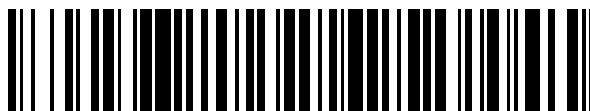


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 650 264**

51 Int. Cl.:

G01F 23/296 (2006.01)
B01L 3/02 (2006.01)
G01N 29/11 (2006.01)
G01N 35/10 (2006.01)
G01N 29/032 (2006.01)
G01N 29/24 (2006.01)
G01N 29/30 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.01.2009** **PCT/EP2009/000380**
87 Fecha y número de publicación internacional: **27.08.2009** **WO09103392**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.01.2009** **E 09711764 (2)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.09.2017** **EP 2247927**

54 Título: **Procedimiento para el control del estado de una pipeta, procedimiento de pipeteado, dispositivo de pipeteo y tubo de succión para un dispositivo de pipeteo**

30 Prioridad:

18.02.2008 DE 102008009626

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.01.2018

73 Titular/es:

BECKMAN COULTER, INC. (100.0%)
250 S. Kraemer Boulevard
Brea, CA 92821, US

72 Inventor/es:

WASSERMEIER, MATTHIAS;
VON GUTTENBERG, ZENO y
RÖHRS, FRIDO

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 650 264 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).

DESCRIPCIÓN

Procedimiento para el control del estado de una pipeta, procedimiento de pipeteado, dispositivo de pipeteo y tubo de succión para un dispositivo de pipeteo

5

La presente invención se refiere a un procedimiento para el control del estado de una pipeta que incluye un tubo de succión y una punta de pipeta, un procedimiento de pipeteo con empleo de tal procedimiento, un dispositivo de pipeteo y un montaje de tubo de succión para un dispositivo de pipeteo, con los cuales puede llevarse a cabo ese procedimiento.

10 Por ejemplo, en la técnica analítica a menudo es necesario dosificar cantidades pequeñas de fluido con una alta precisión para lo cual se utilizan pipetas. Precisamente, en los procedimientos automatizados de pipeteo es importante al hacerlo saber con exactitud cuál es el estado de la pipeta, es decir, en particular la funcionalidad correcta o la capacidad de llenado. Además, puede resultar útil conocer el instante en el que la pipeta entra en contacto con la superficie del fluido durante la aproximación a ese fluido.

15

De acuerdo con un procedimiento descrito en la patente US-5-428-997, el extremo en forma de espiga de un transmisor ultrasónico penetra en el fluido. La frecuencia de resonancia ultrasónica es observada con el fin de obtener una medida para el instante de la inmersión. En US-2003/0200801 A1 se describe un procedimiento en el cual hay dispuestos dos electrodos concéntricos en la punta de una pipeta, que entran en cortocircuito al entrar en contacto con el fluido, emitiendo en ese caso una señal al alcanzar la superficie del fluido. Otros procedimientos utilizan puntas de pipetas conductoras de corriente, cuya capacidad varía al sumergirse en el fluido.

20

Para minimizar el riesgo de contaminación en el fluido durante la inmersión se utilizan, por ejemplo, puntas de pipeta intercambiables. La configuración especial de las correspondientes puntas desechables, por ejemplo como puntas conductoras o con electrodos separados, hace que los costes sean, en ese caso, elevados.

25

Un procedimiento descrito en la patente US-5.705.750 mide la distancia respecto a la superficie de un fluido mediante valoración de la duración de un pulso ultrasónico emitido en dirección de la superficie del fluido, para lo cual se requiere el correspondiente dispositivo de medición.

30

La patente US-5.465.629 describe un sensor de inmersión en el cual la columna de aire es estimulada en el interior de la pipeta para que oscile. Dependiendo de si el orificio de succión de la pipeta está abierto o cerrado, cuando la pipeta se encuentra por ejemplo en el fluido, varía la característica de oscilación de la columna de aire en el tubo de succión de la pipeta. Para estimular la oscilación en la columna de aire se necesita una fuente de sonido. Si el instante de la inmersión se determina, por otro lado, mediante un incremento de presión verificable en el interior de la pipeta, la corriente de aire definida debe regularse con mucha precisión mediante el orificio de succión de la pipeta.

35

EP-1 596 169 A1 describe un dispositivo de detección para la detección del contacto de una aguja de pipeta con una superficie de fluido por medio de señales acústicas, que se acopla en la aguja de la pipeta empleando piezoactuadores de un soporte de pipeta como estimulación de oscilación. Si la estimulación de oscilación es de alta frecuencia, se registra la amplitud y la fase de vibración longitudinal estimulada en la aguja de la pipeta. Si la aguja de la pipeta desciende sobre un fluido, la puesta en fase de la vibración longitudinal estimulada cambia en particular tan pronto como la punta de la aguja de la pipeta entra en contacto con la superficie del fluido. A partir de la variación registrada de la puesta en fase se determina el instante del contacto de la punta de la pipeta con la superficie del fluido.

45

JP-2000 157543 A presenta un elemento piezoeléctrico, en el cual las dos partes finales del elemento citado están revestidas con un medio de soldadura y representan respectivamente una masa. Por ello, la pieza central del elemento piezoeléctrico es dominante en el área de oscilación, y la oscilación en ambos extremos de dicho elemento se restringe por medio de las dos masas externas.

50

US-4 864 856 A presenta un dispositivo de captación del nivel de fluido consistente en un vibrador para la vibración de un depósito de muestras y en un elemento piezoeléctrico equipado con un componente de succión y que muestra una abertura de succión para la aspiración del fluido de las muestras. Las variaciones en la tensión de salida del elemento piezoeléctrico se leen cuando el elemento succionador se mueve en vertical. Un posible contacto del extremo del elemento succionador con el fluido de muestra se detecta por medio del cambio de la tensión de salida, y entonces el nivel del fluido de la muestra queda registrado.

55

Es tarea de la invención conseguir la mejora de la supervisión y la fiabilidad del procedimiento automático de pipeteo. Esa tarea se resuelve por medio de un procedimiento y un dispositivo con las características expuestas en las reivindicaciones 1 y 13. Las formas de realización preferidas resultan de las reivindicaciones dependientes.

60

El procedimiento según la invención sirve para el control del estado de una pipeta, que incorpora un tubo de succión y una punta de pipeta. El ultrasonido se aplica a la pared del tubo de succión y la atenuación de la señal ultrasónica se mide dependiendo de la frecuencia. La atenuación registrada en dependencia de la frecuencia se compara con al

65

menos una medición referencial de la atenuación dependiente de la frecuencia o una curva de calibración basada en mediciones referenciales. Por medio del cotejo se establece si la pipeta recibe fluido o contacta con él.

La posible divergencia de un desarrollo esperado puede emplearse por ejemplo para completar una señal de advertencia.

Con este procedimiento según la invención se emplea por lo tanto la atenuación de la señal de ultrasonido para la detección, que se activa durante la interacción del ultrasonido en la pared de la pipeta. Las vibraciones provocadas por el ultrasonido en el sistema, que incluye la pared, la punta de la pipeta y el transmisor ultrasónico, reaccionan con gran sensibilidad a variaciones del estado de la pipeta. Si la pipeta está por ejemplo deteriorada o le falta un componente, por ejemplo la punta, ello se reflejará en la atenuación de la señal ultrasónica. Las oscilaciones estimuladas en el sistema reaccionan además de forma muy sensible a la densidad adicional de masa, como ocurre, por ejemplo, durante la inmersión de la pipeta en un fluido o durante la aspiración de fluido.

