USERGUIDE No. 19

Grundlagen des Dosierens

Kornelia Ewald, Eppendorf AG, Deutschland

Einleitung

Dosiersysteme arbeiten nach zwei unterschiedlichen physikalischen Prinzipien: Entweder erfolgt die Dosierung der Flüssigkeit durch ein Luftpolster oder es findet eine Direktverdrängung statt. Im Folgenden werden diese beiden unterschiedlichen Dosierprinzipien am Beispiel von Kolbenhubpipetten beschrieben und es wird der für den Anwender eines manuellen Dosiersystems so wichtige Aspekt der Ergonomie aufgegriffen.

Luftpolsterprinzip (air cushion principle)
Luftpolsterpipetten bestehen aus einem Kolben-Zylinder-System, mit dem die eigentliche Abmessung erfolgt (Abb. 1). Ein Luftpolster trennt die in eine Kunststoffspitze aufgesaugte Probe vom Kolben im Inneren der Pipette. Beim Heraufgleiten des Kolbens entsteht ein Unterdruck in der Spitze, der das Aufsteigen der Flüssigkeit in die Spitze bewirkt. Das durch den Kolben bewegte Luftpolster wirkt wie eine elastische Feder, an der das Flüssigkeitsvolumen in der Spitze hängt. Aufgrund der Ausdehnung dieses Luftvolumens muss der Kolben um etwa 2 bis 4% mehr Volumen bewegen, als das angesaugte Flüssigkeitsvolumen betragen soll. Die Ausdehnung ist über einen Faktor kom-pensiert, der das Totvolumen und die Steighöhe in der Pipettenspitze berücksichtigt.

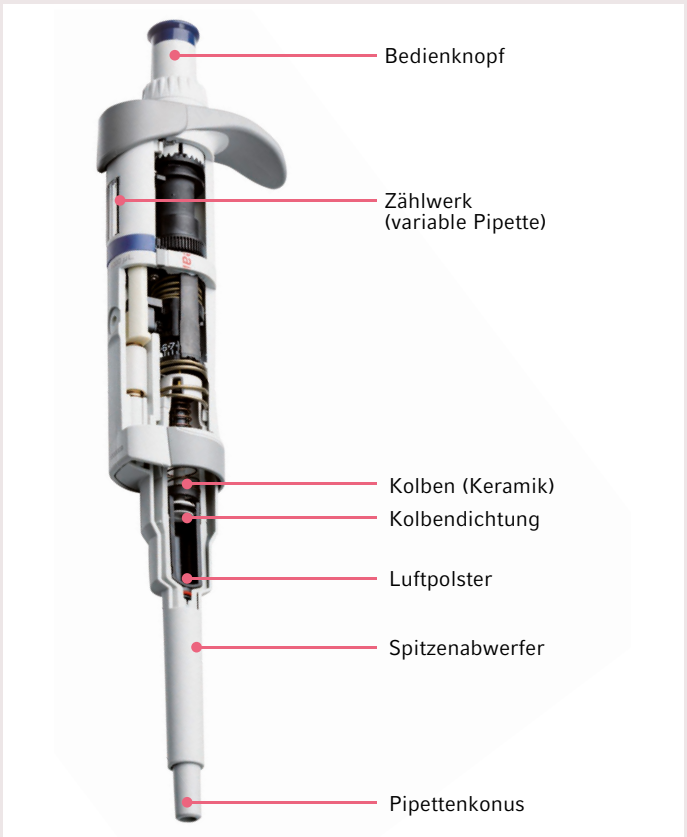

Abbildung 1: Schnittmodell einer Luftpolsterpipette (Eppendorf Research® plus)

Abbildung 2 zeigt das Funktionsprinzip der Luftpolsterpipette ausgehend von der Ruheposition (1). Zur Vorbereitung der Flüssigkeitsaufnahme (2) wird der Bedienknopf bis zum ersten Anschlag (Messhub) gedrückt. Der Kolben fährt nach unten und verdrängt ein Luftvolumen, das dem gewählten Ansaugvolumen der Flüssigkeit entspricht. Zur Flüssigkeitsaufnahme (3) wird die Pipettenspitze senkrecht in die Flüssigkeit eingetaucht. Der Bedienknopf gleitet langsam zurück. In der Pipettenspitze wird ein Unterdruck aufgebaut, der das gewünschte Volumen durch die Spitzenöffnung angesaugt.
Zur Flüssigkeitsabgabe (4) wird der Bedienknopf langsam bis zum ersten Anschlag (Messhub) gedrückt, der Kolben bewegt sich nach unten und die Spitze wird dadurch entleert.

