



19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 293 472**

51 Int. Cl.:  
**B01L 3/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **05075977 .8**

86 Fecha de presentación : **25.04.2005**

87 Número de publicación de la solicitud: **1614469**

87 Fecha de publicación de la solicitud: **11.01.2006**

54

Título: **Método y aparato para dispensar un líquido con una aguja de pipeteo.**

30

Prioridad: **14.05.2004 EP 04076436**

45

Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**16.03.2008**

45

Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**16.03.2008**

73

Titular/es: **F. HOFFMANN-LA ROCHE AG.**  
**Grenzacherstrasse 124**  
**4070 Basel, CH**

72

Inventor/es: **Dual, Jürg;**  
**May, Frank y**  
**Eisenhans, Olivier**

74

Agente: **Isern Jara, Jorge**

ES 2 293 472 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

# ES 2 293 472 T3

## DESCRIPCIÓN

Método y aparato para dispensar un líquido con una aguja de pipeteo.

5 La presente invención se refiere a un método para dispensar un volumen líquido de acuerdo con la reivindicación 1.

La invención se refiere además a un aparato de micropipeteo conforme a la reivindicación 5.

10 El pipeteo de líquidos es una función importante del análisis automatizado de muestras examinadas para los fines del diagnóstico médico. El dominar las operaciones del pipeteo es una situación básica para llevar a cabo análisis de un modo correcto, rápido, barato y ecológico. Existe una necesidad de un dispositivo de pipeteo que sea capaz de pipetear los volúmenes líquidos con la exactitud requerida en el intervalo de los nanolitros y microlitros.

15 El dispensado de volúmenes líquidos muy pequeños requiere el contacto de la aguja de pipeteo con una superficie sólida o con otro líquido al que se ha añadido el volumen dispensado. Esto es así porque las fuerzas de adhesión que retienen el pequeño volumen que va a ser dispensado en la aguja de pipeteo son mayores que el peso del volumen líquido. Este peso sólo no es suficiente para desprender una gota retenida por las fuerzas de adhesión en la punta de una aguja de pipeteo. En un dispositivo de pipeteo automático del modelo anterior de los analizadores utilizado para el diagnóstico médico, una gota de un líquido que va a ser dispensado se pone en contacto y por tanto es transferida a otro líquido, que puede ser una muestra o un reactivo. Para evitar resultados erróneos de los análisis, es necesario limpiar la aguja de pipeteo después de cada contacto con el líquido en un recipiente y esto requiere mucho tiempo.

25 De acuerdo con un modelo anterior el dispensado de un líquido únicamente se puede realizar por contacto de la punta de la aguja de pipeteo con un líquido contenido en un recipiente que recibe el líquido dispensado. En algunas aplicaciones se desea, sin embargo, dispensar un líquido sin ningún contacto entre la punta de la aguja de pipeteo y un líquido contenido en un recipiente que reciba el líquido dispensado, puesto que en este caso no sería preciso lavar la aguja después de cada operación de dispensado. Este es el caso, por ejemplo, cuando se tienen que distribuir partes alícuotas de una muestra líquida en distintos líquidos distribuidos en una pluralidad de recipientes. En este caso el tiempo para distribuir las partes alícuotas con respecto a la pluralidad de recipientes se vería considerablemente reducido, ya que sería necesario lavar la aguja de pipeteo después del dispensado de cada parte alícuota.

30 La figura 1 muestra un proceso de dispensado del modelo anterior de partes alícuotas muy pequeñas de un líquido en un grupo de diferentes recipientes. Tal como se observa en la figura 1 se utiliza una aguja de pipeteo 11 para tomar una muestra del líquido contenido en un recipiente 12 y para dispensar de forma sucesiva partes alícuotas de dicha muestra en distintos recipientes 13 y 14. En cada proceso de dispensado la aguja tiene que entrar en contacto con el líquido contenido en el recipiente 13, 14 que recibe la parte alícuota. Por las razones mencionadas antes se tiene que limpiar la aguja 11 después de cada proceso, previamente a volver a dispensar una parte alícuota en un recipiente distinto. La fig. 1 muestra las posiciones de limpieza 15 y 16 de la aguja de pipeteo. Las flechas en la figura 40 1 representan el sentido del movimiento de la aguja de pipeteo durante las operaciones de dispensado anteriormente mencionadas.

Las gotas se pueden dejar caer, por ejemplo, como en las impresoras por chorro de tinta, donde se genera un pulso de presión dentro de un líquido y este pulso se propaga hacia una boquilla que cierra un extremo de un recipiente que contiene el líquido que va a ser dispensado. Debido a la reducción de la sección transversal en la transición desde el interior del recipiente hasta la boquilla, un volumen pequeño de líquido es acelerado fuertemente y esto permite liberar a través de la boquilla una gota de líquido procedente del recipiente. El tamaño de una gota generada por el principio del chorro de tinta oscila en un intervalo entre 5 y 500 picolitros y depende de las propiedades del líquido y del tamaño de la boquilla. Las gotas generadas únicamente por el peso de la gota que se va a dispensar son mucho mayores. Cuando se utiliza una aguja de pipeteo que tiene una sección transversal con un diámetro externo de 10 micrómetros para dispensar gotas únicamente por fuerza gravitacional (es decir, el peso de la gota) el tamaño de cada gota debería ser de 30 nanolitros si el líquido dispensado es una solución acuosa.

55 Para dispensar gotas mediante el principio del chorro de tinta se necesita una aceleración muy fuerte del volumen de líquido en la boquilla (aceleraciones de hasta  $10^5 g$ ). La energía requerida para liberar una gota de 500 picolitros es de aproximadamente  $10^{-8}$  Joules. Una boquilla del tipo usado en las impresoras por chorro de tinta no puede ser una parte de una aguja de pipeteo de un analizador para analizar muestras para objetivos médicos, porque la estructura de la aguja de pipeteo debería permitir la suficiente limpieza solicitada de la aguja de pipeteo tan a menudo como se requiere la presencia de una boquilla en la estructura de la aguja de pipeteo lo que sería imposible. Otros requisitos que la aguja de pipeteo debería cumplir son:

- debería ser adecuada para perforar un cierre de un recipiente de líquido, y

65 - debería tener una forma alargada y ser suficientemente larga para penetrar con bastante profundidad en un recipiente de líquido.

Todas estas características requeridas de la aguja de pipeteo demuestran que los rasgos importantes de la aguja vienen dictados por el uso previsto para la aguja de pipeteo y no se pueden modificar.

## ES 2 293 472 T3

La especificación de patente americana nr. 6.033.388 revela un método y un aparato del tipo definido por las reivindicaciones 1 y 5, respectivamente. De acuerdo con la especificación de la patente americana nr. 6.033.388, las ondas impulsadas por la energía de radiación acústica generadas por un transductor se aplican a un extremo de una aguja hueca, opuesto al extremo de descarga de la aguja y el enfoque de dichas ondas se consigue mediante la graduación o el terminado en punta de una parte de la aguja, de manera que la pared lateral de dicha parte de la aguja tiene un grosor que disminuye hacia el extremo de descarga de la aguja.

Un objetivo de la invención consiste en lograr un método y un aparato del tipo anteriormente mencionados que permita un dispensado libre de contacto de las gotas de líquido desde la punta de una aguja de pipeteo, y que en particular permita el uso de una aguja de pipeteo que tenga alguna de las diversas formas y dimensiones adecuadas para su uso como parte de un sistema analizador para analizar muestras para fines de carácter medicinal, y que pueda ser lavada con un detergente convencional y que sea adecuada para perforar un cierre de un recipiente.

De acuerdo con un primer aspecto de la invención, el objetivo anteriormente mencionado se consigue con un método conforme a la reivindicación 1. Las configuraciones preferidas son definidas por las reivindicaciones 2 a 4.

De acuerdo con un segundo aspecto de la invención el objetivo anteriormente mencionado se logra con un dispositivo de micropipeteado conforme a la reivindicación 5. Las configuraciones preferidas vienen definidas por las reivindicaciones 5 a 11.

Los métodos y el aparato conforme a la invención tienen las ventajas siguientes:

- El método permite un dispensado libre de contacto de las gotas sin incluir una boquilla en la estructura de la aguja de pipeteado. Por tanto es posible una limpieza exhaustiva de la aguja de pipeteado.
- La consecución de los efectos técnicos alcanzados con el método, en particular el enfoque de las ondas mecánicas en la punta de suministro de la aguja de pipeteado no requiere ni depende de ninguna característica geométrica específica de la aguja de pipeteado. Este método hace posible conseguir dichos efectos usando agujas de pipeteado que tengan diversas formas y dimensiones.
- La liberación de las gotas de una aguja de pipeteado se consigue mediante el uso de un actor piezoeléctrico y no requiere el uso de ninguna pieza desplazable.
- Un sistema completo que incluya el transductor piezoeléctrico y el líquido contenido en la aguja de pipeteo puede ser simulado mediante un código FDM.

La pertinente invención se describirá ahora en los términos de sus configuraciones preferidas con respecto a los dibujos o esquemas adjuntos. Estas configuraciones se han establecido para ayudar a comprender la invención pero no se pueden considerar como limitantes o restrictivas.

Figura 1 muestra esquemáticamente un método del modelo anterior para dispensar partes alícuotas de una muestra líquida tomadas con una aguja de pipeteo 11 de un recipiente 12 en una pluralidad de recipientes 13, 14.

Figura 2 muestra esquemáticamente el principio de un método conforme a la invención para dispensar partes alícuotas de una muestra líquida tomada con una aguja de pipeteado 11 de un recipiente 12 en otro recipiente 13.

Figura 3 muestra esquemáticamente el dispensado sucesivo de las gotas 18, 19 en diferentes recipientes 13, 14, respectivamente por el método representado en la figura 2.

Figura 4 muestra esquemáticamente una etapa de simulación donde un impulso mecánico focalizado deseado 21 se aplica como impulso de excitación en un punto 22 de una aguja de pipeteado 11 donde el impulso focalizado daría lugar a un experimento real. El punto 22 es la punta del goteo de la aguja 11.

Figura 5 muestra esquemáticamente una etapa de simulación adicional que corresponde a la propagación 23 del impulso mecánico aplicado en el punto 22 en la figura 4 hacia un punto de excitación deseado en un experimento real. El punto 24 es el punto de la aguja 11 donde un impulso de excitación mecánico se aplica en un experimento real.

