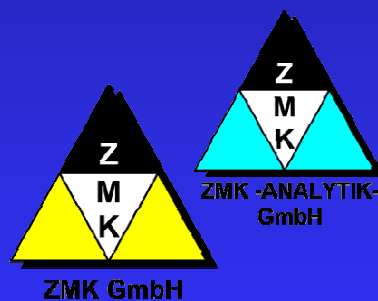


Neubewertung der Messunsicherheit nach statistischer Auswertung von Kalibrierergebnissen bei der Kalibrierung von Kolbenhubpipetten

Nadine Schiering, Dr. Barbara Werner,
Dr. Olaf Schnelle-Werner, Dr. Ulrich Breuel



DKD-K-06901

*266. PTB-Seminar, eine gemeinsame Veranstaltung mit DAkkS und BAM
Berechnung der Messunsicherheit – Empfehlungen für die Praxis
20. / 21.03.2012 Berlin*



ZMK GmbH

mit dem Kalibrierlaboratorium **DKD**-K-06901



ZMK
-ANALYTIK-
GmbH



ZMK GmbH
Sachsen-Anhalt

Viskosität

Elektrolytische Leitfähigkeit

pH

Dichte

Volumen

**Kolbenhubpipetten /
Volumenmessgeräte aus Glas**

Ortsteil Wolfen
P-D ChemiePark Bitterfeld-Wolfen
Areal A; Filmstr. 7
D-06766 Bitterfeld-Wolfen

Tel: +49 (3494) 6973 0
Fax: +49 (3494) 6973 34
E-Mail: info@zmk-wolfen.de

Elektrizität

Zeit / Frequenz *

Masse

Waagen

Drehmoment

Druck

Temperatur

Luftfeuchte

Endmaße

Länge

* in Vorbereitung



Agenda

- Einleitung
- Pilotstudie – Hintergrund, Durchführung, Ziele
- Bestimmung Referenzwert / Unsicherheit
- Berechnung Messergebnis / Modellfunktion
- Darstellung der wichtigsten Einflüsse auf die Messunsicherheit
- Ursache-Wirkungsdiagramm
- Messunsicherheitsbudget (Beispiel)
- Zusammenfassung und Ausblick
- Danksagung





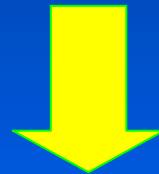
Pilotstudie

- **Hintergrund:** Arbeit des DKD-Fachunterausschusses Dichte / Volumen seit November 2008
- Beteiligung aller akkreditierten Kalibrierlaboratorien aus Deutschland und der Schweiz an der Pilotstudie
- Interessenbekundung von anderen Kalibrierlaboratorien für die Teilnahme an der Pilotstudie (USA / Thailand)



Messunsicherheitsberechnung

- in der Vergangenheit **verschiedene Ansätze** zur Abschätzung von Messunsicherheitsbeiträgen in akkreditierten DKD / DAkkS und SCS-Kalibrierlaboratorien