Zum vollständigen Entleeren der Spitze (»Blow-out«, 5) wird der Bedienknopf bis zum zweiten Anschlag (Überhub) gedrückt und die Pipette mit gedrücktem Bedienknopf an der Gefäßwand abstreifend hochgezogen. Nach dem Zurückgleiten des Bedienknopfes bewegt sich der Kolben in die Ruheposition zurück.
Die Eintauchtiefe der Pipettenspitze wirkt sich signifikant auf das Ergebnis aus. Wenn die Spitze zu tief in die Flüssigkeit eintaucht, bilden sich an der Außenseite Tropfen, die das Abgabevolumen verfälschen können. Wird die Spitze nicht tief genug in die Flüssigkeit getaucht, entsteht eine Verwirbelung und es wird ein falsches Volumen angesaugt.

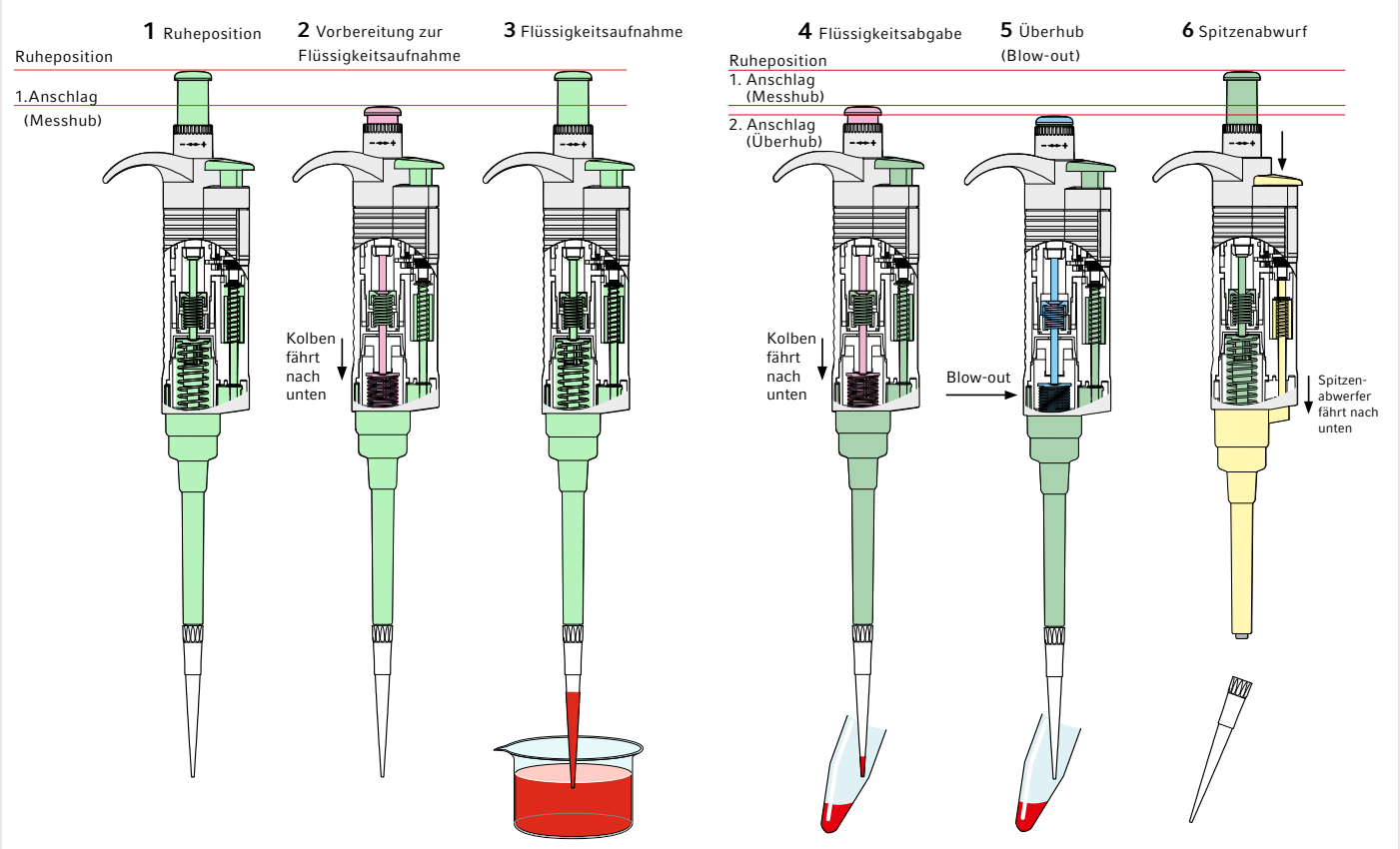

Abbildung 2: Funktion einer Luftpolsterpipette (Eppendorf Research®)

Prinzip der Direktverdrängung (positive displacement)
Bei Dosiersystemen, die nach dem Prinzip der Direktverdrängung arbeiten, gelten andere physikalische Einflüsse als für die vorher beschriebenen Luftpolstersysteme.
Die Auswirkungen eines Luftpolsters entfallen hier, sodass diese Geräte auch für Flüssigkeiten und Anwendungen geeignet sind, die in Verbindung mit Luftpolstersystemen als kritisch zu bewerten sind: Flüssigkeiten mit hohem Dampfdruck, hoher Viskosität oder hoher Dichte und Anwendungen in der Molekularbiologie wie z.B. die Polymerase Chain Reaction, bei der es auf Aerosolfreiheit ankommt, um Kontamination zu vermeiden.