Figura 6 muestra esquemáticamente otra etapa de simulación donde se registra una señal 25 que corresponde a un impulso mecánico que alcanza el punto 24 en la figura 5 como un resultado de la propagación 23 representada en la figura 5.

Figura 7 muestra esquemáticamente la inversión del tiempo de la señal 25 registrada para generar un impulso de excitación 26.

Figura 8 muestra esquemáticamente la aplicación de los impulsos de excitación 26 en el punto de excitación 24 de la aguja 11 y la propagación 27 de dicho impulso hacia el punto 24 de la aguja 11.

## ES 2 293 472 T3

Figura 9 muestra esquemáticamente un impulso mecánico focalizado deseado 21 que alcanza el punto 22 como un resultado de la propagación 27 representada en la figura 8.

Figura 10 muestra un ejemplo de una forma ondulada de un impulso mecánico deseado 21 que debería llegar al punto 22 de la aguja 11 en una estructura simplificada sin tener en cuenta el líquido contenido en la aguja 11 y sin transductor electromecánico conectado mecánicamente a la aguja 11. Dicho impulso 21 se utiliza en una simulación del tipo representado en la figura 4.

Figura 11 muestra un ejemplo de una forma ondulada de una señal 25 que es registrada en el punto 24 cuando se aplica un impulso mecánico 21 en el punto 22 en una etapa de simulación del tipo representado en la figura 5 y en las condiciones mencionadas en la descripción anterior de la figura 10.

Figura 12 muestra un ejemplo de una forma ondulada de un impulso mecánico focalizado deseado 21 que alcanza el punto 22 de la aguja 10 cuando se aplica una señal 26 en el punto 24 de la aguja 11 y dicha señal 26 se obtiene a partir de una señal 25 que se muestra en la figura 11 en la etapa del método representada en la figura 7 y en las condiciones mencionadas en la descripción anterior de la figura 10.

Figura 13 muestra un diagrama de bloques de la estructura de una primera configuración del aparato de micropipeteo conforme a la invención.

Figura 14 muestra una visión ampliada de una parte del diagrama de bloques que muestra la figura 13.

Figura 15 muestra esquemáticamente la forma y las dimensiones de una primera configuración de la aguja de pipeteo 12 en la figura 1.

Figura 16 muestra esquemáticamente la forma y las dimensiones de una primera configuración de la aguja de pipeteo 12 en la figura 1.

Figura 17 muestra un ejemplo de la forma ondulada de la señal del impulso de excitación 26.

Figura 18 muestra las características de dispersión de un rayo Timoshenko.

Figura 19 representa un impulso del desplazamiento transversal deseado en un punto determinado de un rayo Timoshenko

Figura 20 representa un impulso de excitación mecánica aplicado en un punto de excitación de un rayo de Timoshenko para obtener el impulso de desplazamiento transversal mostrado por la figura 19.

### Números de referencia en las figuras

11	aguja de pipeteo
12	recipiente
13	recipiente
14	recipiente
15	posición de limpieza de la aguja de pipeteo 11
16	posición de limpieza de la aguja de pipeteo 11
17	gota /volumen de la gota sostenida por la punta de la aguja 11
18	gota
19	gota
20	
21	impulso focalizado en la punta de la aguja 11
22	punta de transporte de la gota de la aguja de pipeteo/mancha de el aguja de pipeteo donde se focaliza la onda mecánica
23	propagación de la onda a través de la aguja de pipeteo

## ES 2 293 472 T3

- 24 punto de excitación de la aguja de pipeteo
- 25 señal registrada en el punto de excitación 24
- 5 26 señal invertida del tiempo que se deriva de la señal 25/impulso de excitación/señal del impulso de excitación
- 27 propagación de la onda a través de la aguja de pipeteo
- 31 soporte de aguja
- 10 32 transductor electromecánico/transductor piezoeléctrico
- 33 generador de la señal de excitación eléctrica
- 15 34 pieza de conexión
- 35 conducto
- 36 sistema de transporte
- 20 37 unidad de control
- 38 brazo del sistema de transporte
- 25 41 recipiente
- 47 superficie libre de líquido 48 en el recipiente 41
- 30 48 líquido en el recipiente.

### *Configuración de un método conforme a la invención para el dispensado libre de contacto de un líquido*

Un método conforme a la invención se ha descrito seguidamente con respecto a las figuras 2 a 12. Este método es adecuado para dispensar un volumen de líquido en un recipiente por medio de una aguja de pipeteo y sin que exista contacto alguno entre dicha aguja y el líquido contenido en dicho recipiente.

Tal como se observa en la figura 2 en la punta 22 de una aguja de pipeteo 11 se forma un volumen de líquido 17 correspondiente al volumen de una gota que va a ser dispensada al ejercer presión en el líquido contenido en el interior de la aguja de pipeteo. Fuerzas de adhesión retienen la gota así formada adherida a la punta 22 de la aguja de pipeteo 11. Llevando a cabo el método descrito a continuación el volumen 17 es expulsado de la punta de la aguja 11 en forma de gota 18 que cae y por tanto se añade al líquido contenido en un recipiente 13. Se debería resaltar que la gota 18 cae al líquido si entrar en contacto con la aguja 11 ni con el líquido contenido en el recipiente 13.

La figura 3 ilustra un proceso de dispensado sucesivo de gotas 18, 19 en diferentes recipientes 13, 14, respectivamente, según el método representado en la figura 2.

La invención se aprovecha del hecho de que la pared tubular de la aguja de pipeteo 11 es un medio dispersivo para la transmisión de las ondas mecánicas. Debido al comportamiento en la propagación de la onda mecánica de la aguja de pipeteo una onda mecánica que se aplica en un primer punto (punto de excitación) de la aguja de pipeteo y se propaga a través de la pared tubular de la aguja viaja hacia la punta de la aguja a una velocidad que depende de la frecuencia de dicha onda.

Los hechos físicos que causan el anteriormente mencionado comportamiento de la aguja de pipeteo se pueden explicar del modo siguiente:

En el caso de un simple rayo (por ejemplo, un rayo de acero que tiene un radio de 0,005 m) que obedece la teoría de Timoshenko Beam (ver Graff, K.F., Wave Motion in Elastic Solids, Ohio State University Press, 1975), debido a las características de dispersión de dicho rayo la velocidad de fase de una onda mecánica que se propaga a través del rayo es una función de la frecuencia de la onda mecánica. La figura 18 muestra las características de dispersión del rayo de Timoshenko anteriormente mencionadas, es decir, como la velocidad de fase varía en función de la frecuencia en dicho caso. De acuerdo con la figura 18, las ondas mecánicas que tienen frecuencias superiores se propagan a través del rayo con unas velocidades de fase mayores y tienen también unas velocidades de grupo mayores que las ondas mecánicas que tienen frecuencias inferiores. Esto significa que las ondas mecánicas que tienen frecuencias mayores viajan más rápidamente que las ondas mecánicas que tienen frecuencias inferiores.

## ES 2 293 472 T3

La figura 19 representa un impulso de desplazamiento transversal que corresponde a un periodo de una señal sinusoidal con una amplitud = 1 en un punto  $x = 1$  m, es decir a una distancia de 1 m del punto del rayo donde se aplica una excitación mecánica.

5 Para obtener el impulso del desplazamiento transversal mostrado por la figura 19 es necesario aplicar en el punto de excitación del rayo una excitación mecánica que corresponda a la señal representada por la figura 20. Dicha señal se calcula usando las características de dispersión que aparecen en la figura 18 y en el espacio de frecuencia usando métodos bien conocidos basados en la Transformada de Fourier descrita por ejemplo por Doyle, J.F., *Wave Propagation in Structures*, Springer, New York, 1989.

10 La figura 20 indica que los componentes de baja frecuencia de la señal de excitación tienen que ser enviados primero, ya que la velocidad de la onda es inferior. Este es el principio básico utilizado de acuerdo con la invención para focalizar un impulso utilizando las características de dispersión de una estructura mecánica: un impulso relativamente largo es transformado por las características de dispersión del rayo en un impulso corto que se puede utilizar, por ejemplo, para liberar una gota tal como propone la presente invención.

20 Si se utiliza un tubo en lugar de un rayo como medio de transmisión de una onda mecánica, las características de dispersión necesarias para estimar la señal de excitación se pueden extraer de cualquier libro de propagación de ondas, por ejemplo Graff, K.F., *Wave Motion in Elastic Solids*, Ohio State University Press, 1975. En un tubo existen varios modos o regímenes de propagación y cada modo tiene sus propias características de dispersión. Esta propiedad se puede usar además para obtener el efecto de enfoque deseado. Un efecto de enfoque adicional se obtendrá actuando sobre los retrasos temporales adecuados de los impulsos de los diversos modos uno con respecto al otro, y obteniendo con ello un solapamiento de los impulsos correspondiente a los diversos modos en una ubicación deseada.

25 De acuerdo con una configuración preferida del método conforme a la invención, los impulsos de los diversos modos de propagación que tienen su comportamiento individual en lo que se refiere a la propagación mecánica de la onda se centralizan y superponen en la punta de la aguja de pipeteo (11). Esto se consigue, por ejemplo, produciendo unos retrasos de tiempo apropiados en los impulsos de los diversos modos, respectivamente, y logrando con ello un solapamiento de los impulsos correspondiente a los diversos modos y una concentración o focalización de la energía de dichos impulsos en la punta de la aguja de pipeteo (11).

La parte de la aguja de pipeteo utilizada conforme a la invención para la transmisión anteriormente mencionada de las ondas mecánicas se muestra en las figuras 4 a 9. Esta parte tiene la forma de un tubo capilar.

35 De acuerdo con la invención se aplica un impulso de excitación mecánico apropiado en un punto 24 de la aguja de pipeteo que se encuentra a una distancia de la punta 22 de transporte de la aguja por la cual son expulsadas las gotas. El último impulso de excitación y el sistema mecánico que comprende la aguja 11, el líquido en la aguja y el medio para generar el impulso de excitación, por ejemplo, un transductor piezoeléctrico conectado a la aguja, se han configurado de manera que el impulso de excitación tenga unos componentes de frecuencia que lleguen simultáneamente a la punta de suministro de la gota 22 de la aguja y aporten con ello un máximo de energía mecánica en dicha punta. En otras palabras, la última configuración es tal que la transmisión del impulso de excitación por el sistema mecánico anteriormente mencionado se centra en la onda mecánica en la punta 22 de la aguja de pipeteo y la reflexión de la onda focalizada en dicha punta causa la expulsión de una gota que se sostenía allí debido a las fuerzas de adhesión.