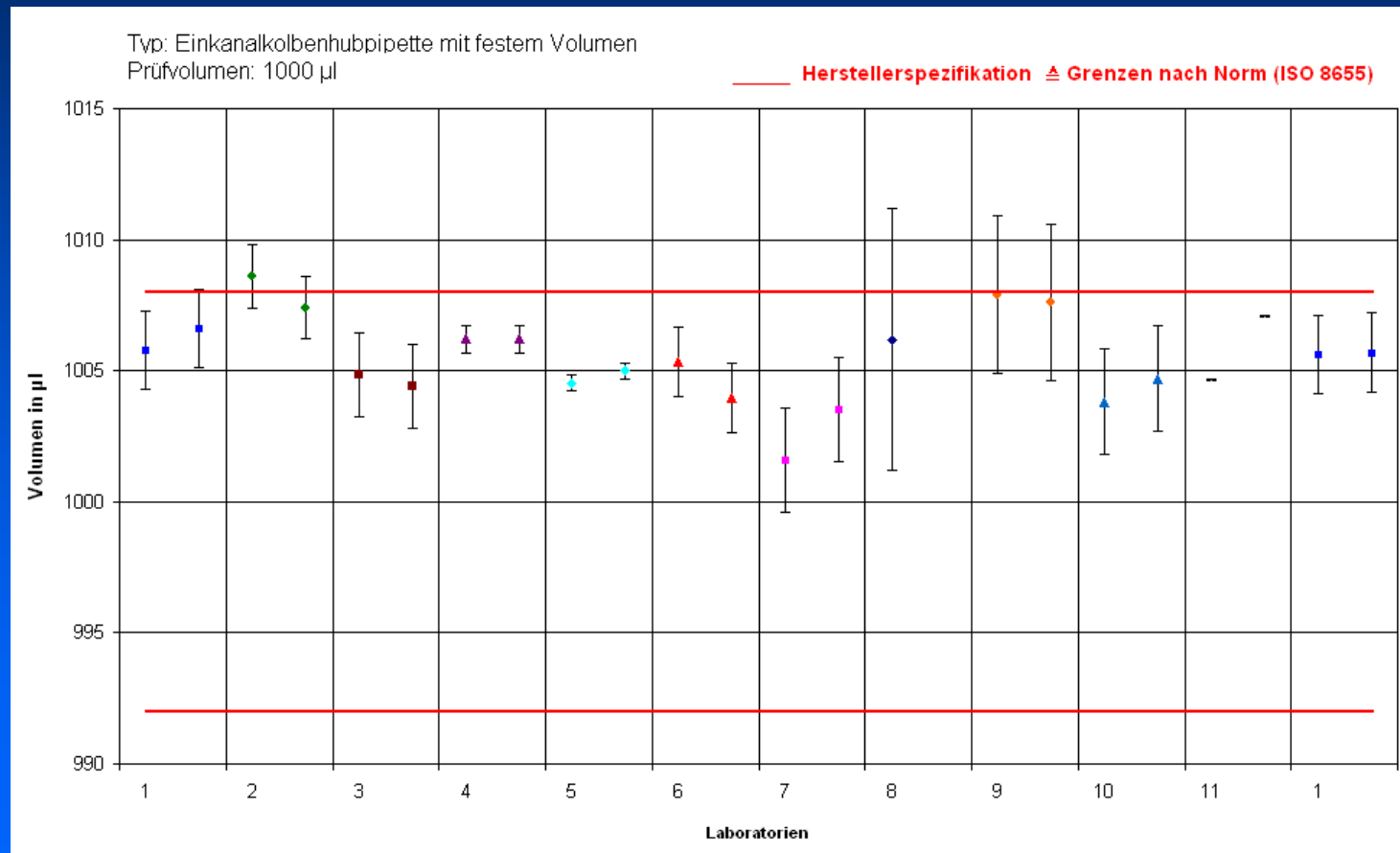


Messunsicherheit
in **unterschiedlichen**
Größenordnungen



Messunsicherheitsberechnung

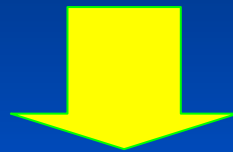
● Auswertediagramm: Messwerte der Teilnehmer



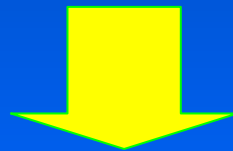


Stand der Technik vor Pilotstudie

- Publikationen zum Thema verfügbar, aber insgesamt keine ausreichende Datenmenge, um alle Einflüsse der Messunsicherheit betrachten zu können



- Abstimmung über die Notwendigkeit von systematischen Untersuchungen



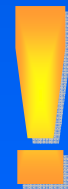
- Start der Pilotstudie "Untersuchungen zu Messunsicherheitsbeiträgen bei der Kalibrierung unterschiedlicher Kolbenhubpipetten"



