

Physikalisch- Technische Bundesanstalt



DKD

**Expertenbericht Experimentelle Studie zur Kalibrierung
DKD-E 8-1 von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster**

Dr. Barbara Werner, Dr. Ulrich Breuel,
Dipl.-Math. Nadine Schiering,
Dr.-Ing. Olaf Schnelle-Werner, Lars Hallbauer

Ausgabe 09/2013

Herausgegeben vom Deutschen Kalibrierdienst (DKD) unter der Schirmherrschaft der Physikalisch-Technischen Bundesanstalt (PTB).

Copyright © 2013 by DKD

Das Werk einschließlich aller seiner Teile ist urheberrechtlich geschützt. Jede Verwertung außerhalb der engen Grenzen des Urheberrechtsgesetzes ist ohne Zustimmung unzulässig und strafbar. Das gilt insbesondere für Vervielfältigungen und Übersetzungen.

Deutscher Kalibrierdienst (DKD)

Im DKD waren 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 den 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 der Akkreditierungsstelle 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.

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.

Veröffentlichungen: siehe Internet

Kontakt:

Deutscher Kalibrierdienst (DKD)
unter Schirmherrschaft der Physikalisch-Technischen Bundesanstalt (PTB)
Geschäftsstelle in der PTB
Bundesallee 100 38116 Braunschweig
Postfach 33 45 38023 Braunschweig
Telefon Sekretariat: (05 31) 5 92-83 06
Internet: www.dkd.eu

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Vorwort	4
Kurzfassung	5
1. Einleitung	6
2. Vorbereitung und Durchführung der Pilotstudie	7
3. Allgemeine Grundlagen und Anforderungen	9
4. Auswertung der Ergebnisse der Pilotstudie	12
5. Einflüsse auf das Messunsicherheitsbudget	17
6. Zusammenfassung	24
Danksagung	24
Literatur	25

Vorwort

DKD-Expertenberichte verfolgen das Ziel Hintergrundinformationen und Hinweise zu geben, die im Zusammenhang mit anderen DKD-Dokumenten stehen, wie z. B. den DKD-Richtlinien, und spezielle Aspekte eingehender behandeln. Sie ersetzen die originären DKD-Dokumente nicht, geben jedoch zahlreiche wissenswerte Zusatzinformationen. In den Expertenberichten wird die Sichtweise der Autoren wiedergegeben, die nicht notwendigerweise in allen Details der Sichtweise des Vorstands oder der Fachausschüsse des DKD entsprechen muss.

Die DKD-Expertenberichte sollen wesentliche Aspekte aus dem Bereich des Kalibrierwesens darstellen und durch die Publikation im Rahmen des DKD der großen Gemeinschaft der Kalibrierlaboratorien national und international zugänglich gemacht werden.

Der vorliegende DKD-Expertenbericht wurde vom Vorstand des DKD im September 2012 genehmigt.

Dr. Barbara Werner, ZMK -ANALYTIK- GmbH Sachsen Anhalt / ZMK -ANALYTIK- GmbH
(D-K-15186-01-00) Ortsteil Wolfen, P-D ChemiePark Bitterfeld-Wolfen, Areal A,
Filmstraße 7,06766 Bitterfeld-Wolfen

Dr. Ulrich Breuel, ZMK -ANALYTIK- GmbH, wie oben

Dipl.-Math. Nadine Schiering, ZMK GmbH Sachsen-Anhalt, wie oben

Dr.-Ing. Olaf Schnelle-Werner, ZMK -ANALYTIK- GmbH, wie oben

Lars Hallbauer, ZMK -ANALYTIK- GmbH, wie oben

Kurzfassung

Im Rahmen einer internationalen Pilotstudie zum Thema „Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster“ wurden die Einflüsse auf die Messunsicherheitsbudgets umfassend untersucht. Die Pilotstudie wurde als Ringvergleich mit insgesamt 12 teilnehmenden, nach ISO/IEC 17025:2005 [1] akkreditierten Kalibrierlaboratorien, und einem Nationalen Metrologischen Institut durchgeführt. Als Kalibriergegenstände wurden Kolbenhubpipetten unterschiedlicher Hersteller verwendet.

Ausgehend von den umfangreichen Kalibrierergebnissen wurden statistische Methoden zur Bestimmung des Referenzwertes und der zugeordneten Messunsicherheiten angewandt.

Die gewählte Methode der Festlegung des Referenzwertes als Mittelwert der Messergebnisse war die Grundlage der Vergleichbarkeit der Messergebnisse der Teilnehmer. Die als Messunsicherheit des Referenzwertes verwendete Standardabweichung lag innerhalb der Toleranzgrenzen nach Norm DIN EN ISO 8655 [2] und der unterschiedlichen Herstellerspezifikationen.

Die Auswertung der Messergebnisse führte zu einer genaueren Abschätzung bisher bekannter Messunsicherheitsbeiträge sowie zur Identifizierung neuer Beiträge des Messunsicherheitsbudgets.

Daraus abgeleitet wurden die Kalibrierverfahren und die Messbedingungen präzisiert bzw. festgelegt, um die Vergleichbarkeit national und international sicherzustellen.

Die Ergebnisse sind Bestandteil der neu erarbeiteten DKD-Richtlinie DKD-R 8-1 [3] für die Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster.

1. Einleitung

Die Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster wurde bisher nach dem gravimetrischen Verfahren in Anlehnung an die DIN EN ISO 8655 für Ein- und Mehrkanalkolbenhubpipetten mit Luftpolster durchgeführt.

Dieses Kalibrierverfahren ist national und international nach DIN EN ISO/IEC 17025:2005 durch Akkreditierungsbehörden bestätigt.

Aufgrund unterschiedlicher Betrachtungsweisen der Einflüsse auf das Messergebnis und damit auf die dazugehörigen Messunsicherheiten, konnte nur teilweise eine Vergleichbarkeit der Messergebnisse gewährleistet werden.

Des Weiteren haben der konstruktive Aufbau der Kolbenhubpipetten, die verwendeten Messgeräte, die Umgebungsbedingungen, der geographische Standort während des Messens und die Tätigkeiten der Operatoren einen wesentlichen Einfluss auf die Messergebnisse und müssen berücksichtigt werden.

Das Ziel der Sicherung national und international vergleichbarer Messergebnisse ist eine entscheidende Grundlage für das richtige und relevante Messen. Das bildet auch die Voraussetzung für die Akkreditierung nach DIN EN ISO/IEC 17025:2005. Um diesem Anspruch Rechnung zu tragen, wurde im DKD-Fachunterausschuss Volumen / Dichte festgelegt, eine Pilotstudie in Form eines Ringvergleiches für die „Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster“ durchzuführen.