Die Dosiergenauigkeit von direktverdrängenden Dosiersystemen hängt in einem noch größeren Maße als bei Luftpolstersystemen von der Kunststoffeinwegspitze ab.
Im Unterschied zu den Kunststoffspitzen der Luftpolstersysteme haben die Spitzen der Direktverdrängersysteme einen integrierten Kolben, der mit der Kolbenstange des Dosiergeräts während des Pipettiervorgangs gekoppelt ist (Abb. 3) und den eigentlichen Dosiervorgang übernimmt.

Die Spitzen sind speziell für den Gebrauch von Direktverdrängersystemen konstruiert und können nicht durch systemfremde Spitzen ersetzt werden.
Abbildung 4 zeigt die Funktionsweise eines Direktverdrängers. Zur Vorbereitung der Flüssigkeitsaufnahme (1) wird der Bedienknopf bis zum ersten Anschlag gedrückt. Der Kolben fährt nach unten in die entsprechende Position. Für die Flüssigkeitsaufnahme (2) wird die Pipettenspitze senkrecht wenige Millimeter tief in die Flüssigkeit eingetaucht.
Lässt man den Bedienknopf langsam zurückgleiten, fährt der Kolben nach oben und das gewünschte Flüssigkeitsvolumen wird durch den entstehenden Unterdruck in die Spitze gesaugt. Um die Flüssigkeit in ein Gefäß abzugeben (3), wird der Bedienknopf langsam bis zum ersten Anschlag (Messhub) gedrückt. Der Kolben in der Spitze wird durch die Kolbenstange der Pipette nach unten bewegt und verdrängt so die Flüssigkeit aus der Spitze. Bei gedrückt gehaltenem Bedienknopf wird die Spitze an der Gefäßwand hochgezogen. Zum Abwurf der Spitze (4) wird der Bedienknopf ganz durchgedrückt.