Para la medición de la atenuación dependiente de frecuencias puede enviarse, por ejemplo, una señal ultrasónica en un rango de frecuencia con una anchura de banda determinada y analizar la señal medida con la ayuda de un aparato analizador de frecuencias, por ejemplo un analizador de red. En el caso de seguir un procedimiento distinto, la frecuencia conectada variará con el paso del tiempo.

Por ejemplo, pueden compararse determinadas características seleccionadas, parámetros aislados o la evolución de la señal de atenuación medida y dependiente de frecuencias, así como la medición de referencia. Una medición referencial puede abarcar asimismo la determinación de uno o varios valores umbral, cuya desviación al alza o a la baja puede compensarse mediante parámetros de medición correspondientes para la detección.

En su caso, puede recurrirse para el cotejo a una curva de calibración combinada partiendo de mediciones referenciales en condiciones divergentes.

Al menos una medición referencial para comparar la atenuación medida y dependiente de frecuencias puede efectuarse con una pipeta de construcción idéntica. Sin embargo, es particularmente ventajoso utilizar la pipeta con el tubo de succión y la punta de la pipeta, que se usa también en la medición efectiva, con el fin de evitar posibles errores a causa de configuraciones diferentes de pipetas.

La atenuación dependiente de frecuencias puede medirse por ejemplo en relación con puntos temporales definidos. Resulta ventajosa la medición continua de la señal de atenuación para posibilitar un control impecable.

De forma preferible, se selecciona un rango de frecuencia para la medición en el cual se encuentra como mínimo un modo propio del sistema utilizado. Resulta posible entonces llevar a cabo una sencilla comparación del valor de frecuencia de resonancia de la señal de atenuación medida con el valor de frecuencia de resonancia de una medición referencial o de una curva de calibración basada en las frecuencias de resonancia en el caso de condiciones diferenciadas. En el caso de una configuración diferente se compara la amplitud de resonancia del modo propio. También pueden emplearse otras características de un modo propio para el cotejo, como por ejemplo la anchura a mitad de intensidad o la superficie del modo propio.

Al hacerlo, resulta especialmente adecuado que la disposición para la ejecución del procedimiento se haya elegido de forma que el ultrasonido se aplique a la pared de modo que se estimulen sobre todo modos transversales. Resulta ventajoso, por ejemplo, fijar el piezoactuador en el tubo de succión de modo que se ejerzan básicamente movimientos de tensión cortante en el tubo de succión. Los modos transversales presentan por ejemplo una sensibilidad muy alta respecto a una densidad másica que pueda surgir al sumergir la punta de la pipeta en el fluido.

De acuerdo con la invención, se usa un piezoactuador para aplicar el ultrasonido en la pared del tubo de succión. Un piezoactuador es económico y puede fijarse sin dificultades, por ejemplo, en la pared exterior del tubo de succión. Puede incluir, por ejemplo, un componente cerámico de titanato zirconato de plomo.

Para aumentar la sensibilidad del actuador, por ejemplo en el instante de la inmersión, la profundidad de inmersión o la altura de llenado de la pipeta proporciona un peso adicional junto con el piezoactuador. El peso adicional permite aumentar, a modo de ejemplo, los valores de variación de frecuencia y atenuación durante la inmersión de la pipeta o la absorción de fluido en ella o al expulsar fluido de ella.

Una configuración simple del procedimiento prevé que intervenga un peso adicional, que se fija en el lado opuesto al tubo de succión del piezoactuador, simplemente pegado a él. Especialmente favorable es un peso adicional que suponga entre 0,1 y 10 veces, de forma preferible entre 0,5 y 2 veces, el peso del tubo de succión.

Preferiblemente, el piezoactuador puede emplearse no solo como emisor de ultrasonidos, sino también como receptor de la señal ultrasónica atenuada.

El rango de frecuencia utilizado para la señal ultrasónica se determina mediante las características especiales de la geometría empleada de pipeta, es decir, en particular por medio de las dimensiones y materiales del tubo de succión,

de la punta empleada de la pipeta y del peso adicional disponible en su caso, seleccionándose preferiblemente un rango de frecuencia en el cual puede estimularse un modo propio. Una alta sensibilidad puede alcanzarse, por ejemplo, seleccionando las frecuencias ultrasónicas de un rango de 1 a 10 veces el cociente resultante de la velocidad del sonido en el material de la pipeta y una dilatación geométrica característica de la pipeta, en particular de su longitud.

5 Para reducir el riesgo de contaminación es ventajoso emplear puntas de pipeta desechables. Para ello pueden utilizarse pipetas de dos piezas, incluyendo la primera de ellas el tubo de succión y la segunda la punta de la pipeta, que preferiblemente debe ser extraíble.

10 Con el procedimiento según la invención para el control del estado puede determinarse, en especial en el caso de pipetas de dos piezas, si la pipeta está completa. El procedimiento es utilizable de forma ventajosa sobre todo en el procedimiento automatizado con puntas desechables de pipetas, puesto que la persona encargada puede verificar la existencia de la punta de la pipeta sin necesidad de control visual. La falta de la punta de la pipeta se refleja en la atenuación ultrasónica dependiente de frecuencias, y por ello es fácilmente demostrable. Esto resulta especialmente ventajoso en el uso de procedimientos automatizados de pipeteo, en los cuales un robot usa en paralelo múltiples pipetas.

15 El procedimiento según la invención para el control del estado de pipetas puede emplearse de forma ventajosa en procedimientos de pipeteo. Con el procedimiento según la invención puede verificarse, por ejemplo, el estado de una pipeta con el efecto de saber si la punta de la pipeta contacta con un fluido que hay que pipetear. Con tal propósito puede compararse una atenuación dependiente de frecuencias con una medición referencial de la atenuación citada efectuada en una pipeta, que no está en contacto con ningún fluido. Por ejemplo, un desplazamiento o un aplanamiento de la señal de frecuencia de resonancia puede detectarse con alta precisión, de modo que el punto de inmersión puede determinarse con exactitud.

25 Tras la inmersión en el fluido de la punta de la pipeta detectable de esa manera el fluido es absorbido en la pipeta. El fluido puede entonces transportarse con la pipeta a otro sitio y eliminarse de nuevo de la pipeta.

30 En ese tipo de procedimiento resulta especialmente fácil sumergir la pipeta con el tubo de succión y la punta de la pipeta desde un punto situado por encima de la superficie del fluido que hay que pipetear en la dirección del fluido. Durante la operación de descenso, la atenuación dependiente de frecuencias puede medirse con el fin de obtener una señal de referencia antes de la inmersión. Un nuevo descenso hará que la punta de la pipeta contacte con la superficie del fluido, con lo cual producirá un cambio en la señal de atenuación dependiente de frecuencias. En este tipo de configuración ventajosa se mide la atenuación dependiente de frecuencias durante el descenso de la pipeta en dirección al fluido para determinar a partir del cambio de la señal de atenuación dependiente de frecuencias el punto de contacto de la punta de la pipeta con la superficie del fluido.