Alle zum Zeitpunkt des Beginns der Studie 2009 akkreditierten Kalibrierlaboratorien aus Deutschland (DKD/DAkkS) und der Schweiz (SCS) erklärten sich zu einer Teilnahme bereit. Die Sicherung der Vergleichbarkeit von Messgrößen und Verfahren hat auch für die Messgröße Volumen nicht nur national, sondern auch international eine große Bedeutung.

An der Pilotstudie haben deshalb auch das Nationale Metrologische Institut Thailands (NIMT) und ein durch die amerikanische Akkreditierungsstelle PJLA nach ISO/IEC 17025:2005 akkreditiertes Kalibrierlaboratorium aus den USA teilgenommen.

Mit der Aufgabe des Pilotlaboratoriums wurde der DKD-K-06901 der ZMK -ANALYTIK-GmbH vom Fachunterausschuss beauftragt.

Im Ergebnis der Pilotstudie sollte der Nachweis erbracht werden, welche Einflüsse signifikant die Messergebnisse und die Messunsicherheiten während der Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster beeinflussen.

2. Vorbereitung und Durchführung der Pilotstudie

Im Fachunterausschuss Volumen / Dichte wurde von den Teilnehmern ein messtechnisches Konzept abgestimmt, in dem die jahrelangen Erfahrungen der Hersteller und Kalibrierdienstleister berücksichtigt wurden. Die teilnehmenden Hersteller von Kolbenhubpipetten erklärten sich bereit, unterschiedliche Kolbenhubpipetten einschließlich Pipettenspitzen bereitzustellen.

2.1 Auswahl der Kalibriergegenstände

Für die Durchführung der Pilotstudie wurde festgelegt, dass ausschließlich Kolbenhubpipetten mit Luftpolster in der ersten Phase getestet werden.

Da bei der Kalibrierung von Kolbenhubpipetten dem Luftpolster eine besondere Bedeutung zukommt, wurden diese für den Ringvergleich ausgewählt.

Zum Nachweis der allgemeinen Gültigkeit der gewonnenen Erkenntnisse wurden Kolbenhubpipetten unterschiedlicher Hersteller als Kalibriergegenstände eingesetzt:

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

Damit standen Ansprechpartner für den Fall von Unsicherheiten in Bezug auf die Funktion der Geräte zur Verfügung. Es wurden ausschließlich Originalspitzen des jeweiligen Herstellers zur Kalibrierung verwendet. Tabelle 1 gibt einen Überblick über die in der Pilotstudie verwendeten Kolbenhubpipetten.

Tabelle 1: Kalibriergegenstände

Typ	Hersteller	Anzahl der Kanäle	Messbereich
LTS Pipet-lite FL 1000	Rainin	1	1000 µl
Transferpette® S (fix)	BRAND	1	1000 µl
Reference 4900 2500 (fix)	Eppendorf	1	2500 µl
Finnpipette Digital	Thermo Electron	1	10 µl - 100 µl
MCP LTS L-8x200	Rainin	8	20 µl - 200 µl
Transferpette® S 8-Kanal (variabel)	BRAND	8	20 µl - 200 µl
Finnpipette Digital MCP 8	Thermo Electron	8	50 µl - 300 µl

2.2 Festlegungen für die Durchführung und Dokumentation der Ergebnisse

Es wurde vereinbart, dass die Kalibrierungen nach dem gravimetrischen Verfahren entsprechend DIN EN ISO 8655 durchgeführt werden, für das alle teilnehmenden Kalibrierlaboratorien akkreditiert waren. Während der gesamten Laufzeit der Pilotstudie durfte von keinem der teilnehmenden Laboratorien eine Justierung der Kolbenhubpipetten durchgeführt werden.

Die Kalibrierung sollte entsprechend der jeweils akkreditierten Kalibrierverfahren durchgeführt werden.

Die Kolbenhubpipetten sollten, wenn möglich, in jedem Laboratorium von unterschiedlichen Mitarbeitern kalibriert werden, um Messwerte unterschiedlicher Personen für eine Auswertung nutzen zu können.

Zur Dokumentation der Messergebnisse wurden von den Teilnehmern folgende Dokumente an das Pilotlaboratorium übergeben:

- Kalibrierscheine (ILAC-MRA)
- Kalibrier- / Prüfprotokolle

Daneben wurden folgende zusätzliche Informationen für die Auswertung zur Verfügung gestellt (falls nicht im Kalibrierschein enthalten):

- Angaben zur Normalmesstechnik / Wägetechnik
- Umgebungsbedingungen (Temperatur, relative Luftfeuchte, Luftdruck)
- Angabe der Wassertemperatur
- Höhenlage des Kalibrierlaboratoriums
- wichtige Beobachtungen während der Kalibrierung

2.3 Durchführung als Ringvergleich

Die Durchführung der experimentellen Studie entsprach den Anforderungen der Norm DIN EN ISO/IEC 17043:2010 [4] für Anbieter von Eignungsprüfungen. Alle verbindlichen Festlegungen wurden in einer Aufgabenbeschreibung dokumentiert, die den Teilnehmern zuerst als Entwurf zugesendet wurde. Damit erhielten diese die Möglichkeit, den Ablauf mitzubestimmen und Änderungsvorschläge einzubringen.

Die prinzipielle Vorgehensweise eines Ringvergleichs gemäß DIN EN ISO/IEC 17043:2010 ist in Bild 1 dargestellt.

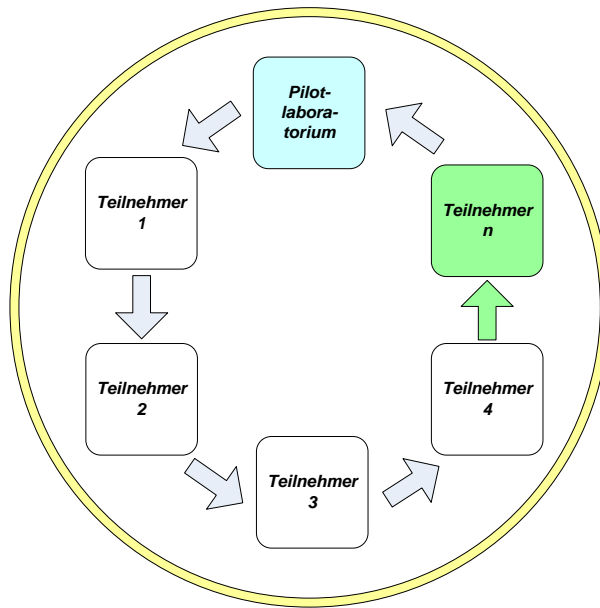


Bild 1: Durchführung eines Ringvergleiches gemäß DIN EN ISO/IEC 17043:2010

Die Eingangskalibrierung der Kolbenhubpipetten erfolgte im Pilotlaboratorium. Danach wurden die Kalibriergegenstände von einem teilnehmenden Kalibrierlaboratorium zum nächsten geschickt. Eine abschließende Kalibrierung (Rückmessung) fand wiederum im Pilotlaboratorium statt.