45 De acuerdo con la invención se forma una gota 17 en la punta de entrega 22 de la aguja de pipeteo 11 apretando un volumen predeterminado de líquido fuera de la aguja y formando así un menisco de líquido en la punta 22 de la aguja de pipeteo. Posteriormente puede tener lugar la transmisión anteriormente mencionada de las ondas mecánicas, por ejemplo, por una de las vías siguientes:

- 50 1) Un impulso de excitación mecánico se aplica a la aguja en un punto 24. Este impulso provoca desplazamientos en la pared tubular de la aguja 11 principalmente en la dirección axial y se focaliza en la punta 22 de la aguja. La reflexión de este impulso en la punta de transporte 22 de la aguja de pipeteo libera la gota 17 de esa punta.
- 55 2) Un impulso de excitación mecánica se aplica a la aguja 11. Este impulso provoca desplazamientos en la pared tubular de la aguja principalmente en una dirección radial. Debido al acoplamiento mecánico de la pared tubular de la aguja 11 y al líquido contenido en la aguja, el líquido dentro de la aguja también es desplazado y acelerado hacia la punta de aporte 11 de la aguja por la propagación del impulso de excitación. Este desplazamiento de fluido y el enfoque y la reflexión del impulso de excitación en la punta de transporte 22 de la aguja de pipeteo liberan la gota 17 de la punta.

El método anteriormente descrito para el dispensado de un líquido comprende esencialmente

- 65 (a) la formación de una gota 17 en la punta de transporte 22 de una aguja de pipeteo 11, estando dicha gota retenida en la punta por las fuerzas de adhesión, y
- (b) la expulsión de la gota 17 de la punta 22 concentrando una onda mecánica en la punta 22 de la aguja de pipeteo 11.

## ES 2 293 472 T3

En una configuración preferida la expulsión de la gota se consigue excitando mecánicamente la aguja por medio de un impulso de excitación que tenga una composición que concentre una onda impulsada en la punta de dicha aguja de pipeteo. Una superposición de una onda incidente focalizada con una onda reflectada en la punta de la aguja de pipeteo provoca la expulsión de la gota de la punta. Tal como se describe a continuación, mediante un proceso de simulación se obtiene una composición adecuada del impulso de excitación.

*Configuración de un método para generar un impulso de excitación que tiene una composición adecuada para realizar un método conforme a la invención*

Para generar un impulso de excitación que tenga una composición o estructura adecuadas para realizar un método conforme a la invención, la propagación de la onda de un impulso focalizado deseado en un sistema que comprende una aguja rellena con un líquido y un impulsor piezoeléctrico conectado mecánicamente a la aguja se simula por medio de un método diferencial finito (FDM). Seguidamente se calcula un impulso de excitación con una estructura adecuada para obtener el impulso focalizado deseado mediante un método de inversión del tiempo.

Para simular la propagación de la onda anteriormente mencionada se redacta un código FDM para el caso de un tubo simétrico axial, relleno de un líquido y conectado mecánicamente a un transductor piezoeléctrico. Este código FDM se basa en un código descrito en la publicación: Tesis de Tobias F. Leutenegger titulada “Detección de defectos en estructuras cilíndricas usando un método de simulación numérico de inversión del tiempo”, tesis presentada en el Instituto Federal Suizo de Tecnología, Zurich (ETH Zürich), Switzerland, nr. 14833, 2002.

El código FDM se programa con las diferencias centrales de segundo orden, el denominado mapa escalonado que se utiliza para la discretización en espacio y tiempo. El líquido es moldeado como un fluido acústico. De esta forma, se puede simular el comportamiento del sistema completo. Por medio del código FDM los impulsos de excitación necesarios para la concentración energética deseada son computerizados utilizando un método de inversión del tiempo.

El principio de este método se ha descrito del modo siguiente en lo que se refiere a las figuras 4 a 12, donde se muestra una parte de la aguja de pipeteo, y esta parte tiene la forma de un tubo capilar:

- Un experimento real con la aguja de pipeteo se ha descrito por /simulado con un código FDM. Se definen la mancha 24, donde se aplica el impulso de excitación mecánico a la aguja, y la mancha 22 donde se deberían concentrar los impulsos mecánicos.
- En el código FDM se aplica un impulso focalizado deseado 21 como impulso de excitación en la mancha 22, donde se deberían concentrar los impulsos mecánicos en el experimento real.
- La propagación de la onda mecánica es simulada durante un intervalo de tiempo que se extiende hasta que el impulso de excitación pasa a través de la mancha 24 donde se aplica el impulso de excitación a la aguja en el experimento real.
- La señal 25 registrada es invertida en el tiempo para generar una señal 26 que es la señal de excitación que se tiene que aplicar a la mancha 24, donde se aplica el impulso de excitación mecánico a la aguja en el experimento real, para obtener un impulso 21 focalizado deseado en la mancha 22, donde se deberían concentrar los impulsos mecánicos en el experimento real (ver figuras 7 a 9).

El resultado del cálculo anteriormente mencionado es la señal eléctrica 26 que se aplicará al transductor piezoeléctrico. Esta señal es generada por un generador funcional. Un tubo piezoeléctrico con electrodos en sus superficies principales (campo eléctrico radial) y la polarización radial generan principalmente los desplazamientos radiales. Un tubo piezoeléctrico con electrodos en sus superficies principales (campo eléctrico radial) y la polarización axial generan principalmente los desplazamientos axiales. La generación de los desplazamientos deseados en la aguja de pipeteo se puede obtener eligiendo un transductor piezoeléctrico adecuado.

La figura 17 muestra un ejemplo de la forma ondulada de la señal del impulso de excitación 26 obtenida tal como se ha descrito antes por simulación de la propagación de la onda en el cuerpo tubular de la aguja y por inversión temporal de la señal registrada en dicha simulación. La obtención de esta última señal del impulso de excitación 26 tiene en cuenta por tanto el comportamiento completo de la propagación de la onda de dicho cuerpo tubular, todos los modos de propagación de la onda en la gama de frecuencias empleada y su frecuencia dependiente de las velocidades de propagación.

Un método para generar una señal del impulso de excitación 26 que tenga una composición adecuada para concentrar la energía aplicada por dicho pulso en el aguja de pipeteo se ha descrito del modo siguiente. Para simplificar la descripción y facilitar la comprensión se ha descrito el método para el caso simplificado de una aguja de pipeteo que tiene la forma de un simple tubo vacío, que no contiene ningún líquido y que no está acoplado mecánicamente al transductor electromecánico. Un código FDM del caso anteriormente mencionado se ha escrito para este caso y se utiliza para la simulación.

Tres impulsos Hanning que comprenden cada uno de los cinco periodos de sus frecuencias centrales de 0,5 MHz, 1,2 MHz y 2,7 MHz se superponen simétricamente para formar un impulso deseado 21 que aparece en la figura 10, que

## ES 2 293 472 T3

debería ser el impulso resultante de enfocar el impulso de excitación aplicado a la aguja. En la simulación, el impulso deseado 21 se aplica en la mancha 22, donde se deberían centralizar los impulsos mecánicos en el experimento real, y una señal 25 que aparece en la figura 11 se registra en la mancha 24, donde el impulso de excitación mecánico se aplica a la aguja en el experimento real. La inversión del tiempo de la señal 25 registrada y la selección de una parte de esta señal con una ventana de tiempo adecuada proporciona el impulso de excitación 26. La ventana del tiempo se elige de manera que únicamente se consideran los impulsos que llegan primero, pero no aquellos ya reflejados. Un impulso de excitación 26 obtenido de esta última forma se aplica en la mancha 24 de la aguja y eso proporciona el impulso 21 focalizado deseado que aparece en la figura 12.

El significado de  $n$  y  $m$  en las etiquetas de las figuras 11 y 12 es el siguiente:

$n$  es el número de onda azimutal y describe los modos de ondas con respecto a su característica azimutal.

$n = 0$  significa que el modo de onda tiene una simetría axial.

$n = 1$  significa que los desplazamientos tienen un máximo y un mínimo en la circunferencia

$n = 2$  significa que los desplazamientos tienen dos máximos y dos mínimos sobre la circunferencia.

Los modos de un número de onda determinado  $n$  vienen numerados de acuerdo con su aspecto con  $m = 1$ ,  $m = 2$ , etc.

En el caso de un tubo capilar, por ejemplo, la parte de una aguja de pipeteo mostrada por las figuras 4 a 9, y a bajas frecuencias, existe solamente un primer modo con  $n = 0$ ,  $m = 1$  y un segundo modo con  $n = 0$  y  $m = 2$  y ambos tienen simetría axial. El primer modo es un modo torsional. A unas frecuencias suficientemente bajas el segundo modo es un modo longitudinal. Un tercer modo con  $n = 0$ ,  $m = 3$  aparece a una frecuencia de 2 MHz.

Se registran los desplazamientos en la dirección radial y axial en la superficie frontal completa del extremo izquierdo del capilar. En la figura 11 solamente se representan los desplazamientos axiales en el diámetro interno del extremo izquierdo del capilar.

Para obtener una señal de excitación más adecuada, sería conveniente registrar los desplazamientos en toda la superficie frontal del extremo izquierdo del capilar, y sería suficiente con registrar los desplazamientos en algún punto de dicha superficie.

La figura 11 muestra cuatro impulsos de diferentes modos que alcanzan la mancha 24 en la figura 5 y son el resultado de aplicar un impulso 21 en la mancha 22 en la figura 5. Los últimos cuatro impulsos tienen diferentes velocidades de grupo. Por lo tanto, tal como muestra la figura 11, estos impulsos alcanzan la superficie frontal del extremo izquierdo del capilar en diferentes momentos. El último impulso que llega a la superficie frontal última ya ha sido reflejado una vez por el extremo izquierdo y una vez por el extremo derecho del tubo capilar. No se debería tener en cuenta este impulso cuando se forma el impulso de excitación en la base de los impulsos mostrados por la figura 11. Por lo tanto, la ventana de tiempo usada para formar este impulso se debería extender desde  $t = 0$  s hasta aproximadamente  $t = 0,9 \cdot 10^{-4}$  s. La inversión en el tiempo de la parte de los impulsos que aparece en la figura 11 que están dentro de la última ventana aporta un impulso de excitación 26 (mostrado en la figura 8), cuya propagación da lugar a un impulso 21 en la mancha 22 en la figura 9. En la generación del impulso de excitación 26, es importante tener en cuenta tanto los desplazamientos axiales como radiales obtenidos por la simulación en la superficie frontal del extremo izquierdo del tubo capilar. En las figuras adjuntas solamente se representan los desplazamientos axiales.

