

Einfluss der Höhenlage auf das Volumenergebnis einer Kolbenhubpipette mit Luftpolster

Autor: Christoph Spälti, Spaelti-TS AG, Wiesenstrasse 13, CH-5412 Gebenstorf

Co-Autoren: Marc Polin, Spaelti-TS AG, Wiesenstrasse 13, CH-5412 Gebenstorf,
Susanne Finkbeiner, Spaelti-TS AG, Wiesenstrasse 13, CH-5412 Gebenstorf

1. Zusammenfassung

In einer Studie wurde der Nachweis erbracht, dass die Höhenlage des Messplatzes bei der Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster das Messresultat beeinflusst.

- Ist eine Pipette bei 1013 hPa korrekt einjustiert ($V_{20} = V_s$), wird die gleiche Pipette bei einem Luftdruck von ca. 850hPa (ca. 1500müM) ein effektives Volumen abgeben, welches nahe der Untergrenze der zulässigen systematischen Abweichung gemäss ISO8655 liegt.
- Kolbenhubpipetten mit Luftpolster sollten am vorgesehenen Einsatzort justiert und kalibriert werden.

Für Vergleichsmessungen zwischen Prüflaboratorien (Zum Beispiel für Ringversuche) kann das gemessene Resultat auf die gleiche Höhenlage wie das Pilotlabor korrigiert werden. Die Studie zeigt die Genauigkeit des Korrekturfaktors auf.

- Für Vergleichsmessungen kann der ermittelte Messwert korrigiert werden, es müssen jedoch das genaue Totvolumen und die Steighöhe bekannt sein. Diese zwei Werte müssen im Messunsicherheitsbudget berücksichtigt werden.

2. Ausgangslage

Ein Arbeitskreis, gebildet aus Mitgliedern vom Fachausschuss Masse des DKD (Deutscher Kalibrierdienst), befasste sich mit den Einflüssen auf die Messunsicherheit bei der Kalibrierung von Kolbenhubpipetten. Dabei wurde festgestellt, dass ungenügende Angaben über den Einfluss auf die Messunsicherheit aufgrund des geographischen Standortes des Messplatzes bestehen. Mit zunehmender Höhe über Meer nimmt der Luftdruck ab und beeinflusst die Messung.

3. Einsetzung und Ziel der Studie:

Mit Versuchen soll das Verhalten der Pipetten in verschiedenen Höhenlagen getestet werden, indem man bestimmte Pipetten in verschiedenen Höhenlagen kalibriert.

Um den Einfluss von Prüfer, Waage, Pipette, Wasser und Umgebung einzuschränken, wurden immer die gleichen Pipetten durch die gleichen Prüfer am gleichen Messplatz in verschiedenen Höhenlagen kalibriert. Der Messplatz wurde an den verschiedenen Standorten installiert und kalibriert.

4. Durchführung:

Die Studie wurde von der Spaelti-TS AG durchgeführt. Spaelti-TS AG ist eine durch das SAS akkreditierte Prüfstelle für Volumen. Sie führte die Kalibrierungen durch und war für die Auswertung der Ergebnisse zuständig.

2 Prüfer waren verantwortlich für die Messplatzeinrichtung, deren Kalibrierung und die Durchführung der Kalibrierungen an folgenden Standorten:

Gebenstorf 360m.ü.M. mittlerer absoluter Luftdruck 969hPa
Thusis 740m.ü.M mittlerer absoluter Luftdruck 924hPa
Samedan 1720m.ü.M. mittlerer absoluter Luftdruck 817hPa
Jungfrauoch 3460m.ü.M. mittlerer absoluter Luftdruck 657hPa

Die Messungen wurden zwischen dem 5. April und dem 10. Mai 2011 durchgeführt.

Messplatz:

Der Messplatz bestand aus:

Waage Mettler WXTS205DU mit Verdunstungsschutz

Thermometer Testo

Feuchtemessgerät Elpro ECOLOG TH1

Druckmessgerät Vacuubrand DVR 2

Der Messbereich für diesen Messplatz ist zwischen 10µl und 10ml begrenzt.

Der Messplatz wurde an jedem Standort aufgebaut und die Installation erfolgreich qualifiziert. Grundlage für die Qualifizierung war die Norm ISO8655 und die Vorgaben aus der Richtlinie DKD-R 8-1 (zur Zeit der Prüfungen noch als Entwurf).

Prüflinge:

Erkennung	Kolbenhub pipette	Volumen	Betätigung	Spitzentyp	Max Volumen der Spitze
SpaH_01	Variabel	2 bis 20µl	Manuell	Crystal	20µl
SpaH_02	Variabel	2 bis 20µl	Manuell	Gelb	200µl
SpaH_06	Variabel	10 bis 100µl	Manuell	Gelb	200µl
SpaH_11	Variabel	10 bis 100µl	Manuell	Gelb	200µl
SpaH_12	Fix	100µl	Manuell	Gelb	200µl
SpaH_03	Variabel	50 bis 1000µl	Elektronisch	Blau	1000µl
SpaH_07	Variabel	50 bis 1000µl	Elektronisch	Blau	1000µl
SpaH_08	Variabel	50 bis 1000µl	Elektronisch	Blau	1000µl
SpaH_05	Variabel	100 bis 1000µl	Manuell	Blau	1000µl
SpaH_09	Variabel	100 bis 1000µl	Manuell	Blau	1000µl
SpaH_10	Variabel	100 bis 1000µl	Manuell	Blau	1000µl
SpaH_04	Variabel	1 bis 10ml	Manuell		10ml

Es wurden immer die vom jeweiligen Pipettenhersteller empfohlenen Spitzen in der Standardausführung (ohne Filter / keine extra lange oder extra kurze Ausführung) verwendet. Die Prüflinge wurden nach erfolgreichem Einsatz an den verschiedenen Standorten durch die jeweiligen Hersteller erfolgreich geprüft.

Prüfungen

Die Prüfungen wurden gemäss der Norm ISO8655 und der Richtlinie DKD-R 8-1 (zur Zeit der Prüfungen noch in Entwurffassung) durchgeführt. Insbesondere wurden die Messunsicherheiten gemäss DKD-R 8-1 bestimmt.

5. Messergebnisse

Die detaillierten und vollständigen Messergebnisse an den verschiedenen Standorten sind im Anhang 1 in Diagrammform dargestellt.

Erklärung zu den Diagrammen:

Abkürzung	Erläuterung
e_s	Systematische Messabweichung
P_L	Luftdruck
V_{20}	Volumen bei der Bezugstemperatur von 20°C
V_s	gewähltes Volumen
V_T	Volumen des Luftpolsters (Totvolumen)
U	erweiterte Messunsicherheit ($k=2$)

Erklärung zu den Diagrammen sind in Abbildung 1 dargestellt.

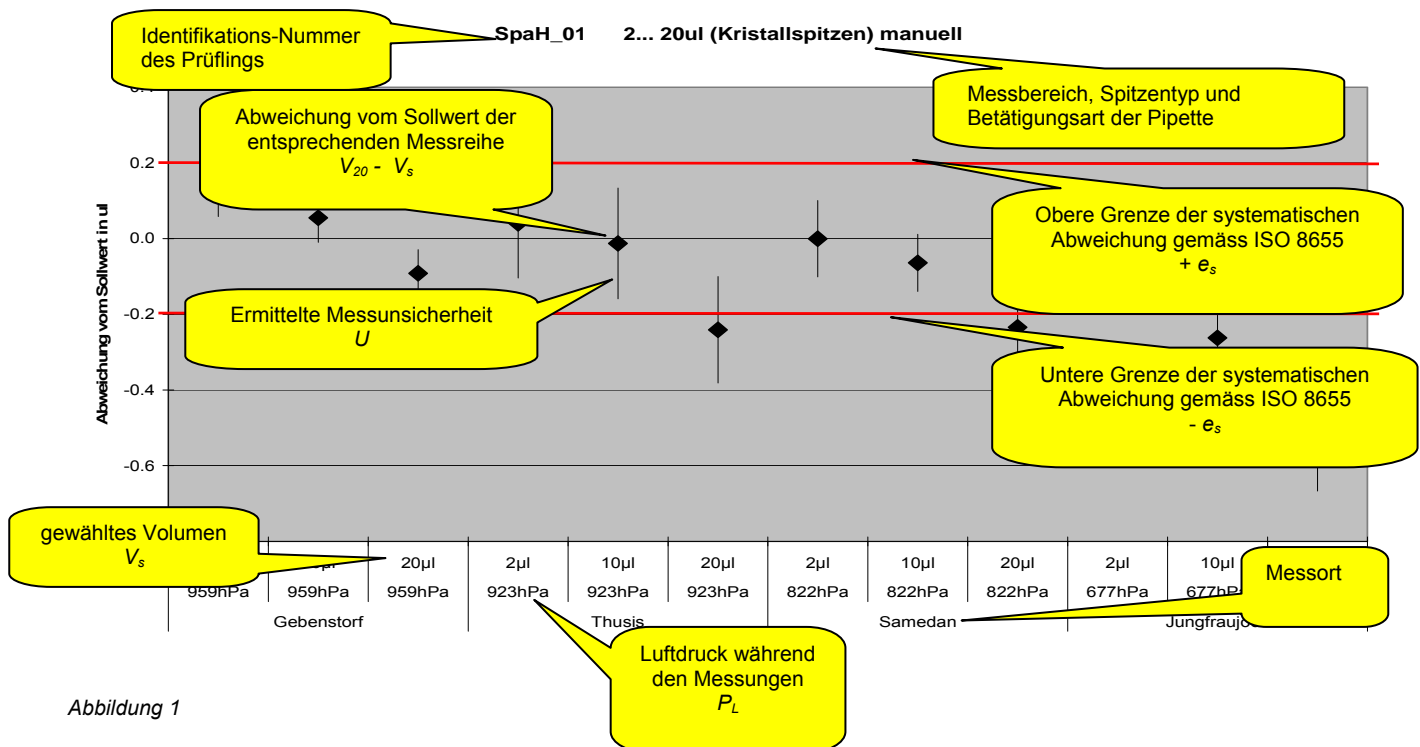


Abbildung 1

Ergänzende Bemerkungen zu den Messergebnissen:

Der Messplatz war nicht ausgelegt für Messungen unter 10µl, wegen der Auflösung der Waage. Es wurden trotzdem Messungen unter 10µl gemacht, im Messunsicherheitsbudget wurde ein entsprechender Beitrag eingerechnet.