Die Festlegung des Referenzwertes für die einzelnen Kolbenhubpipetten sollte nach Vorliegen der Untersuchungsergebnisse von der Arbeitsgruppe gemeinsam getroffen werden.

3. Allgemeine Grundlagen und Anforderungen

3.1 Begriffsbestimmungen

Kalibrierschein:

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

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

Die nachfolgend aufgeführten Begriffe sind 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 Nutzvolumens ist stets das Nennvolumen. Soweit vom Anbieter nicht anderweitig festgelegt, beträgt die Untergrenze ca. 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 nach oben wird durch den ersten Anschlag des Kolbens in der Pipette bestimmt.

3.2 Mitgeltende Normen und Regelwerke

DIN EN ISO 8655 Teil 1, 2, 6	Volumenmessgeräte mit Hubkolben, 2002
ISO/TR 20461	Determination of uncertainty for volume measurements made using the gravimetric method, November 2000 und ISO/TR 20461 Technical Corrigendum 1, Dezember 2008
JCGM 100: 2008	Evaluation of measurement data – Guide to the expression of uncertainty in measurement, September 2008
EURAMET/cg-18 Version 3.0	Guidelines on the Calibration of Non-Automatic Weighing Instruments, März 2011
EURAMET/cg-19 Version 2.1	Guidelines on the determination of uncertainty in gravimetric volume calibration, März 2012
DIN ISO 3696	Wasser für analytische Zwecke, Juni 1991
DAkKS-DKD-3	Angabe der Messunsicherheit bei Kalibrierungen, 2010

3.3 Abkürzungen und Formelzeichen

Tabelle 2: Abkürzungen und Formelzeichen

Abkürzungen / Formelzeichen	Erläuterung
a_0 bis a_4	Konstanten (ITS-90 Temperaturskala) für die Berechnung der Wasserdichte
c	Sensitivitätskoeffizient
s	Zufällige Messabweichung
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
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 ($k=2$; Wert der Messgröße mit einer Wahrscheinlichkeit von 95% im zugeordneten Werteintervall)

V_0	Nennvolumen
V_S	Gewähltes Volumen
V_{20}	Volumen bei der Bezugstemperatur von 20 °C
V_T	Volumen des Luftpolsters (Totvolumen)
x_i	Messwert eines Teilnehmers
X_{Ref}	Referenzwert
Z	Korrekturfaktor, der den Zusammenhang zwischen der bei der Wägung ermittelten Masse und dem Volumen beschreibt
ρ_L	Luftdichte
ρ_W	Dichte des als Prüfflüssigkeit verwendeten Wassers
ρ_G	Dichte der zur Kalibrierung der Waage verwendeten Standardgewichtstücke (entspricht 8000 kg/m ³)
ϕ	Relative Luftfeuchte
γ	Kubischer Ausdehnungskoeffizient des Materials, aus dem die Kolbenhubpipette hergestellt ist

3.4 Einheiten

Tabelle 3: Einheiten

Einheiten	Erläuterung
μl	Mikroliter
ml	Milliliter
g	Gramm
mg	Milligramm
K	Kelvin
°C	Grad Celsius
hPa	Hektopascal
%	Prozent relative Feuchte
g/cm ³	Gramm pro Kubikzentimeter
$\mu\text{l}/\text{mg}$	Mikroliter pro Milligramm

4. Auswertung der Ergebnisse der Pilotstudie

4.1 Grafische Darstellung der Messergebnisse

Die Messungen im Rahmen der Pilotstudie wurden von 06/2009 bis 09/2010 durchgeführt. Der vorgegebene Zeitplan sowie die Vorgaben zur Dokumentation der Ergebnisse wurden eingehalten.

Aufgrund der hohen Teilnehmerzahl an akkreditierten Kalibrierlaboratorien stand ein sehr umfangreicher Datenpool zur Verfügung, so dass signifikante Einflüsse ermittelt werden konnten. Diese umfangreiche Datensammlung wurde tabellarisch erfasst. Danach erfolgte eine grafische Darstellung der Messergebnisse mit den dazugehörigen erweiterten Messunsicherheiten ($k=2$).

Ausgewählte Beispiele dafür sind in den Bildern 2, 3 und 4 für verschiedene Kolbenhubpipetten grafisch dargestellt. In der grafischen Auswertung wurden die Toleranzgrenzen der DIN EN ISO 8655 sowie die Spezifikationen der Hersteller berücksichtigt.

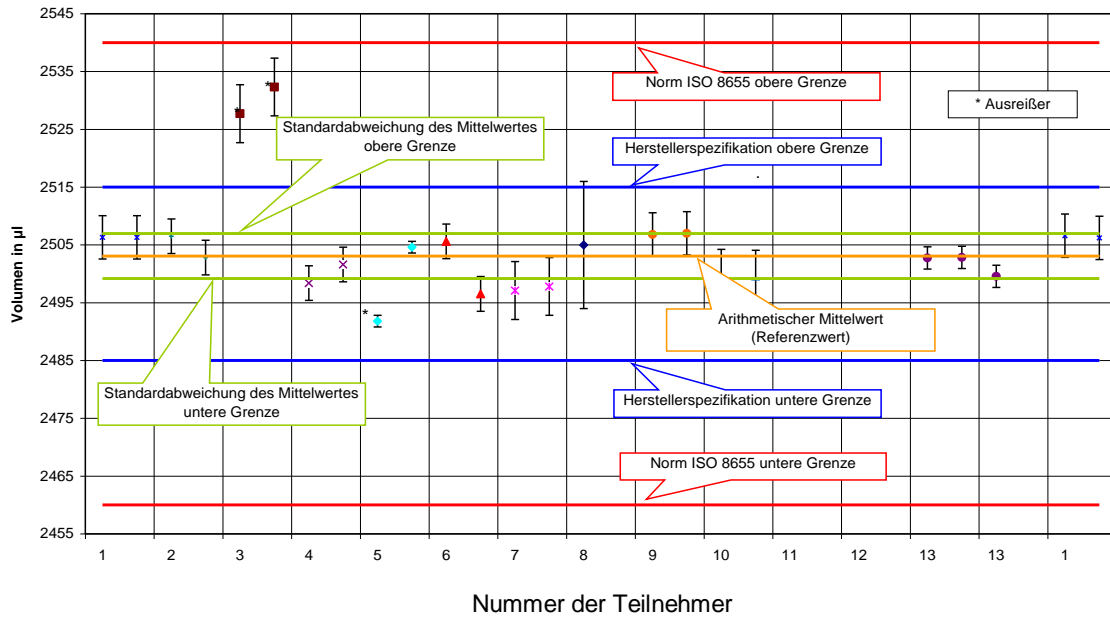


Bild 2: Grafische Darstellung der Messergebnisse für eine Einkanalkolbenhubpipette mit festem Volumen (Eppendorf Reference 2500 µl)

