



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11) **EP 0 562 358 B2**

(12) **NEUE EUROPÄISCHE PATENTSCHRIFT**

(45) Veröffentlichungstag und Bekanntmachung des
Hinweises auf die Entscheidung über den
Einspruch:
24.08.2005 Patentblatt 2005/34

(51) Int Cl.7: **B01L 3/02**

(45) Hinweis auf die Patenterteilung:
16.07.1997 Patentblatt 1997/29

(21) Anmeldenummer: **93103815.2**

(22) Anmeldetag: **10.03.1993**

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

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

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

(84) Benannte Vertragsstaaten:
DE FR GB IT

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

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

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

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

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

(56) Entgegenhaltungen:
**EP-A- 0 041 318 EP-A- 0 455 043
US-A- 3 810 391 US-A- 4 672 857
US-A- 5 024 109**

- Prospekt "Comfortpette 4700, Varipette 4710 und Comfortip cristal" von Eppendorf (1986)

EP 0 562 358 B2

Beschreibung

[0001] Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Korrektur des Volumenfehlers bei der Auslegung eines Pipettiersystems mit einer Kolbenhubpitte und einer darauf steckbaren Pipettenspitze.

[0002] Aus der DE-PS 25 26 296 ist ein Pipettiersystem der vorstehend genannten Art bekannt, dessen Kolbenhubpipette einen Konus zum Aufstecken der Pipettenspitze hat. Die Pipettenspitze weist ausgehend von der Spitzenöffnung einen stark konischen und daran anschließend bis zur Aufstecköffnung einen schwächer konischen Abschnitt bezogen auf die Innenkontur auf. Eine derartige Pipettenspitze hat beim Eintauchen in ein tiefes und insbesondere schlankes Gefäß den Nachteil, daß eine sie tragende Pipette mit dem Gefäß Wandberührung bekommen und kontaminiert werden kann. Dies ist grundsätzlich bei einer Pipettenspitze nicht der Fall, die gemäß EP-A-0 182 943 ausgehend von einer Spitzenöffnung eine lange zylindrische Nase, daran anschließend einen stark konischen und danach eine Aufstecköffnung aufweist.

[0003] Aus dem Prospekt "Comforpette 4700, Varipette 4710 und Comfortip cristal das neue Pipettiersystem für 0,5 bis 10 µl", Auflage 1985 der Eppendorf Gerätebau Netheler & Hinz GmbH ist ein Pipettiersystem bestehend aus der Pipette Varipette® 4710 und der den Pipettenspitzen Comfortips® cristal bekannt, bei dem der Kolben der Pipette in die Pipettenspitze hineinragt und dadurch das Luftpolster bis auf ein Minimum reduziert. Durch Drehen des Bedienungsknopfes der Pipette wird der Volumen bestimmende Arbeitshub verändert. Der Arbeitshub bewirkt die Aufnahme und Abgabe des Pipettiervolumens. Die Pipettenspitzen Comfortips® cristal haben angrenzend an einen Schaft, in den der Kolben hineinragt, eine zu einem breiteren Kegel geformte Spitze.

[0004] Bei den genannten Pipettiersystemen erstreckt sich der Einstellbereich aufnehmbarer Flüssigkeitsmengen jeweils von der Spitzenöffnung aus über alle verschiedenen Abschnitte der Pipettenspitze hinweg. Ist ein geringer Kolbenhub eingestellt, wird Flüssigkeit nur in den stark konischen (oder zylindrischen) Anfangsbereich eingesogen. Bei größerem Kolbenhub wird der schwächer konische (oder der konische und danach der zylindrische) Bereich erreicht. Den Pipettiersystemen ist gemeinsam, daß sie im Zusammenwirken mit einer einstellbaren Kolbenhubpipette Flüssigkeitsvolumina aufnehmen, die unakzeptabel vom angezeigten Flüssigkeitsvolumen abweichen können, wobei die Abweichung über den Einstellbereich hinweg unterschiedlich möglich ist. Deshalb wird die Steigung einer Spindel der Kolbenhubpipette für die Einstellung des Kolbenhubes versuchsweise so ermittelt, daß die Richtigkeitsabweichung zwischen aufgenommenem und angezeigtem Flüssigkeitsvolumen abweichen können, wobei die Abweichung über den Einstellbereich hinweg unterschiedlich möglich ist. Deshalb wird die Steigung einer Spindel der Kolbenhubpipette für die Einstellung des Kolbenhubes versuchsweise so ermittelt, daß die Richtigkeitsabweichung zwischen aufgenommenem und angezeigtem Flüssigkeitsvolumen über den gesamten Einstellbereich hinweg erträglich ist. Die resultierenden Richtigkeitsabweichungen werden hingenommen und sind allenfalls aufgrund nachträglicher Messungen feststellbar.

[0005] Daran ist außer der Vernachlässigung von Richtigkeitsabweichungen unbekannter Größe über den Einstellbereich hinweg nachteilig, daß die Abstimmung von Kolbenhubpipette und Pipettenspitze einen Wechsel der Pipettenspitze erschwert. Soll z.B. eine Kolbenhubpipette mit einer Pipettenspitze gemäß DE-PS 25 26 296 mit einer Pipettenspitze gemäß EP-A-0 182 943 bestückt werden, so ist mit der gegebenen Spindelsteigung nicht mehr gewährleistet, daß die Richtigkeitsabweichungen über den Einstellbereich hinweg erträglich sind.

[0006] Die US-PS 5 024 109 offenbart bereits ein Verfahren und eine Apparatur zur Korrektur des Fehlers einer Kolbenhubpipette. Dabei werden die Höhe der Flüssigkeit in der Pipettenspitze für das gewünschte Flüssigkeitsvolumen, die Änderungen des Totvolumens aufgrund der Flüssigkeitssäule in der Spitze und die erforderliche Kolbenverschiebung für das gewünschte Flüssigkeitsvolumen und die Änderung des Totvolumens ermittelt. Die Höhe der Flüssigkeitssäule für ein gewünschtes Volumen wird anhand der Spitzengeometrie ermittelt, speziell für eine konische Spitze. Die Änderung des Totvolumens wird aufgrund hydrostatischer Überlegungen bestimmt, die an die Höhe der Flüssigkeitssäule anknüpfen. Die Kolbenverschiebung wird aus der Summe des gewünschten Volumens und der Änderung des Totvolumens ermittelt. Diese Technik bedient sich einer elektromechanischen Pipette, die mit einem Steuerrechner verbunden ist. Vor Benutzung müssen in den Rechner Daten der Pipettenspitze, des Pipettiersystems und der Flüssigkeit eingegeben werden. Diese Pipettiertechnik ist aufwendig.