Am Messort Thusing wurde die erforderliche Feuchte von 50%r.H. aus technischen Gründen nicht erreicht. Gemessen wurde bei ca. 40%r.H. Die Messunsicherheit wurde entsprechend angepasst.

6. Analyse der Messergebnisse

Die nachfolgenden Feststellungen treffen auf alle Pipetten zu:

6.1 Das abgegebene Volumen nimmt mit zunehmender Höhe über Meer ab, wobei sich die Abnahme vom Volumen und der abnehmende Luftdruck linear verhalten (Abbildung 2).

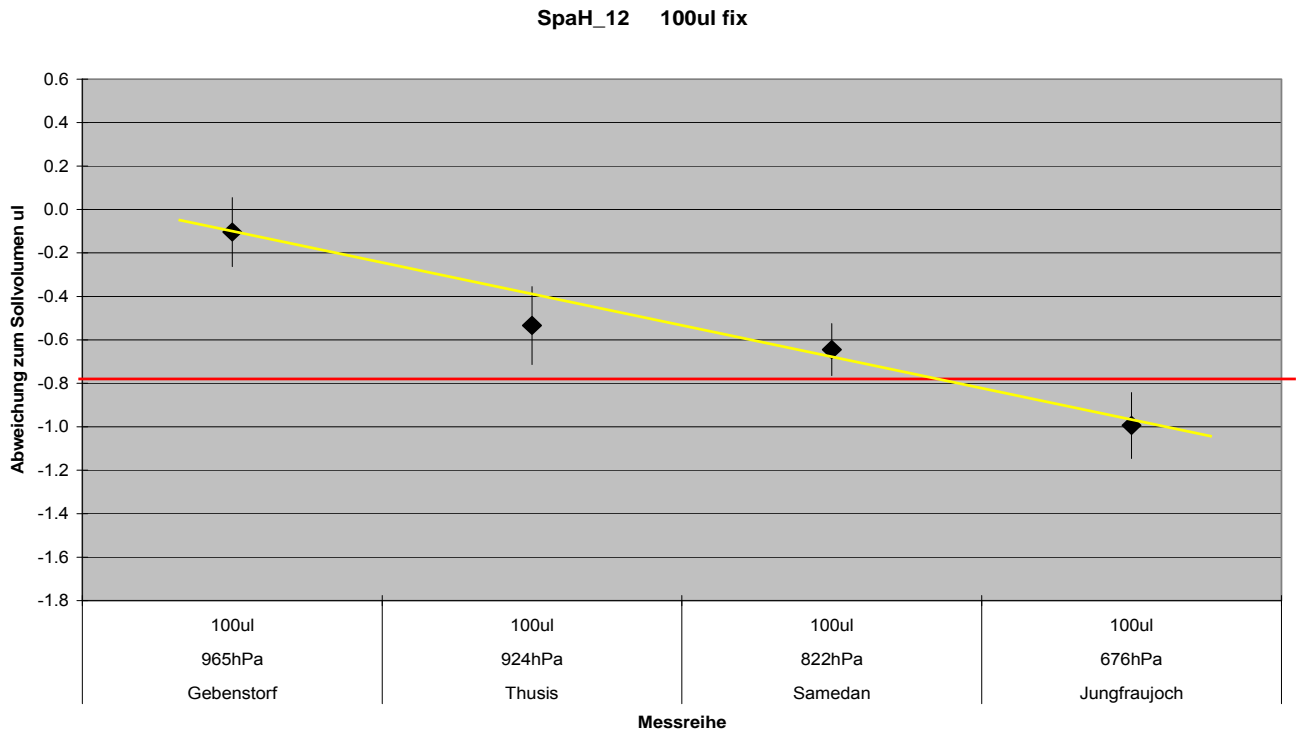


Abbildung 2

6.2 Einstellbare Pipetten verhalten sich unterschiedlich, je nach eingestelltem Volumen (Abbildung 3).

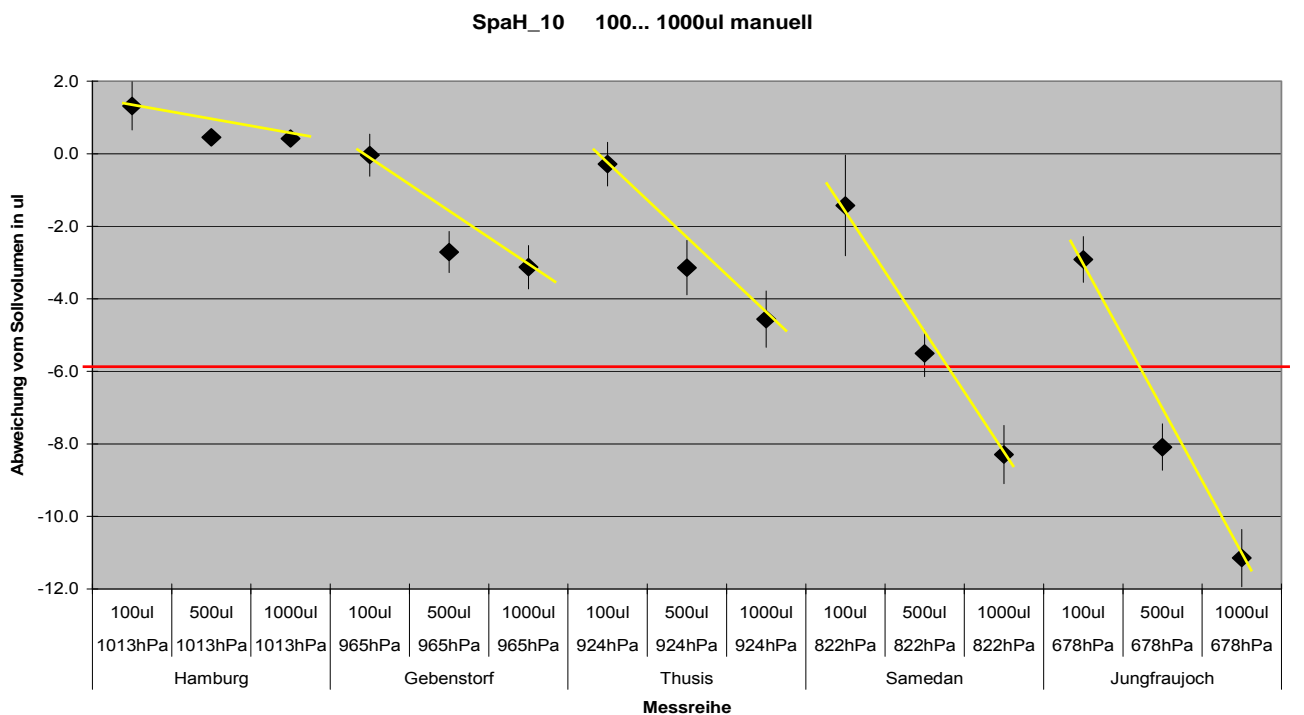


Abbildung 3

6.3 Pipetten mit gleichem Nennvolumen aber von verschiedenen Herstellern haben unterschiedliche Abweichungen (Abbildung 4 & 5).