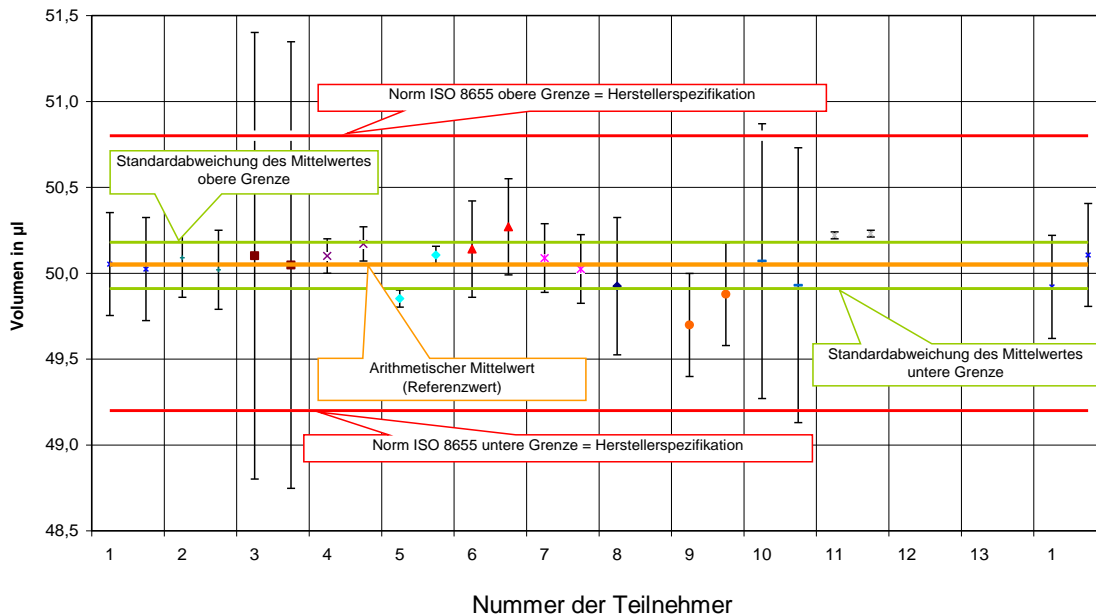


Bild 3: Grafische Darstellung der Messergebnisse für eine Einkanalkolbenhubpipette mit variablem Volumen (Finnpipette Digital 10 µl - 100 µl; Prüfvolumen 50 µl)

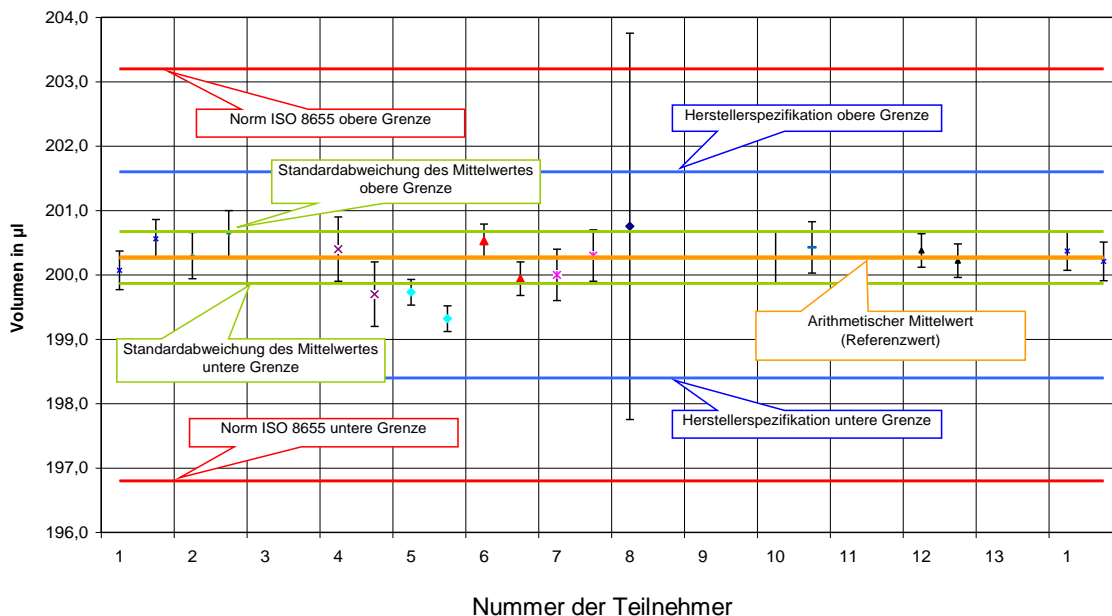


Bild 4: Grafische Darstellung der Messergebnisse für eine Mehrkanalkolbenhubpipette mit variablem Volumen (Transferpipette S 20 µl - 200 µl; Kanal 1; Prüfvolumen 200 µl)

4.2 Ermittlung des Referenzwertes und dessen Messunsicherheit

Im Folgenden soll dargestellt werden, wie die Ermittlung des Referenzwertes und dessen Messunsicherheit erfolgte. Die Wahl des Referenzwertes und der Messunsicherheit haben eine große Bedeutung bei der Auswertung von Vergleichsmessungen / Ringvergleichen. Der

Referenzwert ist bestimmend für die Vergleichbarkeit von Messwerten und bildet die Grundlage für das richtige Messen.