35 Para poder caracterizar el pipeteado, en una configuración de la invención se cierra desde la señal de atenuación dependiente de frecuencias en el estado de la pipeta respecto a la profundidad de inmersión en un fluido. Cuanto más se sumerge la punta de la pipeta en el fluido, con más fuerza cambia la señal de atenuación dependiente de frecuencias frente a la medición referencial en la que se encuentra la pipeta fuera del fluido.

40 En otro procedimiento de pipeteado según la invención se supervisa la señal de atenuación dependiente de frecuencias durante la aspiración de fluido en la pipeta para obtener así información sobre la cantidad de fluido ya succionado, que asimismo influye en la atenuación dependiente de frecuencias. El fluido absorbido puede entonces transportarse con la pipeta hacia otro sitio y liberarse de nuevo.

45 Por último, en un procedimiento de pipeteado distinto puede determinarse con gran precisión desde una señal de atenuación dependiente de frecuencias, que se supervisa durante la expulsión del fluido de la pipeta, cuándo ha alcanzado la pipeta el estado de vaciado integral al final de un proceso de pipeteado. Para este tipo de procedimiento se supervisa la señal de referencia dependiente de frecuencias durante el proceso de expulsión.

50 Un procedimiento de pipeteado adicional según la invención utiliza el procedimiento según la invención para controlar el estado de la pipeta con el fin de determinar el tipo de fluido que se encuentra en la pipeta durante el proceso de pipeteado. El uso de fluidos distintos, por ejemplo con una densidad diferente, provoca un comportamiento diferenciado de la atenuación ultrasónica del tubo de succión en el que los fluidos se encuentran. Por consiguiente, la señal de atenuación del tubo de succión puede utilizarse mediante comparación con mediciones referenciales correspondientes, también para la determinación del tipo de fluido. Para la caracterización también es posible recurrir a otras cualidades físicas o químicas del fluido, que pueden tener influencia sobre la atenuación del tubo de succión que contiene el fluido.

60 En particular, si se emplean los procedimientos según la invención para la determinación del instante de la inmersión, para el control del estado de llenado o del proceso de expulsión, pueden combinarse varias mediciones referenciales para la formación de una curva de calibración.

65 La presente invención incluye en especial también la combinación de dos o varios de los procedimientos según la invención requeridos o procedimientos de control de estado en un proceso de pipeteado.

Una configuración del tubo de succión según la invención para un dispositivo de pipeteado para pipetear fluidos presenta un transmisor ultrasónico fijado en un tubo de succión y sirve para la aplicación de ultrasonido en la pared del tubo de succión. Un dispositivo de activación sirve para estimular el transmisor ultrasónico para que emita una señal ultrasónica en un rango de frecuencias predeterminado y un dispositivo de recepción está previsto para la recepción de la señal ultrasónica atenuada.

Por último, la configuración del tubo de succión presenta un dispositivo de succión mediante el cual se puede generar una depresión en el tubo de succión para absorber fluido en o a través del propio tubo. Puede tratarse, por ejemplo, de un pistón de aspiración de pipeta, que está incorporado al tubo de succión.

Una configuración tal del tubo de succión según la invención puede utilizarse en especial para el procedimiento de pipeteado según la invención y el procedimiento de control de estado también según la invención. En particular, con ello es posible emplear puntas desechables de pipeta, que se colocan en el tubo de succión para conformar una pipeta junto con el tubo de succión. La aplicación de la señal ultrasónica en la pared del tubo de succión y la medición de la señal ultrasónica atenuada pueden utilizarse, como se ha descrito, para la ejecución del procedimiento de acuerdo con la invención.

Las configuraciones ventajosas de la disposición del tubo de succión según la invención son de modo análogo resultado de las configuraciones descritas del procedimiento según la invención y sus ventajas.

En particular, los dispositivos de activación y recepción para la activación o recepción respectivamente de una señal ultrasónica de banda ancha o mutable temporalmente pueden estar configurados para la ejecución de una medición dependiente de frecuencias en el montaje del tubo de succión según la invención.

En el caso de una configuración ventajosa de la disposición del tubo de succión según la invención está previsto un dispositivo de evaluación, que está equipado para la valoración dependiente de frecuencias de la señal ultrasónica atenuada con vistas a su frecuencia y/o amplitud de resonancia. Con un dispositivo de evaluación de ese tipo, el proceso de pipeteado y la supervisión del mismo pueden automatizarse de manera sencilla.

El dispositivo de evaluación puede incluir también una memoria, en la cual se guardan los datos de mediciones referenciales o curvas de calibración reunidas para el cotejo.

Si en una disposición del tubo de succión se dispone el transmisor ultrasónico en el lado exterior de la pared del tubo, se evita la contaminación del transmisor ultrasónico por parte del fluido.

La utilización de un peso adicional que interactúa con el transmisor ultrasónico y se encuentra adherido a este sirve para incrementar la sensibilidad del transmisor ultrasónico. Una magnitud ventajosa para el peso adicional está en un rango de 0,1 hasta 10 veces, preferiblemente de 0,5 hasta 2 veces el peso del tubo de succión.

El empleo de un piezoactuador es especialmente económico como transmisor ultrasónico.

El montaje del tubo de succión según la invención puede estar integrado en el conjunto de una pipeta. La utilización de un montaje del tubo de succión según la invención resulta especialmente ventajosa no obstante en un dispositivo de pipeteado con una pipeta de al menos dos piezas, comprendiendo la primera de ellas el montaje del tubo de succión según la invención y la segunda una punta de pipeta. Para posibilitar un cambio simple de la punta de la pipeta, que puede estar diseñada por ejemplo como pieza desechable, resulta especialmente ventajoso que las dos piezas del dispositivo de la pipeta puedan desprenderse una de otra para configurar con sencillez el proceso de cambio de puntas de pipeta.

La presente invención se comenta a continuación por medio de realizaciones y configuraciones ejemplares haciéndose referencia a las figuras esquemáticas. Estas muestran

Fig. 1: La sección inferior de un dispositivo de pipeteado configurado según la invención.

Fig. 2: La señal de atenuación dependiente de frecuencias con profundidades de inmersión distintas.

Fig. 3: Un diagrama de la frecuencia de resonancia dependiente de la profundidad de inmersión de la pipeta.

Fig. 4: La atenuación dependiente de frecuencias en caso de volúmenes de llenado de la pipeta diferentes.

Fig. 5: Un diagrama de la frecuencia de resonancia en función del volumen de llenado.

La Figura 1 muestra el extremo inferior de una pipeta 10 con una punta 14 de pipeta. La punta de la pipeta presenta un collarín 16 con el que se encuentra fijada sobre un tubo 12 de succión. La punta 14 de la pipeta es, por ejemplo, de polipropileno.

El tubo 12 de succión, que solo está representado parcialmente, puede utilizarse íntegramente en un sistema de robots automatizado para el pipeteado. En el tubo 12 de succión se encuentra un pistón de succión en una forma conocida en sí, que puede accionarse mediante un eje motorizado para succionar o eyectar fluido en la pipeta.

En otra realización, el pistón se encuentra en un dispositivo externo que está conectado con el tubo de succión a través de un tubo flexible. De modo alternativo, puede conectarse al tubo de succión también un dispositivo succionador, por ejemplo una bomba adecuada.

