fehler

- **Abweichung der Dichte der zu pipettierenden Flüssigkeit von der Dichte des bei der Justierung verwendeten Wassers**

Beispiel:  $\rho = 1.1\text{g/cm}^3$  ergibt einen Fehler von  $-0.4\%$  vom Sollvolumen

- **Abweichung des Dampfdruckes der zu pipettierenden Flüssigkeit zum Dampfdruck von Wasser bei der Justierung**

- **Viskosität / Fließverhalten / Benetzungseigenschaft der zu pipettierenden Flüssigkeit**

## Auswirkung

- **Bis 1.0% Fehlereinfluss**

- **Abweichung von bis zu 2% vom Sollvolumen**

- **Abweichung durch Testmessungen ermitteln**



# Einzelne Unsicherheitsbeiträge

## ■ Messunsicherheits-Angaben der Pipette

- In der Bedienungsanleitung (= Herstellerangaben) bei der Auslieferung Garantierte Werte, sind immer enger als die Fehlergrenzen gemäss ISO
- Gemäss ISO 8655
- Auf dem Kalibrierzertifikat = effektiv gemessene Werte

Messergebnisse Résultats mesurés Measured results	Sollvolumen in µl	Mittelwert in µl	Messunsicher- heit in %	Messabweichung in %		Hersteller-Fehlergrenzen in %		
				Systematisch	zufällig	Systematisch	zufällig	Konform
	100	100.29	0.67	0.29	0.19	1.60	0.30	✓
	500	497.58	0.76	-0.48	0.14	0.60	0.20	✓
	1000	998.21	0.26	-0.18	0.04	0.60	0.20	✓