[0007] Davon ausgehend liegt der Erfindung die Aufgabe zugrunde, das Pipettiersystem der eingangs genannten Art zu verbessern, so daß über den gesamten Einstellbereich aufzunehmender Pipettierflüssigkeit hinweg einfach und genau gearbeitet werden kann. Ferner soll das Pipettiersystem einen Austausch der Kolbenhubpipetten bzw. Pipettenspitzen ermöglichen, wobei weiterhin genau und einfach gearbeitet werden soll.

[0008] Die Lösung dieser Aufgabe ist in Anspruch 1 angegeben. Vorteilhafte Ausgestaltungen sind in den Unteransprüchen zu finden.

[0009] Der Erfindung liegt die Erkenntnis zugrunde, daß Pipettenkorrekturfaktor, Querschnittsverlauf entlang der Spitze, Totvolumen und gegebenenfalls Nullpunktsverschiebung der Anzeige für die Höhe der Richtigkeitsabweichungen über den Einstellbereich maßgeblich sind. Durch Abstimmung dieser Einflußfaktoren aufeinander ist es folglich möglich, im Einstellbereich für jedes aufgenommene Flüssigkeitsvolumen eine vorgegebene Richtigkeitsabweichung

vom angezeigten Flüssigkeitsvolumen zu realisieren, die auch Null sein kann. Im Gegensatz zu herkömmlichen Pipettiersystemen werden nach der Erfindung nicht mehr Richtigkeitsabweichungen durch Wahl der Spindelsteigung nach Vorgabe der übrigen Einflußgrößen minimiert, sondern sämtliche o.g. Einflußgrößen so aufeinander abgestimmt, daß vorgegebene Richtigkeitsabweichungen erreicht werden. Bei einem solchen Pipettiersystem ist dann für jedes angezeigte Flüssigkeitsvolumen der genaue Wert des aufgenommenen Flüssigkeitsvolumens bekannt. Gegenüber der vorbekannten elektronischen Pipette mit Steuerrechner erübrigt sich eine Berechnung des Kolbenhubes für jeden Pipettiervorgang, um die vorgegebene Richtigkeitsabweichung zu erreichen. Allenfalls kann eine Anpassung an die jeweilige Flüssigkeitsdichte erforderlich sein. Diese kann durch Austausch von Spitzen, Änderungen des Totvolumens oder des Pipettenkorrekturfaktors nach Maßgabe der jeweiligen Flüssigkeit erfolgen. Wenn die Richtigkeitsabweichungen von Null abweichen und fehlerfrei pipettiert werden soll, kann der Kolbenhub mittels der Anzeige stets so eingestellt werden, daß das aufgenommene Flüssigkeitsvolumen dem beabsichtigten Volumen entspricht. Ferner lassen sich erfindungsgemäß Pipettenspitzen an herkömmliche Kolbenhubpipetten so anpassen, daß vorgegebene Richtigkeitsabweichungen erreicht werden. Hierdurch kann im Bedarfsfalle ein Pipettiersystem mit einer verlängerten Pipettenspitze ausgerüstet werden, welche Wandberührungen und einhergehende Kontamination vermeidet. Umgekehrt ist es auch möglich, vorgegebene Richtigkeitsabweichungen durch Abstimmung einer Kolbenhubpipette auf vorhandene Pipettenspitzen sicherzustellen.

[0010] Die Richtigkeitsabweichung kann auf verschiedene Weise definiert werden. Für die praktische Handhabung besonders günstig ist die Vorgabe einer konstanten absoluten oder relativen Richtigkeitsabweichung, weil dann der Unterschied des aufgenommenen vom angezeigten Flüssigkeitsvolumen am einfachsten bestimmbar ist.

[0011] Soll ein herkömmliches Pipettiersystem insbesondere durch Austausch einer Pipettenspitze in ein erfindungsgemäßes umgewandelt werden, kann eine Abstimmung erfolgen, die für jedes aufgenommene Flüssigkeitsvolumen eine vorgegebene Richtigkeitsabweichung vom aufgenommenen Flüssigkeitsvolumen des herkömmlichen Pipettiersystems anstatt vom angezeigten Flüssigkeitsvolumen bedingt. Dann sind die Unterschiede des pipettierten Flüssigkeitsvolumens vom herkömmlicherweise pipettierten Volumen bei gleicher Anzeige bekannt. Dieses Wissen kann für Vergleichsuntersuchungen mit geänderter Pipettenspitze interessant sein.

[0012] Der Flüssigkeitsspiegel steigt im Einstellbereich aufnehmbarer Flüssigkeitsvolumina stets bis in einen zylindrischen Arbeitsbereich der Pipettenspitze empor. Zum Ausgleich von Querschnittsänderungen einschließlich Unstetigkeitsstellen im Anfangsbereich der Pipettenspitze kann die Abstimmung eine Nullpunktverschiebung des angezeigten Flüssigkeitsvolumens gegenüber dem Kolbenhub einbeziehen.

[0013] In der Praxis sind bisweilen Werte von Pipettenkorrekturfaktor, Totvolumen und gegebenenfalls Nullpunktverschiebung vorgegeben, insbesondere wenn das Pipettiersystem durch Anpassung einer Pipettenspitze an eine vorhandene Kolbenhubpipette verwirklicht werden soll. Zu Erreichen der vorgegebenen Richtigkeitsabweichung kann dann eine Abstimmung des Querschnittsverlaufs entlang der Spitze auf die vorgegebenen Einflußgrößen genügen.

[0014] Der Arbeitsbereich der Pipettenspitze ist im wesentlichen zylindrisch. Dann kann insbesondere eine konstante absolute Richtigkeitsabweichung über den gesamten Einstellbereich aufnehmbarer Flüssigkeiten hinweg verwirklicht werden. Für eine kleine Spitzenöffnung und einen ausreichend großen Volumenbereich für die Aufnahme einstellbarer Flüssigkeitsmengen kann dieser einen sich allmählich erweiternden Übergangsbereich aufweisen. Der Übergangsbereich hat bevorzugt einen Übergangsradius oder Übergangskonus, wobei der Konuswinkel zur Vermeidung unerwünschter Effekte (Springbrunneneffekt) möglichst klein gehalten wird. Dem Übergangsbereich ist bevorzugt ein Arbeitsbereich nachgeordnet. Insbesondere für die Benutzung bei relativ langen und schlanken Gefäßen hat das Pipettiersystem eine Pipettenspitze mit einem dünnen Ansaugröhrchen angrenzend an die Spitzenöffnung. Dann hat die Spitze bevorzugt auch einen sich erweiternden Übergangs- sowie einen nachgeordneten Arbeitsbereich.

[0015] Zwecks Anpassung des Pipettiersystems an verschiedene Flüssigkeitsdichten oder Luftdrucke kann sein Pipettenkorrekturfaktor einstellbar sein. Das ist im einfachsten Falle durch den Austausch einer Spindel für das Einstellen des Kolbenhubes durchführbar. Auch kommt dafür eine Anzeigeeinrichtung mit einer spreizbaren Skala in Betracht.