SpaH_09 100... 1000ul manuell

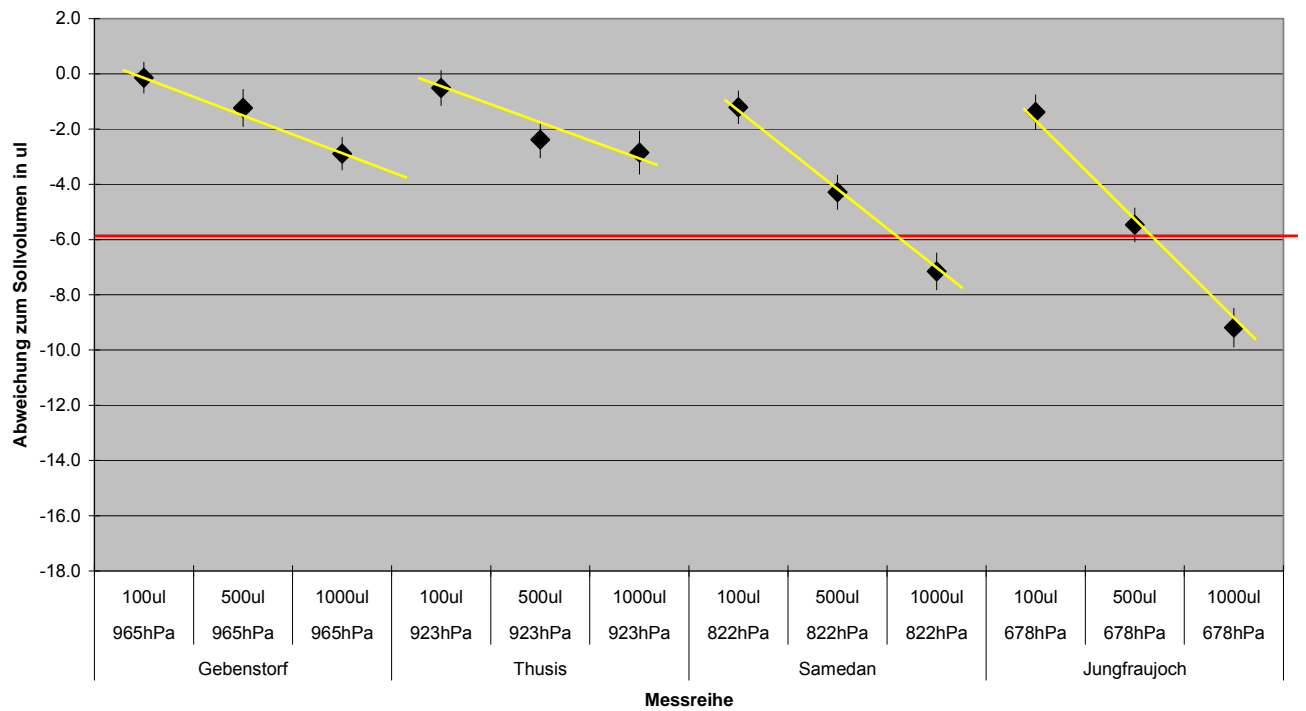


Abbildung 4

SpaH_05 100... 1000ul manuell

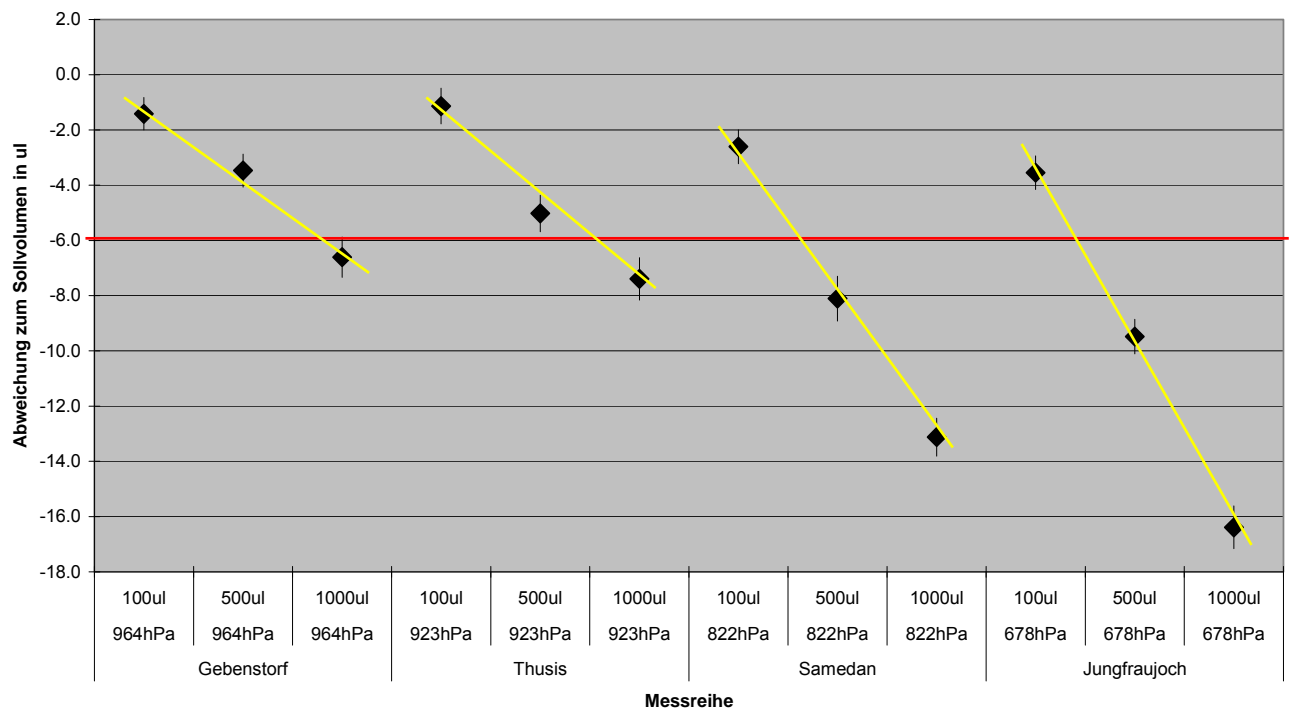
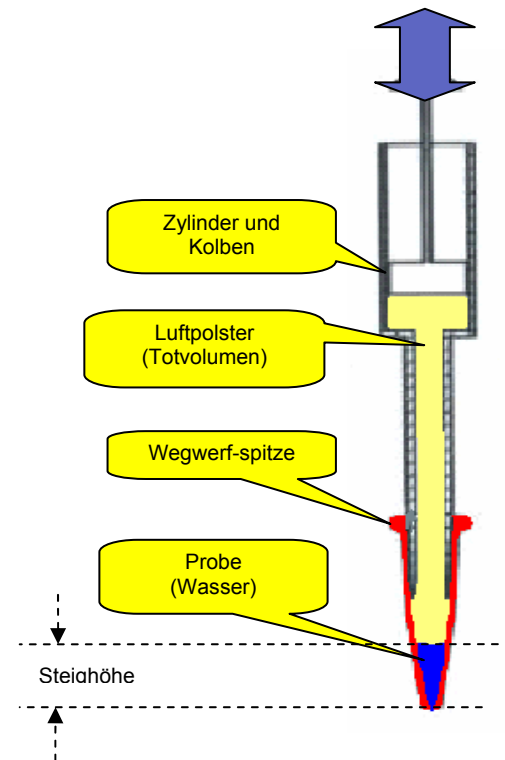


Abbildung 5

7. Ursache

Die Volumenänderung bei unterschiedlichen Höhen wird zur Hauptsache durch das Luftpolster in der Pipette und der Menge der dosierten Flüssigkeit (Wasser) bestimmt.

- Einfluss des Luftpolsters:**
 Mit abnehmendem Luftdruck vermindert sich die Dichte des Luftpolsters sehr stark (ca. 10% Abnahme pro 1000m Höhendifferenz). Die Dichte der dosierten Flüssigkeit verändert sich nur unwesentlich (ca. 0.01% pro 1000m Höhendifferenz). Die Grösse des Luftpolsters hat einen wesentlichen Einfluss auf das abgegebene Volumen.
- Einfluss der Menge der dosierten Flüssigkeit:**
 Dieser Einfluss ist nur bei variablen Pipetten sichtbar. Die dosierte Flüssigkeit „hängt“ mit Ihrem Gewicht am Totvolumen (Luftpolster). Je grösser die Steighöhe der dosierten Flüssigkeit, umso ungünstiger wird das Verhältnis Dichte des Luftpolsters zu Dichte der dosierten Flüssigkeit. In Abbildung 3 kann dieser Fehlereinfluss anhand der Trendlinien erkannt werden. In Hamburg ist die Trendlinie praktisch Waagrecht, bei geringem Luftdruck (Jungfrauoch) ist die Trendlinie stark geneigt.



8. Berechnete Kompensation

Sind Totvolumen und Steighöhe der Flüssigkeitssäule in der Pipettenspitze bekannt, kann anhand der Formel eine Korrektur berechnet werden:

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

Formelzeichen	Erklärung
ΔV	Volumenänderung, die sich bei Kalibrierung an einem Ort X_1 gegenüber einem Ort X_2 ergibt.
V_T	Volumen des Luftpolsters
g	Fallbeschleunigung
h_w	Steighöhe der Flüssigkeitssäule in der Pipettenspitze
P_L	Luftdruck
ρ_w	Dichte des als Prüfflüssigkeit verwendeten Wassers
X_1	Ort 1 (in diesem Dokument 0müM mit Luftdruck 1013.25hPa)
X_2	Ort 2 (in diesem Dokument der jeweilige Messort mit unterschiedlicher Höhe)

Die Steighöhe der Flüssigkeit ist abhängig von der verwendeten Spitze und der verwendeten Pipette. Sie kann einfach mit einem Messschieber gemessen werden.

