

Die Spitze des Eisbergs: Wie Pipettenspitzen das Versuchsergebnis beeinflussen. Teil 2: Perfekte Geometrie ist von Bedeutung

ULRIKE GAST, EPPENDORF AG, HAMBURG
LAURA KOCH, EPPENDORF POLYMERE, HAMBURG

Zusammenfassung

Um den Einfluss von Pipettenspitzen auf das Dosierergebnis zu ermitteln, wurde eine Studie mit Standardspitzen von 15 Anbietern (Eppendorf und 14 Wettbewerber) durchgeführt. Dabei zeigte sich ein dramatischer Einfluss der Spitzen auf das Pipettierergebnis. Die Genauigkeit bei der Abgabe von kleinen Volumina wird maßgeblich von der Qualität der Spitzenöffnung beeinflusst. Jegliche Unvollkommenheit der Geometrie und Form führt zur Abgabe eines unvollständigen Volumens.

Einleitung

Nicht alle Einflüsse von Pipettenspitzen auf das Pipettierergebnis sind bekannt. Dass für das Aufstecken nicht empfohlener Spitzen und deren sicheren Halt auf dem Pipettenkonus hohe Kräfte erforderlich sind, welche die Dichtigkeit des Systems beeinflussen, ist offensichtlich. Dies ist aber nur die Spitze des Eisbergs, denn andere Einflüsse wie z.B. die Geometrie der Spitzenöffnung sind dem Anwender oftmals nicht geläufig. In Teil 1 dieser Serie wurde beschrieben, dass Pipette und Spitze ein System bilden, das nicht mit jeder beliebigen Pipettenspitze die zulässigen Grenzwerte einhält [1].

Dieses Ergebnis bestätigt die Empfehlung der ISO 8655 [2], welche Pipette und Spitze als ein System und die Verwendung nicht empfohlener Spitzen als einen Systembruch versteht. Dabei koppelte sich Teil 1 auf 1.000 µL Spitzen, für welche die Luftpolstergröße (das Luftvolumen zwischen Kolbenunterseite und Flüssigkeitsoberfläche) als Haupteinflussfaktor ermittelt wurde. Im Gegensatz dazu traten bei 10 µL Spitzen andere Faktoren in den Vordergrund. Einen wesentlichen Einfluss hatte hier die Qualität der Spitzenöffnung.

Zur näheren Überprüfung wurden die Öffnungen von Pipettenspitzen verschiedener Hersteller untersucht und mit den Kalibrierergebnissen [1,3] verglichen.

Material und Methoden

Die Mikroskopie der Öffnung der 10 µL Pipettenspitzen von Eppendorf und drei weiteren Herstellern (E, F und H) wurde mit einem Mikroskop (Leica®) mit 25-facher Vergrößerung vorgenommen. Mit der zum Mikroskop gehörenden Digitalkamera DFC 280 (Leica) wurden Bilder erzeugt.

Ergebnisse und Diskussion

Die Zone, in der die Flüssigkeit die Spitze verlässt, ist sehr wichtig für die Genauigkeit des Pipettierergebnisses. Hier erfolgt der sogenannte Tropfenabriss. Jegliche Unvollkommenheit von Geometrie und Form, z.B. durch Produktionsfehler, führt zum Zurückbleiben von Flüssigkeit. Dies kann nicht nur das abgegebene Volumen beeinflussen, sondern auch eine Abgabe von Kleinstvolumina <1 µL auf feste Oberflächen unmöglich machen.

In Abb. 1 (s. nächste Seite) sind Beispiele solcher Produktionsfehler dargestellt. Im Rahmen einer Kalibrierung wurde festgestellt, dass die abgebildeten Wettbewerbs-Spitzen bei 1 µL eine Verschiebung der Genauigkeit des Systems außerhalb der zulässigen Fehlergrenzen [1,3] verursachten.

Dies bestätigt, dass bei geringen Volumina die Geometrie der Spitzenöffnung einen unmittelbaren Einfluss auf das Pipettierergebnis hat. Eine gute Spitze verfügt über eine möglichst gleichmäßig runde Öffnung mit gleicher Wandstärke an allen Seiten. Weiterhin sollten keine Grate oder lose Produktionsrückstände vorliegen.

Ungleiche Wandstärke und unrunde Geometrie führen zur Ablenkung des Tropfens an die Außenseite der dünneren Wand. Grate hingegen verursachen eine direkte Retention von Flüssigkeit. Solche Produktfehler entstehen in der Produktion von Pipettenspitzen durch qualitativ niedrigwertige oder zu selten gewartete Werkzeuge und/oder einen nicht optimal abgestimmten Spritzgussprozess.