Ziel der Pilotstudie

- ◆ **Systematische Untersuchung** aller möglichen Einflüsse / Quellen auf die Messunsicherheit bei der Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster
- ◆ **Vereinheitlichung der Vorgehensweise** bei der Abschätzung / Berechnung der Messunsicherheit

→ **Nationale / Internationale Vergleichbarkeit**
der Messwerte / Messunsicherheit





Pilotstudie

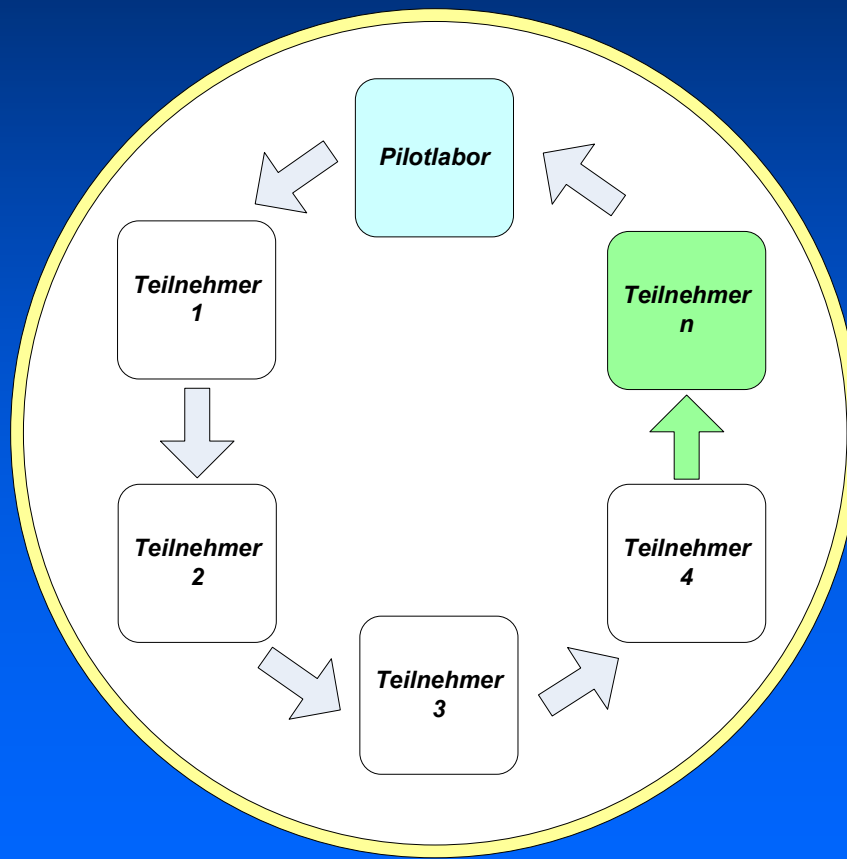
- ◆ **Teilnehmer:** 12 akkreditierte Kalibrierlaboratorien aus dem In- und Ausland (ISO/IEC 17025:2005), 1 Nationales Metrologie Institut
- ◆ **Kalibriergegenstände:**
 - ◆ Einkanalkolbenhubpipetten mit festem Volumen
 - ◆ Einkanalkolbenhubpipetten mit variablem Volumen
 - ◆ Mehrkanalkolbenhubpipetten

Bereitstellung von Pipetten durch verschiedene Hersteller



Pilotstudie

- Durchführung: als Vergleichsmessung nach ISO/IEC 17043:2010



*Durchführung als
"Ring" mit erster und
abschließender
Kalibrierung im
Pilotlaboratorium
DKD-K-06901*



Pilotstudie

- Abgegebene Dokumente der Teilnehmer:
 - Kalibrierschein
 - Kalibrier- / Prüfprotokoll
- Zusätzliche Informationen:
 - Wichtige Informationen, die nicht im Kalibrierschein enthalten sind (z.B. Wassertemperatur)
 - Alle bedeutsamen Beobachtungen während der Kalibrierung
 - Höhenlage des Kalibrierlaboratoriums



