(11) Veröffentlichungsnummer:

0 098 949

A1

(12)

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

(21) Anmeldenummer: 83105214.7

(22) Anmeldetag: 26.05.83

(51) Int. Cl.³: **B** 01 L 11/00 B 01 F 11/00, B 06 B 3/00

(30) Priorität: 01.07.82 DE 3224583

(43) Veröffentlichungstag der Anmeldung: 25.01.84 Patentblatt 84/4

(84) Benannte Vertragsstaaten: AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE (71) Anmelder: Eppendorf Gerätebau Netheler + Hinz GmbH

Barkhausenweg 1 D-2000 Hamburg 63(DE)

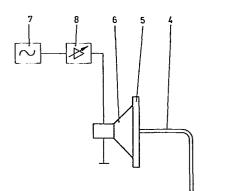
(72) Erfinder: Gronholz, Claus Hummelsbüttler Steindamm 93a D-2000 Norderstedt(DE)

(72) Erfinder: Schmidt-Rabenau, Hartmut Susebekweg 12 D-2000 Hamburg 63(DE)

(74) Vertreter: UEXKÜLL & STOLBERG Patentanwälte Beselerstrasse 4 D-2000 Hamburg 52(DE)

(54) Verfahren zur Mischung von zu analysierenden Flüssigkeitsproben sowie Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens.

(57) Bei einem Verfahren zur Mischung von zu analysierenden Flüssigkeitsproben wird die in einem Probenbehälter (1) enthaltene Flüssigkeitsprobe (3) durch eine mechanisch in Schwingungen versetzte, mit zumindest einem Teil der Oberfläche der Flüssigkeitsprobe in Berührung stehende Luftsäule bewegt und gemischt, wobei die Luftsäule mit einer Frequenz im Resonanzbereich des Systems aus Luftsäule und Probenflüssigkeit (3) erregt wird.



<u>Fig. 1</u>

Eppendorf Gerätebau Netheler + Hinz GmbH Barkhausenweg 1

2000 Hamburg 65

Verfahren zur Mischung von zu analysierenden Flüssigkeitsproben sowie Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Mischung von zu analysierenden Flüssigkeitsproben, bei dem die Flüssigkeitsprobe in einen Probenbehälter, insbesondere in eine Küvette eingebracht und durch eine mechanisch in Schwingungen versetzte, mit zumindest einem Teil der Oberfläche der Flüssigkeitsprobe in Berührung stehende Luftsäule bewegt und gemischt wird.

Bei einem bekannten Verfahren dieser Art (DE-PS 15 98 514), das zur Durchführung von Blutuntersuchungen dient, wird die zu untersuchende Flüssigkeit in einen Schenkel eines Aufnahmebehälters und die zuzusetzende Reagensflüssigkeit in den anderen Schenkel des Aufnahmebehälters eingebracht, wobei die beiden Schenkel im Bodenbereich des Behälters durch einen Kapillarkanal

verbunden sind. Auf die Öffnung des einen Schenkels wird dichtend das Mundstück eines Schlauches gesetzt, der mit dem Zylinderraum einer Kolbenpumpe verbunden ist, so daß durch Kompressionsbewegung des Kolbens der Pumpe die Flüssigkeit aus dem das Mundstück tragenden Schenkel zunächst durch die Kapillare in den anderen Schenkel gepreßt und dann bei entsprechender Umkehrung der Bewegung des Kolbens, also bei Expansionsbewegung wieder durch die Kapillare in den das Mundstück tragende Schenkel gesaugt wird. Hierbei beträgt die Frequenz der Kolbenbewegung der Pumpe vorzugsweise 1 Hz.