Das Totvolumen wird bestimmt durch die Konstruktion der Pipette und der verwendeten Spitze. Es muss durch den Konstrukteur der jeweiligen Pipette berechnet werden. Für diese Studie lagen nur ungenügende Angaben vor. Es wurden darum für die nachfolgenden Diagramme folgende Werte eingesetzt:

Pipette	Spitze	Totvolumen	Steighöhe bei	Steighöhe bei	Steighöhe bei
2... 20µl	Crystal (20µl)	360µl	26mm / 20µl	19mm / 10µl	8mm / 2µl
2... 20µl	Gelb (200µl)	320µl	15mm / 20µl	10mm / 10µl	5mm / 2µl
10... 100µl	Gelb (200µl)	410µl	29mm / 100µl	21mm / 50µl	29mm / 10µl
100µl Fix	Gelb (200µl)	410µl	30mm / 100µl		
100... 1000µl	Blau (1000µl)	2700µl	50mm / 1000µl	34mm / 500µl	19mm / 100µl
1... 10ml	(10ml)	17800µl	130mm / 10ml	89mm / 5ml	40mm / 1ml

Die Diagramme (Abbildung 6 bis 10) zeigen die Messwerte (unteres Ende der fetten Säule) und die berechnete Volumenänderung (oberes Ende der fetten Säulen). Die Messwerte, ermittelt an den verschiedenen Standorten, sind mit dieser Korrektur genauer vergleichbar.