Zur Bestimmung des Referenzwertes einer Vergleichsmessung stehen nach DIN ISO 13528:2009 [5] verschiedene Verfahren zur Verfügung. Diese Verfahren sind im Folgenden aufgeführt:

- Mittelwert des Pilotlaboratoriums (Mittelwert aus Eingangskalibrierung, Zwischenmessung wenn vorhanden und Rückmessung)

$$X_{\text{Ref}} = \frac{\sum_{i=1}^n x_{i,\text{Pilot}}}{n} \quad (1)$$

- Mittelwert aus den Messwerten der Teilnehmer

$$X_{\text{Ref}} = \frac{\sum_{i=1}^n x_{i,\text{Lab}}}{n} \quad (2)$$

- Gewichteter Mittelwert aus den Messwerten der Teilnehmer (in Abhängigkeit von der Messunsicherheit)

$$X_{\text{Ref}} = \frac{\sum_{i=1}^n \frac{x_{i,\text{Lab}}}{u_i^2}}{\sum_{i=1}^n \frac{1}{u_i^2}} \quad (3)$$

- Referenzwert aus einem übergeordneten Ringvergleich (Key Comparison oder RMO Comparison)
- Referenzwert wird von einem NMI mit entsprechenden CMC-Einträgen in der BIPM Datenbank für diese Messgröße und entsprechend kleiner Messunsicherheit bereitgestellt

Die Auswahl des Verfahrens zur Bestimmung des Referenzwertes erfolgt in Abhängigkeit von der Messgröße und dem angewendeten Kalibrierverfahren in Abstimmung mit den Teilnehmern einer Vergleichsmessung bevor diese beginnt.

Da für die Kalibrierung von Kolbenhubpipetten kein Primär- bzw. Absolutverfahren zur Verfügung steht, das die direkte Verwendung eines Referenzwertes ermöglicht, wurde für die Pilotstudie der arithmetische Mittelwert (ungewichtet) als Referenzwert aller Teilnehmer und dem Pilotlabor verwendet. Die Wahl dieser Methode wird auch dadurch begründet, dass alle teilnehmenden Laboratorien nach DIN EN ISO/IEC 17025:2005 akkreditiert sind und somit nach demselben Kalibrierverfahren gemäß DIN EN ISO 8655 arbeiten. D.h. die

Vergleichbarkeit der Messergebnisse ist gegeben. Ausgenommen wurden erkennbare Ausreißer.

Im zweiten Schritt wurde nun die Unsicherheit des Referenzwertes bestimmt. Dazu stehen nach DIN ISO 13528 z.B. folgende Verfahren zur Verfügung:

- Wenn jedes einzelne von n teilnehmenden Laboratorien eine Messung x_i des Kalibriergegenstandes zusammen mit der Standardmessunsicherheit der Messung u_i angibt und der Referenzwert X_{Ref} als Mittelwert ermittelt wird, wird die Standardmessunsicherheit des Referenzwertes X_{Ref} wie folgt abgeschätzt:

$$u_{Ref} = \frac{1,25}{n} \cdot \sqrt{\sum_{i=1}^n u_i^2} \quad (4)$$

- Geben die teilnehmenden Laboratorien keine Standardmessunsicherheiten an, ist die Standardmessunsicherheit des Referenzwertes wie folgt abzuschätzen:

$$u_{Ref} = \frac{1,25}{\sqrt{n}} \cdot s \quad (5)$$

wobei s die Standardabweichung der Messergebnisse darstellt.

- Wird der Referenzwert aus dem gewichteten Mittelwert der Messwerte der Teilnehmer berechnet, ergibt sich die Standardunsicherheit des Referenzwertes wie folgt:

$$u_{Ref} = \sqrt{\sum_{i=1}^n \left(\frac{\partial X_{Ref}}{\partial x_{i,Lab}} \right)^2 \cdot u_i^2} \quad (6)$$

Alle Teilnehmer der Pilotstudie haben ihre Messunsicherheit nach der Richtlinie ISO/TR 20461 [6] ermittelt. Jedoch war die quantitative Abschätzung einiger Unsicherheitsbeiträge teilweise zu optimistisch bzw. mit zu großen Sicherheitszuschlägen behaftet. Daraus resultierten die sehr unterschiedlichen Messunsicherheiten der Teilnehmer. Aus diesem Grund wurde zur Auswertung der Pilotstudie die Standardabweichung der Messwerte der Teilnehmer als Unsicherheit für den Referenzwert verwendet.

Wie in den grafischen Auswertungen (Bild 2, 3 und 4) ersichtlich ist, liegen fast alle Messwerte innerhalb der Toleranz des Referenzwertes, d.h. die gewählten Verfahren für die Bestimmung des Referenzwertes (arithmetische Mittelwert) und der zugeordneten Messunsicherheit (Standardabweichung) stimmen gut mit den Messwerten überein.

Festgelegte Referenzwerte für Messverfahren für Vergleichsmessungen / Ringvergleiche sind die Voraussetzung für die messtechnisch richtige Interpretation von ermittelten Datenmengen.

Des Weiteren ist die Standardabweichung ein fachlich vertretbares Maß für angebbare Messunsicherheiten auch für die Kalibrierung von Kolbenhubpipetten, da sie auch innerhalb der Grenzen nach DIN EN ISO 8655 und der enger gefassten Herstellerspezifikation liegen. In der Praxis gewinnt die Einhaltung von Herstellerspezifikation immer mehr an Bedeutung, da diese ein Qualitätskriterium für die Führung der Prozesse der Anwender darstellt.

5. Einflüsse auf das Messunsicherheitsbudget

5.1 Ursache-Wirkungs-Diagramm

Nach Aufbereitung der umfangreichen Messwerte und der grafischen Darstellungen, die im Rahmen der Pilotstudie ermittelt wurden, erfolgte die Auswertung aller Beiträge, die einen Einfluss auf das Messergebnis haben. Die wesentlichen Einflüsse sind im Ursache-Wirkungs-Diagramm dargestellt.

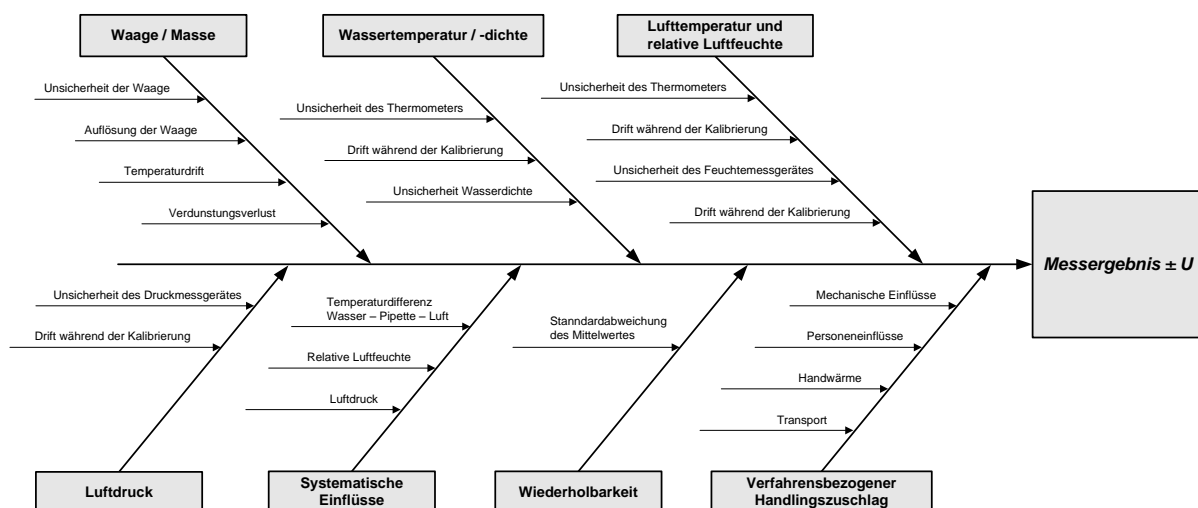


Bild 5: Ursache-Wirkungs-Diagramm für die Kalibrierung von unterschiedlichen Kolbenhubpipetten mit Luftpolster