[0016] Zu vorstehendem Zweck kann auch eine Nullpunktverschiebung der Anzeige mittels ähnlicher Maßnahmen realisiert werden.

[0017] Ferner kann ein einstellbares Totvolumen vorgesehen sein. Das ist insbesondere durch Austausch von Pipettenspitzen möglich, wobei eine Pipettenspitze für leichtere Flüssigkeiten bei gleichem Durchmesser länger ausgeführt werden muß. Zur Veränderung des Totvolumens können auch Zwischenstücke zwischen Kolbenhubpipette und Pipettenspitze einsetzbar sein.

[0018] Erfindungsgemäß kann eine Abstimmung der Einflußgrößen zum Erreichen der vorgegebenen Richtigkeitsabweichungen experimentell erfolgen. Dabei kann zunächst für jedes aufgenommene Flüssigkeitsvolumen eine Richtigkeitsabweichung vom angezeigten Flüssigkeitsvolumen vorgegeben werden. Diese Abweichungen sind nun durch Abstimmung von Pipettenkorrekturfaktor, Querschnittsverlauf entlang der Spitze und Totvolumen aufeinander zu realisieren. Da der Pipettenkorrekturfaktor und das Totvolumen nach getroffener Wahl meistens nicht mehr verändert werden, werden zunächst die Werte für diese Einflußparameter zumindest vorläufig festgelegt, wobei eine Orientierung

EP 0 562 358 B2

an Werten bekannter Pipettiersysteme möglich ist. Dann verbleibt als letzte Einflußgröße der Querschnittsverlauf entlang der Pipettenspitze, mit der die vorgegebenen Richtigkeitsabweichungen sichergestellt werden können. Dafür ergeben sich beispielsweise durch Versuche eindeutige Werte, wenn die übrigen Einflußfaktoren zuvor gewählt worden sind. Sollte der gefundene Querschnittsverlauf nicht realisierbar sein, wären die vorgegebenen Einflußgrößen zu korrigieren oder sogar eine andere Richtigkeitsabweichung vorzugeben.

[0019] Wegen des Aufwandes einer empirischen Abstimmung wird bevorzugt das nachfolgende physikalisch-mathematische Modell zur rechnerischen Abstimmung herangezogen: Das Kolbenhubvolumen V_{Kolben} einer Kolbenhubpipette ist um den Volumenfehler ΔV größer als das aufgenommene Flüssigkeitsvolumen $V_{\text{Flüss.}}$.

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

[0020] Der Volumenfehler resultiert daraus, daß die Flüssigkeitssäule am Luftpolster zwischen Flüssigkeitsspiegel und Kolben (= "Totvolumen") hängt und nach unten zieht, wobei das Luftpolster entsprechend vergrößert wird.

[0021] Die Änderungen von Volumen und Druck im Luftpolster lassen sich ausgehend von Totvolumen von Pipette und Spitze bei Umgebungsdruck mittels einer thermischen Zustandsgleichung beschreiben. Zur Berechnung von ΔV wird angenommen: Ideales Gas, $T = \text{const.}$

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

oder:

$$p_o \cdot V_t = (p_o - \Delta p) \cdot (V_t + \Delta V) \quad (\text{B})$$

mit:

$V_t =$ Luftpolster, Totvolumen von Pipette und Spitze

$P_o =$ Außendruck, atmosphärischer Druck

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

aus (B) folgt:

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

und:

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

weiter

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

und unter Berücksichtigung, daß $\Delta p \ll p_o$ ergibt sich:

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

[0022] Totvolumen und atmosphärischer Druck werden als bekannt vorausgesetzt. Die Druckänderung Δp entspricht dem hydrostatischen Druck der Flüssigkeitssäule der Höhe h :

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

mit:

ρ = spezifisches Gewicht

g = Erdbeschleunigung

[0023] Die Höhe h der Flüssigkeitssäule ist durch das pipettierte Flüssigkeitsvolumen und den Querschnittsverlauf der Pipettenspitze bestimmt:

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

mit

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

[0024] Aus (A), (C) und (D) folgt:

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

[0025] Mit (E) und (F) lässt sich die Abhängigkeit des Kolbenhubes V_{Kolben} vom aufgenommenen Flüssigkeitsvolumen $V_{\text{Flüss.}}$ errechnen, ggfs. unter Zuhilfenahme numerischer Methoden.

[0026] Der Kolbenhub ist durch Anschläge begrenzt, deren Abstand sich mittels einer Spindel verstellen lässt, die mit der Anzeigeeinrichtung gekoppelt ist. Folglich besteht zwischen V_{Kolben} und dem angezeigten Flüssigkeitsvolumen $V_{\text{Anz.}}$ ein linearer Zusammenhang:

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

mit

a = Pipettenkorrekturfaktor

b = Nullpunktverschiebung

[0027] Für den Zusammenhang von a und Spindelsteigung S gilt:

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

[0028] Aus (F) und (G) folgt:

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

[0029] Daraus ergibt sich für die absolute Richtigkeitsabweichung $R_{\text{abs.}}$:

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

mit:

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

[0030] Für die relative Richtigkeitsabweichung $R_{\text{rel.}}$ gilt:

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

mit:

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

[0031] Mit (I) bzw. (J) und (E) können nun Pipettenkorrekturfaktor a , Nullpunktverschiebung b , Querschnittsverlauf Q (y) und Totvolumen V_t so aufeinander abgestimmt werden, daß jedem aufgenommenen Flüssigkeitsvolumen $V_{\text{Flüss.}}$ eine vorgegebene Richtigkeitsabweichung $R_{\text{abs.}}$ bzw. $R_{\text{rel.}}$ zugeordnet ist. Zweckmäßigerweise wird man dafür die Richtigkeitsabweichungen vom angezeigten Flüssigkeitsvolumen vorgeben, Pipettenkorrekturfaktor, Nullpunktverschiebung und Totvolumen zumindest vorläufig wählen und dann den Querschnittsverlauf berechnen. Andererseits ist die Vorgabe spezieller Querschnittsverläufe entlang der Spitze möglich. Speziell folgt bei zylindrischer Pipettenspitze aus (E):

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

mit:

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

[0032] Aus (I) und (K) ergibt sich:

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

[0033] Wird der Verlauf der Richtigkeitsabweichung vorgegeben, folgt daraus der Zusammenhang zwischen dem Totvolumen, der Pipettenkorrekturfaktor und der Nullpunktverschiebung. Soll die absolute Richtigkeitsabweichung $R_{\text{abs.}}$ für alle $V_{\text{Flüss.}}$ konstant sein, muß gelten:

$$0 = 1 - \frac{1}{a} - \frac{\rho g}{\rho_o} \cdot \frac{V_t}{Q \cdot a} \quad (\text{L})$$

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

[0034] Mit dem Formelsatz (L) lassen sich sämtliche Bestimmungsgrößen festlegen. Dafür sind nur noch Größen für zwei der Einflußfaktoren Totvolumen, Pipettenspitzenquerschnitt, Pipettenkorrekturfaktor und Nullpunktverschiebung vorzugeben.