5

10

15

20

25

Abgesehen davon, daß bei diesem Verfahren ein sehr spreziell ausgebildeter Aufnahmebehälter benötigt wird, erfolgt das Mischen sehr langsam, so daß Mischzeiten in der Größenordnung von 10 Sekunden benötigt werden, an die sich dann noch Beruhigungszeiten in der Größenordnung von 3 bis 4 Sekunden anschließen. Wegen dieses selbstverständlich für die schnelle Durchführung von Mischvorgängen nachteiligen großen Zeitaufwandes ist dieses Verfahren aber insbesondere auch nicht für sogenannte kinetische Messungen geeignet, wie sie in steigendem Maß in klinischen und Arzt-Laboratorien vorkommen, bei denen der zeitliche Reaktionsverlauf innerhalb einer Probe gemessen werden soll und dieser Reaktionsvorgang bereits unmittelbar nach dem Vermischen der Probenbestandteile einsetzt.

Bei einem anderen bekannten Verfahren (DEOS 26 51 356), werden in ähnlicher Weise Probenbehälter
mit Aufnahmeschenkeln verwendet, die durch enge Kanäle
miteinander verbunden sind, wobei infolge des Umpumpens
zwischen den Aufnahmeschenkeln im Bereich der engen
Verbindungskanäle starke Turbulenzen eintreten, die
eine Durchmischung bewirken sollen. Auch bei diesem

bekannten Verfahren sind jedoch sowohl die Mischzeit als auch die Beruhigungszeit sehr lang.

Es ist auch bereits bekannt, Flüssigkeitsproben mit

Hilfe von Ultraschall zu durchmischen, wozu ein Ultraschall- Erreger üblicherweise in direkte Berührung mit
der Flüssigkeitsprobe gebracht wird. Dabei wird sehr
schnell eine sehr gute Durchmischung erzielt, doch läßt
sich ein derartiges Verfahren häufig bei zu analysierenden Flüssigkeitsproben, etwa aus dem klinischen Bereich, nicht anwenden, weil diese Flüssigkeitsproben
hochmolekulare Substanzen enthalten, die durch die Beaufschlagung mit Ultraschall zerstört werden würden.

Es ist Aufgabe der Erfindung, ein Verfahren zur Mischung von zu analysierenden Flüssigkeitsproben zu
schaffen, mit dem bei geringer Belastung der Probenbestandteile kurze Mischzeiten und kurze Beruhigungszeiten erreicht werden.

20

25

30

35

Zur Lösung dieser Aufgabe wird ein Verfahren der eingangs erwähnten Art erfindungsgemäß derart ausgestaltet, daß die Luftsäule mit einer im Resonanzbereich des Systems aus Luftsäule und Probenflüssigkeit liegenden Frequenz erregt wird.

Es hat sich überraschenderweise gezeigt, daß bei einer derartigen Erregung der Lüftsäule im Resonanzbereich, vorzugsweise genau mit der Resonanzfrequenz die Oberfläche der Flüssigkeitsprobe nur eine relativ geringe Bewegung ausführt, verglichen mit den Umpumpbewegungen bei den vorbekannten Verfahren, und daß vielmehr innerhalb der Flüssigkeitsprobe eine deutliche Verwirbelung zu erkennen ist, die die Vermischung hervorruft. Dabei erfolgt beispielsweise die vollständige Vermischung bei

einer in einem klinischen Labor photometrisch zu untersuchenden Flüssigkeitsprobe von etwa 300,ul innerhalb einer Mischzeit von etwa 1,5 Sekunden, während bei den vorstehend erläuterten, bekannten Mischverfahren Mischzeiten in der Größenordnung von 10 Sekunden benötigt werden. Bei diesen bekannten Verfahren ist nach der Mischzeit eine Beruhigungszeit von etwa 3 Sekunden bis 4 Sekunden erforderlich, bevor eine photometrische Messung durchgeführt werden kann. Diese Beruhigungszeit beträgt bei einer derartigen, nach dem erfindungsgemä-Verfahren gemischten Flüssigkeitsprobe erstaunlicherweise nur etwa l Sekunde. Das erfindungsgemäße Verfahren eignet sich daher auch besonders Mischung von Flüssigkeitsproben, in denen kinetische Abläufe analysiert werden sollen. Ferner ergibt sich mit ihm gegenüber bekannten Verfahren eine Erhöhung des Mischwirkungsgrades.