5.2 Neubewertung von Unsicherheitsbeiträgen

Aus dem Ursache-Wirkungs-Diagramm sind die Messbedingungen bzw. die Unsicherheitsbeiträge ersichtlich, die bei der Erstellung der Messunsicherheitsbudgets berücksichtigt wurden.

Die Messbedingungen bzw. die Unsicherheitsbeiträge wurden neu bewertet und festgelegt:

- Unsicherheitsbeiträge der Waage
- Lufttemperatur und relative Luftfeuchte (Umgebungsbedingungen) / Wassertemperatur
- Wassertemperatur / Dichte des Wassers
- Luftdruck
- Systematische Einflüsse (Einflüsse der Umgebungsbedingungen auf das Luftpolster der Kolbenhubpipette)
- Wiederholbarkeit

Verfahrensbezogener Handlungszuschlag

Die wichtigsten Unsicherheitskomponenten setzen sich wiederum aus Einzelbeiträgen zusammen. Die Messbedingungen und die Unsicherheitsbeiträge wurden im Rahmen der Auswertung der umfangreichen Messwerte präzisiert, neu bewertet und festgelegt.

5.2.1. Unsicherheitsbeiträge der Waage

Der Kalibrierschein (nach EURAMET / cg-18 [7]) bildet die Grundlage für die Berücksichtigung der Messunsicherheit für die verwendete Waage.

Es ist notwendig, die Ablesung / Auflösung der Waage zweimal zu berücksichtigen, da das Verfahren der Trierung beim Wägen angewendet wird.

Der Einfluss der Umgebungsbedingungen (Temperaturdrift) gemäß Herstellerangaben ist ebenfalls zu berücksichtigen.

Das Driftverhalten der Waage durch Alterung bzw. Verschleiß sollte begleitend ständig beobachtet werden und durch Zwischenprüfungen bzw. Rekalibrierung ermittelt werden.

Dieser Einfluss kann aufgrund von Langzeitbeobachtungen zusätzlich berücksichtigt werden.

Da beim Dosiervorgang mit Kolbenhubpipetten offene Flüssigkeitsoberflächen auftreten, sollte ein Beitrag für den Verdunstungsverlust im Messunsicherheitsbudget berücksichtigt werden.

5.2.2 Lufttemperatur und relative Luftfeuchte (Umgebungsbedingungen), Wassertemperatur und Wasserdichte

Lufttemperatur / relative Luftfeuchte

Die Umgebungsbedingungen Lufttemperatur und relative Luftfeuchte werden bei der Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster durch Einhaltung vorgegebener Parameter realisiert. Die Messdaten der Umgebungsbedingungen werden während der Kalibrierung mit kalibrierten Temperatur- und Feuchtesensoren erfasst und dokumentiert.

Die Schwankungen der Lufttemperatur während der Kalibrierung lagen meistens bei (20 bis 23) °C ± 0,5 K.

Die relative Luftfeuchte während der Kalibrierung wurde mit > (50 bis 65) % ± 5% ermittelt.

Im Messunsicherheitsbudget werden sowohl die Schwankungen der Umgebungsbedingungen während der Kalibrierung als auch die Unsicherheit der Messgeräte berücksichtigt.

Qualität des Wassers / Dichte des Wassers

Für die Kalibrierung wird deionisiertes Wasser der Qualität 3 nach DIN ISO 3696 [8] verwendet, deren elektrolytische Leitfähigkeit < 5 µS/cm beträgt. Die Unsicherheit der Berechnung der Wasserdichte wird nach TANAKA [9] mit 10×10^{-6} abgeschätzt, da das genaue Isotopenverhältnis und der Gasgehalt nicht bekannt sind. Die Wasserdichte ist Bestandteil der Berechnung des Volumens der Prüflüssigkeit.

Wassertemperatur / Lufttemperatur

Es ist darauf zu achten, dass sich die Wassertemperatur der Lufttemperatur angleicht, d.h. der Temperaturunterschied zwischen Luft und Wasser ist entscheidend für die Qualität der Messungen mit geringen Standardabweichungen.

Grundsätzlich sollte darauf geachtet werden, dass der Temperaturunterschied zwischen Luft und Wasser sehr klein ist. Es konnte im Ergebnis der Pilotstudie nachgewiesen werden, dass für kleinere Messunsicherheiten (Teilnahme an Ringvergleichen) die Differenz zwischen Luft- und Wassertemperatur < 0,2 K betragen sollte.

Eine Temperaturdifferenz zwischen Luft und Wasser von $\leq 0,5$ K ist jedoch unbedingt einzuhalten, um vergleichbare Messergebnisse zu erhalten.

5.2.3 Luftdruck

Der Luftdruck beeinflusst das Volumen in der Pipette und ist deshalb eine notwendige Messgröße für die Berechnung der Luftdichte und somit des Volumens. Zur Messung des Luftdrucks wird ein Präzisionsbarometer verwendet. Die Schwankungen während der Kalibrierung sollten nicht größer als 1 hPa sein.

Im Messunsicherheitsbudget werden sowohl die Schwankung des Luftdruckes während der Kalibrierung als auch die Unsicherheit des Präzisionsbarometers berücksichtigt.

5.2.4 Betrachtungen der systematischen Einflüsse der Kolbenhubpipetten mit Luftpolster während der Kalibrierung

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

Die Einflüsse der Kolbenhubpipette hängen insbesondere von der Größe des Luftpolsters und von der Steighöhe in der Pipettenspitze ab. Nachfolgend aufgeführte Einflüsse werden daher im Messunsicherheitsbudget berücksichtigt:

- Temperaturdifferenzen zwischen Wasser, Pipette und Luft
- Relative Luftfeuchte
- Luftdruck

Im Zusammenhang mit dem Aufbau des Systems Kolbenhubpipette-Pipettenspitze müssen die Bedingungen erneut betrachtet werden. Diese systematischen Einflüsse von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster wurden in [10] und [11] näher untersucht.