[0035] Weitere Einzelheiten und Vorteile des Gegenstandes der Erfindung ergeben sich aus der nachfolgenden Beschreibung der zugehörigen Zeichnungen. In den Zeichnungen zeigen:

Fig. 1 Zusammenwirken von Pipettenspitze und Kolbenhubpipette in einem Diagramm mit der Differenz von (angezeigtem) Flüssigkeitsvolumen und Kolbenhub auf der Ordinate und dem Kolbenhub auf der Abszisse;

Fig. 2 Pipettenspitzen P_1 , P_2 und P_3 zu den Kurven A, B und C in Fig. 1;

Fig. 3 eine Pipettenspitze in stark vergrößertem, vierfach abgebrochenem Längsschnitt;

Fig. 4 einen oberen Abschnitt einer kolbenbetriebenen Pipette; und

Fig. 5 einen unteren Abschnitt einer kolbenbetriebenen Pipette, dessen Querschnitt A-A mit dem Querschnitt A-A des oberen Abschnittes zusammenfällt.

[0036] Die Pipette gemäß Fig. 4 und 5 ist in der amerikanischen Patentschrift US-A-5511433 der Anmelderin offenbart. Auf diese Offenbarung wird Bezug genommen. Die Pipette hat ein Gehäuse 1. Am oberen Ende des Gehäuses ist ein Betätigungsknopf 2 angebracht, der entgegen der Feder 14 beweglich ist. Der Knopf 2 ist mit einer Kolbenstange 7 verbunden, die sich durch eine Spindel 6 erstreckt. Wie in der Fig. 5 gezeigt ist, trägt das untere Ende der Stange 7 ein Verbindungsstück 8, welches einen Träger 9 für einen Kolben 10 aufweist. Eine Feder 18 drückt eine untere Hülse 19 zum Führen des Kolbens 9, 10 gegen eine innere konische Fläche 21 des Gehäuses 1. Die Hülse 19 stützt sich am Gehäuse über einen nachgiebigen Dichtring 20 ab.

[0037] Wenn der Knopf 2 vertikal nach unten gepreßt wird, wird der Kolben 9, 10 in die Zylinderkammer 11 gepreßt, wobei er Luft aus der Zylinderkammer 11 durch das Rohr 12 drückt. Am unteren Ende des Rohres 12 ist eine aufsteckbare Pipettenspitze angebracht, die in Fig. 3 in vergrößertem Maßstab gezeigt ist. Die Pipettenspitze ist auf einem konischen Sitz am unteren Ende des Rohres 12 in einer nicht dargestellten Weise befestigt. Die Zylinderkammer 11, das Rohr 12 und die Pipettenspitze definieren das Totvolumen der Pipette.

[0038] Beim Pressen des Knopfes 2 vertikal nach unten wird der Kolben 9, 10 verschoben, bis er gegen das obere Ende des Rohres 12 gelangt, welches von einem stationären Teil in der Zylinderkammer gehalten ist. Dieses bildet einen unteren Anschlag für die Kolbenbewegung.

[0039] Die Kolbenstange 7 ist mit einem Flansch 22 versehen, auf dem die Spindel 6 in der Anfangsposition der Stange 7 und des Kolbens 9, 10 ruht. Dieser Flansch 22 definiert den oberen Anschlag für den Kolben 9, 10. Der obere Anschlag ist wie folgt einstellbar: Der Knopf 2 ist mit einer nach unten erstreckten Hülse 5 verbunden, die drehbar im Gehäuse gehalten ist. Die Spindel 6, welche die Stange 7 umgibt, ist drehfest mit der drehbaren Hülse 5 verbunden. Das äußere Gewinde der Spindel 6 arbeitet mit einem Innengewinde eines Teils 36 zusammen, welches im Gehäuse 1 befestigt ist. Wenn der Knopf 2 gedreht wird, wird die Spindel 6 in das Gewindeteil 36 hinein oder aus diesem heraus geschraubt. Die Spindel 7 wird dabei axial verstellt, wodurch die Einstellung des Anschlages für den Flansch 22 der Stange 7 eingestellt wird, der bei Rückkehr des Kolbens 9, 10 in eine Anfangsposition wirksam wird, wenn der Knopf 2 los gelassen und von der Feder 14 zurückgestellt wird. Der Hub des Kolbens wird durch den oberen Anschlag der Kolbenstange in seiner Anfangsposition begrenzt.

[0040] Wenn die Spindel 6 manuell mittels des Knopfes 2 verdreht wird, wird ein Rad 50 über ein Schneckengetriebe verstellt. Dafür hat die Hülse 5 außen eine Zahnung 52. Die Drehung des Rades 50 wird von einer Skala angezeigt, die durch ein Fenster 53 sichtbar ist. Die Skala ist kalibriert, um den oberen Anschlag so einzustellen, daß eine gewünschte Menge Flüssigkeit in die Pipettenspitze eingesogen wird, die am unteren Ende des Rohres 12 aufgesteckt ist.

[0041] Wie bereits erwähnt, zeigen die Fig. 4 und 5 einen Teil des Totvolumens 11 und 12 sowie die Einstellmittel und Anzeigemittel 51 zum Einstellen und Anzeigen der gewünschten Menge Flüssigkeit.

[0042] In Fig. 1 repräsentieren die Kurven A_1 und A_2 das Verhalten von zylindrischen Pipettenspitzen P_1 gemäß Fig. 2. Bei diesen Pipetten nimmt der negative Volumenfehler $-\Delta V$ mit zunehmendem Kolbenhub linear zu. Dabei entspricht die Kurve A_1 einer Pipettenspitze mit kleinerem und die Kurve A_2 einer Pipettenspitze mit größerem Querschnitt.

