

(19)



Europäisches Patentamt

European Patent Office

Office européen des brevets



(11)

EP 0 562 358 B1

(12)

EUROPÄISCHE PATENTSCHRIFT

(45) Veröffentlichungstag und Bekanntmachung des
Hinweises auf die Patenterteilung:
16.07.1997 Patentblatt 1997/29

(51) Int. Cl.⁶: **B01L 3/02**

(21) Anmeldenummer: **93103815.2**

(22) Anmeldetag: **10.03.1993**

(54) **Verfahren zur Korrektur des Volumenfehlers bei der Auslegung eines Pipettiersystems**

Process for the correction of the volume error at the design of a pipetting system

Procédé de correction d'erreur de volume a la conception d'un système de pipetage

(84) Benannte Vertragsstaaten:
DE FR GB IT

(30) Priorität: **25.03.1992 DE 4209620**

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung:
29.09.1993 Patentblatt 1993/39

(73) Patentinhaber: **EPPENDORF-NETHELER-HINZ
GMBH
D-22339 Hamburg (DE)**

(72) Erfinder: **Husar, Dieter, Dr.
W-2000 Hamburg 20 (DE)**

(74) Vertreter: **Patentanwälte
Hauck, Graalfs, Wehnert,
Döring, Siemons
Neuer Wall 41
20354 Hamburg (DE)**

(56) Entgegenhaltungen:
**EP-A- 0 041 318
US-A- 4 672 857**

EP-A- 0 455 043

Anmerkung: Innerhalb von neun Monaten nach der Bekanntmachung des Hinweises auf die Erteilung des europäischen Patents kann jedermann beim Europäischen Patentamt gegen das erteilte europäische Patent Einspruch einlegen. Der Einspruch ist schriftlich einzureichen und zu begründen. Er gilt erst als eingelegt, wenn die Einspruchsgebühr entrichtet worden ist. (Art. 99(1) Europäisches Patentübereinkommen).

EP 0 562 358 B1

Beschreibung

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Korrektur des Volumenfehlers bei der Auslegung eines Pipettiersystems mit einer Kolbenhubpitte und einer darauf steckbaren Pipettenspitze.

Aus der DE-PS 25 26 296 ist ein Pipettiersystem der vorstehend genannten Art bekannt, dessen Kolbenhubpipette einen Konus zum Aufstecken der Pipettenspitze hat. Die Pipettenspitze weist ausgehend von der Spitzenöffnung einen stark konischen und daran anschließend bis zur Aufstecköffnung einen schwächer konischen Abschnitt bezogen auf die Innenkontur auf. Eine derartige Pipettenspitze hat beim Eintauchen in ein tiefes und insbesondere schlankes Gefäß den Nachteil, daß eine sie tragende Pipette mit dem Gefäß Wandberührung bekommen und kontaminiert werden kann. Dies ist grundsätzlich bei einer Pipettenspitze nicht der Fall, die gemäß EP-A-0 182 943 ausgehend von einer Spitzenöffnung eine lange zylindrische Nase, daran anschließend einen stark konischen und danach eine Aufstecköffnung aufweist.

Bei den genannten Pipettiersystemen erstreckt sich der Einstellbereich aufnehmbarer Flüssigkeitsmengen jeweils von der Spitzenöffnung aus über alle verschiedenen Abschnitte der Pipettenspitze hinweg. Ist ein geringer Kolbenhub eingestellt, wird Flüssigkeit nur in den stark konischen (oder zylindrischen) Anfangsbereich eingesogen. Bei größerem Kolbenhub wird der schwächer konische (oder der konische und danach der zylindrische) Bereich erreicht. Den Pipettiersystemen ist gemeinsam, daß sie im Zusammenwirken mit einer einstellbaren Kolbenhubpipette Flüssigkeitsvolumina aufnehmen, die unakzeptabel vom angezeigten Flüssigkeitsvolumen abweichen können, wobei die Abweichung über den Einstellbereich hinweg unterschiedlich möglich ist. Deshalb wird die Steigung einer Spindel der Kolbenhubpipette für die Einstellung des Kolbenhubs versuchsweise so ermittelt, daß die Richtigkeitsabweichung zwischen aufgenommenem und angezeigtem Flüssigkeitsvolumen über den gesamten Einstellbereich hinweg erträglich ist. Die resultierenden Richtigkeitsabweichungen werden hingenommen und sind allenfalls aufgrund nachträglicher Messungen feststellbar.

Daran ist außer der Vernachlässigung von Richtigkeitsabweichungen unbekannter Größe über den Einstellbereich hinweg nachteilig, daß die Abstimmung von Kolbenhubpipette und Pipettenspitze einen Wechsel der Pipettenspitze erschwert. Soll z.B. eine Kolbenhubpipette mit einer Pipettenspitze gemäß DE-PS 25 26 296 mit einer Pipettenspitze gemäß EP-A-0 182 943 bestückt werden, so ist mit der gegebenen Spindelsteigung nicht mehr gewährleistet, daß die Richtigkeitsabweichungen über den Einstellbereich hinweg erträglich sind.

Die US-PS 5 024 109 offenbart bereits ein Verfahren und eine Apparatur zur Korrektur des Fehlers einer Kolbenhubpipette. Dabei werden die Höhe der Flüssigkeit in der Pipettenspitze für das gewünschte Flüssigkeitsvolumen, die Änderungen des Totvolumens aufgrund der Flüssigkeitssäule in der Spitze und die erforderliche Kolbenverschiebung für das gewünschte Flüssigkeitsvolumen und die Änderung des Totvolumens ermittelt. Die Höhe der Flüssigkeitssäule für ein gewünschtes Volumen wird anhand der Spitzengeometrie ermittelt, speziell für eine konische Spitze. Die Änderung des Totvolumens wird aufgrund hydrostatischer Überlegungen bestimmt, die an die Höhe der Flüssigkeitssäule anknüpfen. Die Kolbenverschiebung wird aus der Summe des gewünschten Volumens und der Änderung des Totvolumens ermittelt. Diese Technik bedient sich einer elektromechanischen Pipette, die mit einem Steuerrechner verbunden ist. Vor Benutzung müssen in den Rechner Daten der Pipettenspitze, des Pipettiersystems und der Flüssigkeit eingegeben werden. Diese Pipettiertechnik ist aufwendig.

Davon ausgehend liegt der Erfindung die Aufgabe zugrunde, das Pipettiersystem der eingangs genannten Art zu verbessern, so daß über den gesamten Einstellbereich aufzunehmender Pipettierflüssigkeit hinweg einfach und genau gearbeitet werden kann. Ferner soll das Pipettiersystem einen Austausch der Kolbenhubpipetten bzw. Pipettenspitzen ermöglichen, wobei weiterhin genau und einfach gearbeitet werden soll.

Die Lösung dieser Aufgabe ist in Anspruch 1 angegeben. Vorteilhafte Ausgestaltungen sind in den Unteransprüchen zu finden.