La cifra de referencia 18 identifica un actuador piezoeléctrico, que se emplea como emisor y receptor de ultrasonidos. De forma ventajosa, se utiliza un elemento de material piezoeléctrico, por ejemplo un componente cerámico de titanato zirconato de plomo. El actuador piezoeléctrico 18 está conectado a través de una conducción 20, que por ejemplo presenta dos cables finos, con una unidad de control y evaluación no mostrada, que por ejemplo incluye un microprocesador programado convenientemente.

El piezoactuador 18 está fijado, por ejemplo, con adhesivo de epoxi en el tubo 12 de succión. Está orientado de tal forma que puede ejercer, preferiblemente, un movimiento de cizalla sobre el tubo 12 de succión para estimular así modos transversales.

En el lado opuesto al tubo 12 de succión del piezoactuador 18 puede disponerse un peso adicional 19 para incrementar la sensibilidad del piezoactuador. El peso adicional puede, por ejemplo, corresponder a 0,1 hasta 10 veces el peso del tubo de succión.

El actuador piezoeléctrico está seleccionado de modo que pueda generar oscilaciones en especial en el rango de frecuencias de los modos propios del sistema desde el tubo 12 de succión empleado con una punta 14 de pipeta insertada, el actuador 18 y, en su caso, el peso adicional 19. Los modos propios se encuentran habitualmente en el rango de 10 hasta 80 kHz, que son fácilmente estimulables con componentes cerámicos de titanato zirconato de plomo.

El sistema de medición, que incluye la unidad de control y evaluación, está configurado de modo que pueda enviar en un intervalo de alta frecuencia una energía definida al piezoactuador 18 y medir la señal ultrasónica atenuada, que llega de nuevo al piezoactuador 18, estando la sensibilidad por ejemplo en el rango de 10 μ V. Para poder medir la atenuación con dependencia de frecuencias, el dispositivo de evaluación comprende, por ejemplo, un analizador de redes. El dispositivo de evaluación está configurado para comparar una medición o valores característicos medidos con mediciones referenciales guardadas en una memoria o curvas de calibración formadas a partir de ello.

En la Figura 1, la pipeta 10 está presentada en un estado en el que se encuentra ligeramente sobre la superficie 22 del fluido que hay que pipetear. Para ello la pipeta puede descender, por ejemplo, con ayuda de un robot de pipeteado, en dirección A hacia la superficie de contacto 22.

El tubo 12 de succión está, por ejemplo, suspendido en lo posible en el robot de pipeteado con la mayor atenuación vibratoria posible, de manera que las vibraciones que puedan surgir en la estructura mecánica del robot no se transmiten a la pipeta y la medición de las oscilaciones ultrasónicas atenuadas con el piezoactuador 18 no resultan adulteradas. El tubo 12 de succión está en este ejemplo fijado de forma flexible en el robot de pipeteado para que los modos propios, que se estimulan con el piezoactuador 18 y cuya atenuación puede emplearse para la medición, no resulten perturbados a causa de la fijación rígida. No obstante, una fijación rígida no está excluida si las oscilaciones del robot que puedan surgir son suficientemente escasas o se tienen en cuenta en la valoración de la medición.

Una pipeta, como se representa en la Figura 1, se emplea de la forma siguiente.

Desde la unidad de control y evaluación se alimenta al piezoactuador 18 a través de los conductos 20 una señal de alta frecuencia que se encuentra, por ejemplo, en el rango de frecuencias que oscila entre 10 y 80 kHz. Con ello se generan oscilaciones propias en el tubo 12 de succión. En la Figura 2, la curva 100, por ejemplo, muestra la atenuación en decibelios medida en una pipeta, que se encuentra por encima del nivel de fluido 22 y por lo tanto se ha sumergido 0 mm en el fluido. Se muestra la atenuación de la oscilación de ultrasonido acoplada mediante la estimulación del modo propio en el sistema formado por tubo 12 de succión con punta 14 de pipeta, actuador 18 y un peso adicional 19, cuando esté presente. Se muestran mediciones con una pipeta de 1 ml.

Las vibraciones generadas en el tubo 12 de succión desencadenan una deformación del actuador piezoeléctrico, con lo que se inducen tensiones eléctricas en este. Con un dispositivo de medición apropiado se coteja la respuesta eléctrica del sistema con la señal de estimulación de alta frecuencia llegándose a la diferencia más grande si se estimula el modo propio. El modo propio se determina principalmente a través de las características del tubo 12 de succión, de la punta de la pipeta 14 y del peso adicional 19 disponible eventualmente, o bien mediante la densidad de masa de los elementos a través del fluido que hay que pipetear.

La pipeta 10 se desplaza, por ejemplo, con el robot de pipetas en dirección A hacia la superficie 22 del fluido. En el instante en el que la punta contacta con el fluido, la atenuación cambia. La frecuencia de resonancia se desplaza y la amplitud de resonancia se reduce. En la Figura 2 se muestra esto con el ejemplo de profundidades de inmersión diferentes. La cifra 102 muestra la señal en el caso de una pipeta sumergida en el fluido a una anchura de 1 mm, 104 presenta la señal en el caso de una pipeta sumergida 2 mm en el fluido y 106 ofrece la señal de una pipeta sumergida 3 mm en el fluido.

De ello se desprende un contexto entre la atenuación y la frecuencia de resonancia, como se muestra en forma de diagrama en la Figura 3. Los valores negativos de la profundidad de inmersión corresponden a mediciones en las cuales la pipeta se encuentra a una distancia correspondiente sobre la superficie de contacto y son por consiguiente idénticos entre sí. Un diagrama como el de la Figura 3 puede utilizarse, por ejemplo, como curva de calibración, en su caso después de que los puntos de referencia registrados a través de una curva hayan sido ajustados.

Si la frecuencia de resonancia de la señal de atenuación se desplaza hacia frecuencias superiores, significa que la pipeta está sumergiéndose en el fluido. La propia profundidad de inmersión puede verificarse por medio de un diagrama, como se representa en la Figura 3.

Tan pronto como la pipeta 10 con la punta 14 contacta con el fluido 22 o se ha sumergido en él, puede captarse fluido en la pipeta a través del robot de pipetas de un modo en sí conocido con ayuda del pistón de succión de la pipeta. Mientras tanto, puede medirse de nuevo la atenuación dependiente de una señal ultrasónica, que se ha aplicado a la pared del tubo 12 de succión mediante el piezoactuador 18. Las curvas de medición correspondientes se presentan a modo de ejemplo para una pipeta de 1 ml en la Figura 4. La cifra de referencia 200 identifica una curva de medición de la señal de atenuación dependiente de frecuencias con pipeta vacía. La cifra 202 designa la medición en una pipeta llena con 25 μL de fluido. La cifra 204 identifica una curva de medición de una pipeta, que está llena con 50 μL , mientras que 206 presenta una curva de medición para una pipeta llena con 75 μL de fluido. Por último, 208 identifica la medición de la atenuación en una pipeta, que está llena con 100 μL de fluido, mientras que 210 presenta una curva de medición efectuada en una pipeta llena con 150 μL de fluido. De ello resulta un contexto para la señal de atenuación dependiente de frecuencias en dependencia del volumen de llenado, que se muestra en la Figura 5.