[0043] Der Volumenfehler $-\Delta V$ der Pipettenspitze wird durch eine Abstimmung der Kolbenhubpipette kompensiert. Durch Einstellung des Pipettenkorrekturfaktors ist nämlich der Unterschied zwischen dem angezeigten Flüssigkeitsvolumen $V_{Anz.}$ und dem Kolbenhub V_{Kolben} in Abhängigkeit vom Kolbenhub gerade so gewählt, daß das angezeigte Flüssigkeitsvolumen $V_{Anz.}$ dem aufgenommenen Flüssigkeitsvolumen $V_{Flüss.}$ entspricht. Hier ist die Kolbenhubpipette mit der Kurve K_1 und dem größeren Pipettenkorrekturfaktor a der Pipettenspitze mit der Kurve A_1 und die Kolbenhubpipette mit der Kurven K_2 der Pipettenspitze mit der Kurve A_2 zugeordnet. Das Diagramm veranschaulicht, daß für jeden Kolbenhub V_{Kolben} der Unterschied zwischen dem angezeigten Flüssigkeitsvolumen $V_{Anz.}$ und dem aufgenommenen Flüssigkeitsvolumen $V_{Flüss.}$ gleich Null ist.

[0044] Die Kurve B in Fig. 1 ist der Pipettenspitze P_2 von Fig. 2 zugeordnet. Diese hat angrenzend an die Spitzenöffnung ein dünnes Ansaugröhrchen, welches anfänglich bei geringem Kolbenhub ein relativ hohes Ansteigen der Flüssigkeitssäule bedingt. Infolgedessen ist in diesem Anfangsbereich auch der negative Volumenfehler $-\Delta V$ relativ hoch. Füllt die Flüssigkeitssäule das Ansaugröhrchen aus, ist beim Emporsteigen in das angrenzende zylindrische Arbeitsvolumen ein geringerer Anstieg des negativen Volumenfehlers zu verzeichnen.

[0045] Der Kurve C in Fig. 1 korrespondiert die Pipettenspitze P_3 der Fig. 2. Diese hat angrenzend an ein dünnes Ansaugröhrchen einen konischen Übergangsbereich zu einem zylindrischen Arbeitsvolumen. Somit schließt sich in der Fig. 1 angrenzend an den, steilen Anfangsabschnitt ein Bereich abgeschwächter Steigung des Volumenfehlers für den Übergangsbereich an, der schließlich in einem Bereich schwacher Steigung für den zylindrischen Arbeitsabschnitt mündet.

[0046] Der Kurve C entspricht eine Kolbenhubpipette, bei der die Differenz von angezeigtem Flüssigkeitsvolumen $V_{Anz.}$ zum Kolbenhub V_{Kolben} über den Kolbenhub durch die Kurve K_3 repräsentiert ist. Diese weist auf der Ordinate eine Nullpunktverschiebung NV auf, d.h. beim Kolben in der Ausgangslage wird schon ein Flüssigkeitsvolumen $V_{Anz.}$

angezeigt. Die Nullpunktverschiebung ist so gewählt, daß bei einem Kolbenhub V_{Kolben} , der einen Anstieg der Flüssigkeiten im Arbeitsbereich der Pipettenspitze bedingt, gerade eine Kompensation des Volumenfehlers erreicht wird. Das System weist somit eine Fehlerkurve F auf, die von maximalem Anfangswert auf einen Wert Null fällt, der beim Anstieg der Flüssigkeitssäule bis in den Arbeitsbereich erreicht wird.

[0047] Die Pipettenspitze in Fig. 3 hat unten eine Spitzenöffnung 1' für Flüssigkeitsdurchtritt, an die sich ein dünnes Ansaugröhrchen 2' anschließt. Das Ansaugröhrchen 2' mündet in einen Übergangskonus 3', der anderenends mit einem erweiterten Arbeitsbereich 4' kommuniziert. Der Arbeitsbereich 4' mündet oben in einen Aufsteckkonus 5' mit einer Aufstecköffnung 6' für eine Kolbenhubpipette mit einstellbarem Kolbenhub.

[0048] Im Einstellbereich aufnehmbarer Flüssigkeitsmengen steigt die Flüssigkeit durch die Spitzenöffnung 1 und das Ansaugröhrchen 2 sowie den Übergangskonus 3 stets bis in den Arbeitsbereich 4 empor. Um über den gesamten Einstellbereich eine etwa konstante absolute Richtigkeitsabweichung der aufgenommenen Flüssigkeitsmenge von der angezeigten Flüssigkeitsmenge zu realisieren, ist die Pipettenspitze im Arbeitsbereich 4 innen etwa kreiszyindrisch geformt.

[0049] Zur besseren Entformbarkeit beim Spritzgießen ist sowohl im Bereich des Ansaugröhrchens 2, als auch im Arbeitsbereich 4 eine geringfügige Konizität vorgesehen, welche die angestrebte Richtigkeitsabweichung praktisch nicht beeinträchtigt. Der Übergangskonus besitzt einen deutlichen Konuswinkel, der zur Vermeidung eines Springbrunneneffektes ca. 7° beträgt.

[0050] Eine typische Pipettenspitze hat eine Gesamtlänge von etwa 100 mm, wovon etwa 25 mm auf das Ansaugröhrchen 2 entfallen. Der Durchmesser wächst von ca. 0,5 mm in der Spitzenöffnung 1 auf ca. 3 mm zu Beginn des Arbeitsbereiches 4 an.

Patentansprüche

1. Verfahren zur Korrektur des Volumenfehlers ΔV bei der Auslegung eines Pipettiersystems mit einer Kolbenhubpipette und einer darauf steckbaren Pipettenspitze, wobei die Kolbenhubpipette Einstelleinrichtungen zur Veränderung des Kolbenhubs sowie Anzeigeeinrichtungen für das jeweils pipettierte Flüssigkeitsvolumen hat und das Verhältnis vom Kolbenhub zum angezeigten Flüssigkeitsvolumen durch einen Pipettenkorrekturfaktor a bestimmt ist, die Pipettenspitze eine Spitzenöffnung, einen damit verbundenen Volumenbereich für die Aufnahme einstellbarer Flüssigkeitsvolumina und eine damit verbundene Aufstecköffnung für die Kolbenhubpipette aufweist und zwischen Spitzenöffnung und Kolben ein Totvolumen V_t ausgebildet ist, wobei der zu korrigierende Volumenfehler ΔV daraus resultiert, daß das Totvolumen V_t zwischen dem Flüssigkeitsspiegel und dem Kolben der Pipette durch das Gewicht der Flüssigkeitssäule in der Pipettenspitze vergrößert wird, wobei die Korrektur des Volumenfehlers ΔV durch bauliche Abstimmung des Totvolumens V_t , des Pipettenkorrekturfaktors a und des Verlaufs des Querschnitts Q der Pipettenspitze, die einen zylindrischen Arbeitsbereich aufweist, in der der Flüssigkeitsspiegel im gesamten Einstellbereich aufnehmbarer Flüssigkeitsvolumina emporsteigt, derart erfolgt, daß das von den Anzeigeeinrichtungen angezeigte Flüssigkeitsvolumen V_{Anz} dem aufgenommenen Flüssigkeitsvolumen $V_{\text{Flüss}}$ oder einer vorgegebenen Abweichung entspricht.