Auswertung der Messergebnisse der Pilotstudie

- ◆ Zur **Bestimmung der Referenzwertes** einer Vergleichsmessung stehen z.B. folgende statistische Verfahren nach DIN ISO 13528 zur Verfügung:
 - ◆ Referenzwert NMI
 - ◆ Referenzwert aus übergeordnetem Ringvergleich
 - ◆ Arithmetischer Mittelwert aus den Messwerten des Pilotlaboratoriums
 - ◆ Arithmetischer Mittelwert aus den Messwerten der Teilnehmer
 - ◆ Gewichteter Mittelwert aus den Messwerten der Teilnehmer



Auswertung der Messergebnisse der Pilotstudie

- Bestimmung der Referenzwertes der Pilotstudie:
Arithmetischer Mittelwert der Teilnehmer

$$x_R = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (1)$$

x_R ... Arithmetischer Mittelwert
 x_i ... Messergebnisse der Teilnehmer
 n ... Anzahl der Teilnehmer
 i ... Zählindex



Auswertung der Messergebnisse der Pilotstudie

- Zur **Bestimmung der Unsicherheit des Referenzwertes** einer Vergleichsmessung stehen z.B. folgende statistische Verfahren nach DIN ISO 13528 zur Verfügung:
 - Unsicherheit aus einem höherwertigem Verfahren (z.B. Absolutverfahren)
 - Kombinierte Unsicherheit aus den Standardmessunsicherheiten der Teilnehmer
 - Gewichtete kombinierte Unsicherheit aus den Standardmessunsicherheiten der Teilnehmer
 - Standardabweichung des Referenzwertes



Auswertung der Messergebnisse der Pilotstudie

- Bestimmung der Unsicherheit des Referenzwertes der Pilotstudie: Standardabweichung des Referenzwertes

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - x_R)^2}{n-1}} \quad (2)$$

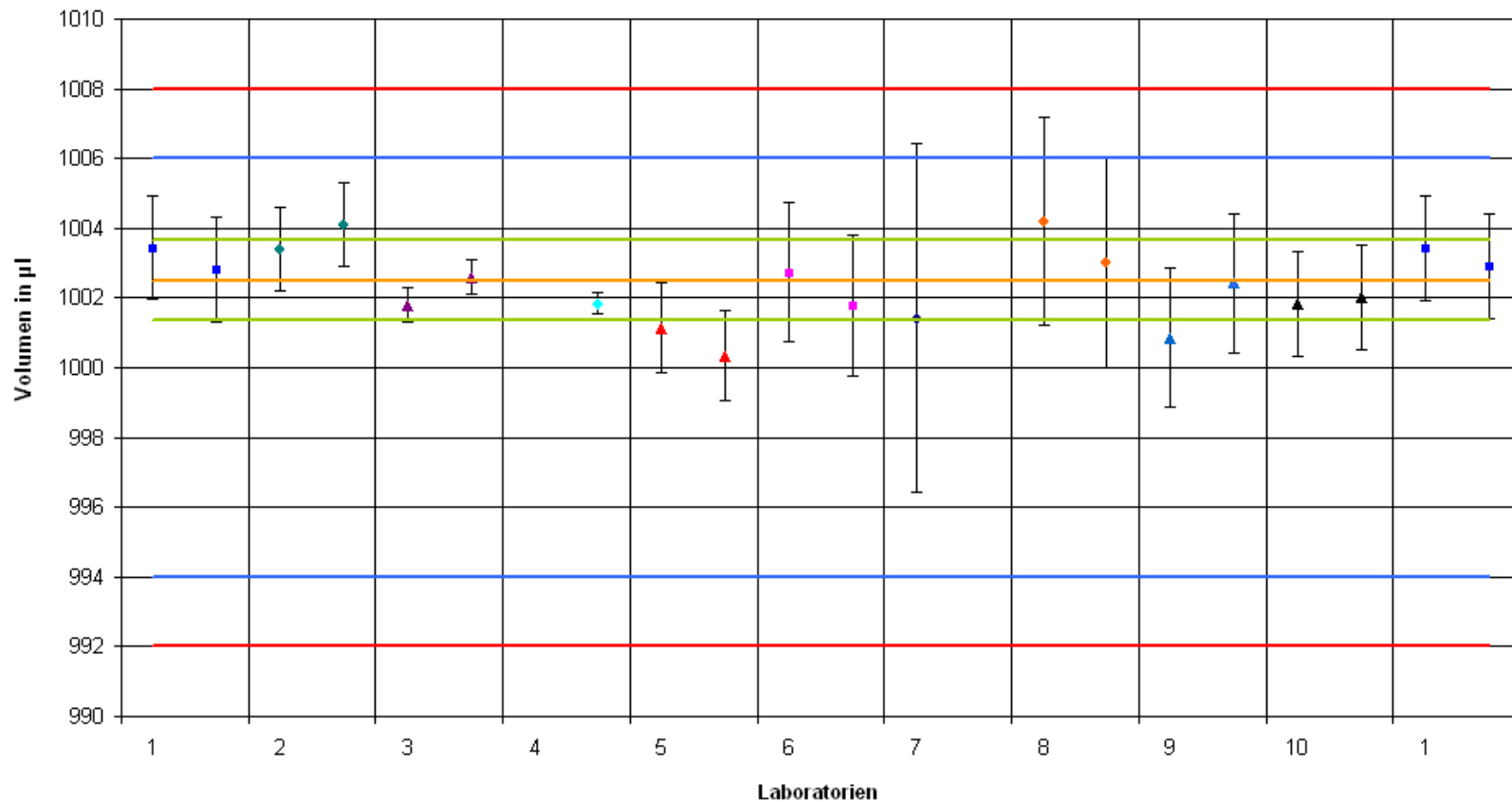
s ... Standardabweichung
 x_R ... Arithmetischer Mittelwert
 x_i ... Messergebnisse der Teilnehmer
 n ... Anzahl der Teilnehmer
 i ... Zählindex