Partiendo de ese diagrama puede leerse en la frecuencia de resonancia medida qué volumen se encuentra exactamente en la pipeta. Un diagrama como el de la Figura 5 puede utilizarse por ejemplo como curva de calibración, en su caso después de haber ajustado los puntos de referencia registrados a través de una curva.

En el proceso de expulsión de la pipeta puede determinarse también con precisión si o cuándo el fluido va a salir íntegramente de nuevo de la pipeta. Con tal fin puede supervisarse igualmente la atenuación dependiente de frecuencias y determinarse mediante comparación con una medición referencial o una curva de calibración según, por ejemplo, la Figura 5, cuándo la señal va a corresponder a la señal de la pipeta vacía.

De forma divergente a los diagramas mostrados aquí, puede también evaluarse la amplitud de resonancia, que depende igualmente de la profundidad de inmersión o del volumen de llenado, como puede reconocerse con claridad en las Figuras 2 y 4. Otros procedimientos prevén la evaluación de la superficie de la curva de resonancia o de la anchura a mitad de la intensidad.

La sensibilidad del piezoactuador 18 en el instante de la inmersión, la profundidad de inmersión y el volumen de llenado de la pipeta pueden aumentarse mediante un peso adicional, por ejemplo de 0,1 hasta 10 veces el peso del tubo de succión, que se encuentra adherido en el lado del piezoactuador 18 opuesto a la pipeta. Por medio de un peso adicional de ese tipo, aumentan los parámetros de variación o atenuación de frecuencia durante la inmersión de la pipeta en el fluido o bien durante la aspiración de fluido en la pipeta o durante la expulsión de fluido de ella.

Antes y durante el proceso de pipeteado puede comprobarse con el procedimiento según la invención para el control del estado si la pipeta se encuentra en un estado apropiado. Por ejemplo, un error o una fuga de la punta de la pipeta o del tubo de succión puede manifestarse en la señal de atenuación dependiente de frecuencias que se ha medido. Aun cuando ninguna punta de pipeta 14 está insertada en el tubo 12 de succión, se produce un efecto en la señal de atenuación dependiente de frecuencias, que diverge de una medición referencial correspondiente.

Después de un proceso de pipeteado puede cambiarse la punta de la pipeta, sencilla, económica, por ejemplo fabricada con polipropileno, para prevenir posibles contaminaciones del fluido en mediciones sucesivas.

En el procedimiento y los dispositivos según la invención se aplica ultrasonido a la pared del tubo 12 de succión. Esa aplicación al tubo de succión puede llevarse a cabo sin dificultades y es más sencilla, por ejemplo, que la aplicación al volumen de la pipeta. La conexión puede alcanzarse con un piezoactuador en un rango de frecuencias de acceso fácil. La punta de la pipeta no necesita ninguna configuración o materiales especiales para poder configurarse como elemento desechable.

El uso en procedimientos automatizados de pipeteado es especialmente ventajoso. En ese caso, un robot de pipeteado llena paralelamente varias pipetas, en ocasiones en grandes cantidades, y se entrega el fluido recogido. En este procedimiento es de especial importancia que las diversas pipetas se controlen y supervisen con exactitud, ya que el control óptico normalmente no puede llevarse a cabo a cargo de la persona responsable. El procedimiento conforme a la invención y los dispositivos según la invención se adecuan en particular para ello, ya que permiten la ejecución de una prueba precisa de funcionamiento y estado. Además, el estado de llenado en la pipeta y/o el tipo de fluido que hay en ella pueden determinarse de un modo sencillo. Un uso importante es, por ejemplo, el agrupamiento de muestras sanguíneas.

Lista de piezas de referencia

10	Pipeta
12	Tubo de succión
14	Punta de la pipeta
16	Collarín
18	Piezoactuador
19	Peso adicional
20	Conducciones
22	Superficie del fluido
100, 102, 104, 106, 200, 202, 204, 206, 208, 210	Señales de atenuación dependientes de la frecuencia
A	Dirección descendiente

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para el control del estado de una pipeta (10), que incluye un tubo (12) de succión y una punta (14) de pipeta, en el cual

- Se aplica ultrasonido a la pared del tubo (12) de succión generándose el ultrasonido con un piezoactuador (18) y estando el piezoactuador fijado a la pared del tubo (12) de succión y estando fijado un peso adicional (19) en el lado opuesto al tubo (12) de succión del piezoactuador (18) para incrementar la sensibilidad,
- la atenuación de la señal ultrasónica se mide en función de la frecuencia en un rango de frecuencias,
- se determina si la pipeta (14) contiene o entra en contacto con el fluido mediante comparación de la atenuación medida y dependiente de la frecuencia en el rango de frecuencias con al menos una medición referencial de la atenuación dependiente de la frecuencia o una curva de calibración basada en mediciones referenciales.

2. Procedimiento según la reivindicación 1 en el que se evalúa la atenuación dependiente de la frecuencia en el rango de frecuencias, en el cual hay por lo menos un modo propio de la señal medida empleándose para la comparación la frecuencia y/o amplitud de resonancia de al menos un modo propio.

3. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 o 2, en el cual el ultrasonido se aplica a la pared del tubo (12) de succión de tal modo que en su mayoría se estimulan los modos transversales.

4. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 3, en el cual el piezoactuador (18) incluye preferiblemente un componente cerámico de titanato zirconato de plomo (PZT) y en el que, para incrementar la sensibilidad, el peso adicional (19) que interactúa con el piezoactuador (18) presenta preferiblemente un rango de masa entre 0,1 y 10 veces el peso del tubo de succión.

5. Procedimiento según la reivindicación 4, en el cual el peso adicional (19) está adherido en el lado del piezoactuador (18) opuesto al tubo (12) de succión.

6. Procedimiento según una de las reivindicaciones 4 o 5, en el cual el piezoactuador (18) se emplea asimismo para la recepción de la señal ultrasónica atenuada.

7. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 6, en el cual las frecuencias ultrasónicas empleadas para la medición de la atenuación dependiente de frecuencias se seleccionan de un rango de 1 a 10 veces el cociente de la velocidad del sonido en el material de la pipeta y de una dimensión geométrica característica de la pipeta, preferiblemente su longitud.

8. Procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 7, en el cual se utiliza una pipeta (10) de al menos dos piezas, comprendiendo una primera pieza el tubo (12) de succión y una segunda pieza, preferiblemente extraíble de la primera, la punta (14) de la pipeta, empleándose como segunda pieza un elemento desechable (14) y determinándose mediante la señal de atenuación dependiente de frecuencias en el rango de frecuencias si la pipeta (10) está llena y, en particular, si la segunda pieza extraíble de la pipeta (14) está disponible.

9. Procedimiento de pipeteado para el pipeteado de fluidos con una pipeta (10), que incluye un tubo (12) de succión y una punta (14) de pipeta, en el cual se comprueba mediante un procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 8 si la punta (14) de la pipeta contacta con un fluido (22) que hay que pipetear y si tras la inmersión de la punta (14) de la pipeta se absorbe fluido en la pipeta, descendiendo la pipeta (10) desde un punto situado por encima de la superficie (22) del fluido a pipetear en la dirección (A) del fluido, y midiéndose durante ese descenso la atenuación dependiente de la frecuencia en el rango de frecuencias, con el fin de determinar a través de un cambio en la señal de atenuación dependiente de frecuencias el instante de contacto de la punta (14) de la pipeta sobre la superficie (22) del fluido, y determinándose a partir de la señal de atenuación dependiente de frecuencias, preferiblemente por comparación con al menos una medición referencial, de forma especialmente preferible mediante comparación con mediciones de referencia combinadas con una curva de calibración, la profundidad de inmersión de la pipeta (10) en un fluido.