Der Erfindung liegt die Erkenntnis zugrunde, daß Pipettenkorrekturfaktor, Querschnittsverlauf entlang der Spitze, Totvolumen und gegebenenfalls Nullpunktsverschiebung der Anzeige für die Höhe der Richtigkeitsabweichungen über den Einstellbereich maßgeblich sind. Durch Abstimmung dieser Einflußfaktoren aufeinander ist es folglich möglich, im Einstellbereich für jedes aufgenommene Flüssigkeitsvolumen eine vorgegebene Richtigkeitsabweichung vom angezeigten Flüssigkeitsvolumen zu realisieren, die auch Null sein kann. Im Gegensatz zu herkömmlichen Pipettiersystemen werden nach der Erfindung nicht mehr Richtigkeitsabweichungen durch Wahl der Spindelsteigung nach Vorgabe der übrigen Einflußgrößen minimiert, sondern sämtliche o.g. Einflußgrößen so aufeinander abgestimmt, daß vorgegebene Richtigkeitsabweichungen erreicht werden. Bei einem solchen Pipettiersystem ist dann für jedes angezeigte Flüssigkeitsvolumen der genaue Wert des aufgenommenen Flüssigkeitsvolumens bekannt. Gegenüber der vorbekannten elektronischen Pipette mit Steuerrechner erübrigt sich eine Berechnung des Kolbenhubs für jeden Pipettiervorgang, um die vorgegebene Richtigkeitsabweichung zu erreichen. Allenfalls kann eine Anpassung an die jeweilige Flüssigkeitsdichte erforderlich sein. Diese kann durch Austausch von Spitzen, Änderungen des Totvolumens oder des Pipettenkorrekturfaktors nach Maßgabe der jeweiligen Flüssigkeit erfolgen. Wenn die Richtigkeitsabweichungen von Null abweichen und fehlerfrei pipettiert werden soll, kann der Kolbenhub mittels der Anzeige stets so eingestellt werden, daß das aufgenommene Flüssigkeitsvolumen dem beabsichtigten Volumen entspricht. Ferner lassen sich erfindungs-

gemäß Pipettenspitzen an herkömmliche Kolbenhubpipetten so anpassen, daß vorgegebene Richtigkeitsabweichungen erreicht werden. Hierdurch kann im Bedarfsfalle ein Pipettiersystem mit einer verlängerten Pipettenspitze ausgerüstet werden, welche Wandberührungen und einhergehende Kontamination vermeidet. Umgekehrt ist es auch möglich, vorgegebene Richtigkeitsabweichungen durch Abstimmung einer Kolbenhubpipette auf vorhandene Pipettenspitzen sicherzustellen.

Die Richtigkeitsabweichung kann auf verschiedene Weise definiert werden. Für die praktische Handhabung besonders günstig ist die Vorgabe einer konstanten absoluten oder relativen Richtigkeitsabweichung, weil dann der Unterschied des aufgenommenen vom angezeigten Flüssigkeitsvolumen am einfachsten bestimmbar ist.

Soll ein herkömmliches Pipettiersystem insbesondere durch Austausch einer Pipettenspitze in ein erfindungsgemäßes umgewandelt werden, kann eine Abstimmung erfolgen, die für jedes aufgenommene Flüssigkeitsvolumen eine vorgegebene Richtigkeitsabweichung vom aufgenommenen Flüssigkeitsvolumen des herkömmlichen Pipettiersystems anstatt vom angezeigten Flüssigkeitsvolumen bedingt. Dann sind die Unterschiede des pipettierten Flüssigkeitsvolumens vom herkömmlicherweise pipettierten Volumen bei gleicher Anzeige bekannt. Dieses Wissen kann für Vergleichsuntersuchungen mit geänderter Pipettenspitze interessant sein.

In der Regel steigt der Flüssigkeitsspiegel im Einstellbereich aufnehmbarer Flüssigkeitsvolumina stets bis in einen Arbeitsbereich der Pipettenspitze empor. Zum Ausgleich von Querschnittsänderungen einschließlich Unstetigkeitsstellen im Anfangsbereich der Pipettenspitze kann die Abstimmung eine Nullpunktsverschiebung des angezeigten Flüssigkeitsvolumens gegenüber dem Kolbenhub einbeziehen.

In der Praxis sind bisweilen Werte von Pipettenkorrekturfaktor, Totvolumen und gegebenenfalls Nullpunktsverschiebung vorgegeben, insbesondere wenn das Pipettiersystem durch Anpassung einer Pipettenspitze an eine vorhandene Kolbenhubpipette verwirklicht werden soll. Zum Erreichen der vorgegebenen Richtigkeitsabweichung kann dann eine Abstimmung des Querschnittsverlaufs entlang der Spitze auf die vorgegebenen Einflußgrößen genügen.

Der Arbeitsbereich der Pipettenspitze ist im wesentlichen zylindrisch. Dann kann insbesondere eine konstante absolute Richtigkeitsabweichung über den gesamten Einstellbereich aufnehmbarer Flüssigkeiten hinweg verwirklicht werden. Für eine kleine Spitzenöffnung und einen ausreichend großen Volumenbereich für die Aufnahme einstellbarer Flüssigkeitsmengen kann dieser einen sich allmählich erweiternden Übergangsbereich aufweisen. Der Übergangsbereich hat bevorzugt einen Übergangsradius oder Übergangskonus, wobei der Konuswinkel zur Vermeidung unerwünschter Effekte (Springbrunneneffekt) möglichst klein gehalten wird. Dem Übergangsbereich ist bevorzugt ein Arbeitsbereich nachgeordnet. Insbesondere für die Benutzung bei relativ langen und schlanken Gefäßen hat das Pipettiersystem eine Pipettenspitze mit einem dünnen Ansaugröhrchen angrenzend an die Spitzenöffnung. Dann hat die Spitze bevorzugt auch einen sich erweiternden Übergangs- sowie einen nachgeordneten Arbeitsbereich.

Zwecks Anpassung des Pipettiersystems an verschiedene Flüssigkeitsdichten oder Luftdrucke kann sein Pipettenkorrekturfaktor einstellbar sein. Das ist im einfachsten Falle durch den Austausch einer Spindel für das Einstellen des Kolbenhubs durchführbar. Auch kommt dafür eine Anzeigeeinrichtung mit einer spreizbaren Skala in Betracht.

Zu vorstehendem Zweck kann auch eine Nullpunktsverschiebung der Anzeige mittels ähnlicher Maßnahmen realisiert werden.

Ferner kann ein einstellbares Totvolumen vorgesehen sein. Das ist insbesondere durch Austausch von Pipettenspitzen möglich, wobei eine Pipettenspitze für leichtere Flüssigkeiten bei gleichem Durchmesser länger ausgeführt werden muß. Zur Veränderung des Totvolumens können auch Zwischenstücke zwischen Kolbenhubpipette und Pipettenspitze einsetzbar sein.