Auswertung der Messergebnisse

Typ: Einkanalkolbenhubpipette mit festem Volumen
Prüfvolumen: 1000 μl

— Grenzen nach Norm (ISO 8655) — Referenzwert
— Herstellerspezifikation — Unsicherheit Ref.wert





Berechnung des Messergebnisses

- Bestimmung des Volumens einer Kolbenhubpipette nach der **gravimetrischen Methode** (DIN EN ISO 8655):

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

Zusätzlich sind die Berechnungsformeln für die Wasserdichte und die Luftdichte zu berücksichtigen (siehe ISO/TR 20461).

Symbole	Erläuterung
m	Differenz der Waagenanzeigen = Masse der Prüflüssigkeit
t_M	Temperatur der Pipette
t_{M20}	Bezugstemperatur 20 °C
V_{20}	Volumen bei 20 °C
ρ_L	Luftdichte
ρ_W	Dichte der Prüflüssigkeit
ρ_G	Dichte Gewichtstücke
γ	Kub. Ausdehnungskoeffizient



Berechnung der Messunsicherheit

- ♦ **Modellfunktion** zur Berechnung der Standardmessunsicherheit bei der Kalibrierung von Kolbenhubpipetten:

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

Empfindlichkeitskoeffizienten sind in der ISO/TR 20461 dargestellt.



Neuer Ansatz bei Messunsicherheitsberechnung

- Neubewertung bekannter Beiträge zur Messunsicherheit
- Identifizierung und Quantifizierung neuer Beiträge zur Messunsicherheit
- Festlegung von Messbedingungen



Neubewertung von Unsicherheitsbeiträgen (1)

Einfluss der Waage auf die gravimetrische Messung

- ◆ Messunsicherheit aus der Kalibrierung der Waage nach EURAMET cg-18
- ◆ Ablesung / Auflösung der Waage (für Tara- und Bruttowägung)
- ◆ Temperaturdrift
- ◆ Verdunstungsverlust