5

10

15

30

35

Im allgemeinen sind bei einer gegebenen Vorrichtung die 20 Länge und der Querschnitt der zu erregenden Luftsäule konstant, und die Frequenz wird dann entsprechend der Menge der Probenflüssigkeit eingestellt.

Vorzugsweise durchläuft die Frequenz bei jedem Mischvorgang einen schmalen, die Resonanzfrequenz enthaltenden Frequenzbereich.

Die Luftsäule kann mittels einer an ihrem der Oberfläche der Flüssigkeitsprobe abgewandten Ende die Luftsäule abschließenden, luftundurchlässigen Membran erregt werden, wobei vorzugsweise als Membran die Membran
eines Lautsprechers verwendet wird, der auf einfache
Weise durch Regelung der Frequenz der ihn erregenden
Spannung in den Resonanzbereich des jeweiligen Systems
gebracht werden kann.

Die Mischzeit der Flüssigkeitsprobe hängt, bei gegebener Amplitude der die Luftsäule erregenden Membran, von der Viskosität der Flüssigkeit ab, und zur Erzielung minimaler Mischzeiten kann die Schwingungsamplitude der Membran in Abhängigkeit von der Viskosität der Flüssigkeitsprobe eingestellt werden.

5

10

20

Eine Vorrichtung zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens weist als Schwingungserreger vorzugsweise die luftundurchlässige Membran eines Lautsprechers auf. Die Erfindung wird im folgenden anhand der schematisch und vereinfacht Ausführungsbeispiele zeigenden Figuren näher erläutert.

- Figur l zeigt ein vereinfachtes Ausführungsbeispiel einer erfindungsgemäßen Vorrichtung.
 - Figur 2 zeigt eine gegenüber Figur 1 abgewandelte Vorrichtung.

Figur 3 zeigt eine Schaltungsanordnung zur Erregung des Lautsprechers aus den Vorrichtungen gemäß Figuren 1 oder 2.

In dem in Figur l dargestellten Ausführungsbeispiel 25 wird eine Küvette l verwendet, die eine senkrecht zu den bei einer photometrischen Messung zu durchstrahlen-Seitenwänden verlaufende Seitenwand 2 den ลมร elastischem Material aufweist, die unter Druckbelastung in der strichpunktiert angedeuteten Weise verformt wer-30 den kann. Derartige Küvetten werden beispielsweise im ACA-System der Firma DuPont eingesetzt. Die Füllöffnung der Küvette 1 wird nach dem Einfüllen der Flüssigkeitsprobe 3 bzw. der verschiedenen Bestandteile einer Probe mittels eines nicht im einzelnen dargestellten Misch-35

kopfes dichtend verschlossen, so daß der Innenraum der mit dem einen Ende eines Küvette nur 4 mit kaum verformbaren Wänden Schlauches verbunden ist. Das andere Ende des Rohres oder Schlauches 4 ist an eine Anschlußplatte 5 angeschlossen, die dichtend auf die Öffnung eines Lautsprechers 6 gesetzt wird, der eine luftundurchlässige Membran, etwa eine Kunststoffmembran aufweist. Der Lautsprecher wird von einer eine sinusförmige Wechselspannung abgebenden Signalspannungsquelle 7 mit veränderbarer Frequenz über einen Verstär-8 mit einstellbarem Verstärkungsfaktor gespeist. Die Signalspannung aus der Spannungsquelle 7 erzeugt eine Schwingung der Membran des Lautsprechers 6, deren Frequenz von der eingestellten Frequenz der Signalspannungsquelle 7 und deren Amplitude vom eingestellten Verstärkungsfaktor des Verstärkers 8 abhängt.