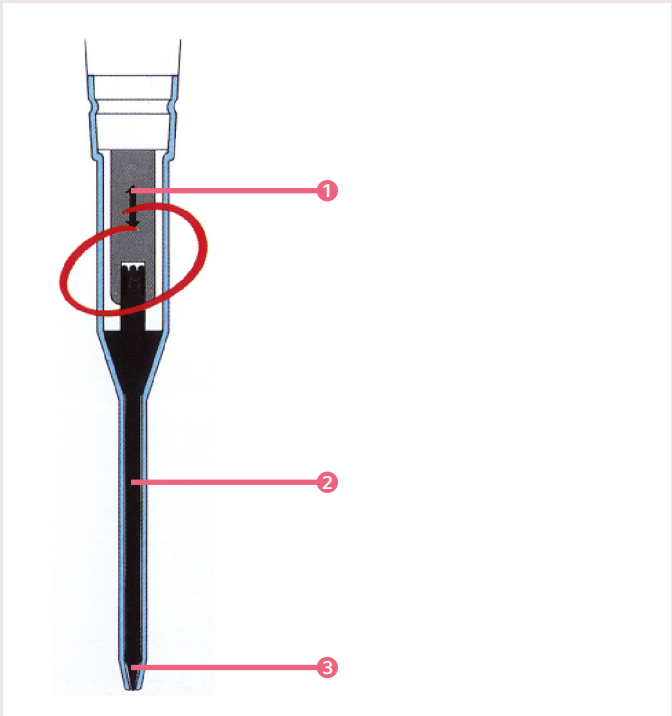

Abbildung 3: Kupplung einer Direktverdrängerpipette und der zugehörigen Pipettenspitze: Die Spitze besitzt einen integrierten Kolben (2), der während des Pipettiervorgangs sicher mit dem Kolben der Pipette (1) verbunden ist. Die Flüssigkeit gelangt in der Spitze nur bis zur hermetisch abschließenden Dichtlippe (3), wodurch die Bildung von Aerosolen ausgeschlossen wird.

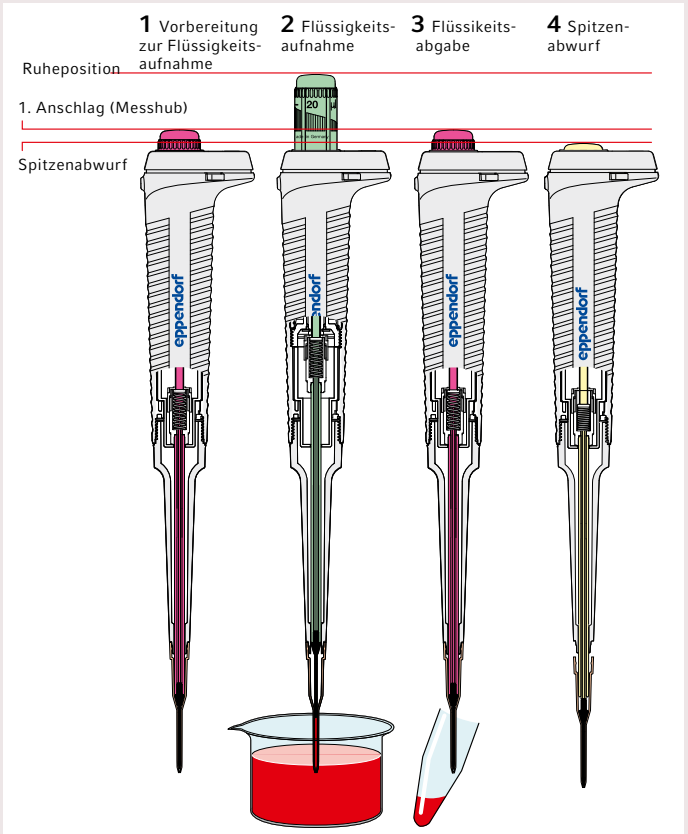

Abbildung 4: Funktionsweise eines Direktverdrängers (Eppendorf Biomaster®)

Dosiersysteme im Labor		
Manuelle Systeme	**Elektronische Systeme**	**Automatisierte Systeme**
Pipetten **> Kolbenhubpipetten** > Einkanalpipetten > Mehrkanalpipetten **> Direktverdrängerpipetten**	**Pipetten** **> Kolbenhubpipetten mit verschiedenen Dosiertechniken** > Einkanalpipetten > Mehrkanalpipetten	**Dosierautomat** **> mit verschiedenen Dosiertechniken für kleinen bis mittleren Probendurchsatz**
Dispenser **> Einzelhubdispenser** **> Mehrfachdispenser**	**Dispenser** **> Mehrfachdispenser mit Pipettierfunktion**	**Dosierautomat** **> für komplexe Dosieraufgaben bei mittlerem Probendurchsatz**

Abbildung 5: Dosiersysteme im Labor

Dosiersysteme in der Übersicht

Laborgeräte für den Transport und die Aufbereitung flüssiger Proben lassen sich in monofunktionale Dosiersysteme (manuelle Kolbenhubpipetten und Dispenser) und Multifunktionsdosierer (elektronische Pipetten und Dispenser, Dosierautomaten) einteilen (Abb. 5). Die Ansprüche an die Gerätetechnik hängen stark von der Anwendung ab. Das Spektrum von Routine- bis zu Forschungsanwendungen spiegelt die Breite des Anforderungsprofils wider, das heute an die Dosiertechnik gestellt wird. Im Folgenden wird der technologische Stand von Dosiersystemen beschrieben.