Erfindungsgemäß kann eine Abstimmung der Einflußgrößen zum Erreichen der vorgegebenen Richtigkeitsabweichungen experimentell erfolgen. Dabei kann zunächst für jedes aufgenommene Flüssigkeitsvolumen eine Richtigkeitsabweichung vom angezeigten Flüssigkeitsvolumen vorgegeben werden. Diese Abweichungen sind nun durch Abstimmung von Pipettenkorrekturfaktor, Querschnittsverlauf entlang der Spitze und Totvolumen aufeinander zu realisieren. Da der Pipettenkorrekturfaktor und das Totvolumen nach getroffener Wahl meistens nicht mehr verändert werden, werden zunächst die Werte für diese Einflußparameter zumindest vorläufig festgelegt, wobei eine Orientierung an Werten bekannter Pipettiersysteme möglich ist. Dann verbleibt als letzte Einflußgröße der Querschnittsverlauf entlang der Pipettenspitze, mit der die vorgegebenen Richtigkeitsabweichungen sichergestellt werden können. Dafür ergeben sich beispielsweise durch Versuche eindeutige Werte, wenn die übrigen Einflußfaktoren zuvor gewählt worden sind. Sollte der gefundene Querschnittsverlauf nicht realisierbar sein, wären die vorgegebenen Einflußgrößen zu korrigieren oder sogar eine andere Richtigkeitsabweichung vorzugeben.

Wegen des Aufwandes einer empirischen Abstimmung wird bevorzugt das nachfolgende physikalisch-mathematische Modell zur rechnerischen Abstimmung herangezogen: Das Kolbenhubvolumen V_{Kolben} einer Kolbenhubpipette ist um den Volumenfehler ΔV größer als das aufgenommene Flüssigkeitsvolumen $V_{\text{Flüss.}}$.

$$V_{\text{Kolben}} = V_{\text{Flüss.}} + \Delta V \quad (\text{A})$$

Der Volumenfehler resultiert daraus, daß die Flüssigkeitssäule am Luftpolster zwischen Flüssigkeitsspiegel und Kolben (= "Totvolumen") hängt und nach unten zieht, wobei das Luftpolster entsprechend vergrößert wird.

EP 0 562 358 B1

Die Änderungen von Volumen und Druck im Luftpolster lassen sich ausgehend von Totvolumen von Pipette und Spitze bei Umgebungsdruck mittels einer thermischen Zustandsgleichung beschreiben. Zur Berechnung von ΔV wird angenommen: Ideales Gas, $T = \text{const.}$

5 damit gilt: $p \cdot V = \text{const.}$

oder:

$$10 \quad p_o \cdot V_t = (p_o - \Delta p) \cdot (V_t + \Delta V) \quad (B)$$

mit:

$V_t =$ Luftpolster, Totvolumen von Pipette und Spitze

$P_o =$ Außendruck, atmosphärischer Druck

$\Delta p =$ Druckänderung entsprechend hydrostat. Druck der Flüssigkeitssäule in der Pipettenspitze

15

aus (B) folgt:

$$\frac{p_o}{p_o - \Delta p} V_t = V_t + \Delta V$$

20 und:

$$-\Delta V = \left[1 - \frac{p_o}{p_o - \Delta p} \right] V_t$$

weiter

25

$$30 \quad -\Delta V = \frac{p_o - \Delta p - p_o}{p_o - \Delta p} V_t$$

35

und unter Berücksichtigung, daß $\Delta p \ll p_o$

40 ergibt sich:

$$\Delta V = \frac{\Delta p}{p_o} V_t \quad (C)$$

45 Totvolumen und atmosphärischer Druck werden als bekannt vorausgesetzt. Die Druckänderung Δp entspricht dem hydrostatischen Druck der Flüssigkeitssäule der Höhe h :

$$p = \rho \cdot g \cdot h \quad (D)$$

50 mit:

$\rho =$ spezifisches Gewicht

$g =$ Erdbeschleunigung

Die Höhe h der Flüssigkeitssäule ist durch das pipettierte Flüssigkeitsvolumen und den Querschnittsverlauf der
55 Pipettenspitze bestimmt:

$$V_{\text{Flüss.}} = \int_0^h Q(y) dy \quad (\text{E})$$

mit

$Q(y) =$ Querschnitt im Abstand y von Spitzenöffnung

Aus (A), (C) und (D) folgt:

10

$$V_{\text{Kolben}} = V_{\text{Flüss.}} + \frac{\rho g h}{p_o} V_t \quad (\text{F})$$

Mit (E) und (F) läßt sich die Abhängigkeit des Kolbenhubes V_{Kolben} vom aufgenommenen Flüssigkeitsvolumen $V_{\text{Flüss.}}$ errechnen, ggfs. unter Zuhilfenahme numerischer Methoden.

15

Der Kolbenhub ist durch Anschläge begrenzt, deren Abstand sich mittels einer Spindel verstellen läßt, die mit der Anzeigeeinrichtung gekoppelt ist. Folglich besteht zwischen V_{Kolben} und dem angezeigten Flüssigkeitsvolumen $V_{\text{Anz.}}$ ein linearer Zusammenhang:

20

$$V_{\text{Kolben}} = a \cdot V_{\text{Anz.}} + b \quad (\text{G})$$

mit

$a =$ Pipettenkorrekturfaktor

25

$b =$ Nullpunktverschiebung

Für den Zusammenhang von a und Spindelsteigung S gilt:

30

$$S \text{ (mm/Umdrehung)} = \frac{\text{Zählwerkkalibration } (\mu\text{l/Umdrehung})}{\text{Kolbenquerschnitt (mm}^2\text{)}} \cdot a$$

Aus (F) und (G) folgt:

35

$$V_{\text{Anz.}} = (V_{\text{Flüss.}} + \frac{\rho g h}{p_o} \cdot V_t - b) \cdot \frac{1}{a} \quad (\text{H})$$

Daraus ergibt sich für die absolute Richtigkeitsabweichung $R_{\text{abs.}}$:

40

$$R_{\text{abs.}} = V_{\text{Flüss.}} - (V_{\text{Flüss.}} + \frac{\rho g h}{p_o} \cdot V_t - b) \cdot \frac{1}{a} \quad (\text{I})$$

mit:

45

$$R_{\text{abs.}} = V_{\text{Flüss.}} - V_{\text{Anz.}}$$

Für die relative Richtigkeitsabweichung $R_{\text{rel.}}$ gilt:

50

$$R_{\text{rel.}} = R_{\text{abs.}} / V_{\text{Flüss.}} \quad (\text{J})$$

mit:

55

$$R_{\text{rel.}} = \frac{V_{\text{Flüss.}} - V_{\text{Anz.}}}{V_{\text{Flüss.}}}$$

Mit (I) bzw. (J) und (E) können nun Pipettenkorrekturfaktor a , Nullpunktverschiebung b , Querschnittsverlauf $Q(y)$ und Totvolumen V_t so aufeinander abgestimmt werden, daß jedem aufgenommenen Flüssigkeitsvolumen $V_{\text{Flüss.}}$ eine vorgegebene Richtigkeitsabweichung $R_{\text{abs.}}$ bzw. $R_{\text{rel.}}$ zugeordnet ist. Zweckmäßigerweise wird man dafür die Richtigkeitsabweichungen vom angezeigten Flüssigkeitsvolumen vorgeben, Pipettenkorrekturfaktor, Nullpunktverschiebung

und Totvolumen zumindest vorläufig wählen und dann den Querschnittsverlauf berechnen. Andererseits ist die Vorgabe spezieller Querschnittsverläufe entlang der Spitze möglich. Speziell folgt bei zylindrischer Pipettenspitze aus (E):

$$V_{\text{Flüss.}} = Q \cdot h \quad (\text{K})$$

mit:

$$Q = \text{const.}$$

Aus (I) und (K) ergibt sich:

$$R_{\text{abs.}} = V_{\text{Flüss.}} - \left(V_{\text{Flüss.}} + \frac{\rho \cdot g \cdot V_{\text{Flüss.}}}{p_o} \cdot \frac{V_t}{Q} - b \right) \cdot \frac{1}{a}$$