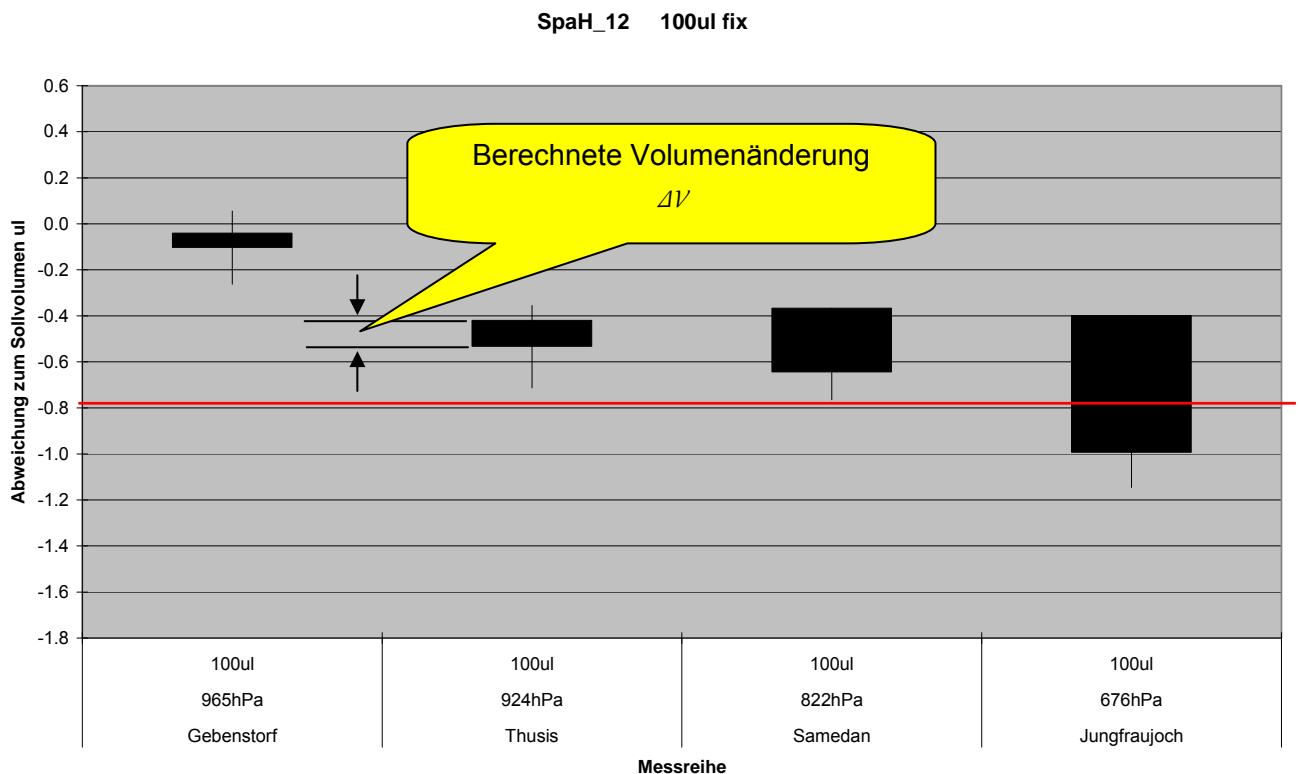


Abbildung 6

SpaH_02 2... 20ul (gelbe Spitzen) manuell

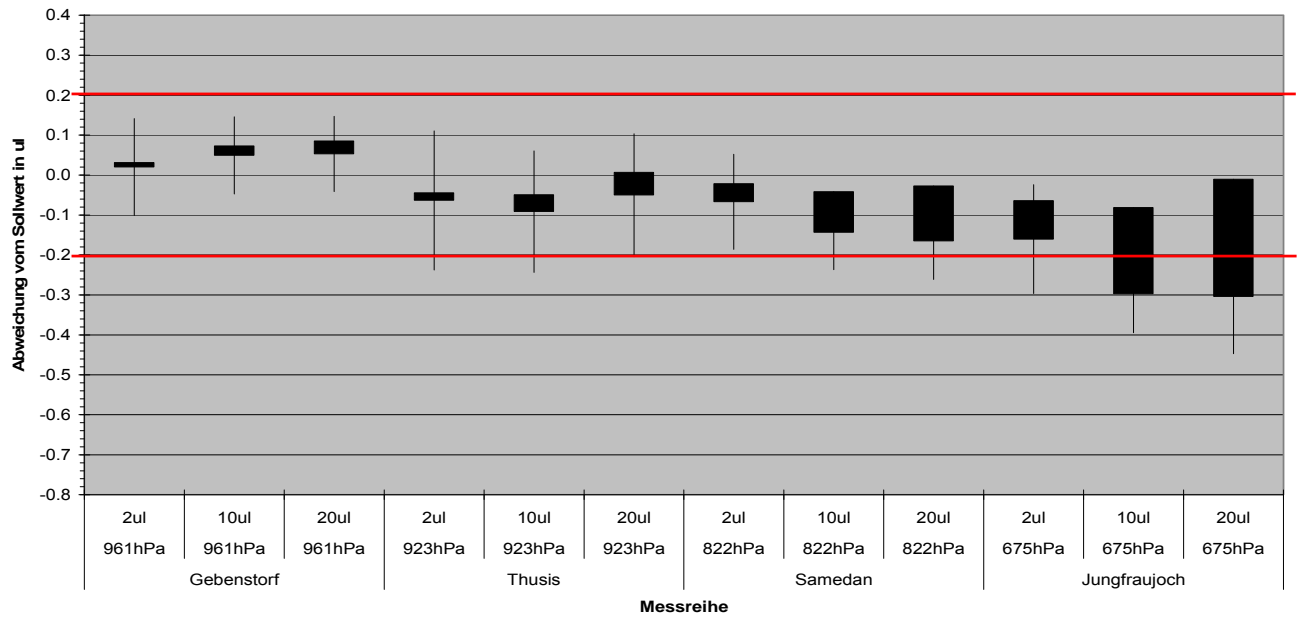


Abbildung 7

SpaH_11 10... 100ul manuell

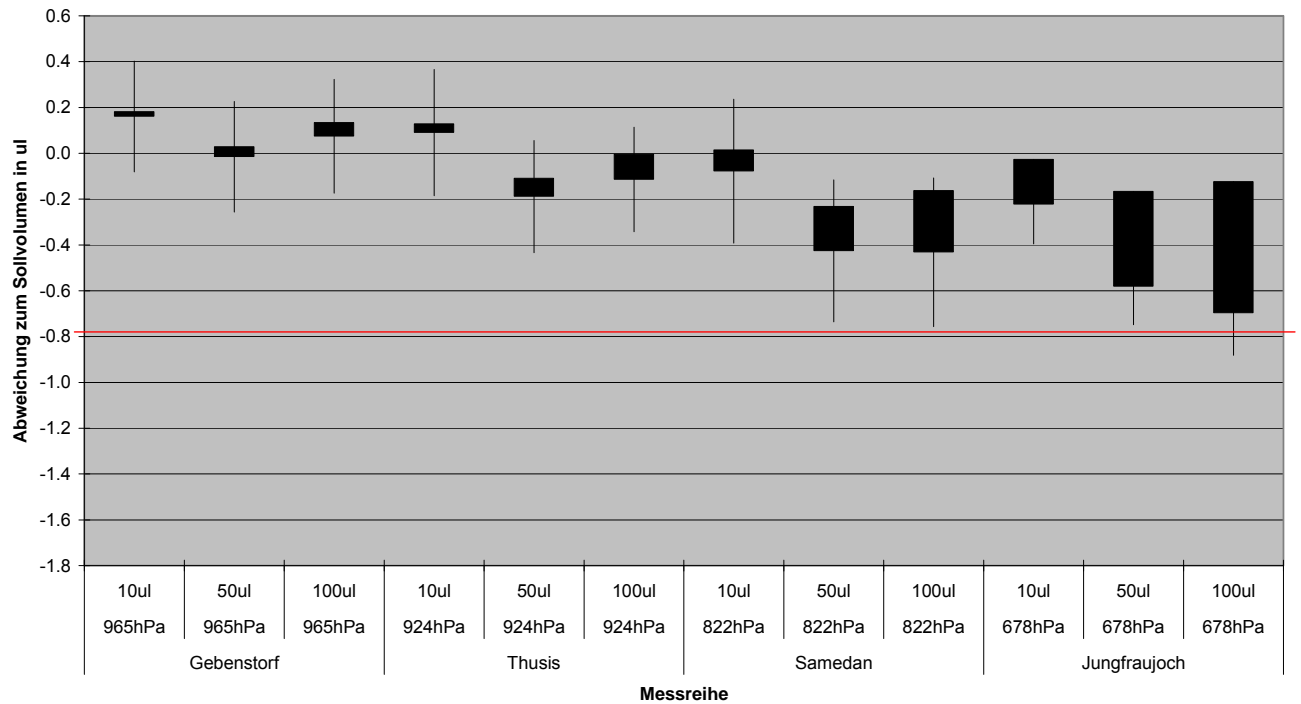


Abbildung 8

SpaH_07 100... 1000ul elektronisch

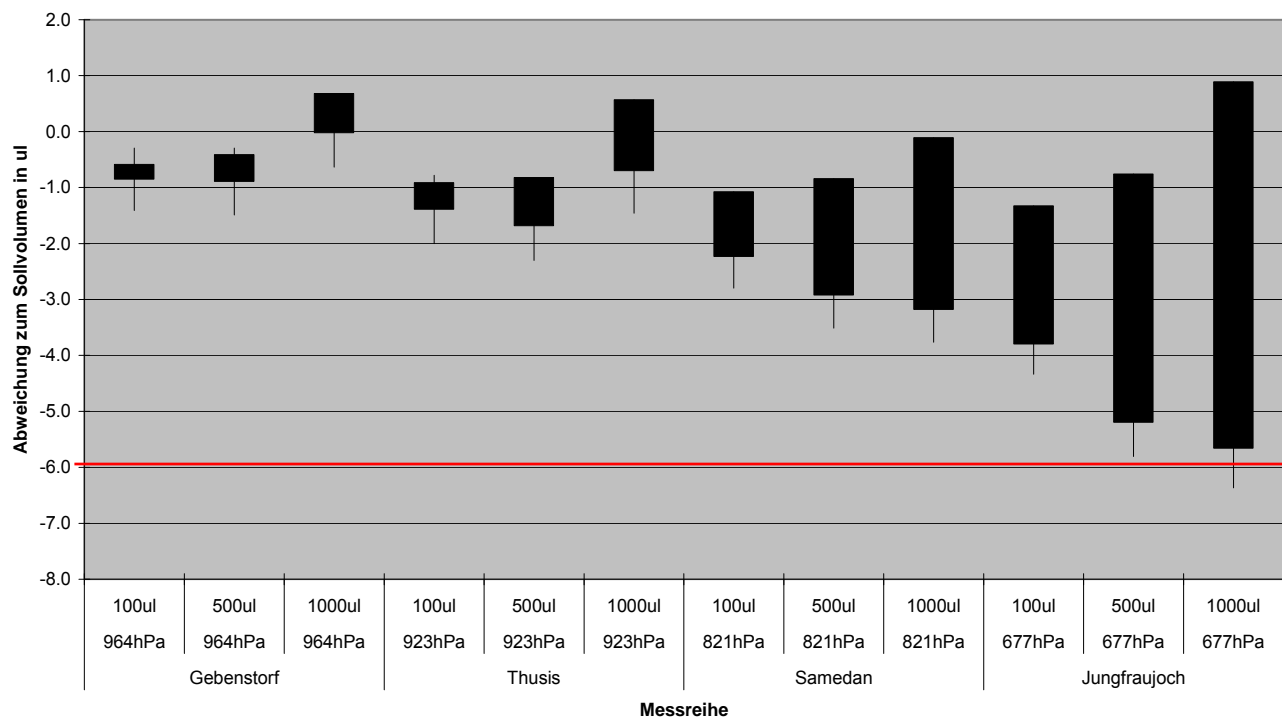


Abbildung 9

SpaH_04 1... 10 ml manuell

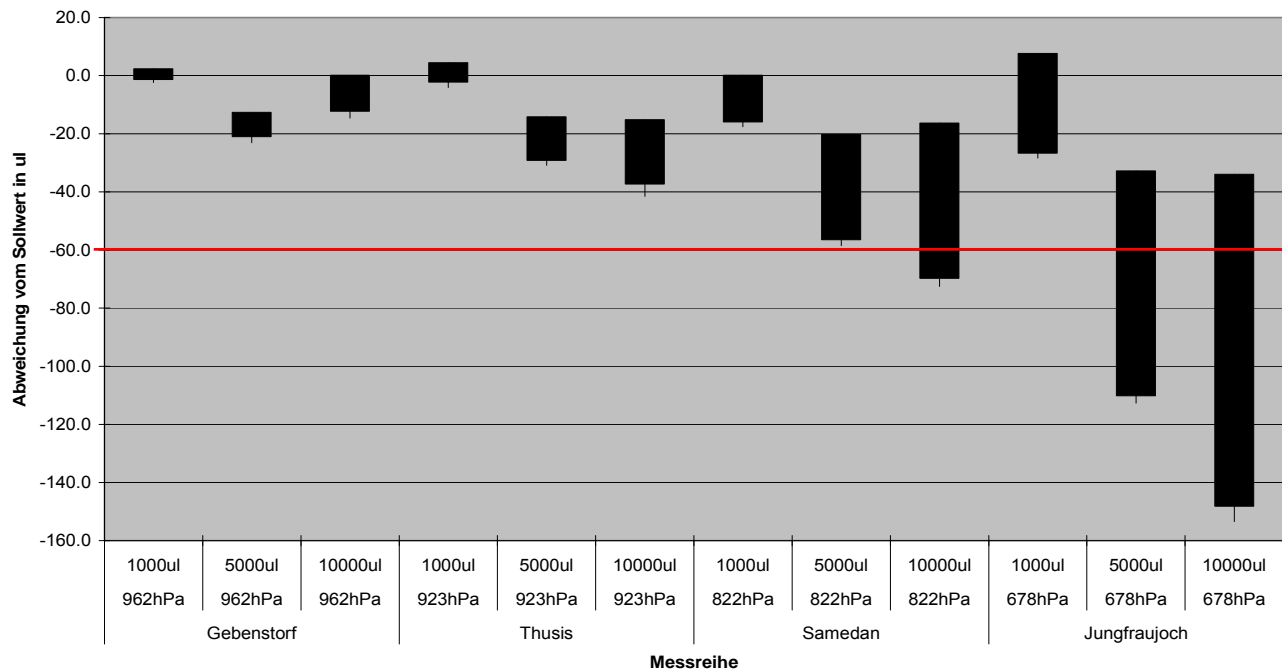


Abbildung 10

9. Zusammenfassung

- Die Höhe über Meer des Messortes beeinflusst das Messergebnis wesentlich. Ist eine Pipette bei 1013 hPa korrekt einjustiert ($V_{20} = V_s$), wird die gleiche Pipette bei einem Luftdruck von ca. 850hPa (ca. 1500müM) ein effektives Volumen abgeben, welches nahe der Untergrenze der zulässigen systematischen Abweichung gemäss ISO8655 liegt.
- Kolbenhubpipetten mit Luftpolster sollten am vorgesehenen Einsatzort justiert und kalibriert werden.
- Elektronische Pipetten können den Korrekturfaktor so einsetzen, dass die Pipette je nach Luftdruck oder die Höhe über Meer den Fehler ausgleicht. Der Benutzer muss dazu den Luftdruck oder die Höhe über Meer einprogrammieren.
- Für Vergleichsmessungen kann der ermittelte Messwert korrigiert werden, es müssen jedoch das genaue Totvolumen und die Steighöhe bekannt sein. Diese zwei Werte müssen im Messunsicherheitsbudget berücksichtigt werden.