2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet, daß** Pipettenkorrekturfaktor, Verlauf des Innenquerschnitts und Totvolumen mit einer Nullpunktverschiebung des angezeigten Flüssigkeitsvolumens gegenüber dem Kolbenhub abgestimmt werden.

3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet, daß** der Verlauf des Innenquerschnitts entlang der Spitze auf vorgegebene Werte von Pipettenkorrekturfaktor, Totvolumen und gegebenenfalls Nullpunktverschiebung abgestimmt wird.

4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet, daß** Pipettenkorrekturfaktor, Verlauf des Innenquerschnitts, Totvolumen und gegebenenfalls Nullpunktverschiebung unter Beachtung der Zusammenhänge

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

oder

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

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

5

$$\int_0^h Q(y) dy$$

= aufgenommenes Flüssigkeitsvolumen

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

10

$V_{\text{Anz.}}$ = angezeigtes Flüssigkeitsvolumen

ρ = Dichte der zu pipettierenden Flüssigkeit

g = Erdbeschleunigung

h = Höhe der Flüssigkeitssäule in der Pipettenspitze

V_t = Totvolumen

15

P_o = Umgebungsdruck

a = Pipettenkorrekturfaktor

b = Nullpunktverschiebung

aufeinander abgestimmt werden.

20

5. Verfahren nach Ansprüchen 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet, daß** eine Pipettenspitze verwendet wird, bei der dem Arbeitsbereich der Pipettenspitze ein sich allmählich erweiternder Übergangsbereich zugeordnet ist.

25

6. Verfahren nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet, daß** der Übergangsbereich durch einen möglichst geringen Winkel bestimmt wird.

7. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 6, **dadurch gekennzeichnet, daß** eine Pipettenspitze verwendet wird, bei der angrenzend an die Spitzenöffnung ein dünnes Ansaugröhrchen vorhanden ist.

30

8. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 7, **dadurch gekennzeichnet, daß** der Pipettenkorrekturfaktor eingestellt wird.

9. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 8, **dadurch gekennzeichnet, daß** die Nullpunktverschiebung der Anzeige eingestellt wird.

35

10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, **dadurch gekennzeichnet, daß** das Totvolumen eingestellt wird.

11. Verfahren nach Anspruch 10, **dadurch gekennzeichnet, daß** das Totvolumen durch Austausch von Pipettenspitzen und/oder Zwischenstücke zwischen Kolbenhubpipette und Pipettenspitze eingestellt wird.

40

12. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 11, **dadurch gekennzeichnet, daß** das Totvolumen durch variable Einstellung des unteren Kolbenhubanschlages eingestellt wird.

45

Claims

1. A method for correcting the volume error ΔV in the course of designing a pipetting system comprising a plunger-operated pipette and a pipette tip adapted to be slipped onto top thereof wherein the plunger-operated pipette has adjusting devices for varying the piston stroke and display devices for the respective liquid volume pipetted and the relation of the piston stroke to the liquid volume displayed is determined by a pipette correction factor a , the pipette tip has a tip opening, a volume range coupled thereto for the reception of adjustable liquid volumes, and a slip-on opening coupled thereto for the plunger-operated pipette and a dead volume V_t is formed between the tip opening and the piston, wherein the volume error ΔV requiring correction results from the fact that the dead volume V_t between the liquid level and the piston of the pipette is increased because of the weight of the head of liquid in the pipette tip, wherein the correction of the volume error ΔV is performed by constructional agreement between the dead volume V_{ts} of the pipette correction factor and the contour of the cross-section Q of the pipette tip, which has a cylindrical working range in which the liquid level rises within the entire range of adjustment of the accommodatable liquid volumes, in such a way that the liquid volume A_{Anz} displayed by the display devices match-

55

es the liquid volume received $V_{\text{Flüss}}$ or a predetermined deviation.

2. The method as claimed in claim 1, **characterized in that** the pipette correction factor, the contour of the inner cross-section, and the dead volume are harmonized with a zero shift of the liquid volume displayed with respect to the piston stroke.
3. The method as claimed in claim 1 or 2, **characterized in that** the contour of the inner cross-section along the tip is harmonized with predetermined values of the pipette correction factor, the contour of the inner cross-section, and the dead volume, if required for the latter.
4. The method as claimed in any one of claims 1 to 3, **characterized in that** the pipette correction factor, the contour of the inner cross-section, the dead volume, and the dead volume, if the latter is required, are harmonized with each other while taking into account the following interconnections:

$$R_{\text{abs.}} = V_{\text{Flüss.}} - \left(V_{\text{Flüss.}} + \frac{\rho g h}{P_0} \cdot V_t - b \right) \frac{1}{a}$$

or

$R_{\text{rel.}} = R_{\text{abs.}} / V_{\text{Flüss.}}$ = Relative deviation from correctness
 with $R_{\text{abs.}} = V_{\text{Flüss.}} - V_{\text{Anz.}}$ = Absolute deviation from correctness
 $V_{\text{Flüss.}} =$

$$\int_0^h Q(y) dy$$

= Liquid volume received
 $Q(y)$ = Cross-section at a distance y from the tip opening
 $V_{\text{Anz.}}$ = Liquid volume displayed
 ρ = Density of the liquid requiring pipetting
 g = Gravitational acceleration
 h = Height of the head of liquid in the pipette tip
 V_t = Dead volume
 P_0 = Ambient pressure
 a = Pipette correction factor
 b = Zero shift.

5. The method as claimed in any one of claims 1 to 4, **characterized in that** a pipette tip is used in which the working range of the pipette tip has arranged in front thereof a gradually widening transition range.
6. The method as claimed in claim 5, **characterized in that** the transition range is determined by an angle which is as small as possible.
7. The method as claimed in any one of claims 1 to 6, **characterized in that** a pipette tip is used in which there is a thin suction tube adjacent to the tip opening.
8. The method as claimed in any one of claims 1 to 7, **characterized in that** the pipette correction factor is adjusted.
9. The method as claimed in any one of claims 1 to 8, **characterized in that** the zero shift of the display is adjusted.
10. The method as claimed in any one of claims 1 to 9, **characterized in that** the dead volume is adjusted.
11. The method as claimed in claim 10, **characterized in that** the dead volume is adjusted by exchanging pipette tips

and/or via connecting pieces between the plunger-operated pipette and the pipette tip.

12. The method as claimed in any one of claims 1 to 11, **characterized in that** the dead volume is adjusted by variably setting the lower piston stroke stop.