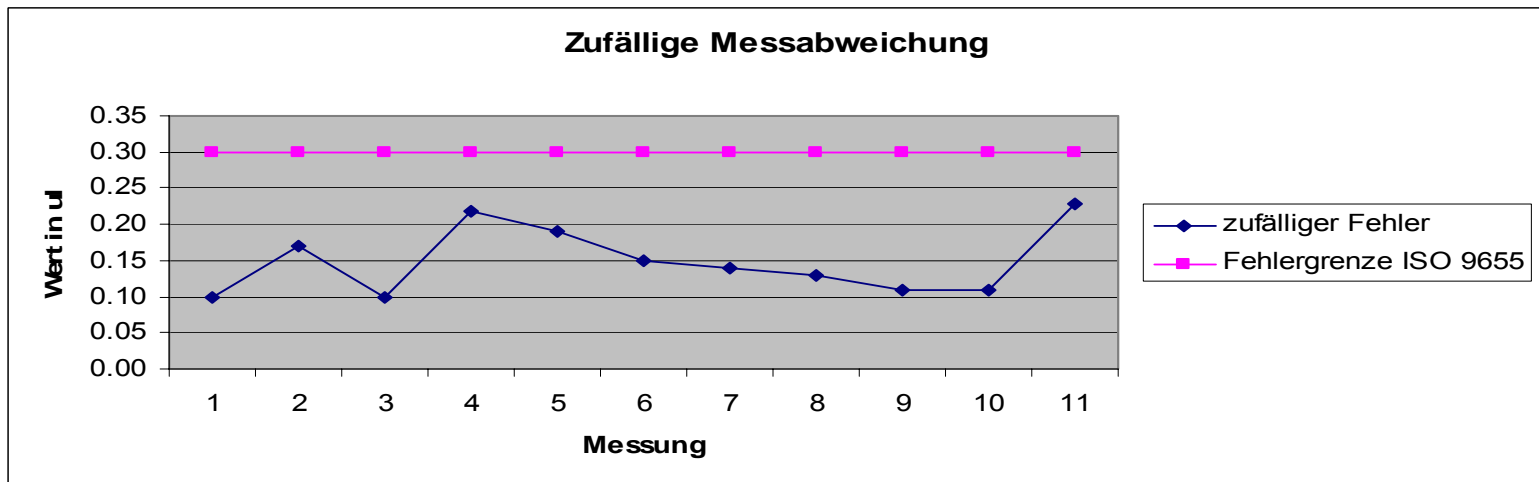
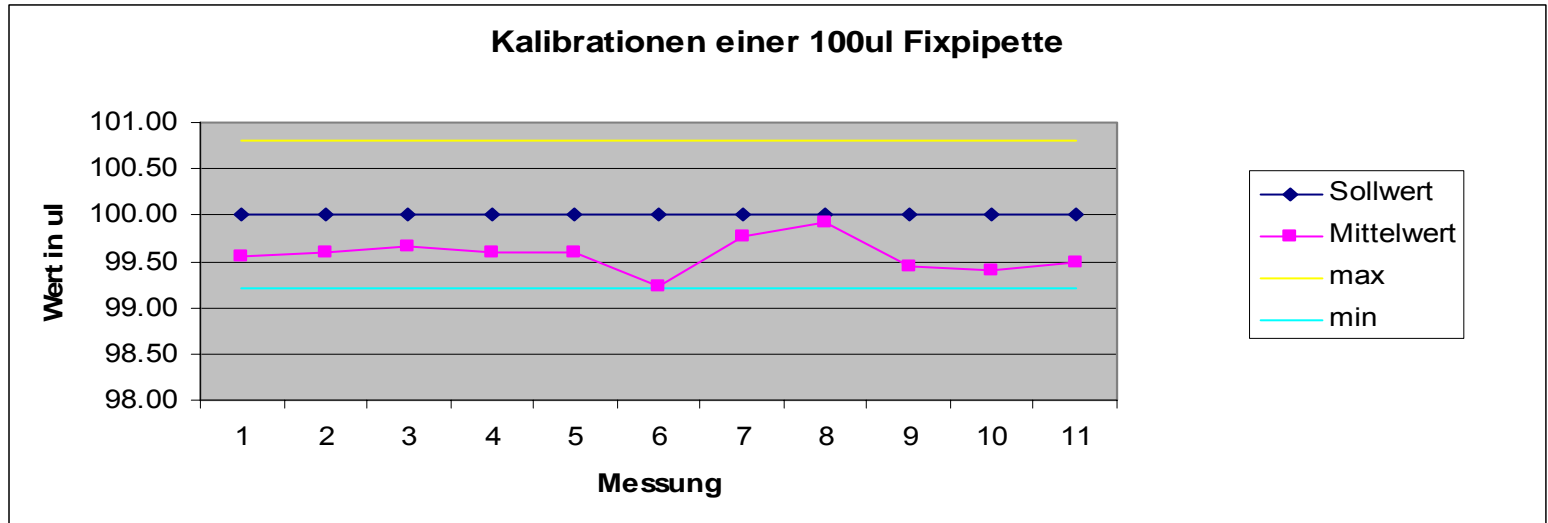
- **Wenn die Pipette „ISO 8655 Konform“ ist, können folgende Unsicherheitsbeiträge eingesetzt werden:**

■ 10µl Nennvolumen	+/- 0.28 µl	+/- 2.8% vom Nennvol.!
■ 100 µl Nennvolumen	+/- 1.4 µl	+/- 1.4%
■ 1000 µl Nennvolumen	+/- 14 µl	+/- 1.4%
■ 5000 µl Nennvolumen	+/- 70 µl	+/- 1.4%
■ Multipette 100 µl	+/- 2.7 µl	+/- 2.7%

- Die Unsicherheit berechnet sich aus dem systematischen + (2 x Zufälligen) Fehlergrenzwerten
- Die Unsicherheit ist die Standardunsicherheit  $k=2$ , Vertrauensniveau 95%
- Sie beinhaltet:
  - Unsicherheiten aus Konstruktion, Produktion und Fertigung der Pipette
  - Unsicherheiten aufgrund der Justierung
  - Unsicherheiten beim Handling durch den Anwender, vorausgesetzt er beachtet die Möglichen Fehlereinflüsse.



## ■ Praktischer Versuch im Labor Liebefeld:





Pipettiervorgang

Inhomogenität

Reinstwasser

Zwischenlagerung

Verdunstung

Stammlösung

Verdünnung  
= Wert +/-?



## ■ Messunsicherheitsbudget einer Verdünnungsreihe

Ein Stammlösung (ST) für die Kalibration enthält 10 % Substanz X  
Es wird eine Verdünnung mit 0.1 % (in 3 Verdünnungs-Schritten) hergestellt.

### Pipettier-Schema