10. Danksagung

Nachfolgende Personen und Institutionen haben die Studie durch Ratschläge und Kontrollen wesentlich unterstützt:

Rainer Feldmann, BRAND GMBH + CO KG, D-97877 Wertheim, Deutschland
Karl Heinz Lochner, Fraunhofer-Institut für Silicatforschung ISC, Aussenstelle Bronnbach, D-89877 Wertheim, Deutschland
Barbara Werner, Zentrum für Messen und Kalibrieren GmbH, D-06766 Bitterfeld-Wolfen, Deutschland
Uwe Dunker und Michael Bremer, Eppendorf AG, D-22339 Hamburg, Deutschland

Nachfolgende Organisationen haben die Studie ermöglicht, indem sie die Infrastruktur für das Messlabor zur Verfügung stellten:

Spaelti-TS AG, Wiesenstrasse 13, CH-5412 Gebenstorf, Schweiz
Krankenhaus Thusis, Alte Strasse 37, CH-7430 Thusis, Schweiz
Spital Oberengadin, Via Nuova 3, CH-7503 Samedan, Schweiz
High Altitude Research Stations Junfraujoch und Gornergrat, Siedlerstrasse 5, CH-3012 Bern, Schweiz

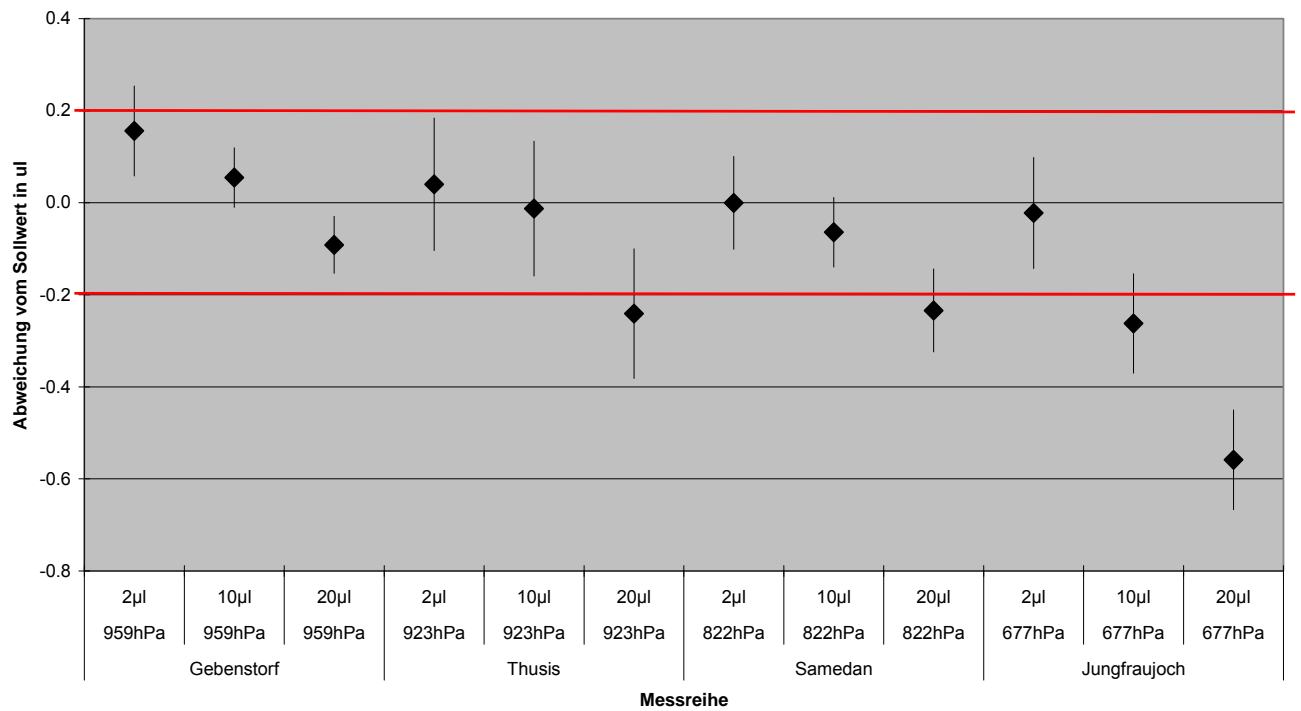
11. Anhänge / Referenzen

Anhang 1: Messresultate der einzelnen Messungen in Diagrammform (12 Diagramme)

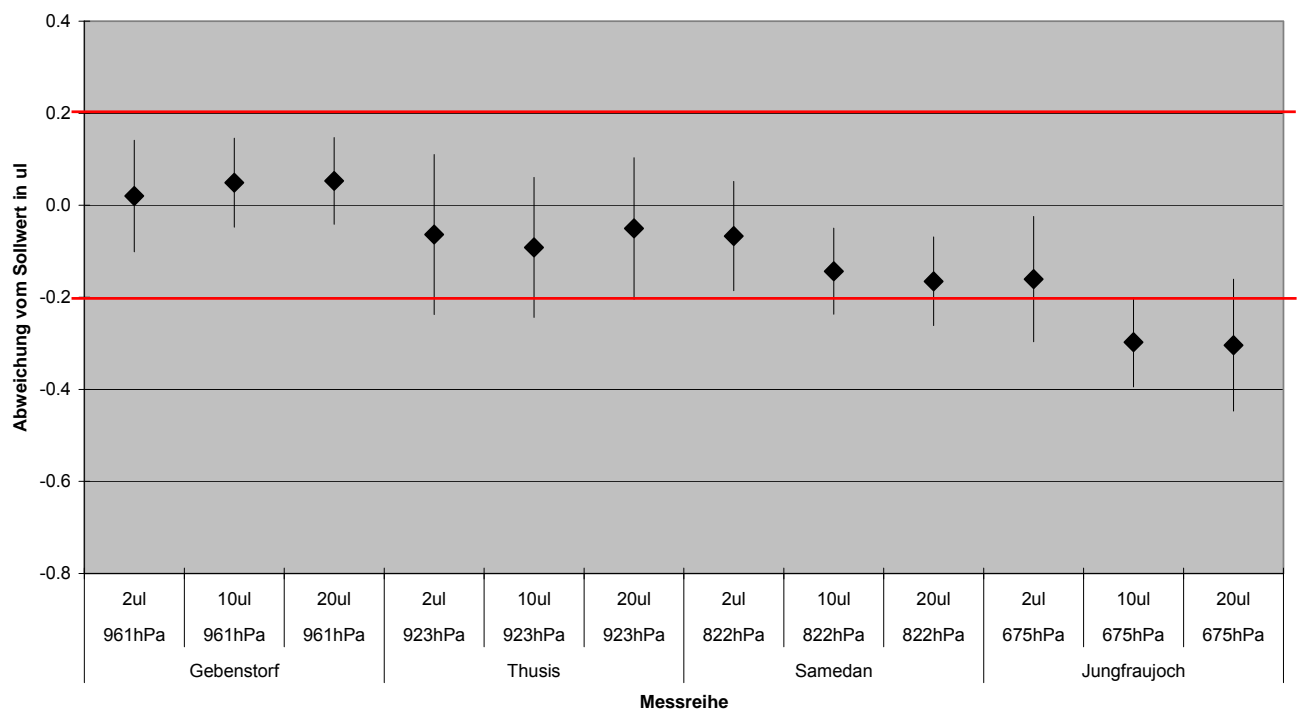
- [1] ISO 8655:2002; Piston operated volumetric apparatus
[2] Richtlinie DKD-R 8-1; Kalibrierung von Kolbenhubpipetten

Anhang 1:
Messergebnisse

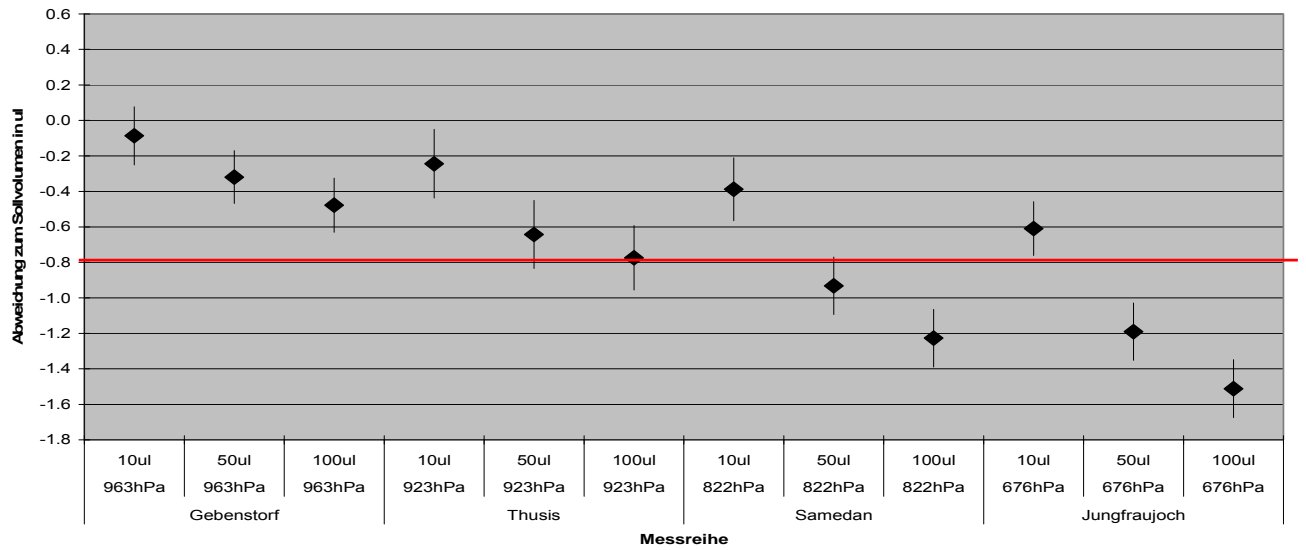
SpaH_01 2... 20ul (Kristallspitzen) manuell