5.2.4.1 Temperaturdifferenzen zwischen Wasser, Pipette und Luft

Die Temperaturdifferenzen zwischen dem Wasser, der Pipette und der Luft im Pipettensystem / Pipettenspitze während der Kalibrierung haben einen großen Einfluss auf das dosierte Volumen.

Diese wichtige Schlussfolgerung aus der Pilotstudie bedeutet, dass durch ein ausreichend langes Angleichen zwischen Wasser - Pipette - Luft eine geringe Temperaturdifferenz gewährleistet werden kann.

5.2.4.2 Relative Luftfeuchte

Die relative Luftfeuchte hat einen zusätzlichen systembezogenen Einfluss auf das Messergebnis, da die Verdunstung der Prüflüssigkeit direkt von der relativen Luftfeuchte der Umgebung abhängt. Bereits während des Ansaugvorganges findet eine Verdunstung der Flüssigkeit statt und schon kleinste verdunstete Flüssigkeitsmengen führen zu einer großen Volumenverdrängung im Luftpolster der Kolbenhubpipetten [10].

Es konnte nachgewiesen werden, dass die relative Luftfeuchte der Umgebung im Bereich von (50 ± 5) % während der Kalibrierung sein sollte.

5.2.4.3 Luftdruck / Höhenlage

Die Auswertung der Pilotstudie hat ergeben, dass die Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster in unterschiedlichen Höhenlagen einen signifikanten Einfluss auf die Messergebnisse hat.

Aus der Thermodynamik ergibt sich, dass in großer Höhenlage das Volumen aufgrund der geringen Luftdichte deutlich abnimmt. Daher sind zur Herstellung der Vergleichbarkeit von Kalibrierergebnissen Korrekturen bzgl. der Höhenlage anzuwenden [6].

Der Einfluss der Höhenlage auf das Volumenergebnis einer Kolbenhubpipette mit Luftpolster wurde dankenswerterweise von Herrn Christoph Spälti, Spaelti-TS AG, experimentell in unterschiedlichen Höhenlagen untersucht [12]. Die Untersuchungen ergaben, dass der ermittelte Messwert auf die gleiche Höhenlage wie das Pilotlabor korrigiert werden kann unter Berücksichtigung der geltenden Messunsicherheiten. Die Gleichung für die Korrektur

des Volumens und die dafür erforderlichen Eingangsgrößen werden in der Veröffentlichung der BRAND GMBH + CO KG und des Fraunhofer-Institutes für Silicatforschung [10] erläutert.

Die Untersuchungsergebnisse zum Einfluss der Höhenlage sind in einer Studie „Einfluss der Höhenlage auf das Volumenergebnis einer Kolbenhubpipette mit Luftpolster“ zusammengefasst dargestellt und sind somit ein wichtiger zusätzlicher Beitrag für die durchgeführte Pilotstudie.

Für die allgemeinen metrologischen Luftdruckschwankungen wird im Messunsicherheitsbudget ein Beitrag von ± 20 hPa berücksichtigt.

Wenn die aufgeführten Bedingungen (Abschnitte 5.2.2, 5.2.3 und 5.2.4) nicht realisiert werden können, müssen die jeweiligen Beiträge entsprechend höher im Messunsicherheitsbudget abgeschätzt werden.

5.2.5 Verfahrensbezogener Handlingszuschlag

Der verfahrensbezogene Handlingszuschlag ist ein neuer Messunsicherheitsbeitrag und resultiert direkt aus der Auswertung der umfangreichen Messerwerte der durchgeführten Pilotstudie. Dieser Beitrag erfasst die auftretenden Fehler während der Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster und wird im Messunsicherheitsbudget mit 0,07 % vom Nennvolumen bei Einkanalkolbenhubpipetten mit festem Volumen und 0,1 % vom Nennvolumen bei Einkanalkolbenhubpipetten mit variablen Volumen sowie Mehrkanalkolbenhubpipetten angesetzt werden.

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

- Kalibrierverfahren, z.B. Vorkonditionierung, Spitzenwechsel u.a.
- Mechanische Einflüsse aufgrund der Bauart des Kalibriergegenstandes
- Personeneinflüsse, z.B. Anpresskraft, Pipettierrhythmus
- Handwärme
- Transport

5.3. Messunsicherheitsbudget

Als Ergebnis des neuen Ansatzes zur Ermittlung der Messunsicherheit bei der Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster ist im Folgenden ein Messunsicherheitsbudget für eine Kolbenhubpipette mit variablem Volumen und einem Nennvolumen von 100 µl dargestellt.

Tabelle 4: Muster-Messunsicherheitsbudget für eine Kolbenhubpipette mit variablem Volumen (Nennvolumen 100 µl)

Größe X_i	Beste Schätzwert x_i	Halbe Weite der Verteilung a	Wahrscheinlichkeits- verteilung $P(x_i)$	Teiler k	Standardmess- unsicherheit $u(x_i)$	Empfindlichkeits- koeffizient c_i	Unsicherheits- beitrag $u_i(y)$
Waage / Masse							
Unsicherheit der Waage	0 mg	25 µg	Normal	2	12,500 µg	0,001 µl/µg	0,0125 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	0,0000 µl
Verdunstungsverlust	0 mg	15 µg	Rechteck	$\sqrt{3}$	8,660 µg	0,001 µl/µg	0,0087 µl
Wassertemperatur / -dichte							
Unsicherheit Thermometer	21,7 °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
Unsicherheit Wasserdichte	997,84 kg/m ³	10 ppm	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,00001 mg/µl	-100 µl ² /mg	-0,0006 µl
Lufttemperatur							
Unsicherheit Thermometer	21,8 °C	0,13 K	Normal	2	0,065 K	0,00045 µl/K	0,0000 µl
Drift während d. Kalibrierung	0 °C	0,2 K	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,115 K	0,00045 µl/K	0,0001 µl
Luftdruck							
Unsicherheit Barometer	1009 hPa	0,05 hPa	Normal	2	0,025 hPa	0,00012 µl/hPa	0,0000 µl
Drift während d. Kalibrierung	0 hPa	1 hPa	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,577 hPa	0,00012 µl/hPa	0,0001 µl
Luftfeuchte							
Unsicherheit Feuchtesensor	53 %	0,6 %	Normal	2	0,300 %	0,00001 µl/%	0,0000 µl
Drift während d. Kalibrierung	0 %	5 %	Rechteck	$\sqrt{3}$	2,887 %	0,00001 µl/%	0,0000 µl
Temp.differenz Medium-Pipette-Luft							
Luftfeuchte	0,0 °C	0,2 K	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,115 K	0,22 µl/K	0,0254 µl
Luftdruck	53 %	5 %	Rechteck	$\sqrt{3}$	2,887 %	0,007 µl/%	0,0202 µl
Luftdruck	1009 hPa	20 hPa	Dreieck	$\sqrt{6}$	8,165 hPa	0,0012 µl/hPa	0,0098 µl
Wiederholbarkeit							
Wiederholbarkeit	0 mg	0,17 µl	Normal	$\sqrt{10}$	0,053 µl	1	0,0527 µl
Verfahrensbezog. Handlingszuschlag							
Verfahrensbezog. Handlingszuschlag	0 mg	0,1 µl	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,058 µl	1	0,0577 µl
Y (Volumen)						$u(y) =$	0,087 µl
						$U(y) =$	0,20 µl
						$w(y) =$	0,09 %
						$W(y) =$	0,20 %