El impulso de excitación 26 anteriormente mencionado consiste en cuatro impulsos. La figura 12 muestra seis impulsos que surgen en el extremo derecho 22 del tubo capilar cuando se aplica una excitación mecánica correspondiente a un impulso de excitación 26 en la mancha 24. Estos últimos seis impulsos son el resultado de los cuatro impulsos del impulso de excitación 26, porque por encima de los 2 MHz existen dos modos de propagación.

Cuatro de los seis impulsos anteriormente mencionados forman el impulso 21 que aparece en la zona gris de la figura 12. Otros dos modos fuera de esta zona gris se representan también en la figura 12. Estos dos modos, que no son deseables, pero que también son generados por la excitación con el impulso 26, alcanzan el extremo derecho 22 del tubo capilar en otros momentos. Estos últimos modos no interfieren con la liberación de una gota de la punta de la aguja de pipeteo, porque se encuentran fuera de la ventana del tiempo del impulso 21 deseado que se utiliza para liberar la gota.

El método que se acaba de describir es meramente un ejemplo simplificado de un método para concentrar o focalizar impulsos mecánicos. Con el objetivo de liberar gotas de la punta de una aguja de pipeteo se simula no solamente el comportamiento de un tubo capilar (aguja de pipeteo), sino que también el comportamiento de un transductor piezoeléctrico usado para aplicar los impulsos mecánicos. La simulación del comportamiento de un líquido en el interior de la aguja es menos importante que la simulación del comportamiento del tubo capilar y el transductor piezoeléctrico, porque el líquido en la aguja tiene menos influencia en el proceso para liberar una gota siguiendo el método anteriormente descrito.

## ES 2 293 472 T3

También se puede disponer de un código FDM adecuado del tipo anteriormente mencionado para realizar una simulación del comportamiento del tubo capilar y del transductor piezoeléctrico para la propagación de un impulso mecánico aplicado por el transductor al tubo capilar. Si la simulación incluye la simulación del comportamiento del transductor piezoeléctrico, se debería registrar un voltaje que corresponda a los desplazamientos que se muestran en la figura 11.

El método anteriormente descrito para generar un impulso de excitación empleado en realizar el método de dispensado anteriormente mencionado y en particular para excitar un transductor electromecánico en un aparato de micropipeteo del tipo descrito a continuación comprende esencialmente:

- a) simular por medio de un método finito de diferencias la propagación de un impulso mecánico a través de la pared de una parte de una aguja de pipeteo que tiene la forma de un tubo capilar, aplicándose dicho impulso en la simulación en la mancha donde se tiene que generar un impulso focalizado en el experimento real para expulsar con ello una gota formada en la punta de la aguja y adherida a ella por las fuerzas de adhesión,
- b) registrar una señal de impulso eléctrico que corresponda a los impulsos mecánicos que surgen en la simulación en la mancha, donde el impulso de excitación mecánico se tiene que aplicar a dicha aguja de pipeteo en realidad, y
- c) calcular una señal de impulso de excitación que se aplicará en realidad a dicho transductor piezoeléctrico, de manera que dicha señal del impulso de excitación se calcula en función de la inversión del tiempo de dicha señal registrada obtenida en la etapa b)
- d) excitar el transductor piezoeléctrico con dicha señal de impulso para excitar mecánicamente la aguja de pipeteo con un impulso de ondas que se propagarán a través de dicha aguja y se concentrarán en la punta de la misma.

### *Primera configuración de un aparato conforme a la invención para el dispensado de un líquido sin contacto alguno*

A continuación se describe una primera configuración de un aparato de micropipeteo conforme a la invención con referencia a las figuras 13 y 14. Este aparato de micropipeteo es adecuado para dispensar un volumen de líquido en un recipiente por medio de una aguja de pipeteo y sin contacto alguno entre dicha aguja y un líquido contenido en dicho recipiente.

Tal como muestra la figura 13 un aparato de micropipeteo conforme a la invención comprende una aguja de pipeteo 11, un soporte de aguja 31, un transductor electromecánico 32, un generador 33 para generar señales eléctricas, una pieza de conexión 34 que conecte fluidicamente la aguja 11 con un conducto 35 que conecte la aguja 11 con una fuente de presión positiva o negativa, un sistema de transporte 36 para el transporte del soporte de aguja 31 y una unidad de control 37 para controlar el funcionamiento de todo el sistema.

La aguja 11 tiene una sección transversal básicamente constante sobre la parte de la misma que termina en una punta 22 y dicha parte se extiende sobre más de una mitad de la longitud total de la aguja 11.

El transductor electromecánico 32 es, por ejemplo, un transductor piezoeléctrico conectado mecánicamente a la aguja de pipeteo 11. Este transductor piezoeléctrico comprende uno o más elementos piezoeléctricos.

El sistema de transporte 36 comprende un brazo 38 que lleva un soporte de aguja 31.

La figura 14 muestra un corte de sección transversal del brazo 38, el soporte de la aguja 31, el transductor electromecánico 32 y una parte de la aguja 11.

El generador de señales 33 genera una señal del impulso de excitación y aplica esta señal al transductor piezoeléctrico 32 para excitar mecánicamente la aguja de pipeteo 11 en un punto de excitación 24 con un impulso de excitación 26 que se propaga a través de la aguja 11 y se focaliza en la punta 22 de la misma (tal como se observa en las figuras 8 y 9). La última excitación mecánica causa pues la liberación de la gota desde la punta 22 de la aguja 11.

En una configuración preferida, la composición del impulso de excitación 26 se adapta a la longitud y a la característica de propagación de la onda de la parte de la aguja 11 que tienen una sección transversal básicamente constante.

En una configuración preferida, el elemento piezoeléctrico está radialmente polarizado.

En otra configuración preferida, el elemento piezoeléctrico está axialmente polarizado.

En una configuración preferida, la composición de la señal del impulso de excitación 26 aplicado al transductor piezoeléctrico 32 es tal que causa un desplazamiento básicamente radial del líquido dentro de dicha aguja.

En otra configuración preferida, la composición de la señal del impulso de excitación 26 aplicada al transductor piezoeléctrico 32 es tal que causa un desplazamiento principalmente axial del líquido dentro de dicha aguja.

## ES 2 293 472 T3

En todas las configuraciones anteriormente descritas del aparato de micropipeteo descrito con referencia a las figuras 13 y 14, la señal de excitación 26 aplicada en el punto de excitación 24 de la aguja 11 es generada por un método tal como se ha descrito antes con referencia a las figuras 4-12.

### 5 Ejemplos de agujas de pipeteo utilizadas en los aparatos anteriormente descritos

Las dimensiones de la aguja de pipeteo que aparecen en la figura 15 son las siguientes:

	<u>Dimensión</u>	<u>Tamaño en milímetros</u>
10	A1	69
	L1	86
	L2	5
15	L3	9
	D1	0,9
	D2	1,5
	D3	3
20	D4	5
	L4	13,5
	L5	0,5
	D5	0,6

25 En la configuración de la aguja de pipeteo 12 que aparece en la figura 15, la punta 23 de la aguja tiene la forma cilíndrica que se muestra y dicha punta tiene un diámetro D5. Otra configuración de la aguja de pipeteo que se muestra en la figura 16 tiene una forma y dimensiones similares, pero la punta de la aguja tiene un extremo afilado que es capaz de perforar un cierre de un recipiente.

30

35

40

45

50

55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Método para dispensar un volumen líquido en un recipiente por medio de una aguja de pipeteo y sin ningún contacto entre dicha aguja y un líquido contenido en dicho recipiente, de manera que dicho método comprende

a) la formación de una gota (17) en la punta de suministro (22) de la aguja de pipeteo (11), estando dicha gota retenida en la punta por las fuerzas de adhesión, y

b) la expulsión de dicha gota (17) de dicha punta (22) debido a la concentración de una onda mecánica en dicha punta de la aguja de pipeteo(11), de manera que dicho enfoque se consigue excitando un transductor electromecánico (32) con una señal del impulso de excitación (26) y aplicando esta señal a dicho transductor electromecánico (32) para excitar mecánicamente dicha aguja de pipeteo (11) con un impulso de las ondas mecánicas que se propagará a través de dicha aguja, de manera que dicho método se **caracteriza** porque el impulso tenga una composición predeterminada calculada para ser focalizada en esa punta de dicha aguja de pipeteo por la propagación mecánica de la onda, una superposición de una onda incidente focalizada con una onda reflejada en la punta de la aguja de pipeteo causando la expulsión de dicha gota (17) de dicha punta.

2. Un método conforme a la reivindicación 1, donde dicha señal del impulso de excitación (26) se adapta a la longitud y al comportamiento de propagación de la onda de dicha aguja de pipeteo (11).

3. Un método conforme a la reivindicación 1, donde los impulsos de varios modos de propagación mecánica de la onda que tienen su propio comportamiento individual de propagación son focalizados y se solapan en la punta de el aguja de pipeteo (11).

4. Un método conforme a una de las reivindicaciones 1 a 3, donde dicho impulso de excitación (26) es generado

(a) simulando la propagación de un impulso mecánico por medio de un método finito de diferencias que atraviesa la pared de una parte de la aguja de pipeteo que tiene la forma del tubo capilar, aplicándose dicho impulso en la simulación en la mancha (22), donde en el experimento real se genera un impulso focalizado para expulsar con ello una gota (17) formada en la punta de transporte (22) de la aguja (11) y adherida a ella por las fuerzas de adhesión.

(b) registrando una señal del impulso eléctrico (25) que corresponda a los impulsos mecánicos que surjan en la simulación en la mancha (24) donde el impulso de excitación mecánico se tiene que aplicar a dicha aguja de pipeteo (11) en realidad, y

(c) calculando una señal del impulso de excitación (26) que se aplicará en realidad a dicho transductor piezoeléctrico (32), de forma que esa señal del impulso de excitación se calcule en función de la inversión del tiempo de dicha señal registrada (25) obtenida en la etapa (b).

(d) excitando el transductor piezoeléctrico con dicha señal del impulso para excitar mecánicamente la aguja de pipeteo con un impulso de ondas que se propagarán a través de dicha aguja y se concentrarán en la punta de la misma.