Wird der Verlauf der Richtigkeitsabweichung vorgegeben, folgt daraus der Zusammenhang zwischen dem Totvolumen, der Pipettenkorrekturfaktor und der Nullpunktverschiebung. Soll die absolute Richtigkeitsabweichung $R_{\text{abs.}}$ für alle $V_{\text{Flüss.}}$ konstant sein, muß gelten:

$$O = 1 - \frac{1}{a} - \frac{\rho \cdot g}{p_o} \cdot \frac{V_t}{Q \cdot a} \quad (\text{L})$$

und $R_{\text{abs.}} = b/a$

Mit dem Formelsatz (L) lassen sich sämtliche Bestimmungsgrößen festlegen. Dafür sind nur noch Größen für zwei der Einflußfaktoren Totvolumen, Pipettenspitzenquerschnitt, Pipettenkorrekturfaktor und Nullpunktverschiebung vorzugeben.

Weitere Einzelheiten und Vorteile des Gegenstandes der Erfindung ergeben sich aus der nachfolgenden Beschreibung der zugehörigen Zeichnungen. In den Zeichnungen zeigen:

- Fig. 1 Zusammenwirken von Pipettenspitze und Kolbenhubpipette in einem Diagramm mit der Differenz von (angezeigtem) Flüssigkeitsvolumen und Kolbenhub auf der Ordinate und dem Kolbenhub auf der Abszisse;
- Fig. 2 Pipettenspitzen P_1 , P_2 und P_3 zu den Kurven A, B und C in Fig. 1;
- Fig. 3 eine Pipettenspitze in stark vergrößertem, vierfach abgebrochenem Längsschnitt;
- Fig. 4 einen oberen Abschnitt einer kolbenbetriebenen Pipette; und
- Fig. 5 einen unteren Abschnitt einer kolbenbetriebenen Pipette, dessen Querschnitt A-A mit dem Querschnitt A-A des oberen Abschnittes zusammenfällt.

Die Pipette gemäß Fig. 4 und 5 ist in der amerikanischen Patentschrift US-A-5511433 der Anmelderin offenbart. Auf diese Offenbarung wird Bezug genommen. Die Pipette hat ein Gehäuse 1. Am oberen Ende des Gehäuses ist ein Betätigungsknopf 2 angebracht, der entgegen der Feder 14 beweglich ist. Der Knopf 2 ist mit einer Kolbenstange 7 verbunden, die sich durch eine Spindel 6 erstreckt. Wie in der Fig. 5 gezeigt ist, trägt das untere Ende der Stange 7 ein Verbindungsstück 8, welches einen Träger 9 für einen Kolben 10 aufweist. Eine Feder 18 drückt eine untere Hülse 19 zum Führen des Kolbens 9, 10 gegen eine innere konische Fläche 21 des Gehäuses 1. Die Hülse 19 stützt sich am Gehäuse über einen nachgiebigen Dichtring 20 ab.

Wenn der Knopf 2 vertikal nach unten gepreßt wird, wird der Kolben 9, 10 in die Zylinderkammer 11 gepreßt, wobei er Luft aus der Zylinderkammer 11 durch das Rohr 12 drückt. Am unteren Ende des Rohres 12 ist eine aufsteckbare Pipettenspitze angebracht, die in Fig. 3 in vergrößertem Maßstab gezeigt ist. Die Pipettenspitze ist auf einem konischen Sitz am unteren Ende des Rohres 12 in einer nicht dargestellten Weise befestigt. Die Zylinderkammer 11, das Rohr 12 und die Pipettenspitze definieren das Totvolumen der Pipette.

Beim Pressen des Knopfes 2 vertikal nach unten wird der Kolben 9, 10 verschoben, bis er gegen das obere Ende des Rohres 12 gelangt, welches von einem stationären Teil in der Zylinderkammer gehalten ist. Dieses bildet einen unteren Anschlag für die Kolbenbewegung.

Die Kolbenstange 7 ist mit einem Flansch 22 versehen, auf dem die Spindel 6 in der Anfangsposition der Stange 7 und des Kolbens 9, 10 ruht. Dieser Flansch 22 definiert den oberen Anschlag für den Kolben 9, 10. Der obere Anschlag ist wie folgt einstellbar: Der Knopf 2 ist mit einer nach unten erstreckten Hülse 5 verbunden, die drehbar im Gehäuse gehalten ist. Die Spindel 6, welche die Stange 7 umgibt, ist drehfest mit der drehbaren Hülse 5 verbunden. Das äußere Gewinde der Spindel 6 arbeitet mit einem Innengewinde eines Teils 36 zusammen, welches im Gehäuse 1 befestigt ist. Wenn der Knopf 2 gedreht wird, wird die Spindel 6 in das Gewindeteil 36 hinein oder aus diesem heraus geschraubt. Die Spindel 7 wird dabei axial verstellt, wodurch die Einstellung des Anschlages für den Flansch 22 der Stange 7 eingestellt wird, der bei Rückkehr des Kolbens 9, 10 in eine Anfangsposition wirksam wird, wenn der Knopf 2 los gelassen und von der Feder 14 zurückgestellt wird. Der Hub des Kolbens wird durch den oberen Anschlag der Kolbenstange in

seiner Anfangsposition begrenzt.

Wenn die Spindel 6 manuell mittels des Knopfes 2 verdreht wird, wird ein Rad 50 über ein Schneckengetriebe ver-
stellt. Dafür hat die Hülse 5 außen eine Zahnung 52. Die Drehung des Rades 50 wird von einer Skala angezeigt, die
durch ein Fenster 53 sichtbar ist. Die Skala ist kalibriert, um den oberen Anschlag so einzustellen, daß eine
gewünschte Menge Flüssigkeit in die Pipettenspitze eingesogen wird, die am unteren Ende des Rohres 12 aufgesteckt
ist.

Wie bereits erwähnt, zeigen die Fig. 4 und 5 einen Teil des Totvolumens 11 und 12 sowie die Einstellmittel und
Anzeigemittel 51 zum Einstellen und Anzeigen der gewünschten Menge Flüssigkeit.

In Fig. 1 repräsentieren die Kurven A_1 und A_2 das Verhalten von zylindrischen Pipettenspitzen P_1 gemäß Fig. 2.
Bei diesen Pipetten nimmt der negative Volumenfehler - ΔV mit zunehmendem Kolbenhub linear zu. Dabei entspricht
die Kurve A_1 einer Pipettenspitze mit kleinerem und die Kurve A_2 einer Pipettenspitze mit größerem Querschnitt.