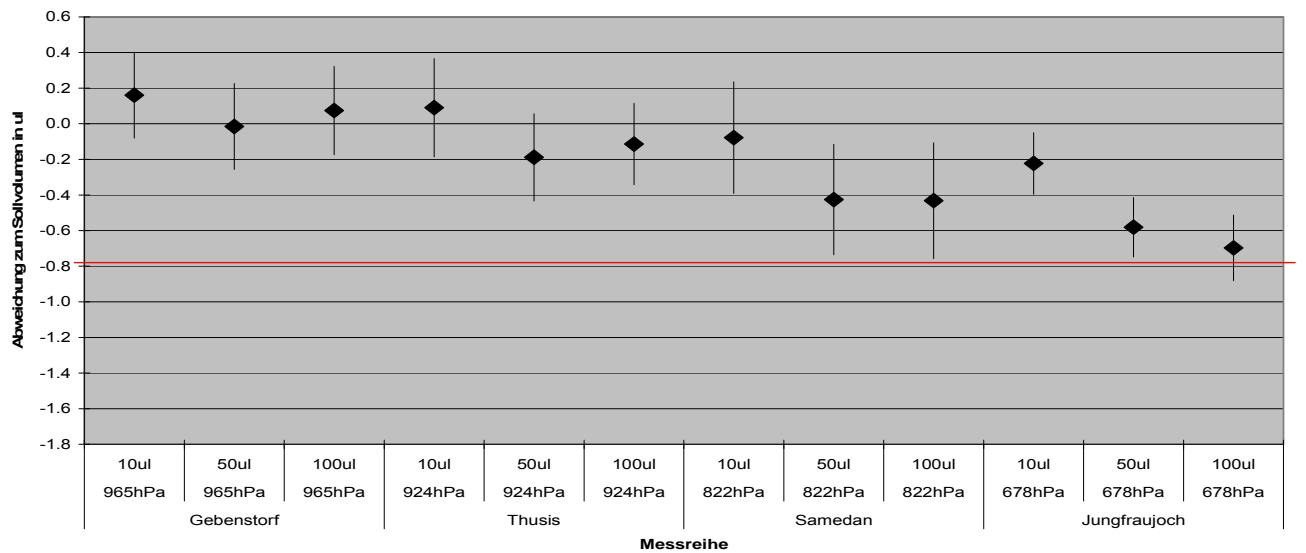
SpaH_02 2... 20ul (gelbe Spitzen) manuell