5. Aparato de micropipeteo para el dispensado de un volumen líquido en un recipiente por medio de una aguja de pipeteo y sin contacto alguno entre dicha aguja y un líquido contenido en dicho recipiente, comprendiendo dicho aparato

a) una aguja de pipeteo (11) que tenga un primer extremo que comprenda una punta de transporte y un segundo extremo que esté conectado a una fuente de presión positiva o negativa,

b) un transductor electromecánico (32) conectado mecánicamente a dicha aguja de pipeteo (11) en una primera parte de la misma que comprende el segundo extremo de la aguja de pipeteo, estando una segunda parte de la aguja extendida entre dicha primera parte y hasta dicha punta de transporte, y

c) un medio generador de la señal eléctrica (33) para generar una señal del impulso de excitación (26) y para aplicar esta señal a dicho transductor electromecánico (32) para excitar mecánicamente dicha aguja de pipeteo (11) con un impulso de ondas mecánicas que se propagan a través de dicha aguja,

de forma que dicho aparato se **caracteriza** porque

el medio generador de la señal eléctrica (33) genera un impulso que tiene una composición predeterminada calculada para ser focalizada en la punta de la misma por el comportamiento de propagación mecánica de la onda de dicha aguja de pipeteo, de manera que la excitación mecánica provoque la expulsión de una gota (17) formada en la punta de transporte de dicha aguja de pipeteo.

6. Un aparato de micropipeteo conforme a la reivindicación 5, donde el medio generador de la señal eléctrica (33) genera una señal del impulso de excitación (26) que se adapta a la longitud y al comportamiento de propagación mecánica de las ondas de dicha aguja de pipeteo (11).

## ES 2 293 472 T3

7. Un aparato de micropipeteo conforme a la reivindicación 5, donde dicho transductor electromecánico (32) es un transductor piezoeléctrico.

5 8. Un aparato de micropipeteo conforme a la reivindicación 7, donde dicho transductor piezoeléctrico (32) está polarizado radialmente.

9. Un aparato de micropipeteo conforme a la reivindicación 7, donde dicho transductor piezoeléctrico (32) está polarizado axialmente.

10 10. Un aparato de micropipeteo conforme a cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, donde dicha señal del impulso de excitación (26) aplicada a dicho transductor piezoeléctrico (32) se ha configurado de manera que produce un desplazamiento principalmente radial del líquido en dicha aguja (11).

15 11. Un aparato de micropipeteo conforme a cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, donde dicha señal del impulso de excitación (26) aplicada a dicho transductor piezoeléctrico (32) se ha configurado de manera que causa un desplazamiento principalmente axial del líquido dentro de dicha aguja (11).

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

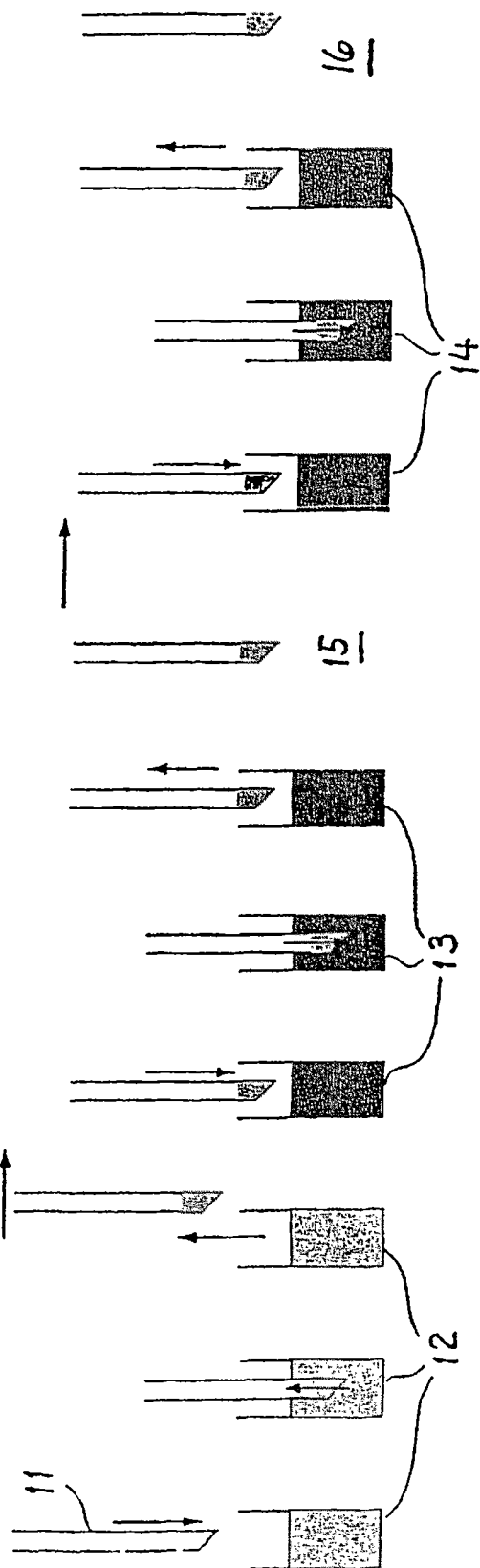


Fig. 1

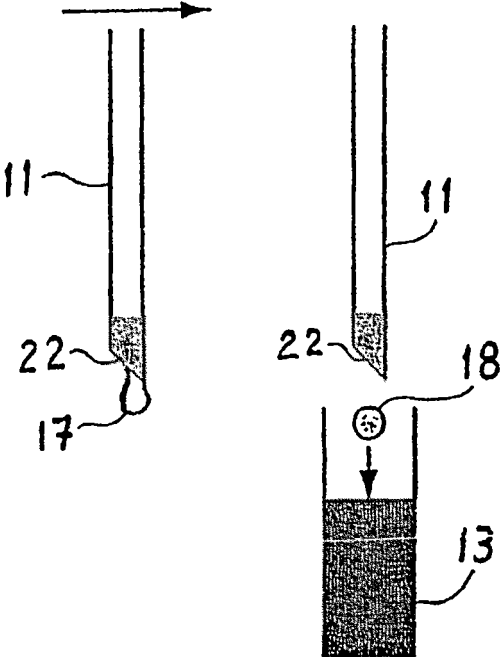


Fig. 2

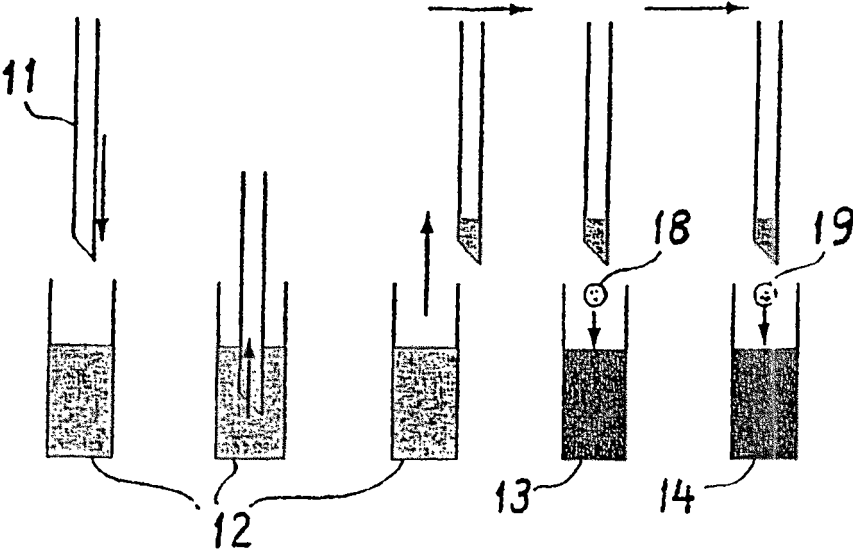
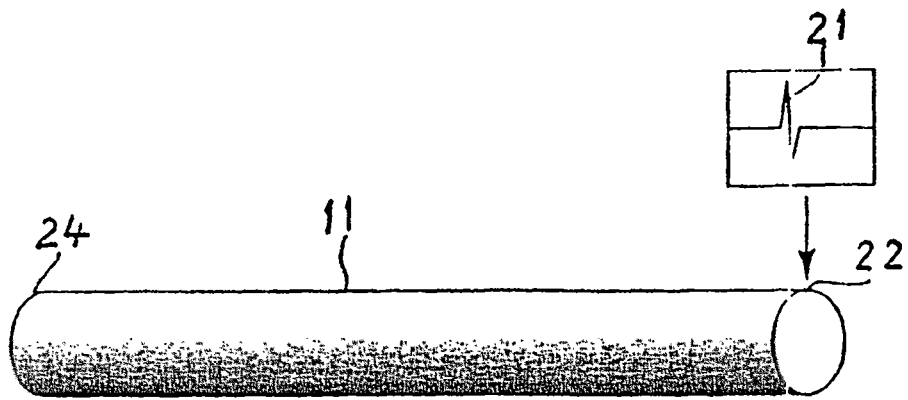
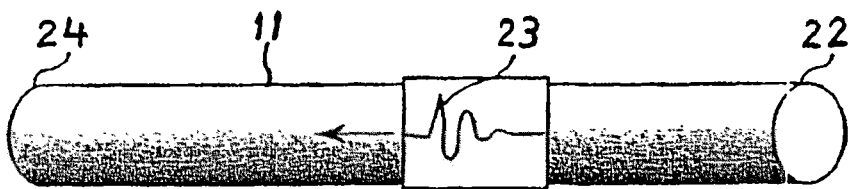