Revendications

1. Procédé de correction de l'erreur ΔV sur le volume lors du dimensionnement d'un système de pipetage, comportant une pipette fonctionnant par la course d'un piston, et une pointe de pipette pouvant être enfoncée sur cette pipette, la pipette à course de piston comportant des dispositifs de réglage pour modifier la course du piston, ainsi que des dispositifs d'affichage du volume de liquide pris chaque fois par la pipette, le rapport entre la course du piston et le volume affiché du liquide étant déterminé par un facteur de correction a , la pointe de pipette présentant une ouverture de pointe, une zone de volume reliée à elle, pour recevoir des volumes réglables de liquide, et une ouverture d'enfichage, reliée à elle, pour la pipette à course de piston, tandis qu'entre l'ouverture de la pointe et le piston, est réalisé un volume mort V_t , l'erreur de volume ΔV à corriger résultant de ce que le volume mort V_t , entre le niveau du liquide et le piston de la pipette augmente sous l'effet du poids de la colonne de liquide dans la pointe de pipette, la correction de l'erreur de volume ΔV se faisant par détermination, par construction, du volume mort V_t , du facteur de correction de pipette a , et de l'évolution de la section transversale Q de la pointe de pipette qui présente une zone de travail cylindrique, de telle façon que le volume de liquide V_{Anz} indiqué par le dispositif d'affichage corresponde au volume de liquide reçu ou à une valeur dérivée prédéfinie.
2. Procédé suivant la revendication 1, **caractérisé en ce que** le facteur de correction de pipette, l'évolution de la section transversale intérieure et le volume mort sont adaptés à un décalage du point zéro du volume affiché du liquide, par rapport à la course du piston.
3. Procédé suivant la revendication 1 ou la revendication 2, **caractérisé en ce que** l'évolution de la section transversale intérieure le long de la pointe est adaptée à des valeurs prédéfinies du facteur de correction de pipette, du volume mort et, le cas échéant, du décalage du point zéro.
4. Procédé suivant l'une des revendication 1 à 3, **caractérisé en ce que** le facteur de correction de pipette, l'évolution de la section transversale intérieure, le volume mort et, le cas échéant, le décalage du point zéro sont adaptés les uns aux autres en tenant compte des relations:

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

ou

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

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

$$V_{Flüss.} =$$

$$\int_0^h Q(y) dy$$

= volume de liquide reçu

$Q(y)$ = Section transversale à la distance y de l'ouverture de la pointe

$V_{Anz.}$ = volume de liquide affiché

ρ = Densité du liquide à aspirer par la pipette

g = accélération due à la pesanteur

h = hauteur de la colonne de liquide dans la pointe de pipette

V_t = volume mort

EP 0 562 358 B2

Po = pression ambiante

a = facteur de correction de pipette

b = décalage du point zéro

- 5 5. Procédé suivant l'une des revendications 1 à 4, **caractérisé en ce qu'on** utilise une pointe de pipette dans laquelle une zone de transition s'élargissant progressivement est située en amont de la zone de travail de la pointe de pipette.
- 10 6. Procédé suivant la revendication 5, **caractérisé en ce que** la zone de transition est déterminée par un angle le plus faible possible.
- 15 7. Procédé suivant l'une des revendication 1 à 6, **caractérisé en ce qu'on** utilise une pointe de pipette disposant d'un fin tube d'aspiration adjacent à l'ouverture de pointe.
- 20 8. Procédé suivant l'une des revendication 1 à 7, **caractérisé en ce qu'on** règle le facteur de correction de pipette.
- 25 9. Procédé suivant l'une des revendication 1 à 8, **caractérisé en ce qu'on** règle le décalage du point zéro de l'affichage.
- 30 10. Procédé suivant l'une des revendication 1 à 9, **caractérisé en ce qu'on** règle le volume mort.
- 35 11. Procédé suivant la revendication 10, **caractérisé en ce qu'on** règle le volume mort en échangeant des pointes de pipette et/ou des pièces intermédiaires entre la pipette à course de piston et la pointe de pipette.
- 40 12. Procédé suivant l'une des revendication 1 à 11, **caractérisé en ce qu'on** règle le volume mort en faisant varier le réglage de la butée inférieure de la course du piston.
- 45
- 50
- 55

FIG.1

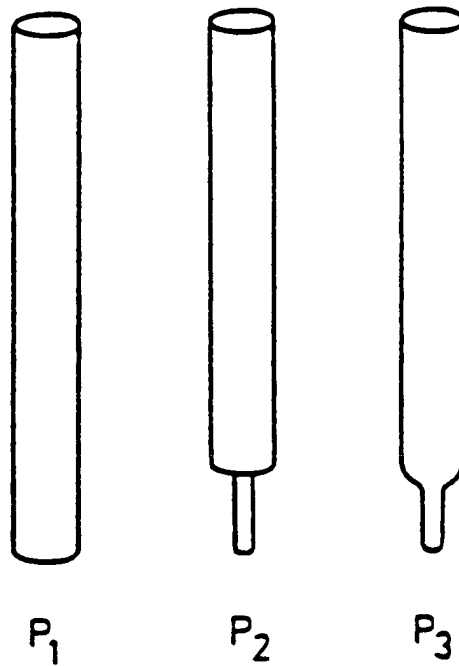
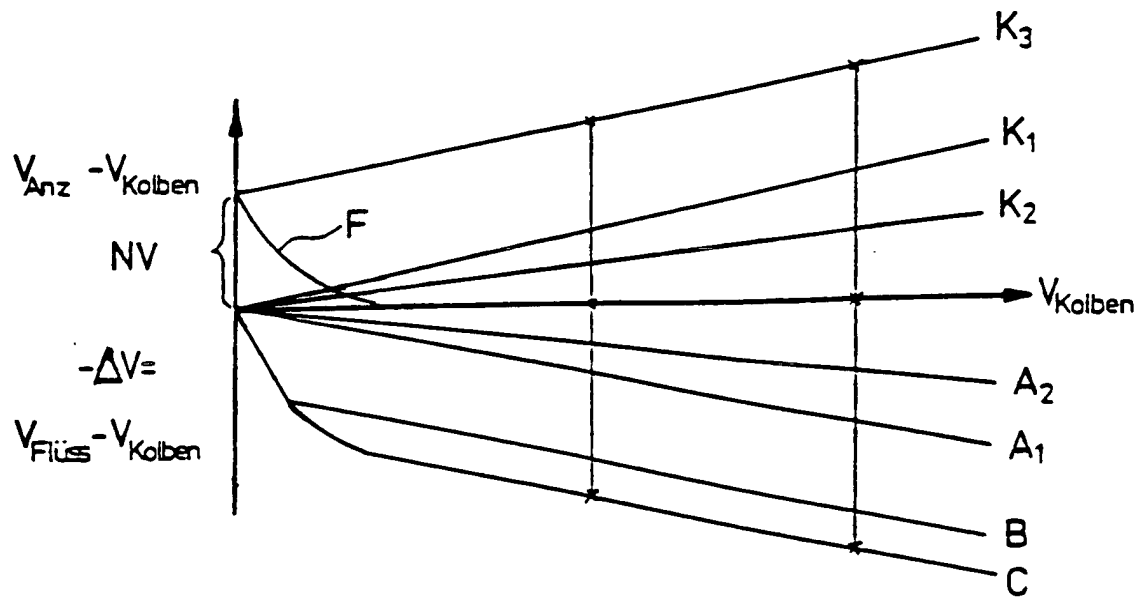