Der Volumenfehler - ΔV der Pipettenspitze wird durch eine Abstimmung der Kolbenhubpipette kompensiert. Durch
Einstellung des Pipettenkorrekturfaktors ist nämlich der Unterschied zwischen dem angezeigten Flüssigkeitsvolumen
 $V_{Anz.}$ und dem Kolbenhub V_{Kolben} in Abhängigkeit vom Kolbenhub gerade so gewählt, daß das angezeigte Flüssigkeits-
volumen $V_{Anz.}$ dem aufgenommenen Flüssigkeitsvolumen $V_{Flüss.}$ entspricht. Hier ist die Kolbenhubpipette mit der Kurve
 K_1 und dem größeren Pipettenkorrekturfaktor a der Pipettenspitze mit der Kurve A_1 und die Kolbenhubpipette mit der
Kurven K_2 der Pipettenspitze mit der Kurve A_2 zugeordnet. Das Diagramm veranschaulicht, daß für jeden Kolbenhub
 V_{Kolben} der Unterschied zwischen dem angezeigten Flüssigkeitsvolumen $V_{Anz.}$ und dem aufgenommenen Flüssigkeits-
volumen $V_{Flüss.}$ gleich Null ist.

Die Kurve B in Fig. 1 ist der Pipettenspitze P_2 von Fig. 2 zugeordnet. Diese hat angrenzend an die Spitzenöffnung
ein dünnes Ansaugröhrchen, welches anfänglich bei geringem Kolbenhub ein relativ hohes Ansteigen der Flüssigkeits-
säule bedingt. Infolgedessen ist in diesem Anfangsbereich auch der negative Volumenfehler - ΔV relativ hoch. Füllt die
Flüssigkeitssäule das Ansaugröhrchen aus, ist beim Emporsteigen in das angrenzende zylindrische Arbeitsvolumen
ein geringerer Anstieg des negativen Volumenfehlers zu verzeichnen.

Der Kurve C in Fig. 1 korrespondiert die Pipettenspitze P_3 der Fig. 2. Diese hat angrenzend an ein dünnes Ansaug-
röhrchen einen konischen Übergangsbereich zu einem zylindrischen Arbeitsvolumen. Somit schließt sich in der Fig. 1
angrenzend an den, steilen Anfangsabschnitt ein Bereich abgeschwächter Steigung des Volumenfehlers für den Über-
gangsbereich an, der schließlich in einem Bereich schwacher Steigung für den zylindrischen Arbeitsabschnitt mündet.

Der Kurve C entspricht eine Kolbenhubpipette, bei der die Differenz von angezeigtem Flüssigkeitsvolumen $V_{Anz.}$
zum Kolbenhub V_{Kolben} über den Kolbenhub durch die Kurve K_3 repräsentiert ist. Diese weist auf der Ordinate eine
Nullpunktverschiebung NV auf, d.h. beim Kolben in der Ausgangslage wird schon ein Flüssigkeitsvolumen $V_{Anz.}$ ange-
zeigt. Die Nullpunktverschiebung ist so gewählt, daß bei einem Kolbenhub V_{Kolben} , der einen Anstieg der Flüssigkeiten
im Arbeitsbereich der Pipettenspitze bedingt, gerade eine Kompensation des Volumenfehlers erreicht wird. Das System
weist somit eine Fehlerkurve F auf, die von maximalem Anfangswert auf einen Wert Null fällt, der beim Anstieg der
Flüssigkeitssäule bis in den Arbeitsbereich erreicht wird.

Die Pipettenspitze in Fig. 3 hat unten eine Spitzenöffnung 1' für Flüssigkeitsdurchtritt, an die sich ein dünnes
Ansaugröhrchen 2' anschließt. Das Ansaugröhrchen 2' mündet in einen Übergangskonus 3', der anderenends mit
einem erweiterten Arbeitsbereich 4' kommuniziert. Der Arbeitsbereich 4' mündet oben in einen Aufsteckkonus 5' mit
einer Aufstecköffnung 6' für eine Kolbenhubpipette mit einstellbarem Kolbenhub.

Im Einstellbereich aufnehmbarer Flüssigkeitsmengen steigt die Flüssigkeit durch die Spitzenöffnung 1 und das
Ansaugröhrchen 2 sowie den Übergangskonus 3 stets bis in den Arbeitsbereich 4 empor. Um über den gesamten Ein-
stellbereich eine etwa konstante absolute Richtigkeitsabweichung der aufgenommenen Flüssigkeitsmenge von der
angezeigten Flüssigkeitsmenge zu realisieren, ist die Pipettenspitze im Arbeitsbereich 4 innen etwa kreiszylindrisch
geformt.

Zur besseren Entformbarkeit beim Spritzgießen ist sowohl im Bereich des Ansaugröhrchens 2, als auch im Arbeits-
bereich 4 eine geringfügige Konizität vorgesehen, welche die angestrebte Richtigkeitsabweichung praktisch nicht
beeinträchtigt. Der Übergangskonus besitzt einen deutlichen Konuswinkel, der zur Vermeidung eines Springbrunnen-
effektes ca. 7° beträgt.

Eine typische Pipettenspitze hat eine Gesamtlänge von etwa 100 mm, wovon etwa 25 mm auf das Ansaugröhrchen
2 entfallen. Der Durchmesser wächst von ca. 0,5 mm in der Spitzenöffnung 1 auf ca. 3 mm zu Beginn des Arbeitsbe-
reiches 4 an.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Korrektur des Volumenfehlers ΔV bei der Auslegung eines Pipettiersystems mit einer Kolbenhubpi-
pette und einer darauf steckbaren Pipettenspitze, wobei die Kolbenhubpipette Einstelleinrichtungen zur Verände-
rung des Kolbenhubs sowie Anzeigeeinrichtungen für das jeweils pipettierte Flüssigkeitsvolumen hat und das
Verhältnis vom Kolbenhub zum angezeigten Flüssigkeitsvolumen durch einen Pipettenkorrekturfaktor a bestimmt
ist, die Pipettenspitze eine Spitzenöffnung, einen damit verbundenen Volumenbereich für die Aufnahme einstellba-

rer Flüssigkeitsvolumina und eine damit verbundene Aufstecköffnung für die Kolbenhubpipette aufweist und zwischen Spitzenöffnung und Kolben ein Totvolumen V_t ausgebildet ist, wobei der zu Korrigierende Volumenfehler ΔV daraus resultiert, daß das Totvolumen V_t zwischen dem Flüssigkeitsspiegel und dem Kolben der Pipette durch das Gewicht der Flüssigkeitssäule in der Pipettenspitze vergrößert wird, wobei die Korrektur des Volumenfehlers ΔV durch bauliche Abstimmung des Totvolumens V_t , des Pipettenkorrekturfaktors a und des Verlaufs des Querschnitts Q der Pipettenspitze, die einen zylindrischen Arbeitsbereich aufweist, derart erfolgt, daß das von den Anzeigeeinrichtungen angezeigte Flüssigkeitsvolumen V_{Anz} dem aufgenommenen Flüssigkeitsvolumen $V_{Flüss.}$ oder einer vorgegebenen Abweichung entspricht.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß Pipettenkorrekturfaktor, Verlauf des Innenquerschnitts und Totvolumen mit einer Nullpunktverschiebung des angezeigten Flüssigkeitsvolumens gegenüber dem Kolbenhub abgestimmt werden.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß der Verlauf des Innenquerschnitts entlang der Spitze auf vorgegebene Werte von Pipettenkorrekturfaktor, Totvolumen und gegebenenfalls Nullpunktverschiebung abgestimmt wird.
4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß dem Einstellbereich aufnehmbarer Flüssigkeitsvolumina ein Arbeitsbereich der Pipettenspitze zugeordnet wird, in den der Flüssigkeitsspiegel im gesamten Einstellbereich emporsteigt.
5. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß Pipettierkorrekturfaktor, Verlauf des Innenquerschnitts, Totvolumen und gegebenenfalls Nullpunktverschiebung unter Beachtung der Zusammenhänge