5

10

15

20

25

30

35

Zur Durchführung einer Mischung wird die Flüssigkeitsprobe bzw. deren zu mischende Bestandteile in die Küvette l eingebracht und diese dann mit dem Mischkopf Danach erfolgt die Beaufschlagung des verschlossen. Lautsprechers 6 mit der Signalspannung, so daß die schwingende Membran des Lautsprechers die Luftsäule in dem angeschlossenen Rohr oder Schlauch mit entsprechender Frequenz schwingen läßt. Die Frequenz der Signalspannungsquelle 7 wird dabei so eingestellt, daß sie im Resonanzbereich des Systems aus Luftsäule im Rohr oder Schlauch 4 und Flüssigkeitsprobe 3 liegt, wobei dieser Resonanzbereich vom Volumen der Luftsäule sowie vom Volumen und der Dichte der Flüssigkeit der Probe abhängt, wobei die optimale Mischung bei Einstellung der Resonanzfrequenz erreicht wird. Infolge der Schwingung der Luftsäule wird die Flüssigkeitsprobe 3 ebenfalls zu Schwingungen mit der Frequenz angeregt und verformt dabei die Seitenwand 2 in der gleichen angedeuteten Weise. Dabei ist deutlich eine Durchwirbelung der Probe 3 zu erkennen.

Es hat sich gezeigt, daß in der Praxis bei Durchführung von Mischvorgängen in Küvetten die Resonanzfrequenzen des Systems aus Luftsäule und Flüssigkeitsprobe im Bereich von 10 Hz bis 20 Hz liegen können.

In der Figur 2 ist die Flüssigkeitsprobe 13 in eine U-förmige Küvette 11 eingefüllt, deren Schenkel durch eine Mittelwand 12 getrennt sind, so daß die beiden Schenkel lediglich unterhalb dieser Trennwand miteinanin Verbindung stehen. Der untere Teil ll' der Küvette 11 hat einander gegenüberliegende, plane, durchsichtige Wandbereiche, durch die hindurch in üblicherweise photometrische Messungen erfolgen können.

10

15

20

In die Küvette 11 ist eine Flüssigkeitsprobe 13 eingebracht, der über einen Schlauch 20 ein Reagens eines Reaktionsablaufes zugeführt Einleitung kann. Auf den in Figur 2 rechten Schenkel der Küvette 11 kann zum Durchmischen der Flüssigkeitsprobe 13 dichtend ein Mischkopf 19 aufgesetzt werden, an den ein Schlauch oder Rohr 14 angeschlossen ist, dessen anderes Ende in der in Zusammenhang mit Figur 1 beschriebenen Weise mit der luftundurchlässigen Membran eines Laut-16 verbunden ist. Dieser Lautsprecher sprechers 25 wird, wie ebenfalls in Zusammenhang mit Figur 1 beschrieben, mittels einer eine dreieckförmige Signalspannung abgebenden Wechselspannungsquelle 17 und eines Verstärkers 18 im Resonanzbereich des Systems aus Luftsäule und Probenflüssigkeit erregt. Infolge dieser Erre-30 gung wird die zwischen der Oberfläche der Probe 13 und der Membran des Lautsprechers 16 vorhandene, teilweise vom Schlauch oder Rohr 14 umschlossene Luftsäule entsprechend der Frequenz und der Amplitude der Membran des Lautsprechers in Schwingungen versetzt, wobei der 35 Mischvorgang im wesentlichen in der gleichen Weise abläuft, wie dies in Zusammenhang mit dem Ausführungsbeispiel gemäß Figur 1 beschrieben wurde.