10. Procedimiento de pipeteado para el pipeteado de fluidos con una pipeta (10), que incluye un tubo (12) de succión y una punta (14) de pipeta, en el cual se determina mediante un procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 8 si la pipeta (10) contiene fluido y, partiendo de la señal de atenuación dependiente de frecuencias, preferiblemente por comparación con al menos una medición referencial, de forma especialmente preferible mediante comparación con mediciones de referencia combinadas con una curva de calibración, se determina la cantidad de fluido presente en la pipeta (10).

11. Procedimiento de pipeteado para el pipeteado de fluidos con una pipeta (10), que incluye un tubo (12) de succión y una punta (14) de pipeta, en el cual se determina mediante un procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 8 si la pipeta contiene fluido y si, partiendo de la señal de atenuación dependiente de frecuencias, preferiblemente por comparación con al menos una medición referencial, el tipo de fluido presente en la pipeta (10).

12. Procedimiento de pipeteado para el pipeteado de fluidos con una pipeta (10), que incluye un tubo (12) de succión y una punta (14) de pipeta, en el cual se comprueba mediante un procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 8 si la pipeta (10) está totalmente vacía tras el procedimiento de pipeteado.

5 13. Montaje de tubo de succión para un dispositivo de pipeteado para el pipeteado de fluidos para la ejecución de un procedimiento según una de las reivindicaciones 1 a 12 con

- 10 - un transmisor ultrasónico (18) fijado a un tubo (12) de succión para aplicar ultrasonidos a la pared del tubo (12) de succión, estando el transmisor ultrasónico (18) fijado a la pared del tubo (12) de succión y estando previsto un peso adicional (19) en el lado opuesto al tubo de succión del transmisor ultrasónico (18) para incrementar la sensibilidad,
- un dispositivo de control para controlar el transmisor ultrasónico (18) con el fin de emitir una señal ultrasónica en un rango de frecuencias predeterminado,
- 15 - un dispositivo (18) de recepción para recibir una señal ultrasónica atenuada, y
- un dispositivo de succión con cuya intervención puede generarse una depresión en el tubo de succión para absorber fluido en o a través del tubo de succión.

20 14. Dispositivo de pipeteado con una pipeta de al menos dos piezas (10) incluyendo una primera pieza el montaje del tubo de succión según la reivindicación 13 y una segunda pieza incluyendo una punta (14) de pipeta y siendo extraíbles al menos las segundas piezas.