Neubewertung von Unsicherheitsbeiträgen (2)

Einfluss der Umgebungsbedingungen auf die gravimetrische Messung und auf das Luftpolster in der Pipette (bedingt durch Bauart der Pipetten mit Luftpolster)

- Lufttemperatur / Temperatur der Prüfflüssigkeit / Temperatur der Pipette
- Relative Luftfeuchte
- Luftdruck / Höhenlage



Lufttemperatur / Temperatur der Prüf­flüssigkeit / Temperatur der Pipette

- Sollte im Bereich von (20 bis 25) °C liegen
- Schwankungen sollten innerhalb $\pm 0,2 \text{ K}$ liegen
- Verdunstungskälte ist zu vermeiden!
- Differenz zwischen Lufttemperatur, Temperatur der Prüf­flüssigkeit und Temperatur der Pipette sollte so klein wie möglich sein; $0,2 \text{ K}$ bis $0,5 \text{ K}$ empfohlen
- Im Budget werden sowohl die Schwankungen der Umgebungsbedingungen während der Kalibrierung als auch die Unsicherheit der Messgeräte berücksichtigt.



Relative Luftfeuchte

- Sollte im Bereich (45 - 60) % r. F. liegen
- Maximale Drift während Kalibrierung: ± 5 % r. F.
- Zu geringe Luftfeuchte vermeiden, da:
 - Reduzierung des gemessenen Volumens durch Verdunstung
 - Möglichkeit der elektrostatischen Aufladung
- Im Budget werden sowohl die Schwankungen der Umgebungsbedingungen während der Kalibrierung als auch die Unsicherheit der Messgeräte berücksichtigt.



Luftdruck / Höhenlage (1)

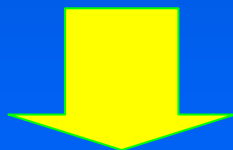
- ◆ Systematische Effekte in den Messergebnissen der Schweizer Kalibrierlaboratorien

Jungfrauoch 3460 m (657 hPa)

Samedan 1720 m (817 hPa)

Thusis 740 m (924 hPa)

Gebenstorf 360 m (969 hPa)



Experimentelle Untersuchungen durch Spaelti-TS AG (Schweiz)



Luftdruck / Höhenlage (2)

- Volumenänderung in unterschiedlichen Höhenlagen wird durch das Luftpolster und der Menge der dosierten Flüssigkeit (nur bei variablen Pipetten) in der Pipettenspitze bestimmt

- Korrekturformel für Volumenänderung:

$$\Delta V \approx -V_T \cdot \rho_W \cdot g \cdot h_W \cdot \left(\frac{1}{\rho_{L,X2} - \rho_W \cdot g \cdot h_W} \cdot \frac{1}{\rho_{L,X1} - \rho_W \cdot g \cdot h_W} \right)$$

- Im Budget wird für die allg. meteorologische Luftdruckschwankung ein Betrag von $\pm 20 \text{ hPa}$ berücksichtigt



Neubewertung von Unsicherheitsbeiträgen (3)

Neu:

Verfahrensbezogener Handlingszuschlag

Bewertung aufgrund der umfangreichen
Messwerte der Pilotstudie möglich

(mind. 0,07 % und 0,1 % v. Nennvolumen)