Bei einem Versuch wurde ein Lautsprechertyp AD 0198 Z 25 der Firma Valvo eingesetzt, der eine im Schlauch 5 oder Rohr 14 befindliche Luftsäule von 65 mm Länge und 205 mm 3 Volumen erregte. Die angeschlossene, U-förmige Küvette 11 enthielt eine Flüssigkeitsprobe 330 ul. Die Resonanzfrequenz lag bei etwa 18 Hz, und eine sehr starke Durchmischung wurde bereits nach einer 10 Erregung von 1,5 Sekunden erreicht. Die bei dieser Durchmischung von außen erkennbare Verwirbelung Flüssigkeitsprobe war nach etwa 1 Sekunde vollständig verschwunden, so daß die Probe im Bereich 11' photometrisch untersucht werden konnte. 15

Zur Erregung des Lautsprechers 6 aus Figur 1 bzw. des Lautsprechers 16 aus Figur 2 kann eine Schaltungsanordnung verwendet werden, wie sie in Figur 3 zur Erregung eines Lautsprechers 108 dargestellt ist. Diese Schaltungsanordnung enthält eine Wechselspannungsquelle in Form eines Verstärkers, der eine integrierte Schaltung des Typs LM 741 der Firma National Semiconductor sein kann. An diesen Verstärker sind Speisespannungen von +12 Volt und -12 Volt gelegt, und er ist mittels der 111 112 Widerstände und nach Art eines Triggers geschaltet und erzeugt daher im Betrieb rechteckförmige Ausgangssignale

20

25

Dem Verstärker 110 ist über Widerstände 113 und 114 sowie ein Potentiometer 115 ein Leistungsverstärker nachgeschaltet, etwa ein Verstärker des Typs L 165 der Firma Siemens AG. Dieser Verstärker ist, wie dargestellt, an Betriebsspannungen von +12 Volt und -12 Volt gelegt, und zur Unterdrückung von Störungen sind an die

5

25

Anschlüsse 3 und 5 für die Betriebsspannung Kondensatoren 117 und 118 angeschlossen. Sein Eingang 1 liegt an Masse. Dem Verstärker 119 ist zwischen Eingang 2 und Ausgang ein Kondensator 116 parallel geschaltet, der zusammen mit den Widerständen 113 und 114 und dem Potentiometer 115 ein Integrierglied bildet. Der Ausgang des Verstärkers 119 ist mit dem Lautsprecher 108 verbunden.

Gibt der als Schmitt-Trigger arbeitende Verstärker 110 10 die postive Flanke eines Rechteckimpulses ab, so wird Integrierglied eine ansteigende negative durch das Spannung am Eingang 2 des Verstärkers 119 aufgebaut. Eine negative Flanke des vom Verstärker 110 abgegebenen Rechtecksignals kehrt den Anstieg der Spannung am Ein-15 gang 2 um, so daß am Ausgang des Verstärkers 119 eine in positiver Richtung ansteigende Spannung auftritt. Auf diese Weise wird am Ausgang des Verstärkers 119 ein dreieckförmiges Ausgangssignal erzeugt, das als Wechselspannung den Lautsprecher 108 erregt. 20

Mit Hilfe des Potentiometers 115 kann die Frequenz des dreieckförmigen Ausgangssignals des Verstärkers 119 verändert werden, so daß eine Anpassung an die jeweiligen Betriebsverhältnisse sowie das Durchlaufen eines Resonanzbereichs möglich ist. Es sei erwähnt, daß bei der dargestellten Schaltung eine Änderung der Frequenz des dreieckförmigen Ausgangssignals auch zu einer Änderung von dessen Amplitude führt.

Patentansprüche

- 1. Verfahren zur Mischung von zu analysierenden Flüssigkeitsproben, bei dem die Flüssigkeitsproben (3) in einen Probenbehälter (1), insbesondere in eine Küvette eingebracht und durch eine mechanisch in Schwingungen versetzte, mit zumindest einem Teil der Oberfläche der Flüssigkeitsprobe (3) in Berührung stehende Luftsäule bewegt und gemischt wird, dadurch gekennzeichnet, daß die Luftsäule mit einer im Resonanzbereich des Systems aus Luftsäule und Probenflüssigkeit liegenden Frequenz erregt wird.
- Verfahren nach Anspruch 1, bei dem die Länge und der Querschnitt der Luftsäule konstant gehalten wird, dadurch gekennzeichnet, daß die Frequenz entsprechend der Menge der Probenflüssigkeit eingestellt wird.