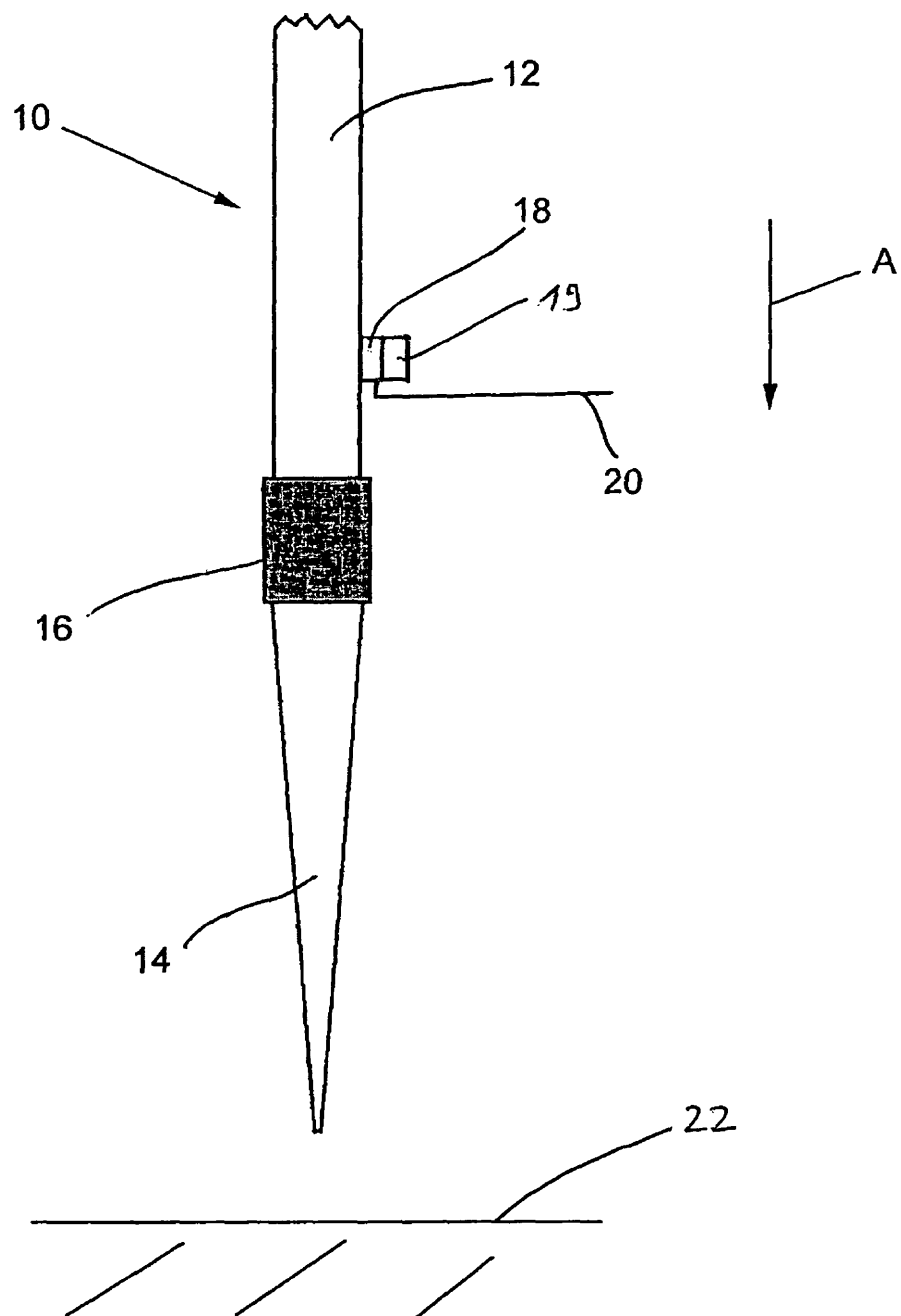


Figura 1

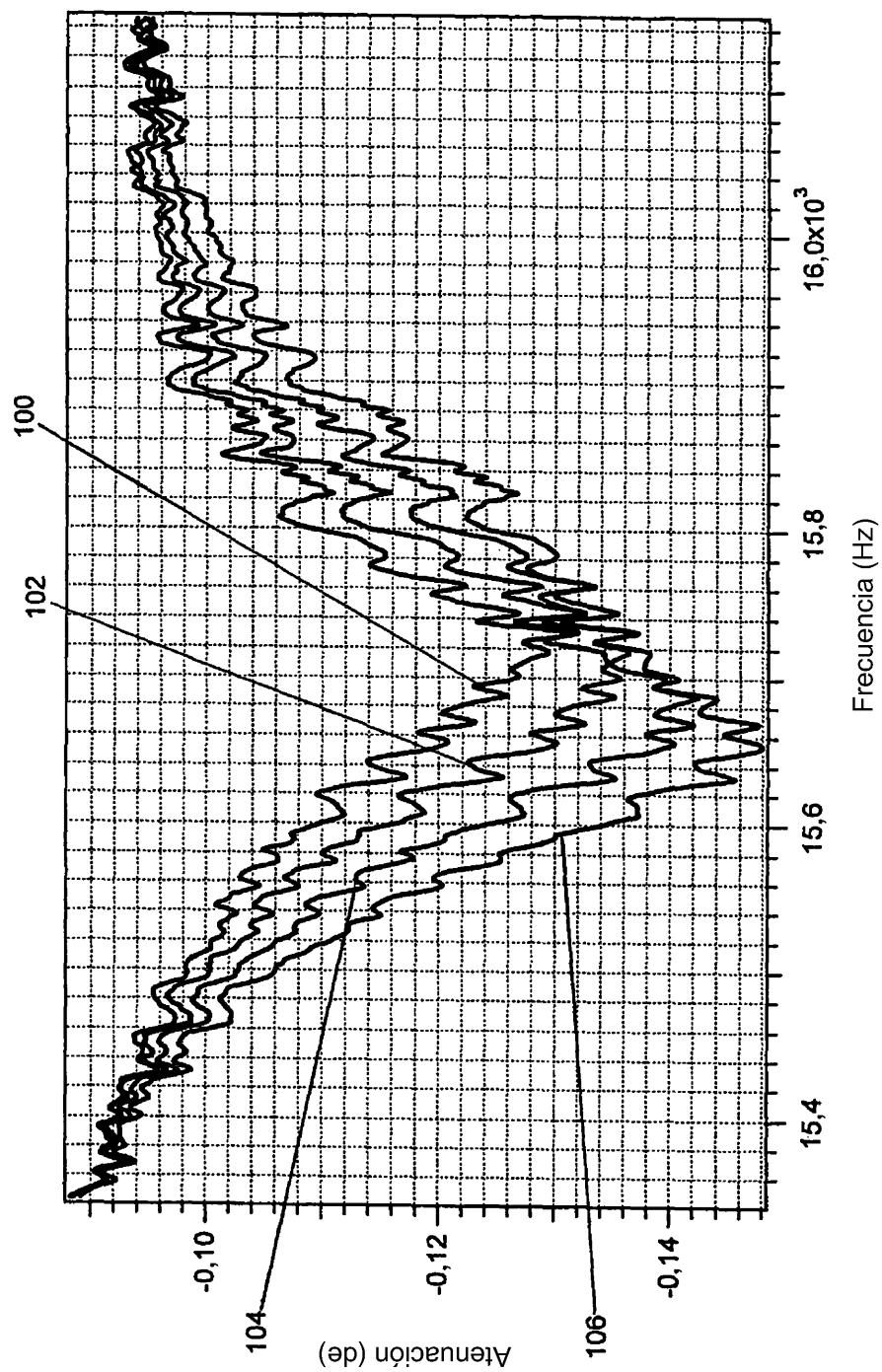


Figura 2

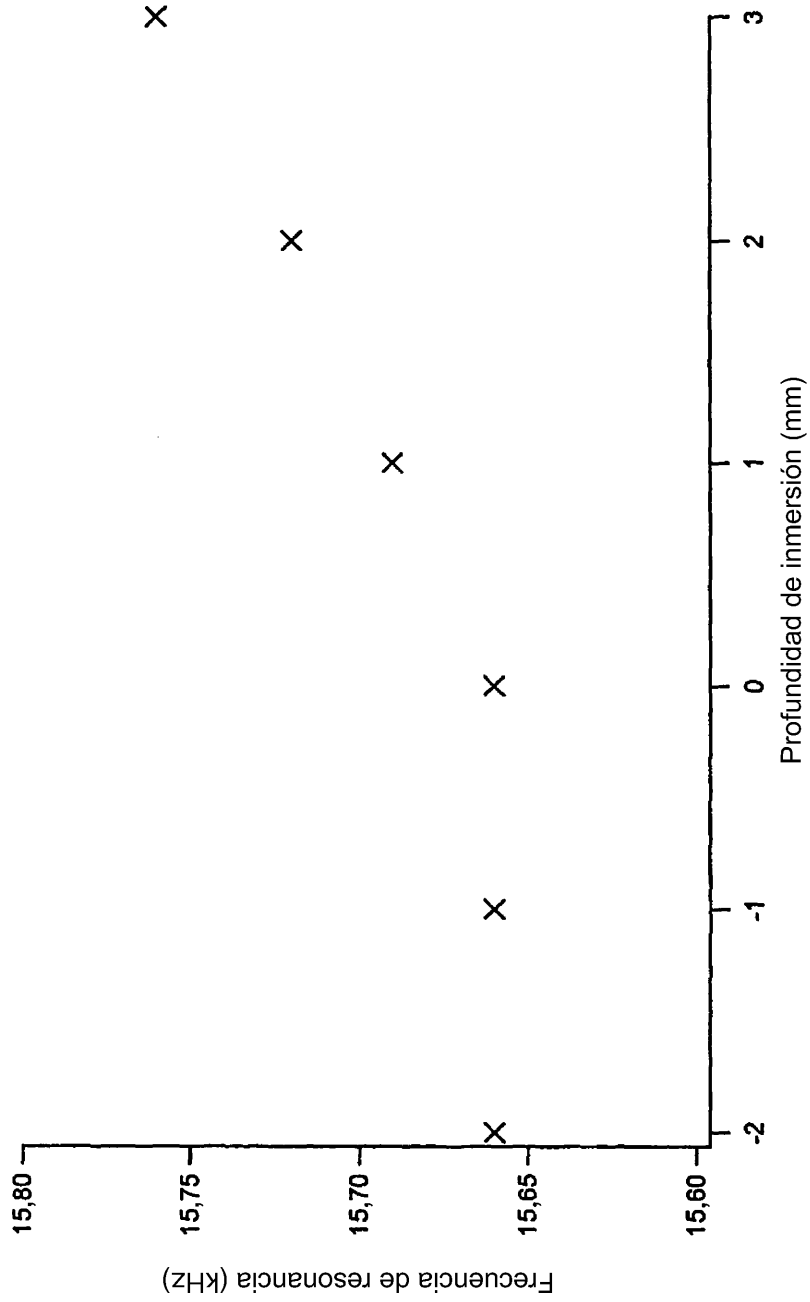