Da also offensichtlich die Produktion einer Spitze einen deutlichen Einfluss auf die Geometrie der Öffnung und damit auf das Pipettierergebnis hat, wird sich der nächste Teil dieser Serie mit der Produktion von Pipettenspitzen – und den damit im Zusammenhang stehenden Additiven – beschäftigen.

Teil 1 verpasst?

Viele wissenschaftliche Veröffentlichungen können durch andere Arbeitsgruppen nicht reproduziert werden. Im Allgemeinen wird den im Labor verwendeten Plastikartikeln („Consumables“), wie Pipettenspitzen oder Reaktionsgefäßen, nur wenig Beachtung geschenkt. Die Folge sind durch z.B. inhomogene Pipettenspitzen oder durch Leaktaschen bedingte falsche Analyseergebnisse. Das kann dazu führen, dass Ergebnisse durch andere Arbeitsgruppen, die andere Consumables verwenden, nicht reproduziert werden können.

Die Tatsache, dass Pipettenspitzen auf einen Pipettenkonus passen, lässt keine Rückschlüsse auf die Pipettiergenauigkeit des Systems „Pipette und Spitze“ zu. Mit dieser Thematik haben wir uns in Teil 1 unserer Serie „Die Spitze des Eisbergs: Wie Pipettenspitzen das Versuchsergebnis beeinflussen“ auseinandergesetzt.

Wenn Sie Teil 1 in der BioNews Nr. 44 verpasst haben, dann lesen Sie nach in unserem BioNews-Archiv unter www.eppendorf.com/bionews.

Die Spitze des Eisbergs: Wie Pipettenspitzen das Versuchsergebnis beeinflussen. Teil 1: Spitzenzeit garantiert keine Genauigkeit

MURIEL ART, VINCENT DUFEY, IOAN GUSCO, EPPENDORF APPLICATION TECHNOLOGIES S.A., NAMUR, BELGIEN
ULRIKE GAST, KONIA KUBASCIK, EPPENDORF AG, HAMBURG

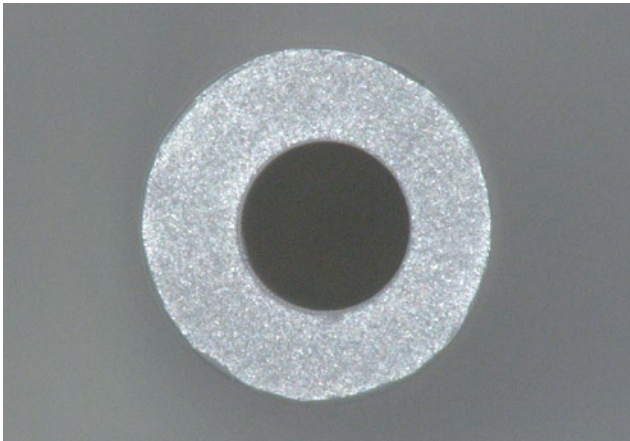
Zusammenfassung
Die Tatsache, dass Pipettenspitzen auf einen Pipettenkonus passen, lässt keine Rückschlüsse auf die Pipettiergenauigkeit des Systems „Pipette und Spitze“ zu. Um den Einfluss von Pipettenspitzen auf das Dosierergebnis zu ermitteln, wurde eine Studie mit Standardspitzen von 15 Wettbewerbern durchgeführt. Dabei zeigte sich ein dramatischer Einfluss der Spitze auf das Pipettierergebnis.

Einleitung
Viele wissenschaftliche Veröffentlichungen können durch andere Arbeitsgruppen nicht reproduziert werden. Im Allgemeinen wird den im Labor verwendeten Plastikartikeln („Consumables“), wie Pipettenspitzen oder Reaktionsgefäßen, nur wenig Beachtung geschenkt. Die Folge sind durch z.B. inhomogene Pipettenspitzen oder durch Leaktaschen bedingte falsche Analyseergebnisse. Das kann dazu führen, dass Ergebnisse durch andere Arbeitsgruppen, die andere Consumables verwenden, nicht reproduziert werden können.

1 µL
Die Kalibrierungsergebnisse bei 1 µL Spitzen verschiedener Hersteller. Die hier gezeigten Werte gibt die Breite der systematischen Messabweichung für das System „Pipette und Spitze“ wieder. Die systematische Messabweichung ist die Differenz zwischen dem gemessenen und dem Sollwert.