Beobachtung unterschiedlicher Einflüsse

- ◆ Mechanische Einflüsse
- ◆ Einflüsse des Prüfers
- ◆ Handwärme
- ◆ Transport



Mechanische Einflüsse

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



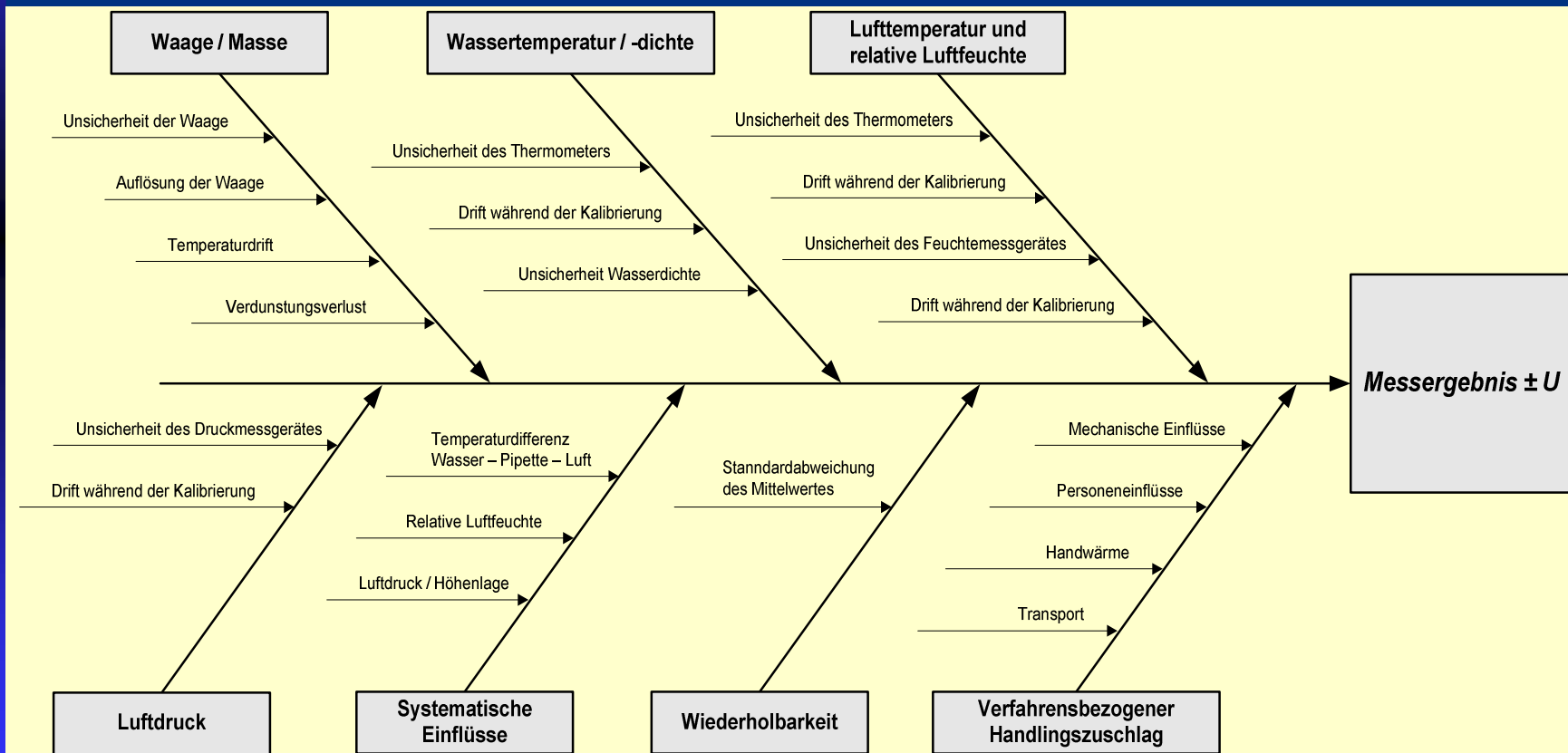
Einflüsse des Prüfers

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



Ursache-Wirkungsdiagramm

Beiträge die einen Einfluss auf das Messergebnis haben:





Messunsicherheitsbudget (Beispiel)