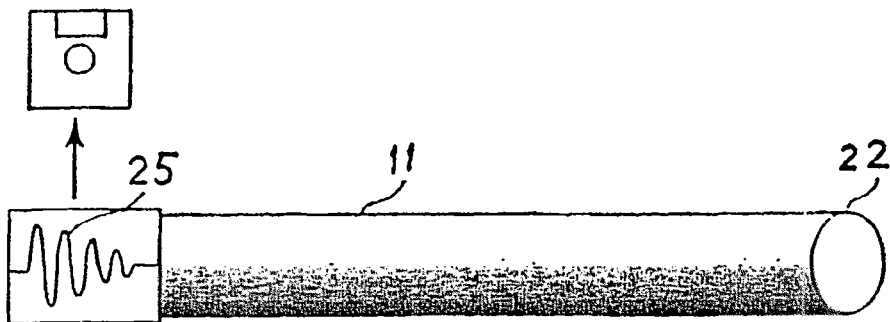
Fig. 3



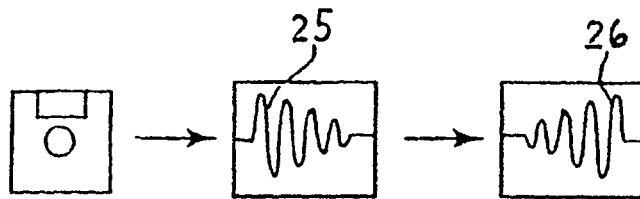
**Fig. 4**



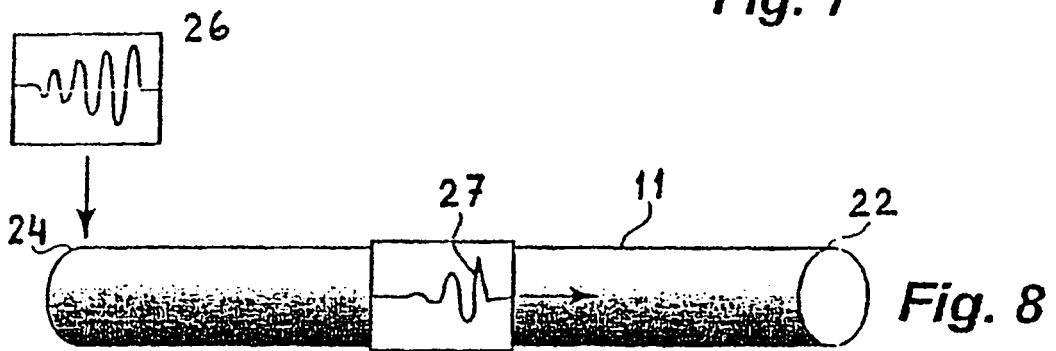
**Fig. 5**



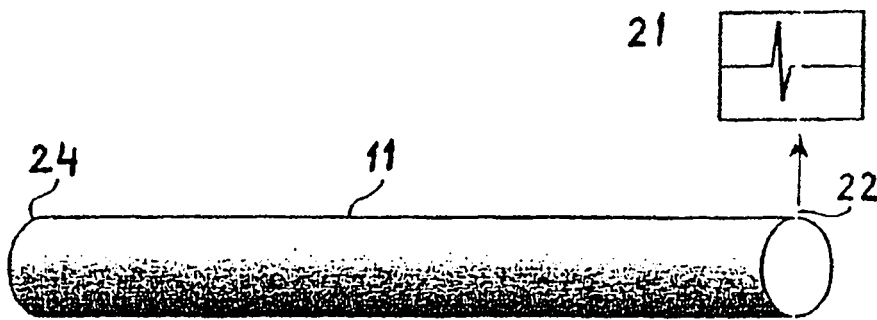
**Fig. 6**



**Fig. 7**



**Fig. 8**



**Fig. 9**

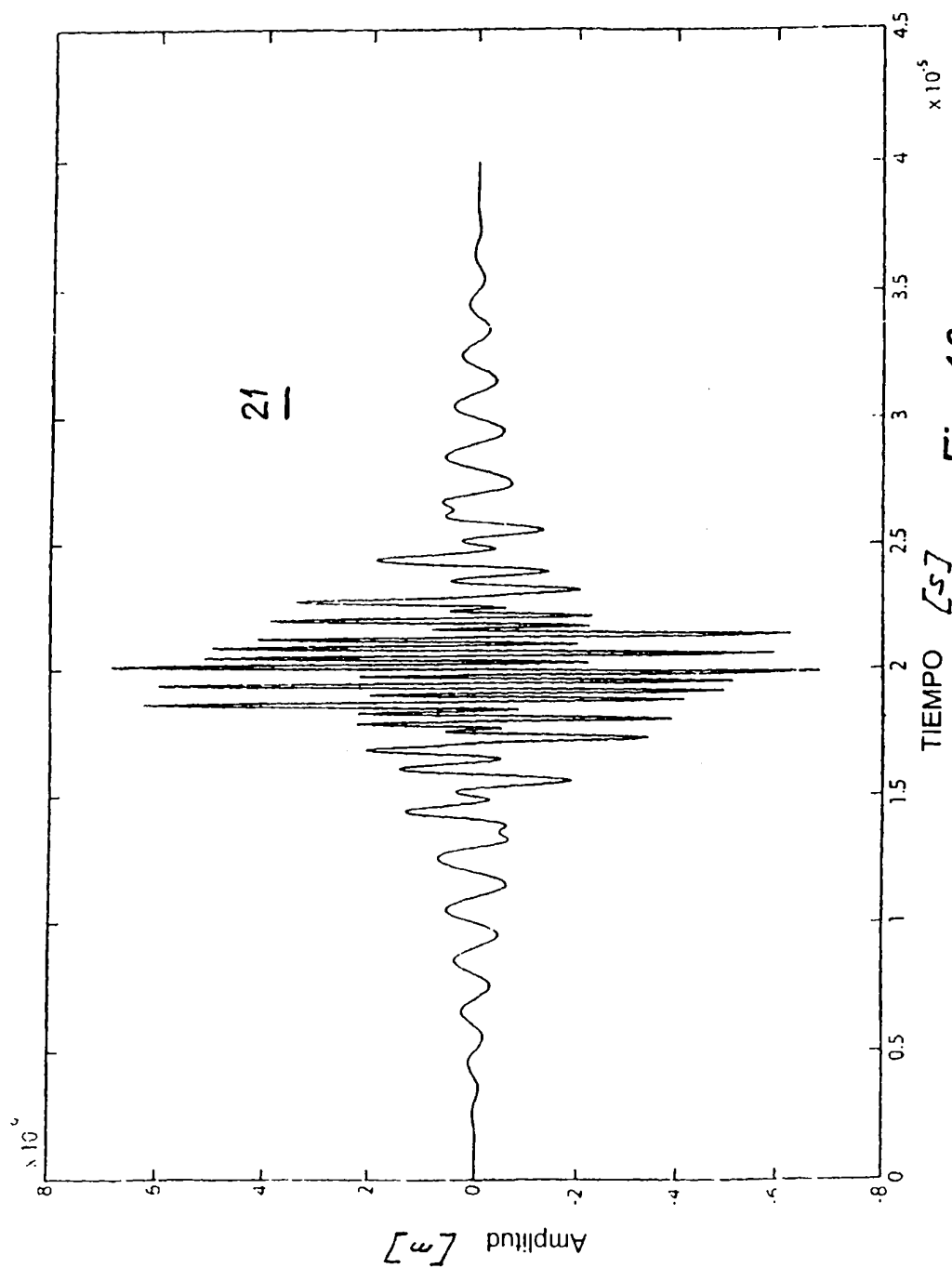
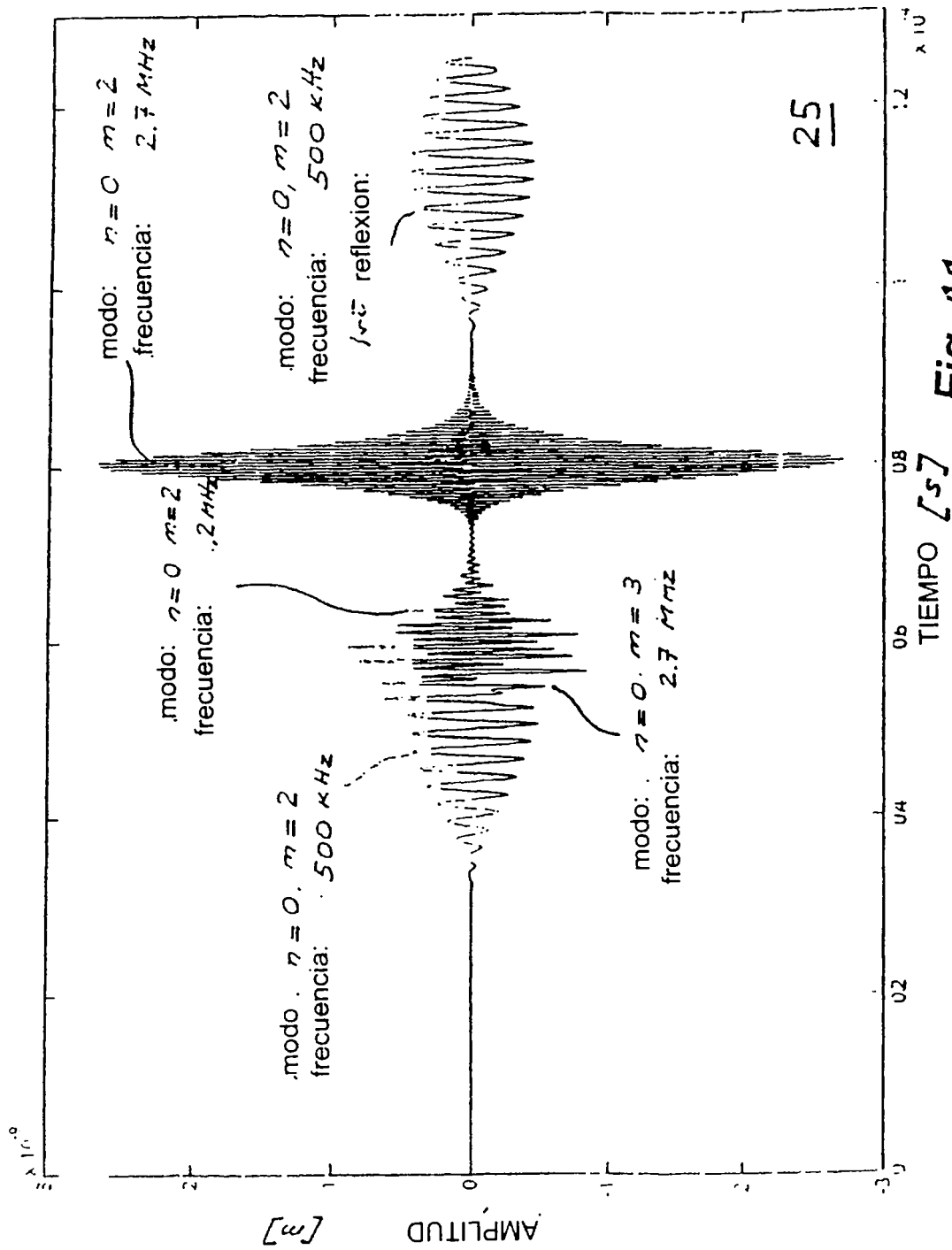
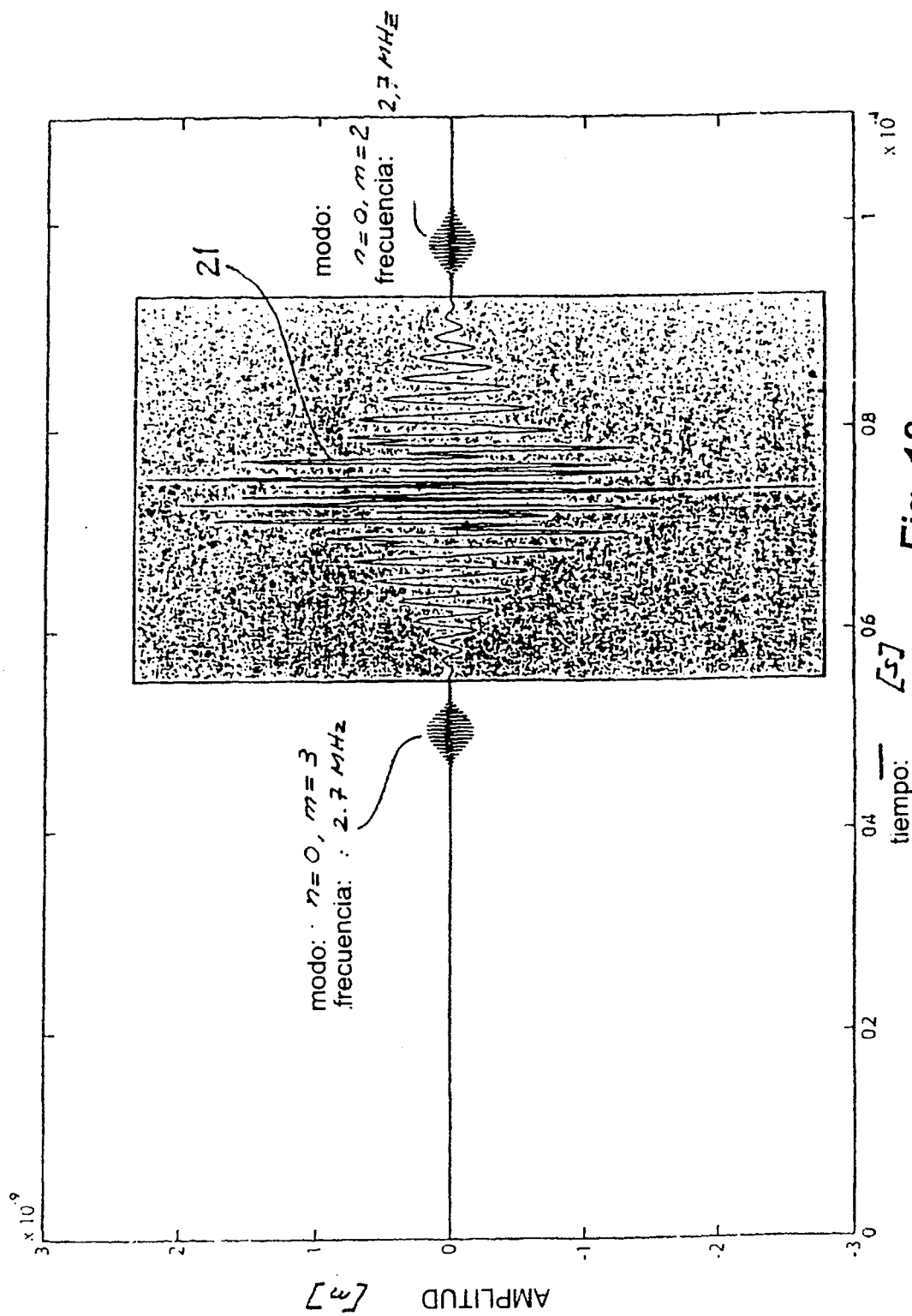