$$R_{abs.} = V_{Flüss.} - (V_{Flüss.} + \frac{\rho \cdot g \cdot h}{p_o} \cdot V_t - b) \cdot \frac{1}{a}$$

oder

$$R_{rel.} = R_{abs.} / V_{Flüss.} = \text{relative Richtigkeitsabweichung}$$

mit:

$$R_{abs.} = V_{Flüss.} - V_{Anz.} = \text{absolute Richtigkeitsabweichung}$$

$$V_{Flüss.} = \int_0^h Q(y) dy = \text{aufgenommenes Flüssigkeitsvolumen}$$

- $Q(y)$ = Querschnitt im Abstand y von Spitzenöffnung
- $V_{Anz.}$ = angezeigtes Flüssigkeitsvolumen
- ρ = Dichte der zu pipettierenden Flüssigkeit
- g = Erdbeschleunigung
- h = Höhe der Flüssigkeitssäule in der Pipettenspitze
- V_t = Totvolumen
- P_o = Umgebungsdruck
- a = Pipettenkorrekturfaktor
- b = Nullpunktverschiebung

aufeinander abgestimmt werden.

6. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß eine Pipettenspitze mit im wesentlichen zylindrischem Arbeitsbereich verwendet wird.
7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß eine Pipettenspitze verwendet wird, bei der dem Arbeitsbereich der Pipettenspitze ein sich allmählich erweiternder Übergangsbereich vorgeordnet ist.
8. Verfahren nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß der Übergangsbereich durch einen möglichst geringen

Winkel bestimmt wird.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 6 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß eine Pipettenspitze verwendet wird, bei der angrenzend an die Spitzenöffnung ein dünnes Ansaugröhrchen vorhanden ist.

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 6 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß der Pipettenkorrekturfaktor eingestellt wird.

11. Verfahren nach einem der Ansprüche 6 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Nullpunktverschiebung der Anzeige eingestellt wird.

12. Verfahren nach einem der Ansprüche 6 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß das Totvolumen eingestellt wird.

13. Verfahren nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß das Totvolumen durch Austausch von Pipettenspitzen und/oder Zwischenstücke zwischen Kolbenhubpipette und Pipettenspitze eingestellt wird.

14. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, daß das Totvolumen durch variable Einstellung des unteren Kolbenhubanschlages eingestellt wird.

Claims

1. A method for correcting a volume error ΔV in the course of designing a pipette system comprising a plunger-operated pipette and a pipette tip, which is pluggable thereon, the plunger-operated pipette having adjusting means for adjusting the stroke of the plunger and indicating means for each quantity of liquid taken up, and the relation of the stroke of the plunger with respect to the quantity of liquid indicated being defined by a pipette correcting factor a , the pipette tip comprising a tip opening communicating with a volume portion for the accommodation of predetermined quantities of liquid and a plug-in opening communicating therewith for the connection with the plunger-operated pipette, and a dead volume V_t being defined between the tip opening and the plunger, with the volume error ΔV to be corrected resulting from the fact that the dead volume V_t between the liquid level and the plunger of the pipette is increased by the weight of the column of liquid in the pipette tip, the correction of the volume error ΔV being effected by a structural tuning of the dead volume V_t , the pipette correcting factor a and the course of the cross section of the pipette tip having a cylindrical operating portion, such that the quantity of liquid V_{Anz} indicated by the indicating means corresponds to the quantity of liquid $V_{Flüss}$ taken up or a predetermined deviation therefrom.

2. The method according to claim 1, characterized in that the pipette correcting factor, course of the inner cross section and dead volume are tuned to a zero off-set of the indicated quantity of liquid with regard to the piston stroke.

3. The method of claim 1 or 2, characterized in that the course of the inner cross section of the pipette tip is tuned to preset values of the pipette correcting factor, the dead volume and possibly the zero off-set.

4. The method according to any of the claims 1 to 3, characterized in that within the adjusting range of the desired quantity of liquid the liquid level moves within an operating portion of the pipette tip.

5. The method according to any of the claims 1 to 4, characterized in that the pipette correcting factor, the course of the inner section, the dead volume and possibly the zero off-set are tuned under observance of the following equations:

$$R_{abs.} = V_{Flüss.} - (V_{Flüss.} + \frac{\rho \cdot g \cdot h}{P_o} \cdot V_t - b) \frac{1}{a}$$

or

$$R_{rel.} = R_{abs.} / V_{Flüss.} = \text{relative error}$$

wherein:

$$R_{abs.} = V_{Flüss.} - V_{Anz.} = \text{absolute error}$$

$$V_{\text{Flüss.}} = \int_0^h Q(y) dy = \text{quantity of liquid taken up}$$

- 5
- $Q(y)$ = cross section at the distance y from the tip opening
 $V_{\text{Anz.}}$ = quantity of liquid indicated
 ρ = density of liquid to be taken up
 g = acceleration of gravity
10 h = height of liquid column in the pipette tip
 V_t = dead volume
 P_o = barometric pressure
 a = pipette correcting factor
15 b = zero off-set

6. The method according to any of the claims 1 to 5, characterized in that a pipette tip with a substantially cylindrical operating portion is used.
7. The method according to any of claims 1 to 6, characterized in that a pipette tip comprising a gradually enlarging transition portion before the operating portion is used.
- 20 8. The method according to claim 7, characterized in that the transition portion is defined by an angle which is as small as possible.
- 25 9. The method according to any of the claims 6 to 8, characterized in that a pipette tip having a slim suction tube adjacent to the tip opening is used.
10. The method according to any of the claims 6 to 9, characterized in that the pipette correcting factor is adjusted.
- 30 11. The method according to any of the claims 6 to 10, characterized in that the zero off-set of the indicating means is adjusted.
12. The method according to any of the claims 6 to 11, characterized in that the dead volume is adjusted.
- 35 13. The method according to claim 12, characterized in that the dead volume is adjusted by exchange of pipette tips and/or transition pieces between plunger-operated pipette and pipette tip.
14. The method according to any of the claims 1 to 13, characterized in that the dead volume is adjusted by varying the lower stop for the plunger.
- 40