20

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die Frequenz bei jedem Mischvorgang
einen schmalen, die Resonanzfrequenz enthaltenden
Frequenzbereich durchläuft.

25

30

- 4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Luftsäule mittels einer an ihrem der Oberfläche der Flüssigkeitsprobe (3) abgewandten Ende die Luftsäule abschließenden, luftundurchlässigen Membran erregt wird.
- 5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß als Membran die Membran eines Lautsprechers (6) verwendet wird.

6. Verfahren nach Anspruch 4 oder 5, dadurch gekennzeichnet, daß die Schwingungsamplitude der Membran
in Abhängigkeit von der Viskosität der Flüssigkeitsprobe (3) gewählt wird.

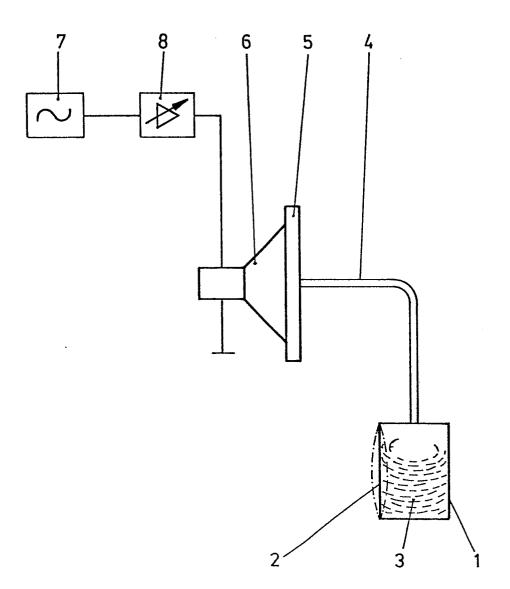
5

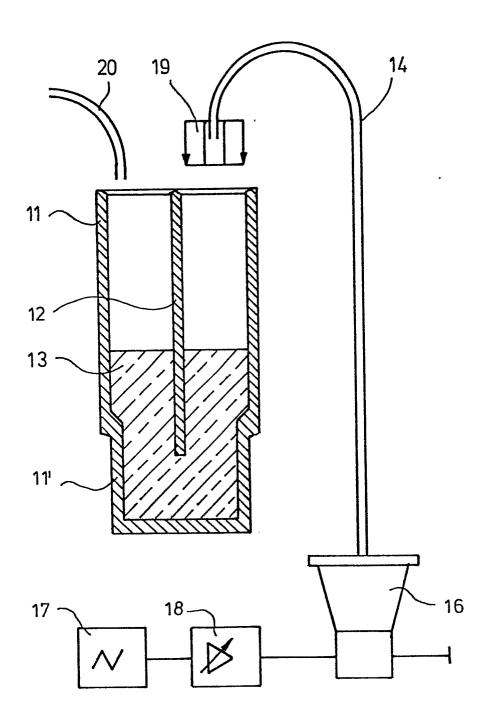
10

7. Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens gemäß einem der Ansprüche 4 bis 6, bei der auf eine Küvette ein Mischkopf aufsetzbar ist, an den ein Rohr oder Schlauch (4) angeschlossen ist, dessen anderes Ende mit einem Schwingungserreger verbunden ist, dadurch gekennzeichnet, daß der Schwingungserreger die luftundurchlässige Membran eines Lautsprechers (6) ist.