Fig. 10



25

Fig. 11



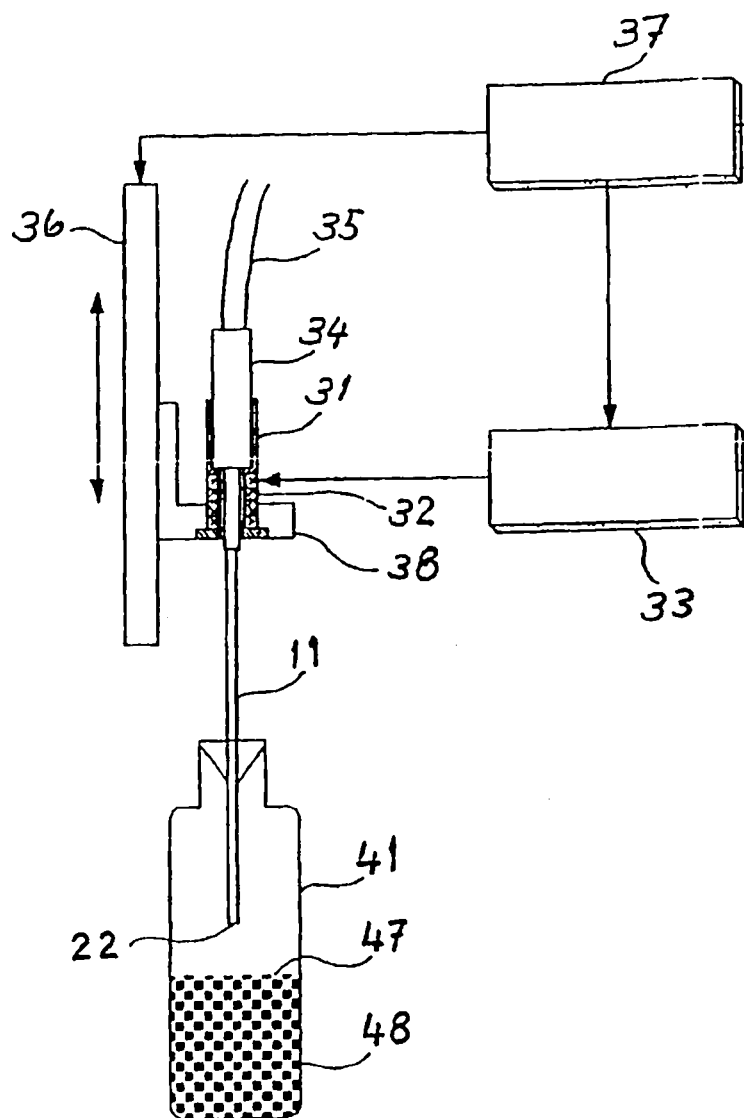
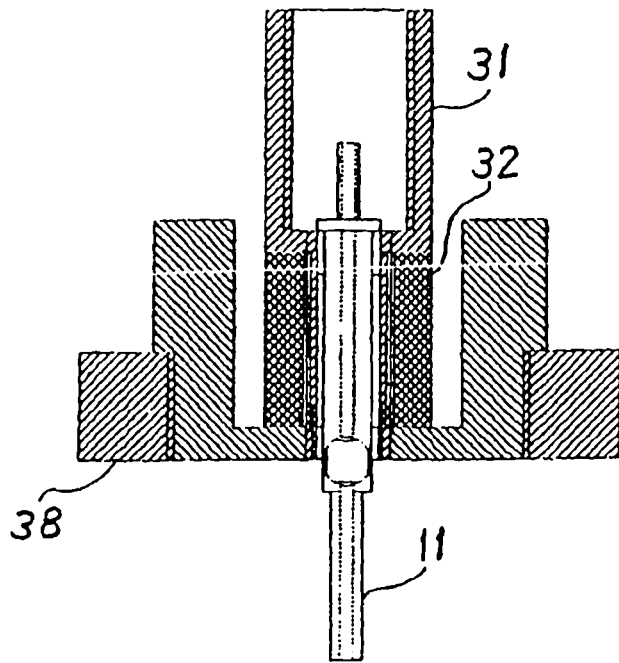