Revendications

1. Procédé de correction de l'erreur ΔV sur le volume lors du dimensionnement d'un système de pipetage, comportant une pipette fonctionnant par la course d'un piston, et une pointe de pipette pouvant être enfoncée sur cette pipette, la pipette à course de piston comportant des dispositifs de réglage pour modifier la course du piston, ainsi que des dispositifs d'affichage du volume de liquide pris chaque fois par la pipette, le rapport entre la course du piston et le volume affiché du liquide, étant déterminé par un facteur de correction a , la pointe de pipette présentant une ouverture de pointe, une zone de volume reliée à elle, pour recevoir des volumes réglables de liquide, et une ouverture d'enfichage, reliée à elle, pour la pipette à course de piston, tandis qu'entre l'ouverture de la pointe et le piston, est réalisé un volume mort V_t , l'erreur de volume ΔV à corriger résultant de ce que le volume mort V_t , entre le niveau du liquide et le piston de la pipette augmente sous l'effet du poids de la colonne de liquide dans la pointe de pipette, la correction de l'erreur de volume ΔV se faisant par détermination, par construction, du volume mort V_t , du facteur de correction de pipette a , et de l'évolution de la section transversale Q de la pointe de pipette qui présente une zone de travail cylindrique, de telle façon que le volume de liquide V_{Anz} indiqué par le dispositif d'affichage corresponde au volume de liquide reçu ou à une valeur dérivée prédéfinie.
- 45
2. Procédé suivant la revendication 1, caractérisé en ce que le facteur de correction de pipette, l'évolution de la section transversale intérieure et le volume mort sont adaptés à un décalage du point zéro du volume affiché du liquide, par rapport à la course du piston.
- 50
- 55

3. Procédé suivant la revendication 1 ou la revendication 2, caractérisé en ce que l'évolution de la section transversale intérieure le long de la pointe est adaptée à des valeurs prédéfinies du facteur de correction de pipette, du volume mort et, le cas échéant, du décalage du point zéro.

4. Procédé suivant l'une des revendication 1 à 3, caractérisé en ce qu'à la zone de réglage des volumes de liquide à recevoir, est associée une zone de travail de la pointe de pipette, dans laquelle le niveau du liquide effectue un mouvement ascendant dans toute la zone de réglage.

5. Procédé suivant l'une des revendication 1 à 4, caractérisé en ce que le facteur de correction de pipette, l'évolution de la section transversale intérieure, le volume mort et, le cas échéant, le décalage du point zéro sont adaptés les uns aux autres en tenant compte des relations:

$$R_{abs.} = V_{Flüss.} - (V_{Flüss.} + \frac{\rho \cdot g \cdot h}{P_o} \cdot V_t - b) \frac{1}{a}$$

ou

$$R_{rel} = R_{abs.} / V_{Flüss.} = \text{écart relatif de précision,}$$

avec:

$$R_{abs} = V_{Flüss.} - V_{Anz.} = \text{écart absolu de précision}$$

$$V_{Flüss.} = \int_0^h Q(y) dy = \text{volume de liquide reçu}$$

Q(y) = Section transversale à la distance y de l'ouverture de la pointe
 $V_{Anz.}$ = volume de liquide affiché
 ρ = Densité du liquide à aspirer par la pipette
 g = accélération due à la pesanteur
 h = hauteur de la colonne de liquide dans la pointe de pipette
 V_t = volume mort
 P_o = pression ambiante
 a = facteur de correction de pipette
 b = décalage du point zéro

6. Procédé suivant l'une des revendication 1 à 5, caractérisé en ce qu'on utilise une pointe de pipette comportant une zone de travail essentiellement cylindrique.

7. Procédé suivant l'une des revendications 1 à 6, caractérisé en ce qu'on utilise une pointe de pipette dans laquelle une zone de transition s'élargissant progressivement est située en amont de la zone de travail de la pointe de pipette.

8. Procédé suivant la revendication 7, caractérisé en ce que la zone de transition est déterminée par un angle le plus faible possible.

9. Procédé suivant l'une des revendication 6 à 8, caractérisé en ce qu'on utilise une pointe de pipette disposant d'un fin tube d'aspiration adjacent à l'ouverture de pointe.

10. Procédé suivant l'une des revendication 6 à 9, caractérisé en ce qu'on règle le facteur de correction de pipette.

11. Procédé suivant l'une des revendication 6 à 10, caractérisé en ce qu'on règle le décalage du point zéro de l'affichage.

12. Procédé suivant l'une des revendication 6 à 11, caractérisé en ce qu'on règle le volume mort.

13. Procédé suivant la revendication 12, caractérisé en ce qu'on règle le volume mort en échangeant des pointes de

EP 0 562 358 B1

pipette et/ou des pièces intermédiaires entre la pipette à course de piston et la pointe de pipette.

14. Procédé suivant l'une des revendication 1 à 13, caractérisé en ce qu'on règle le volume mort en faisant varier le réglage de la butée inférieure de la course du piston.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

FIG.1

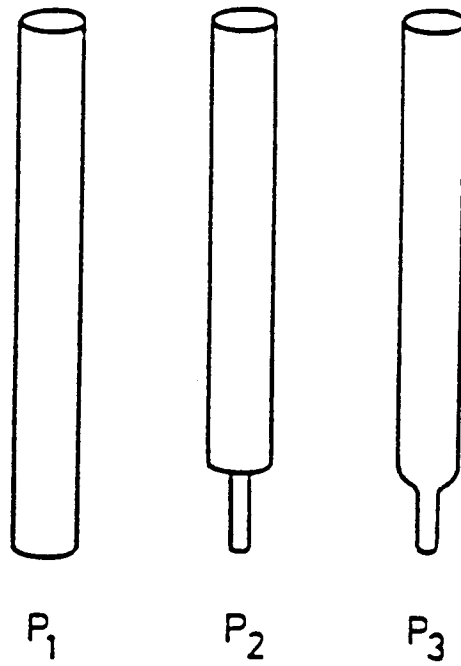
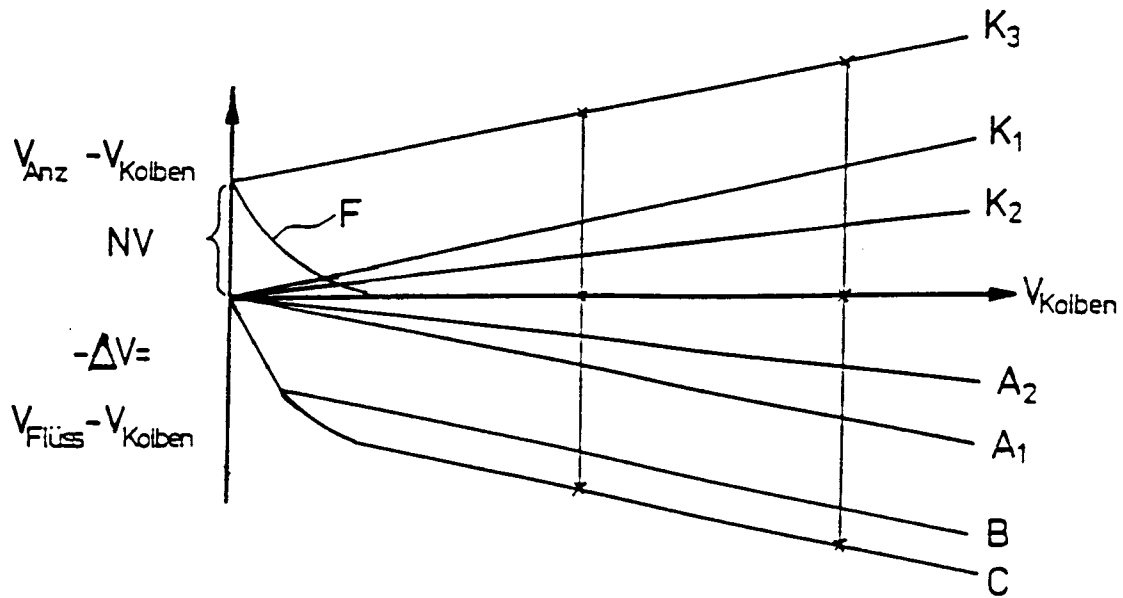