Kolbenhubpipetten
Kolbenhubpipetten sind für das Dosieren von fixen oder einstellbaren Volumina im Bereich von unter 0,1 µL bis 10 mL ausgelegt. Sie arbeiten entweder nach dem Luftpolster- oder dem Direktverdrängerprinzip.
Qualitativ hochwertige Kolbenhubpipetten der neuesten Generation zeichnen sich durch kompaktes und robustes Design und höchsten Bedienkomfort aus. Die Pipettenkolben sind chemikalienresistent und korrosionsfrei.
Da die Kolbenhubpipetten entweder vollständig oder teilweise autoklavierbar sind, können Restunsicherheiten des Anwenders in Bezug auf die Sterilität beseitigt werden und es eröffnen sich neue Anwendungsfelder für diese Produkte. Die in den Pipetten verarbeiteten Kunststoffe sind UV-beständig; diese Tatsache ist ebenfalls von zentraler Bedeutung für viele Anwendungsbereiche:
So können UV-resistente Pipetten gefahrlos in Impfräumen oder Impfbänken verbleiben, weil das UV-Licht zur Desinfektion der Arbeitsplätze keine nachteiligen Einflüsse auf das Pipettenmaterial und damit auf die Funktionsfähigkeit der Pipette hat. Kolbenhubpipetten lassen sich umjustieren, um Flüssigkeiten mit einer anderen Dichte als Wasser korrekt zu dosieren.

Einkanal- und Mehrkanalpipetten
Bei Einkanalpipetten ist zwischen Festvolumenpipette (z.B. 100 µL, 500 µL oder 1000 µL) und variablen oder einstellbaren Pipetten, die einen zusammenhängenden Volumenbereich abdecken (z.B. von 0,5 bis 10 µL oder von 500 bis 2500 µL), zu unterscheiden.
Mehrkanalpipetten sind für den Einsatz im Plattenformat bestimmt. Mit ihren im Allgemeinen acht oder zwölf Kanälen reduzieren sie die Anzahl der notwendigen Pipettiervorgänge ganz erheblich, sodass bei einer beträchtlichen Zeitersparnis ein komfortableres Arbeiten möglich ist.
Mehrkanalpipetten arbeiten nach dem Luftpolsterprinzip.

Pipettenspitzen
Um den steigenden Anforderungen an die Verlässlichkeit und Reproduzierbarkeit und dem Trend zu kleineren Probenvolumina gerecht zu werden, werden immer präzisere Dosiergeräte benötigt. Einmalartikel senken den Arbeitsaufwand und verringern die Kontaminationsrisiken beim Handling von infektiösen oder radioaktiven Flüssigkeiten. Die Pipettenspitze ist ein wesentlicher Bestandteil des Dosiersystems »Pipette«. Ihre Formgebung, Materialeigenschaften und ihr Passvermögen beeinflussen die Genauigkeit des Dosiervorgangs erheblich. Nur mit perfekt gefertigten Pipettenspitzen und der optimalen Abstimmung zwischen Pipette und Spitze kann das Höchstmaß an Präzision und Zuverlässigkeit moderner Pipetten ausgeschöpft werden.
Pipettenspitzen müssen präzise geformt sein, um die Richtigkeit des Pipettierens im Mikroliterbereich zu gewährleisten. Sie müssen so konzipiert sein, dass selbst kleinste Tröpfchen präzise an die Wandungen von Reaktionsgefäßen abgegeben werden können. Werden diese Anforderungen nicht erfüllt, treten bereits bei der Probenvorbereitung Fehler auf, die oftmals weitaus schwerer wiegen als unmittelbar mit dem Messvorgang zusammenhängende Fehler.