Fig. 13



**Fig. 14**

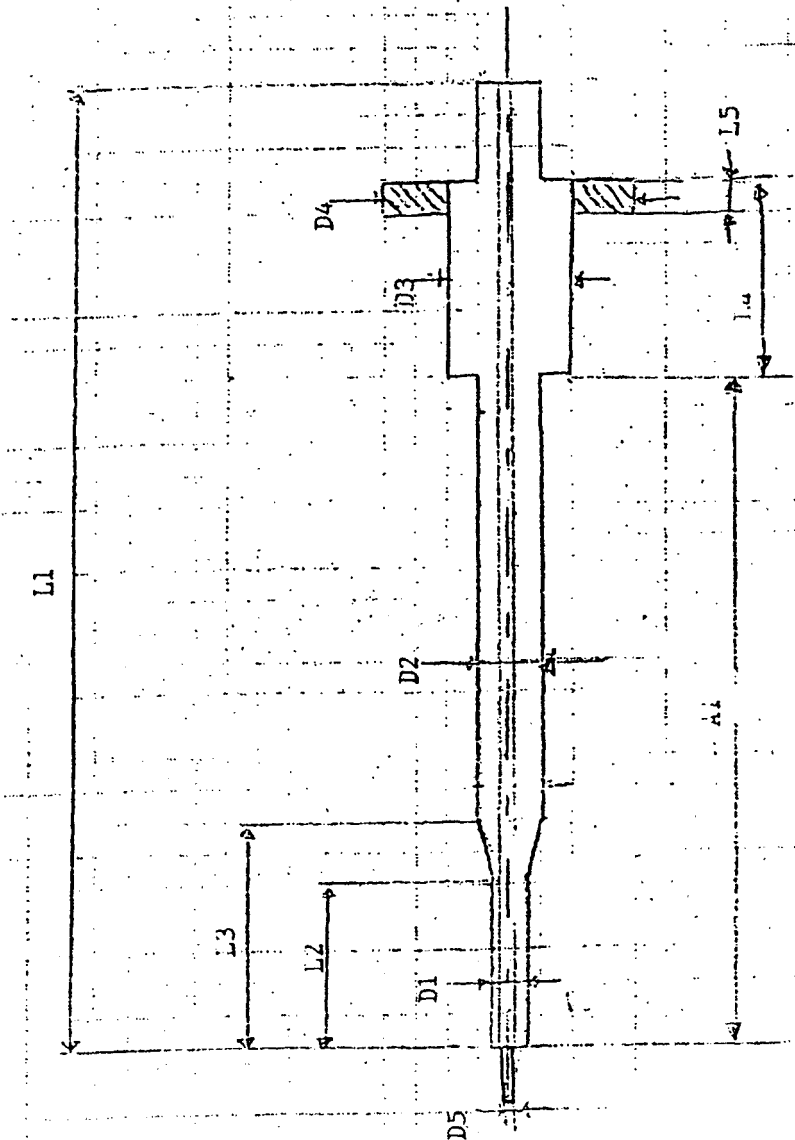


Fig. 15

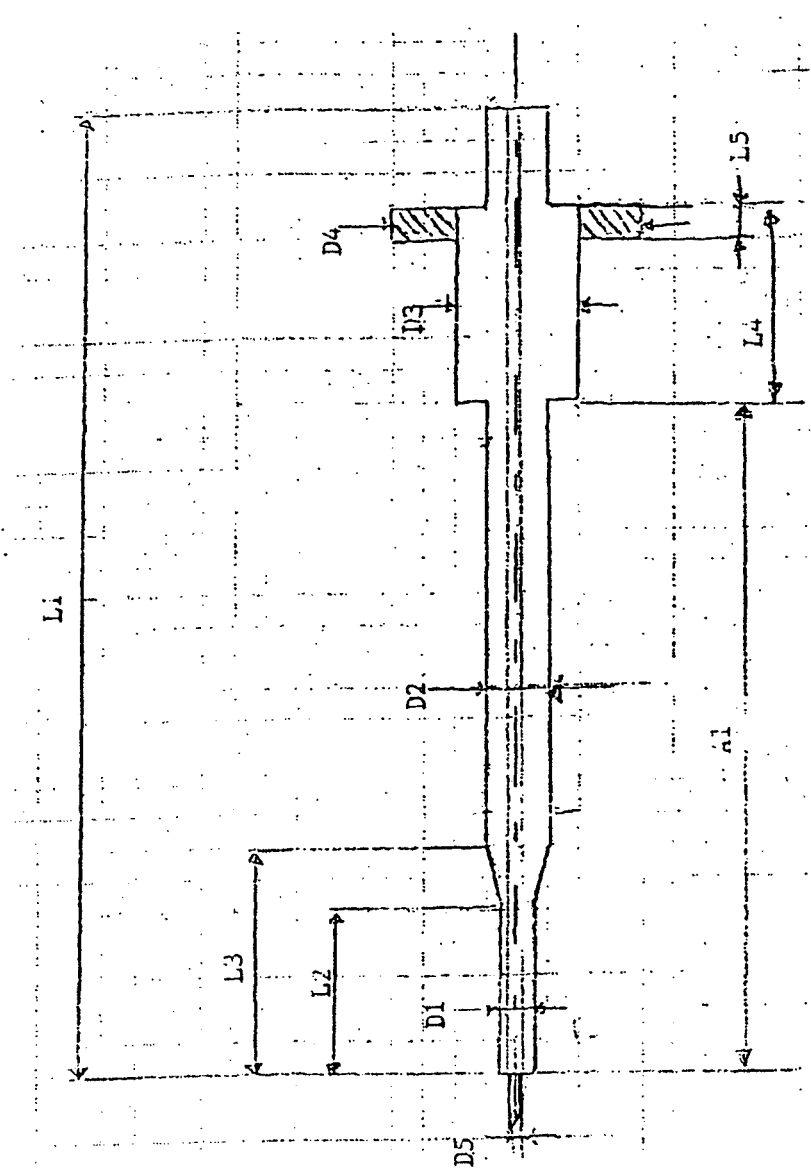


Fig. 16

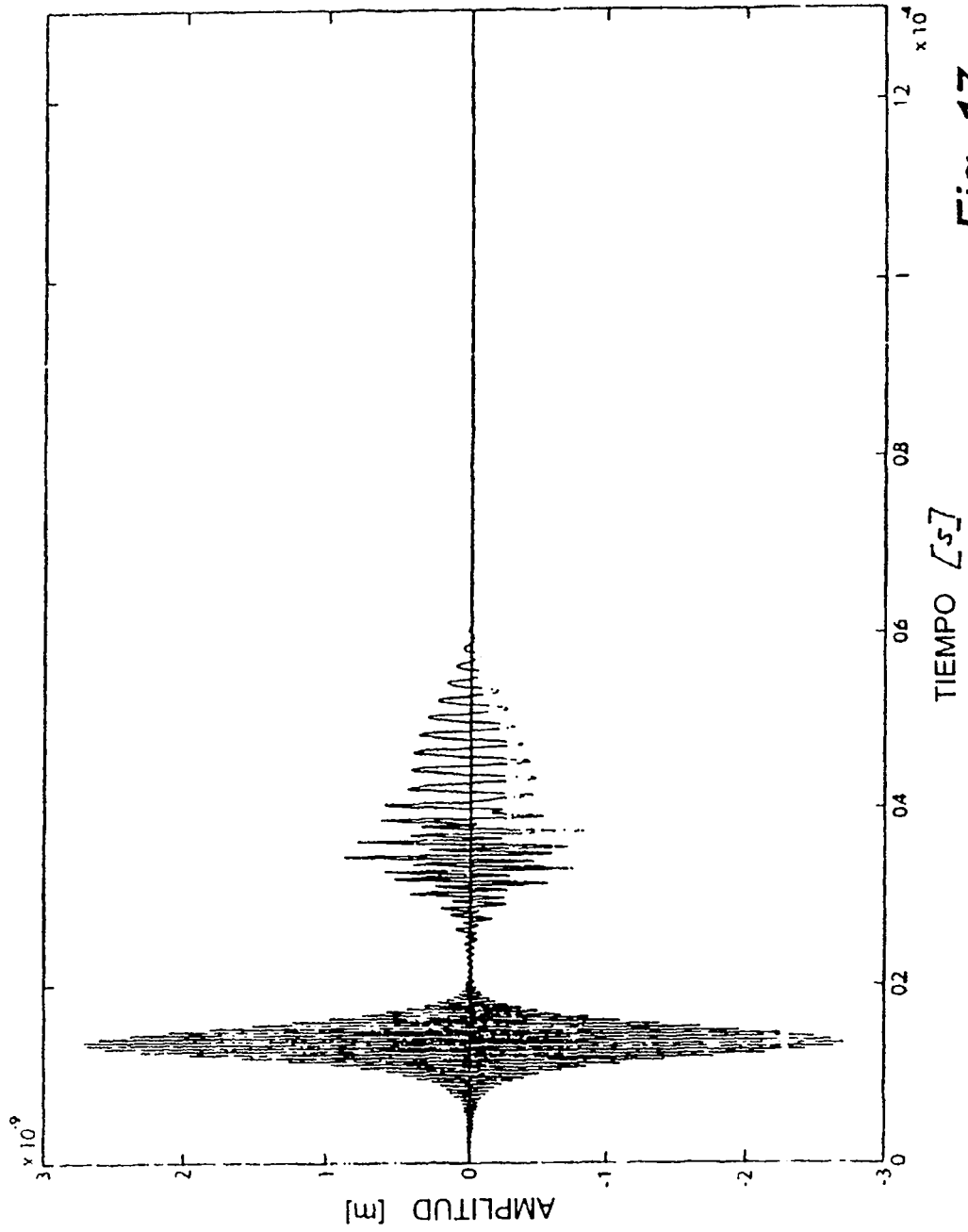
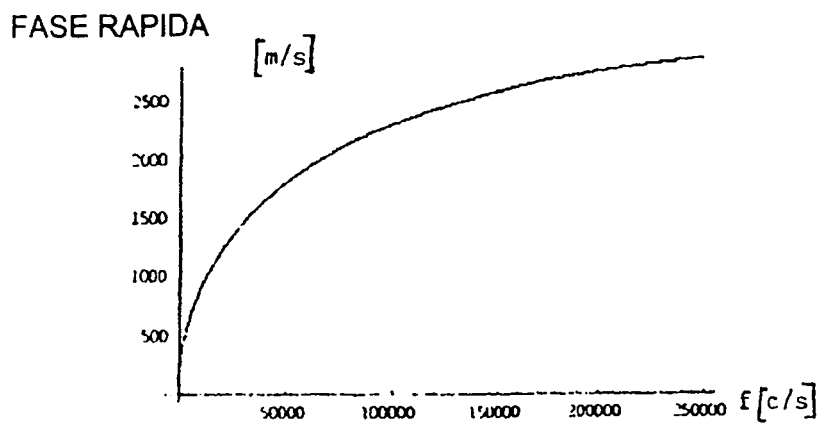
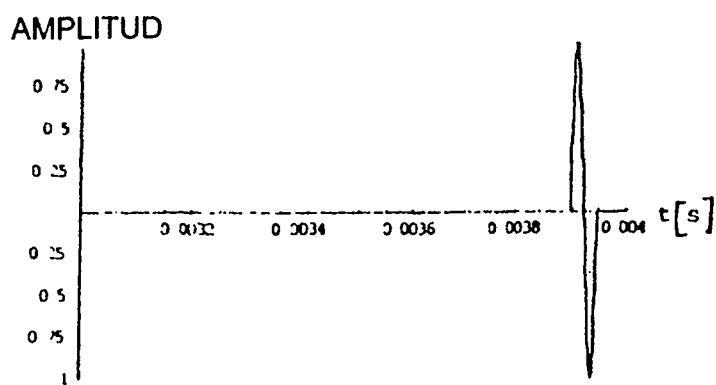


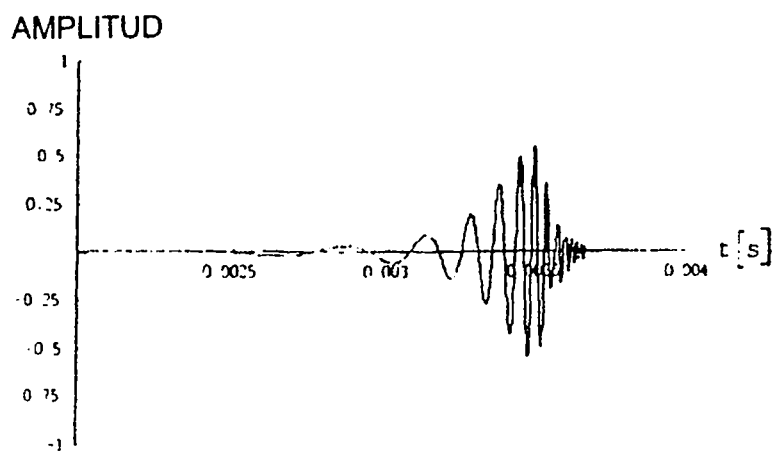
Fig. 17



**Fig. 18**



**Fig. 19**



**Fig. 20**