FIG.2

FIG.3

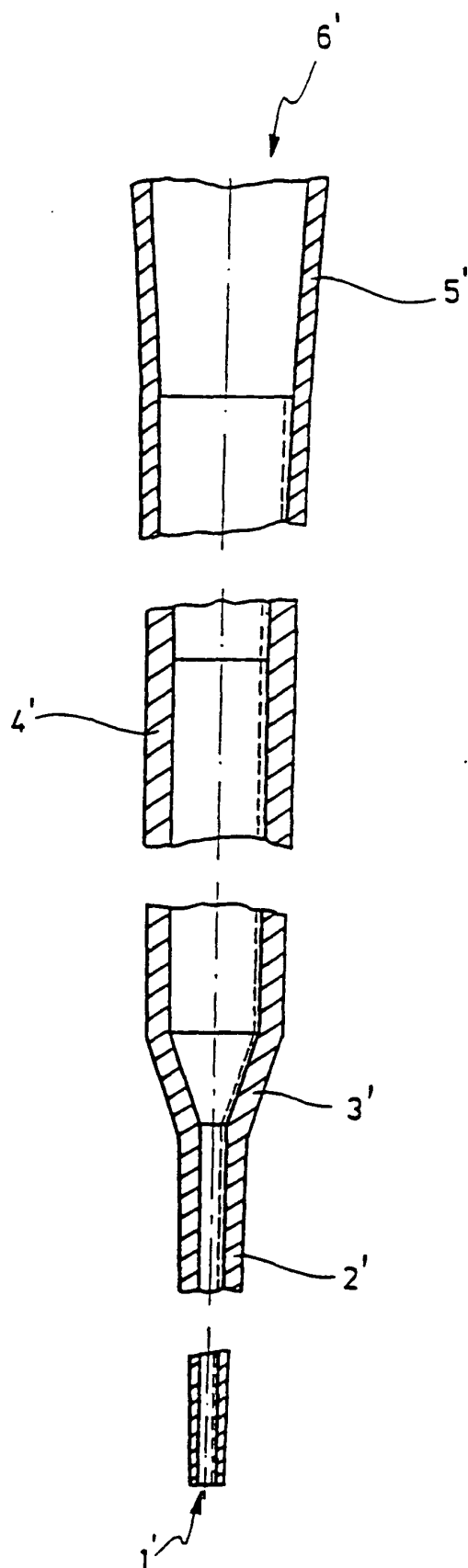


Fig. 4

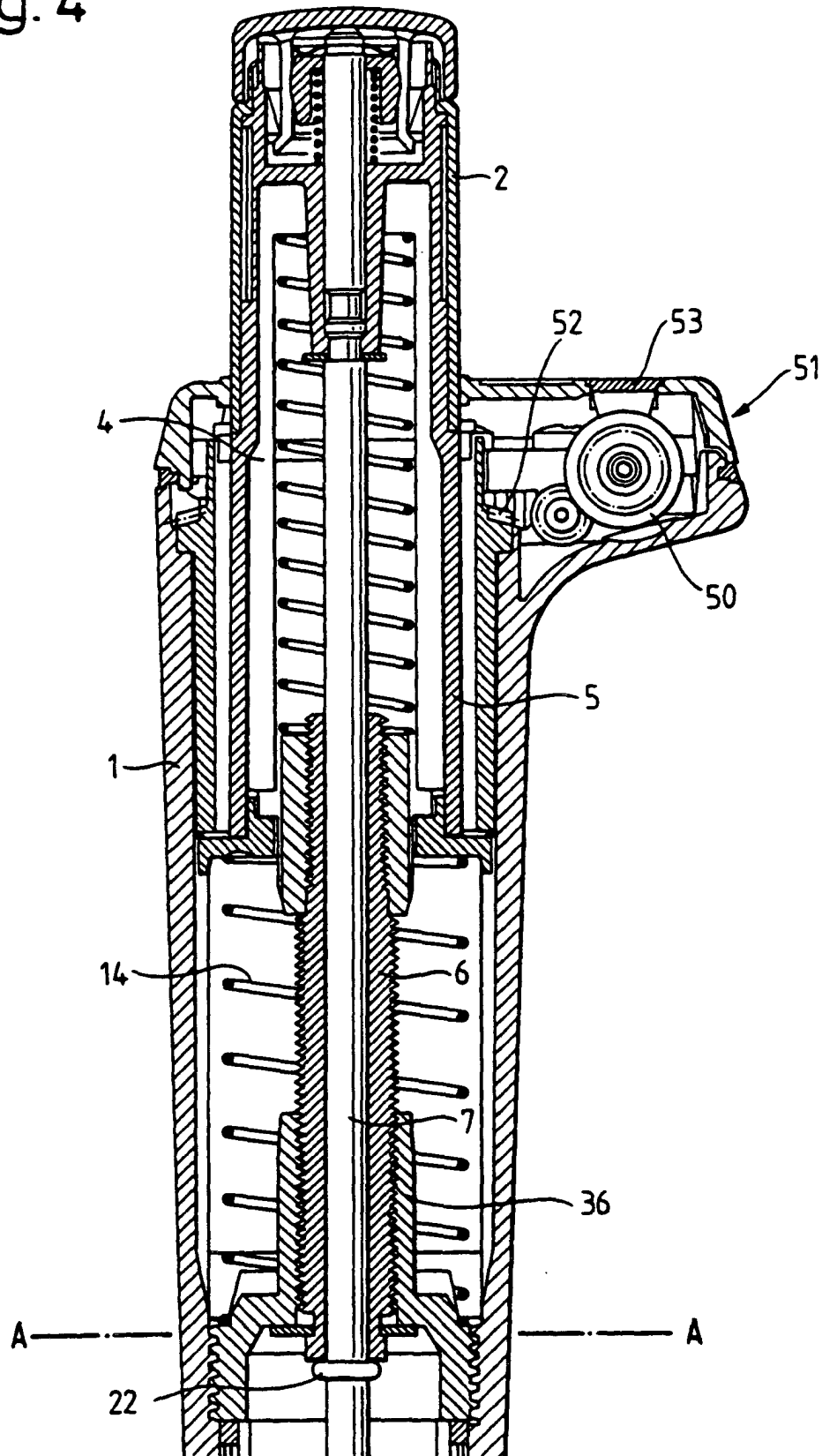


Fig. 5