Dispenser
Dispenser werden ebenfalls zur Reduzierung der Anzahl von Einzelpipettierungen eingesetzt, sodass auch hier die Ergonomie eine wichtige Rolle spielt. Es wird ein bestimmtes Volumen repetitiv von einem vorher aufgezogenen Volumen abgegeben. In Abhängigkeit von der vorwählbaren Einstellung des Dispensers kann eine bestimmte Anzahl von wiederholten Flüssigkeitsabgaben aus dem Reservoir erfolgen. Die Dosierung des stets gleichen Volumens mit Dispensern in eine Vielzahl von Gefäßen und Platten ist immer dann sinnvoll, wenn eine Automation nicht möglich ist oder zu teuer wäre.
Dispenser garantieren das schnelle Abarbeiten langer Testserien mit hoher Dosiergenauigkeit und eine große Flexibilität hinsichtlich des Einsatzbereiches und der Probenvolumina. Sie arbeiten stets nach dem Prinzip der Direktverdrängung. Jeder Daumendruck auf den Dosierhebel erzeugt mechanisch einen schrittweisen Vorschub, der auf den Kolben der spritzenähnlichen Kunststoffspitze übertragen wird. Unterschiedliche Zylindergrößen ergeben eine Vielzahl von verschiedenen Probenvolumina zwischen 1 µL und 10 mL. Moderne Dispenser reduzieren dabei den Anwenderfehler durch Anzeige des vorgewählten Dosiervolumens in einem integrierten Display.
Bei Anwendungen im Umfeld der Chemie werden häufig Säuren, Basen, Lösungsmittel und Salzlösungen dosiert, deren Dichte, Dampfdruck und Viskosität von den entsprechenden Werten für Wasser deutlich abweichen. Da Dispenser nach dem Direktverdrängerprinzip arbeiten, liefern sie für diese Stoffe hohe, den Werten für Wasser vergleichbare Dosiergenauigkeiten. Diese hängen in besonderem Maß von der Zuverlässigkeit der Kunststoffspitze ab, deren Kolben und Zylinder aus zwei verschiedenen Materialien – Polypropylen (PP) und/oder Polyethylen (PE) – bestehen.
Die Fließeigenschaften und das Benetzungsverhalten der zu dosierenden Flüssigkeiten spielen bei Direktverdrängersystemen im Gegensatz zu Luftpolsterpipetten eine untergeordnete Rolle.

Elektronische Dosiersysteme
Elektronische Pipetten und Dispenser sind halbautomatische Systeme, die aufgrund ihres Anwendungsbereiches zwischen den herkömmlichen manuellen Pipetten und Dispensern auf der einen Seite und vollautomatischen Systemen bis hin zu Pipettierrobotern auf der anderen Seite stehen.
Die großen Vorteile elektronischer Pipetten liegen in der hohen Reproduzierbarkeit der Pipettierungen und in der Multifunktionalität, die ein breites Anwendungsfeld erschließt. Durch einstellbare konstante Dosiergeschwindigkeiten können wesentlich präzisere Ergebnisse erzielt werden als mit manuellen Pipetten. Die Flüssigkeitsaufnahme und -abgabe werden durch Tastendruck ausgelöst und erfolgen somit zeit- und kraftsparend. Die durch ver-schiedene Dosiertechniken wie Dispensieren, reverses Pipettieren, Verdünnen und Mischen gegebene Multifunktionalität stellt eine wesentliche Arbeitserleichterung dar. Alle diese Funktionen lassen sich individuell auf Speicherplätze programmieren, um anschließend Routineabläufe zeitsparend durchführen zu können.
Wichtige Kriterien für den Anwender sind die Bedienerfreundlichkeit und Ergonomie, um Ermüdungserscheinungen durch ständig zu wiederholende Tätigkeiten zu reduzieren und daraus resultierenden Gesundheitsschäden vorzubeugen.

Automatisierte Systeme
Ein Dosierautomat besteht im Allgemeinen aus einem Roboterarm (XYZ-Übertragersystem zur Positionierung) und einer Dosiereinrichtung. Diese Systeme ermöglichen zügige und reproduzierbare Dosierungen durch Pipettieren, Dispensieren oder andere Dosierverfahren. Bisher manuell durchgeführte Abläufe lassen sich einfach und schnell auf die Automaten übertragen. Der frei programmierbare Bewegungsablauf ermöglicht es, ihn für verschiedenste Aufgaben einzusetzen.

Your local distributor: www.eppendorf.com/contact
Eppendorf AG · Barkhausenweg 1 · 22331 Hamburg · Germany
eppendorf@eppendorf.com · www.eppendorf.com

www.eppendorf.com

Eppendorf®, the Eppendorf Brand Design, Eppendorf Research® and Biomaster® are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany.
U.S. Design Patents are listed on www.eppendorf.com/ip. All rights reserved, including graphics and images.
Order No.: AU019 010/DE3/1T/1017/NW/STEF · Copyright © 2017 by Eppendorf AG.