Kolbenhubpipette (festes Volumen) 1000 µl

Größe X_i	Bester 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	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
Wassertemperatur / -dichte							
Unsicherheit Thermometer	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
Unsicherheit Wasserdichte	997,86 kg/m ³	10 ppm	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,00001 mg/µl	-1000 µl ² /mg	-0,006 µl
Lufttemperatur							
Unsicherheit Thermometer	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
Luftdruck							
Unsicherheit Barometer	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
Luftfeuchte							
Unsicherheit Feuchtesensor	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
Temp.differenz Medium-Pipette-Luft							
	0,0 °C	0,2 K	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,115 K	2,2 µl/K	0,254 µl
Luftfeuchte							
	53 % r.F.	5 % r.F.	Rechteck	$\sqrt{3}$	2,887 % r.F.	0,07 µl/% r.F.	0,202 µl
Luftdruck							
	1008,0 hPa	20 hPa	Dreieck	$\sqrt{6}$	8,165 hPa	0,014 µl/hPa	0,114 µl
Wiederholbarkeit							
	0 mg	0,67 µl	Normal	$\sqrt{10}$	0,211 µl	1	0,211 µl
Verfahrensbezog. Handlingszuschlag							
	0 mg	0,70 µl	Rechteck	$\sqrt{3}$	0,404 µl	1	0,404 µl
Y (Volumen)							
						$u(y) =$	0,57 µl
						$U(y) =$	1,2 µl
						$w(y) =$	0,06 %
						$W(y) =$	0,12 %



Messunsicherheitsbudget (Beispiel)

- ◆ Signifikante Beiträge im Messunsicherheitsbudget:
 - ◆ Einfluss der Umgebungsbedingungen in Verbindung mit der Bauart von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster
 - ◆ Wiederholbarkeit der Messwerte
 - ◆ Verfahrenbezogener Handlungszuschlag (mechanische Einflüsse, Prüfer, etc.)
- Erkenntnis der Pilotstudie: verfahrensbezogene Einflüsse sind bestimmend für die Messunsicherheit



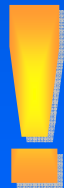
Zusammenfassung und Ausblick (1)

- ◆ Umfangreiche Messwerte / Daten sind nun verfügbar
 - ◆ Neubewertung bekannter Beiträge
 - ◆ Identifizierung / Quantifizierung neuer Beiträge
- ◆ Definition von Messbedingungen / -verfahren
- ◆ Weiterentwicklung der Messunsicherheitsbudgets; Handlings- und mechanische Einflüsse werden nun realistisch bewertet
- ◆ Messungen in den USA und Thailand zeigten die Stabilität der Kalibriergegenstände (geringer Transporteinfluss)



Zusammenfassung und Ausblick (2)

- ◆ Erkenntnisse der Pilotstudie waren Grundlage für die **neue DKD-Richtlinie DKD-R 8-1** für die Kalibrierung von Kolbenhubpipetten mit Luftpolster – *Ausgabe 12/2011*
- ◆ **Spezielle Themen** wurden in mehreren Publikationen durch Mitglieder des DKD-Fachunterausschusses Dichte / Volumen beschrieben
- ◆ **Nationale / Internationale Vergleichbarkeit** der Messwerte ist mit Anwendung der DKD-Richtlinie gegeben





Danksagung

Vorsitzende des DKD-Fachunterausschusses Dichte / Volumen:

Dr. Barbara Werner (ZMK GmbH / ZMK -ANALYTIK- GmbH)

Co-Autoren:

**Dr. Olaf Schnelle-Werner, Dr. Ulrich Breuel
(ZMK GmbH / ZMK -ANALYTIK- GmbH)**

Fachexperten der PTB / DAkkS:

Dr. Henning Wolf, Heinz Fehlauer

Mitglieder der Arbeitsgruppe:

**Rainer Feldmann, Josef Pfohl (BRAND GMBH + CO KG)
Karl Heinz Lochner (Fraunhofer Institut für Silicatforschung)
Christoph Spaelti (Spaelti-TS AG)**

**Michael Bremer, Uwe Dunker (Eppendorf Vertrieb Deutschland GmbH)
Harald Gutknecht (Thermo Electron LED GmbH)**



Vielen Dank für Ihre Aufmerksamkeit



ZMK GmbH / ZMK -ANALYTIK- GmbH

[http:// www.zmk-wolfen.de](http://www.zmk-wolfen.de)