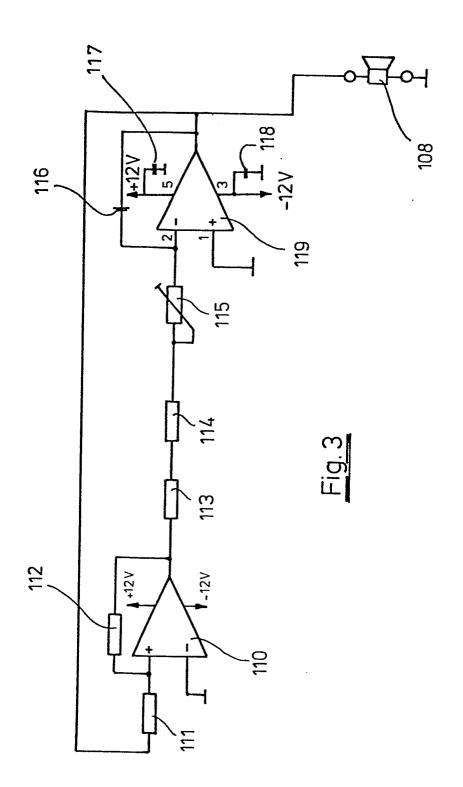
<u>Fig. 1</u>





<u>Fig. 2</u>





EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

83 10 5214

Kategorie	rie Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile			KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl. 3)	
х	US-A-3 087 840 (SHAW) len 1-26; Spalte	Anspruch 1	B 01 L 11 B 01 F 11	1/00
Y	* Spalte 5, Zeil 7, Zeilen 13-15 *	en 21-24; Spalte	2,4,5,		
A	* Spalte 5, Zeil 7, Zeilen 35-56 *		6		
Y	US-A-2 138 051 (* Seite 1, Spalte		2		
A	* Anspruch 1 *		1,4,5,	RECHERCHIERT SACHGEBIETE (Int.	
Y	GB-A- 718 951 ELECTRICAL INDUST * Seite 1, Spalte		4	B 01 L B 01 F B 06 B H 04 R G 10 K	
A	* Seite 1, Spa Seite 2, Spalte	lte 2, Zeile 63 - 2, Zeile 3 *	1,6,7		
		-/-			
De	er vorliegende Recherchenbericht wurd	e für alle Patentansprüche erstellt.			
Recherchenort Absorblusdatum der Ber		Abschlußdatum der Becherche 10-10-1983	VAN (OORSCHOT J.W	7.M.

EPA Form 1503 03

X: von besonderer Bedeutung allein betrachtet
Y: von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie
A technologischer Hintergrund
O nichtschriftliche Offenbarung
P: Zwischenliteratur
T: der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze

nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worde
D: in der Anmeldung angeführtes Dokument
L: aus andern Grunden angeführtes Dokument

&: Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument



EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

0098949 Nummer der Anmeldung

EP 83 10 5214

	EINSCHLÄGI	Seite 2		
Categorie	Kennzeichnung des Dokument der maßge	s mit Angabe soweit erforderlich, blichen Teile	Betrifft Anspruc	
Y	NL-A-6 412 051 N.V.) * Anspruch 2 *	(STAMICARBON	4,5,	7
A	* Ansprüche 4,5	*	1,2,	6
D,A	DE-A-1 598 514 ELECTRONIC AG.) * Anspruch 1 *	- (GREINER	1,7	
				RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Ci 3)
D	er vorliegende Recherchenbericht wur	de fur alle Patentansprüche erstellt		
	Recherchenort DEN HAAG	Abschlußdatum der Recherd 10-10-1983	che VA	N OORSCHOT J.W.M
X V Y V A t	KATEGORIE DER GENANNTEN D von besonderer Bedeutung allein i von besonderer Bedeutung in Verlanderen Veröffentlichung derselbe echnologischer Hintergrund nichtschriftliche Offenbarung Zwischenliteratur der Erfindung zugrunde liegende 1	betrachtet nondung mit einer Die ir en Kategorie L. a	ach dem Anme n der Anmeldul us andern Grü	okument, das jedoch erst am ode Idedatum veröffentlicht worden i ng angeführtes Dokument nden angeführtes Dokument ichen Patentfamilie, überein- kument