Wie im Messunsicherheitsbudget ersichtlich ist, haben folgende Beiträge einen maßgeblichen Einfluss auf die Messunsicherheit bei der Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster:

- Einfluss der Umgebungsbedingungen in Verbindung mit der Bauart von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster
- Wiederholbarkeit der Messwerte
- Verfahrensbezogene Handlingszuschlag (mechanische Einflüsse, Prüfer, etc.)

Als ein wichtiges, zusätzliches Ergebnis der Pilotstudie wurde somit festgestellt, dass die verfahrensbezogenen Einflüsse und die Einflüsse der Umgebungsbedingungen die bestimmenden Beiträge für das Messunsicherheitsbudget sind.

6. Zusammenfassung und Ausblick

Aufgrund der umfangreichen Messergebnisse der Pilotstudie ist es gelungen verschiedene Beiträge neu zu bewerten bzw. neue Beiträge zum Messunsicherheitsbudget zu identifizieren. Zusätzlich konnten verfahrensbezogene Messbedingungen und Vorgehensweisen neu bzw. detaillierter definiert werden. Die gewonnen Erkenntnisse bildeten die Grundlage für die Erarbeitung der DKD-Richtlinie DKD-R 8-1 „Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster“, die seit ihrer Inkraftsetzung die Grundlage für die weitere Arbeit der akkreditierten Kalibrierlaboratorien in der Bundesrepublik Deutschland bildet.

Es ist beabsichtigt, die englische Version bei EURAMET vorzulegen. Dies ermöglicht die Nutzung der Erkenntnisse für einen noch breiteren Kreis von Kalibrierlaboratorien und damit eine bessere nationale / internationale Vergleichbarkeit der Messwerte bei der Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster.

Es wird weiterhin auch die fachliche Arbeit des DKD-Fachunterausschusses Volumen / Dichte weitergeführt. In einer zweiten Untersuchungsperiode sollen nun ausgewählte Pipetten betrachtet werden, die nach dem Direktverdrängerprinzip arbeiten. Viele in der Pilotstudie für Kolbenhubpipetten mit Luftpolster gewonnene Erkenntnisse bilden die Basis für diese messtechnischen Untersuchungen.

Danksagung

Die Autoren danken allen teilnehmenden Kalibrierlaboratorien an der Pilotstudie aus Deutschland, der Schweiz, den USA und Thailand.

Unser Dank gilt den Herstellern von Kolbenhubpipetten, die die Kalibriergegenstände für die Pilotstudie zur Verfügung stellten.

Wir danken den Mitgliedern des Arbeitskreises im DKD-Fachunterausschuss Volumen / Dichte, die an der Erarbeitung des Richtlinienentwurfes beteiligt waren, insbesondere den Experten mit beratender Funktion:

Vertreter der akkreditierten Kalibrierlaboratorien

Rainer Feldmann, Joseph Pfohl (BRAND GMBH + CO KG)

Christoph Spälti (Spälti-TS AG)

Michael Bremer (Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH)

Dr. Ulrike Gast, Uwe Dunker (Eppendorf AG)

Harald Gutknecht (Thermo Electron LED GmbH)

Experten mit beratender Funktion

Dr. Henning Wolf (Physikalisch-Technische Bundesanstalt)

Heinz Fehlauer (Deutsche Akkreditierungsstelle GmbH)

Dr. Karl Heinz Lochner (Fraunhofer Institut für Silicatforschung)

Unser Dank gilt der PTB und der DAkkS für die Unterstützung unseres Anliegens.

Literatur

- [1] DIN EN ISO/IEC 17025: Allgemeine Anforderungen an die Kompetenz von Prüf- und Kalibrierlaboratorien; 2005
- [2] DIN EN ISO 8655: Volumenmessgeräte mit Hubkolben; 2002
- [3] [DKD-R 8-1: Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster; 2011](#)
- [4] DIN EN ISO/IEC 17043: Konformitätsbewertung - Allgemeine Anforderungen an Eignungsprüfungen; 2010
- [5] DIN ISO 13528: Statistische Verfahren für Eignungsprüfungen durch Ringversuche; 2009
- [6] ISO/TR 20461: Determination of uncertainty for volume measurements made using the gravimetric method; 2000
- [7] EURAMET/cg-18: Guidelines on the Calibration of Non-Automatic Weighing Instruments; 2011

- [8] DIN ISO 3696: Wasser für analytische Zwecke; 1991
- [9] 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
- [10] K.-H. Lochner, R. Feldmann, J. Pfohl: Analyse der Einflussgrößen auf die Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster, Expertenbericht DKD-E 8.2, 2013
- [11] K.-H. Lochner: Untersuchung der Messgenauigkeit von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster (Forschungsbericht AIF Nr. 9152), Forschungsgemeinschaft für Technisches Glas e.V., 1995
- [12] Chr. Spälti: Einfluss der Höhenlage auf das Volumenergebnis einer Kolbenhubpipette mit Luftpolster, Expertenbericht DKD-E 8.3, 2013

Teilnehmer der internationalen Pilotstudie

DKD-K-06901, ZMK -ANALYTIK- GmbH / Pilotlaboratorium

DKD-K-09801, Landesamt für Mess- und Eichwesen Thüringen

DKD-K-20701, BRAND GMBH + CO KG

DKD-K-31301, Hirschmann Laborgeräte GmbH & Co. KG

DKD-K-35301, Thermo Electron LED GmbH

DKD-K-49901, BIOHIT Deutschland GmbH

D-K-15057-01-00, Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH

SCS Kalibrierstelle 094, Laborservice Schneck

SCS Kalibrierstelle 109, Spaelti-TS AG

SCS Kalibrierstelle 117, Mettler Toledo (Schweiz) GmbH

SCS Kalibrierstelle 119, Vaudaux-Eppendorf AG

TTE Laboratories, Inc. (USA)

National Institute of Metrology (Thailand), NIMT