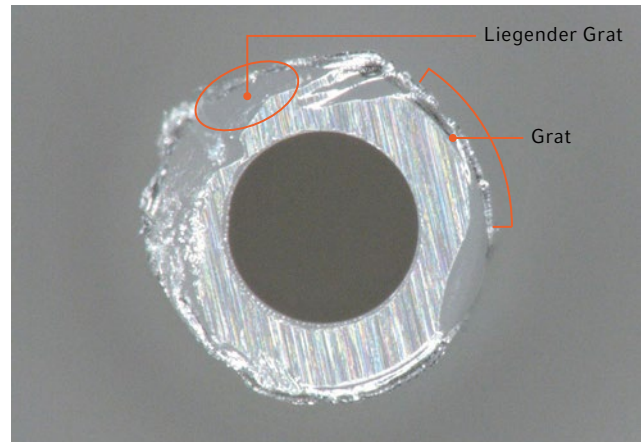
10 µL
Die Kalibrierungsergebnisse bei 10 µL Spitzen verschiedener Hersteller. Die hier gezeigten Werte geben die Breite der systematischen Messabweichung für das System „Pipette und Spitze“ wieder. Die systematische Messabweichung ist die Differenz zwischen dem gemessenen und dem Sollwert.

Die Spitze des Eisbergs: Wie Pipettenspitzen das Versuchsergebnis beeinflussen. Teil 2: Perfekte Geometrie ist von Bedeutung



Eppendorf epT.I.P.S.® 10 µL

Die Spitzenöffnung hat eine gute Geometrie, und die Funktion der Spitze ist nicht durch Produktionsfehler negativ beeinflusst.



Hersteller E

Problem 1: Liegender Grat. Verursacht durch fehlende Abstimmung des Spritzgussprozesses. Die Kavität war nicht vollständig mit flüssigem Polypropylen gefüllt.

Ergebnis: Gefahr, dass Flüssigkeit zur Seite abgelenkt wird

Problem 2: Grat an der äußeren Wandung

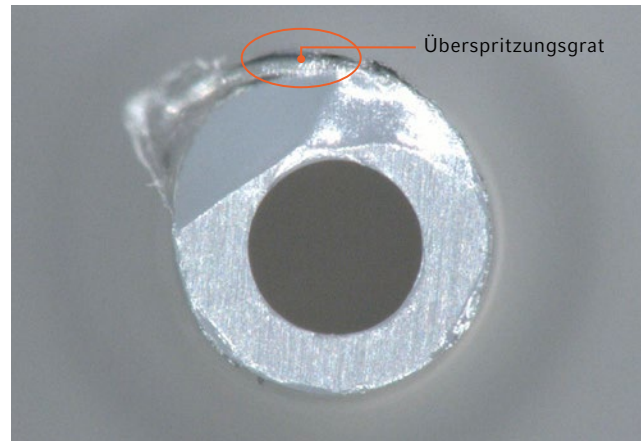
Ergebnis: Gefahr von Retention von Flüssigkeit



Hersteller F

Problem 1: Grat an innerer und äußerer Wandung. Verursacht durch zu niedrige Wartungsfrequenz des Spritzgusswerkzeugs.

Ergebnis: Gefahr von Retention von Flüssigkeit und Gefahr, dass lose Materialrückstände in die Probe fallen. Materialrückstände verdrängen Flüssigkeit und führen zu einem fehlerhaften Flüssigkeitsvolumen. Dieses Fehlerbild macht es häufig unmöglich, kleine Volumina wie z.B. 0,8 µL auf feste Oberflächen zu dosieren.



Hersteller H

Problem 1: Überspritzungsgrat. Verursacht durch ein nicht ausreichend schließendes Werkzeug oder zu viel eingespritztes Polypropylen aufgrund mangelhafter Abstimmung des Spritzgussprozesses.

Ergebnis: Retention von Flüssigkeit

Problem 2: Sichtbarer Kernversatz. Nicht alle Wandungen haben dieselbe Dicke. Dieses Fehlerbild wird z.B. durch geringe Qualität des Spritzgusswerkzeugs hervorgerufen.

Ergebnis: Flüssigkeit wird bei der Abgabe zur Seite der dünneren Wand abgelenkt und nicht in das Zielgefäß abgegeben.

Abb. 1: Mikroskopische Aufnahmen der Öffnung von 10 µL Spitzen unterschiedlicher Hersteller. Mit Spitzen von Anbieter E, F und H konnten bei 1 µL die zulässigen Fehlergrenzen (systematische Messabweichung) nicht eingehalten werden. Die Beispiele dienen zur Veranschaulichung von Produktionsfehlern.

Literatur

[1] Die Spitze des Eisbergs: Wie Pipettenspitzen das Versuchsergebnis beeinflussen. Teil 1: Spitzensitz garantiert keine Genauigkeit. BioNews 44, Januar 2016. www.eppendorf.com/bionews

[2] DIN EN ISO 8655:2002. Volumenmessgeräte mit Hubkolben. Beuth-Verlag, Berlin.

[3] Application Note 354: The Tip of the Iceberg: How Pipette Tips Influence Results. www.eppendorf.com/applications

Leserservice

Eppendorf Liquid-Handling-Verbrauchsartikel • Kennziffer 288