Figura 3

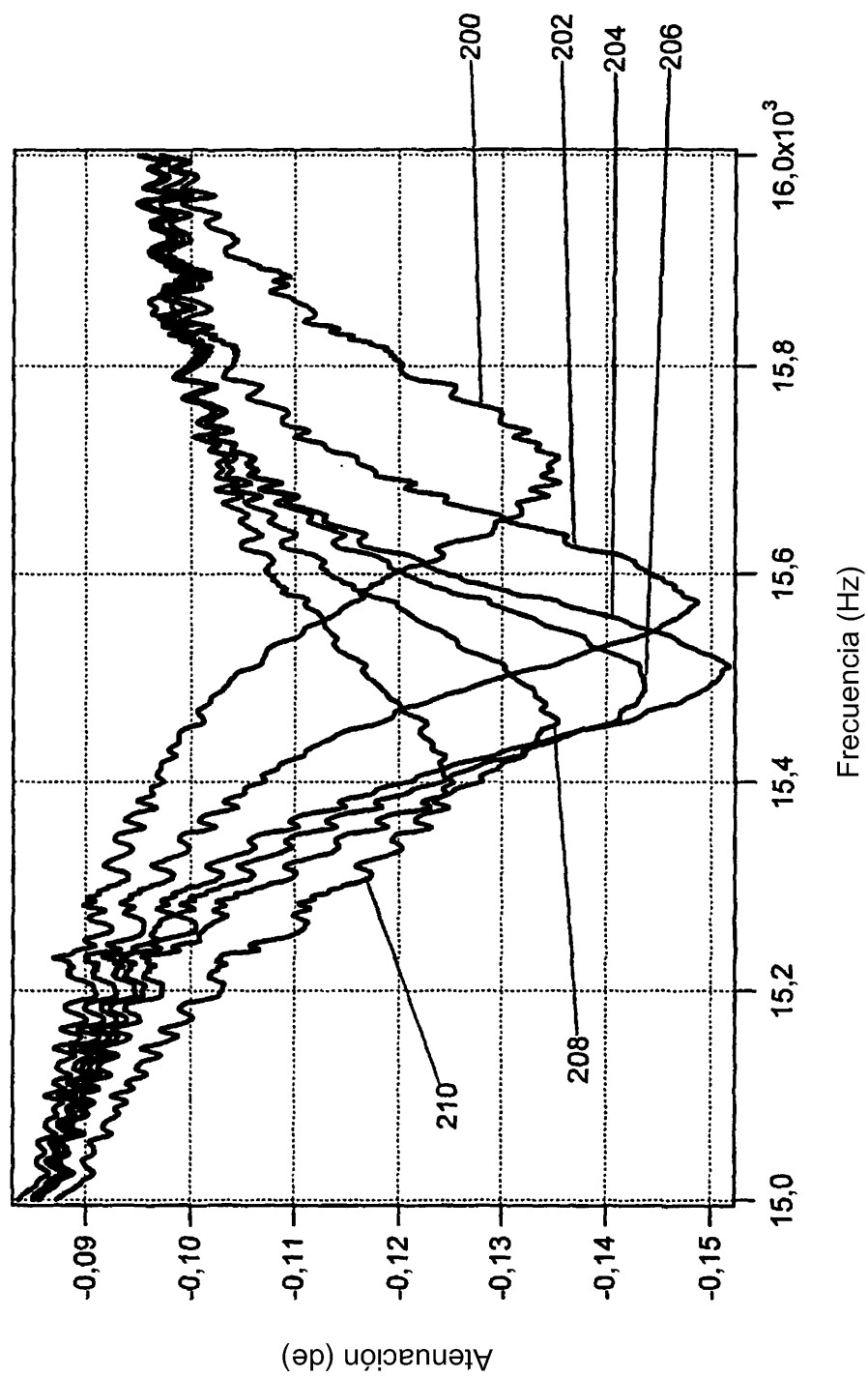


Figura 4

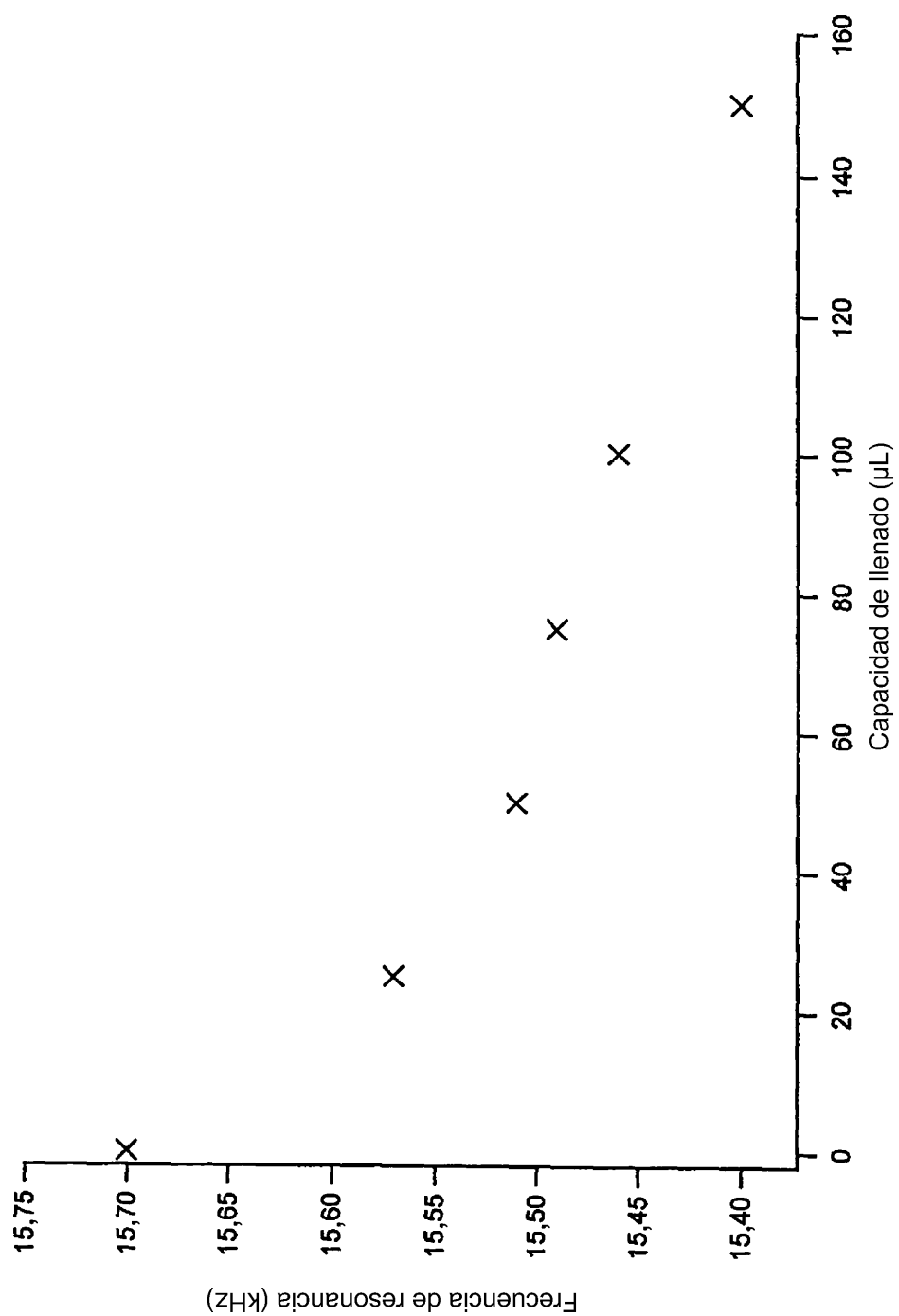


Figura 5