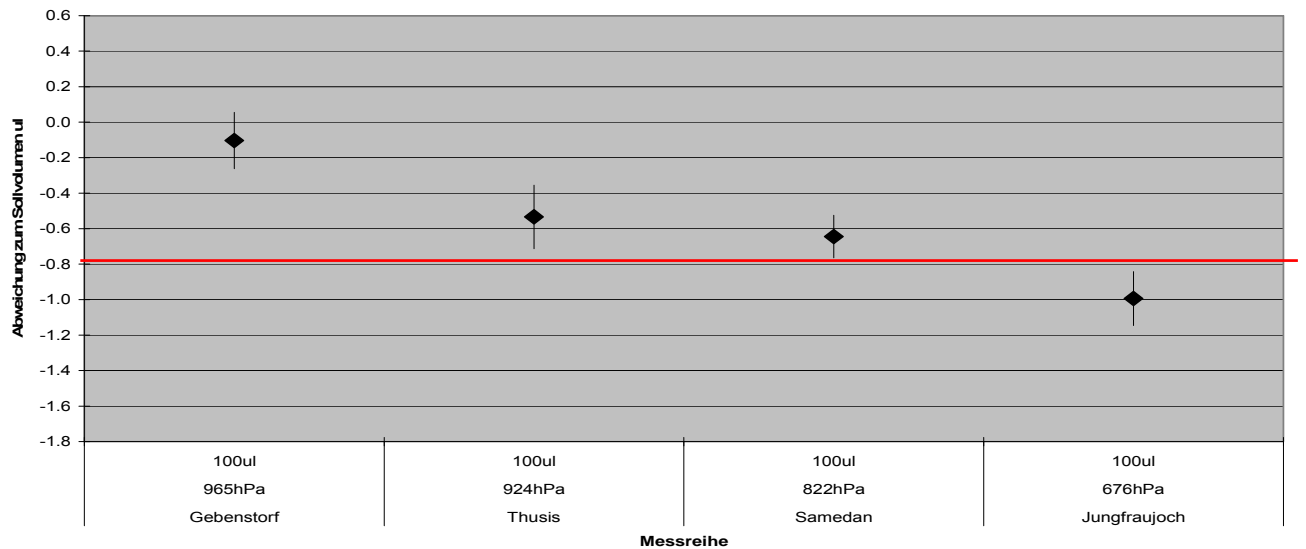
SpaH_06 10... 100ul manuell



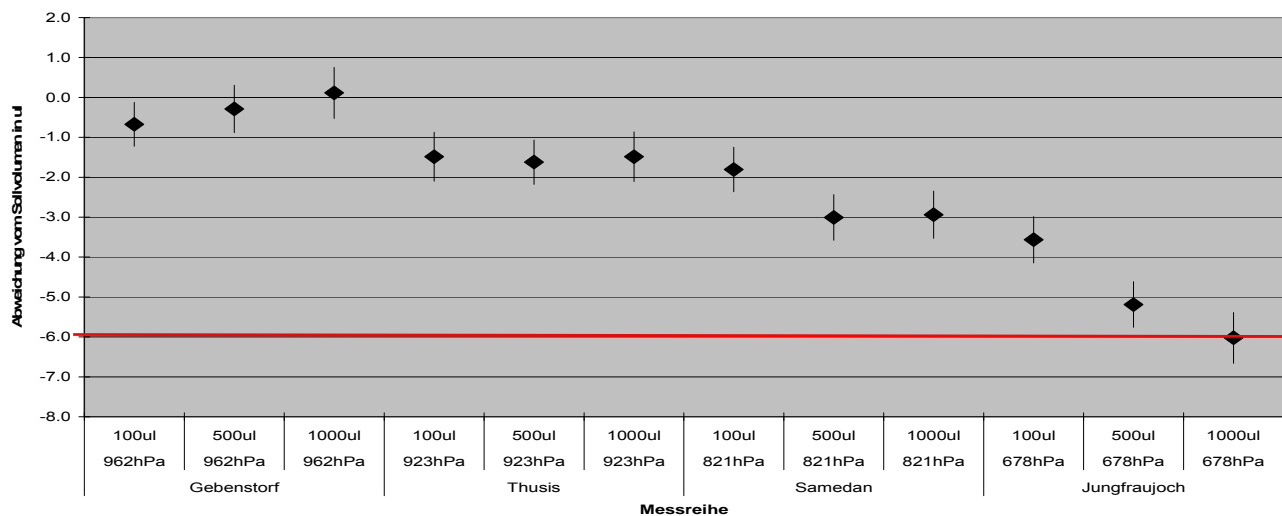
SpaH_11 10... 100ul manuell



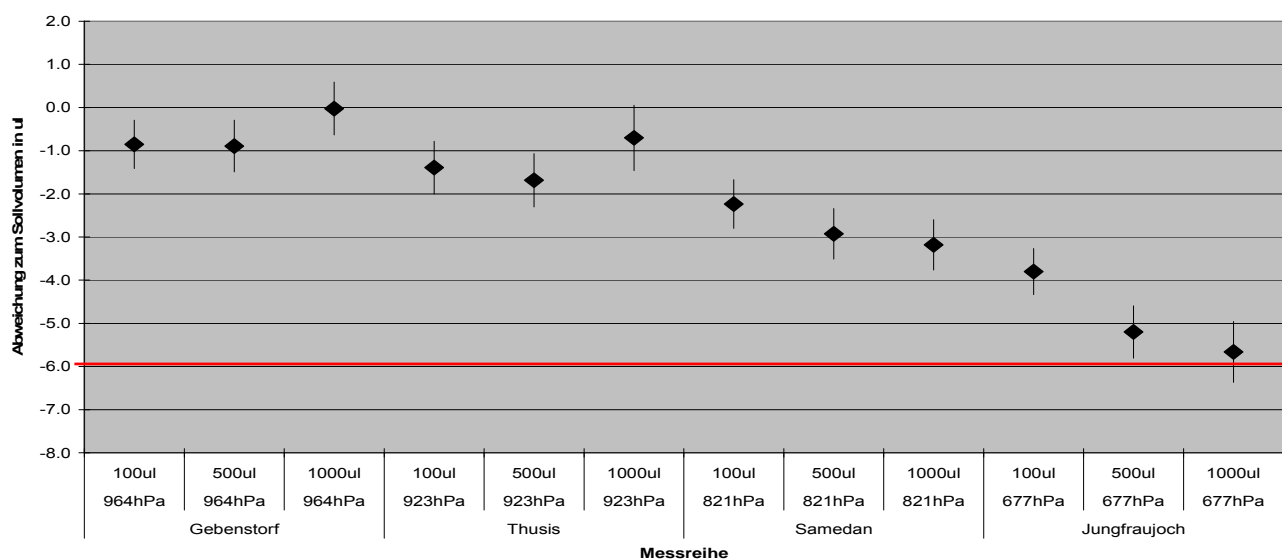
SpaH_12 100ul fix



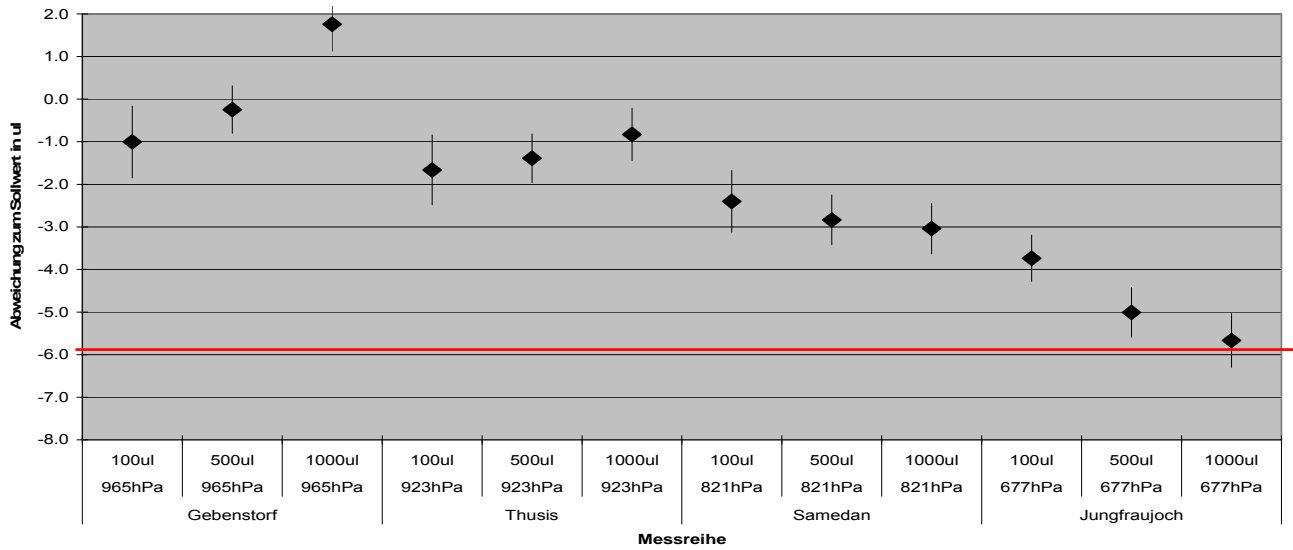
SpaH_03 100... 1000ul elektronisch



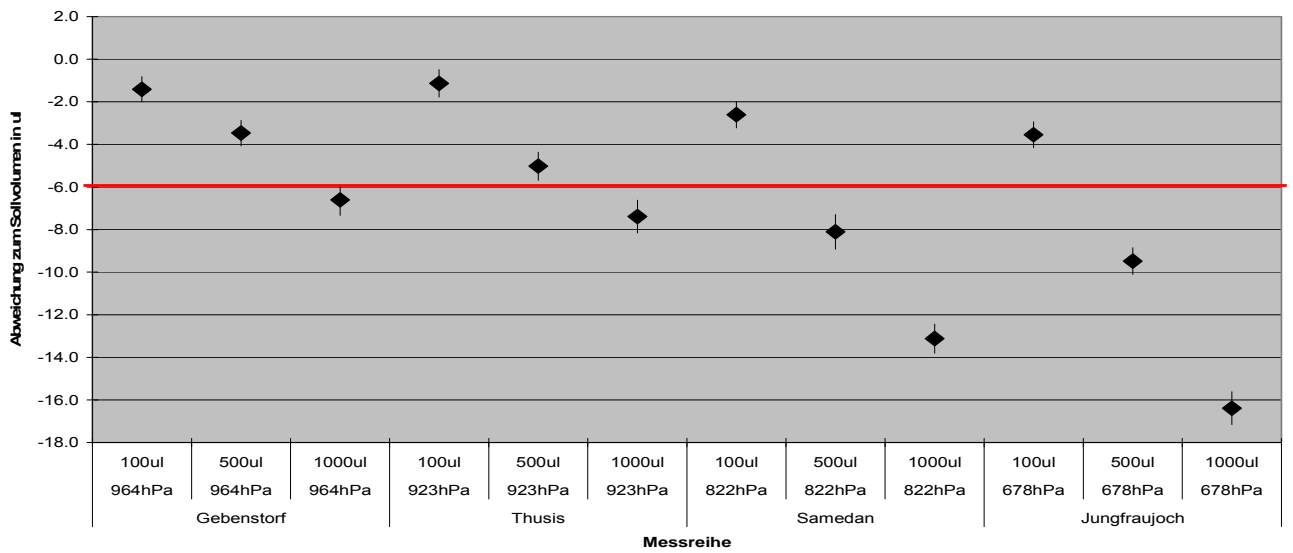
SpaH_07 100... 1000ul elektronisch



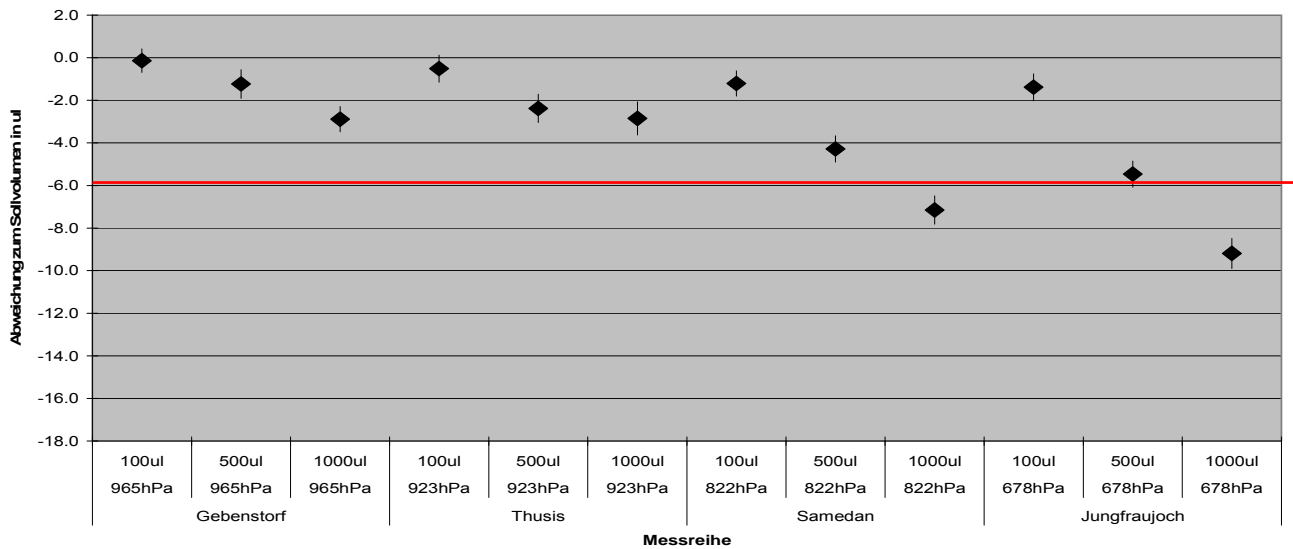
SpaH_08 100... 1000ul elektronisch



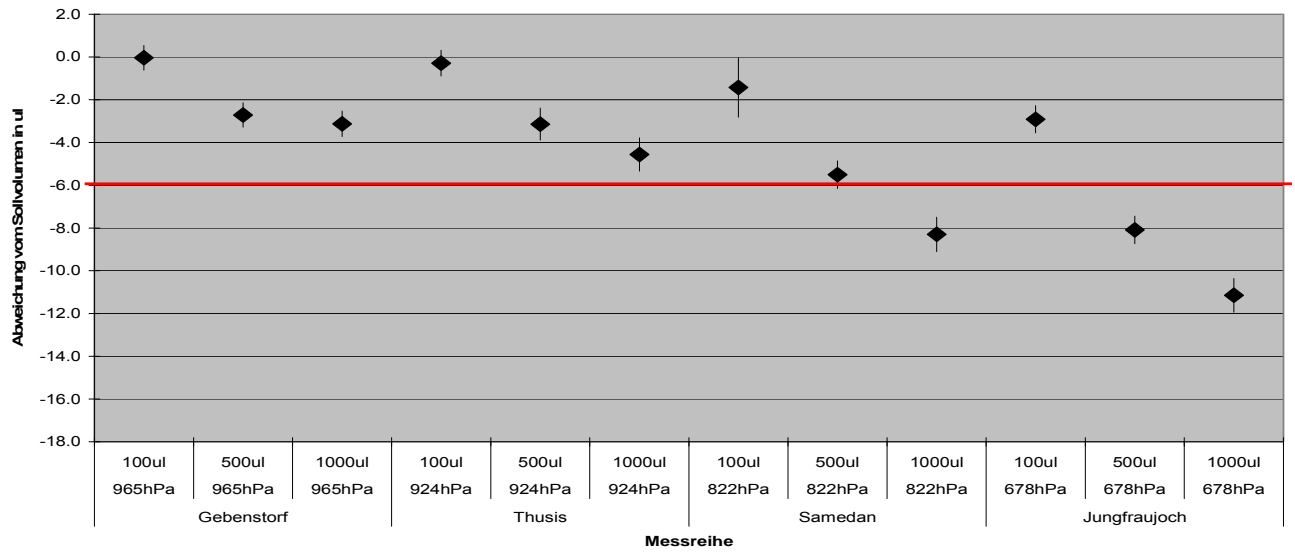
SpaH_05 100... 1000ul manuell



SpaH_09 100... 1000ul manuell



SpaH_10 100... 1000ul manuell



SpaH_04 1... 10 ml manuell