FIG.2

FIG.3

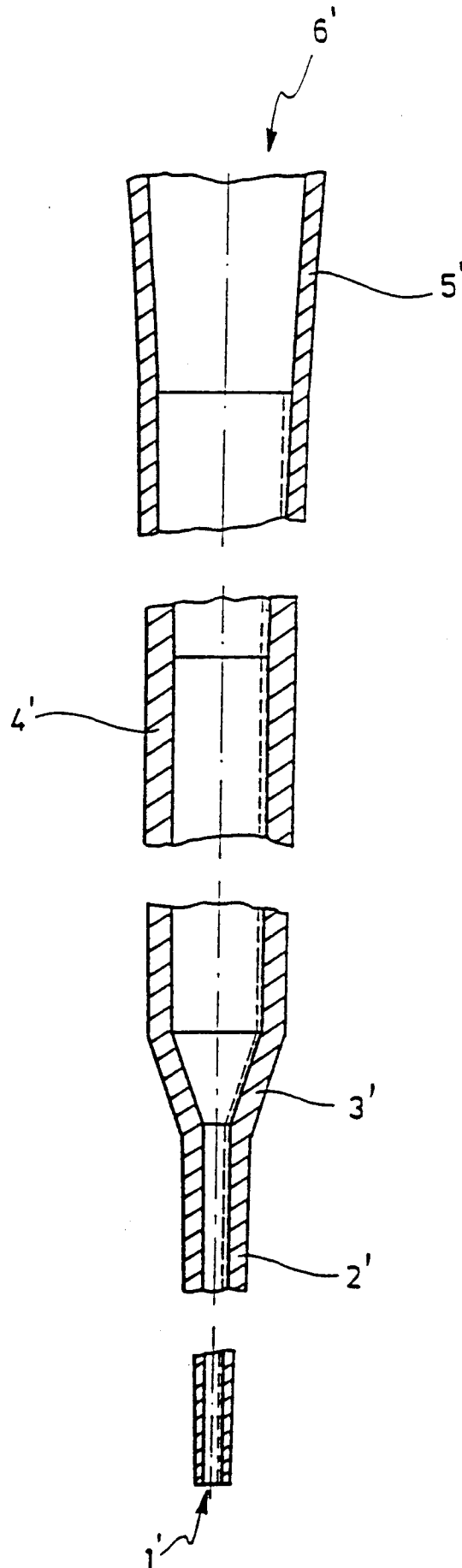


Fig. 4

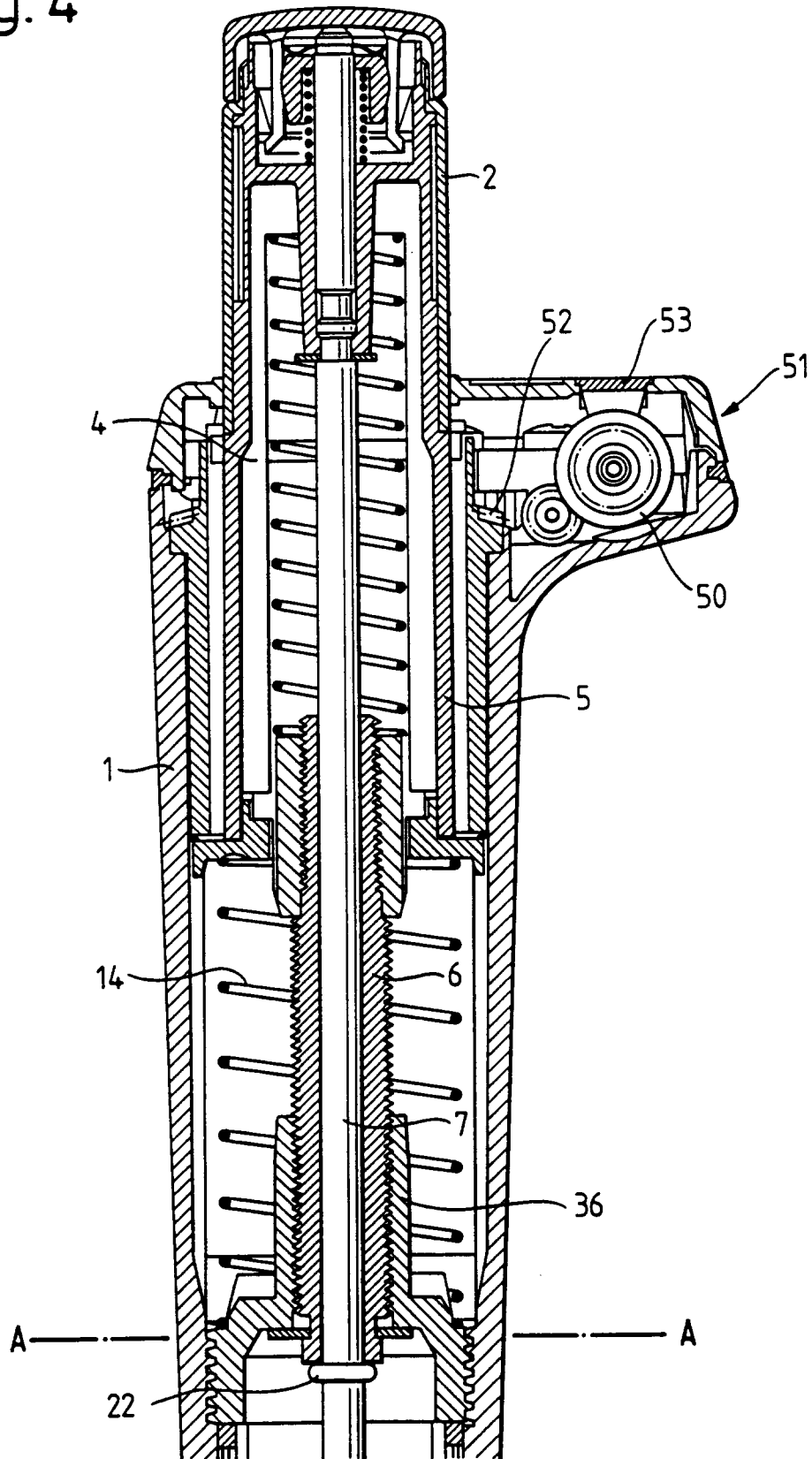


Fig. 5

