

# PipeJet-Tip<sup>TM</sup> - Nanoliter-Dispenser mit kostengünstigen Dosierelementen und eingebautem Reservoir

Dipl.-Ing. W. Streule<sup>1</sup>, Dipl.-Ing. K. Hiltmann<sup>2</sup>, Dipl.-Ing. M. Arnold<sup>3</sup>, Prof. Dr. rer. nat. H. Kück<sup>3</sup>, Prof. Dr. rer. nat. R. Zengerle<sup>1,2</sup>, Dr. rer. nat. P. Koltay<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universität Freiburg, Institut für Mikrosystemtechnik (IMTEK), Lehrstuhl für Anwendungsentwicklung, Georges-Koehler-Allee 106, 79110 Freiburg

<sup>2</sup> Institut für Mikro- und Informationstechnik der Hahn-Schickard-Gesellschaft (HSG-IMIT) Wilhelm-Schickard-Straße 10, 78052 Villingen-Schwenningen

<sup>3</sup> Institut für Mikroaufbautechnik der Hahn-Schickard-Gesellschaft (HSG-IMAT), Allmandring 9b, 70569 Stuttgart

## 1 Kurzfassung

Der hier vorgestellte PipeJet-Tip<sup>TM</sup> integriert einen Nanoliter-Dispenser basierend auf dem PipeJet-Prinzip [1] mit einem an den Dosierschlauch angespritzten Reservoir. Das Reservoir ist in Form einer 200 µl-Pipettenspitze ausgeführt, wodurch eine einfache Verwendbarkeit des Tip als konventionelle Pipettenspitze in existierenden Pipettierautomaten gewährleistet ist. Durch Fertigung im Mikrospritzguss [2] kann der PipeJet-Tip<sup>TM</sup> kostengünstig und in großen Stückzahlen hergestellt werden. In der Aktoreinheit wird der Dosierschlauch mit hoher Dynamik deformiert und dadurch Flüssigkeit verdrängt, welche am offenen Ende als Freistrahл ausgestoßen wird. Die Aktoreinheit hat keinen Flüssigkeitskontakt und kann ohne Reinigung wiederverwendet werden. Durch das radialsymmetrische Design des Dosierelements ist ein blasentoleranter Betrieb selbst mit schwierig zu dosierenden Medien möglich. In Versuchen wurden Wasser, Alkohole (z.B. Methanol), Glycerin-Wassergemische bis 75 % Glycerinanteil (entspricht ca. 35 mPas) sowie Silikonöle bis 100 mPas im Volumenbereich von 10 bis 100 nL erfolgreich mit Standardabweichungen kleiner 5 % dosiert. Die Abweichung zwischen mehreren Tips ist bei Tropfenvolumina im Bereich von 50 nL kleiner 4 %. Mittels Mehrfachdosierung mit bis zu 50 Hz können auch Mikroliter-Volumina schnell und präzise abgegeben werden.

## 2 Einleitung

Die Dosierung kleiner Flüssigkeitsmengen im Nano- bis Mikroliterbereich stellt sowohl in der medizinischen Diagnostik als auch in der industriellen Fertigung ein zunehmend wichtigeres Thema dar [3]. Die Anwendungen stellen hohe Ansprüche in Bezug auf das reproduzierbare Dispensieren der Reagenzien als auch eine schnelle und kostengünstige Prozessierung z.B. im Mikrotiterplattenformat. Häufig müssen auch Medien dosiert werden, die den verwendeten Dosierer verstopfen können (Klebstoffe, partikelbehaftete Fluide, ...) oder es ist aus Hygienegründen erforderlich, die Dosierer vor jedem Medienwechsel auszutauschen, zum Beispiel zur Vermeidung von Kreuzkontamination bei der Dosierung von DNA, RNA oder anderen Probenflüssigkeiten. Dispenser mit auswechselbaren fluidführenden Komponenten, die für die Einmalbenutzung ausgelegt sind, sind daher von Vorteil. Weiterhin ist das kontaktfreie Dispensieren wünschenswert, um eine mögliche Verschleppung von Proben zwischen zwei Experimenten zu vermeiden. Klassische Pipetten erreichen hierbei im Freistrahл derzeit nur Volumina größer 5 µL, im Kontaktverfahren ergibt sich bei Volumina unter 500 nL ein sehr großer Dosierfehler, weshalb Pipetten für diesen Bereich nicht einsetzbar sind.

## 3 Funktionsprinzip

Der PipeJet-Tip<sup>TM</sup> [4] besteht aus einer Standard-Pipettenspitze (200 µL mit Eppendorf-Konus) in die ein dünnwandiger Polymerschlauch als Dosierschlauch eingespritzt wird. Dieser Dosierschlauch kann unter Verwendung des PipeJet-Dosierverfahrens [1] zur Freistrahлdosierung im Nanoliterbereich eingesetzt werden (siehe Abbildung 1). Hierbei wird ein definierter Bereich des mit Fluid gefüllten Schlauches mittels eines Piezoaktors schnell deformiert, wodurch die Flüssigkeit verdrängt wird (siehe Abbildung 2). Diese fließt dann teilweise zum Reservoir und teilweise zum offenen Ende (der Düse), welches sie dort als Freistrahл verlässt. Durch ein langsames Zurückziehen des Aktors wird der Schlauch wieder mittels Kapillarkräften befüllt und dann ist bereit für die nächste Dosierung.

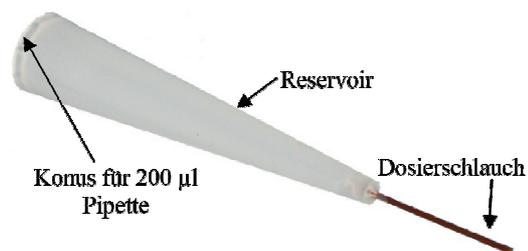
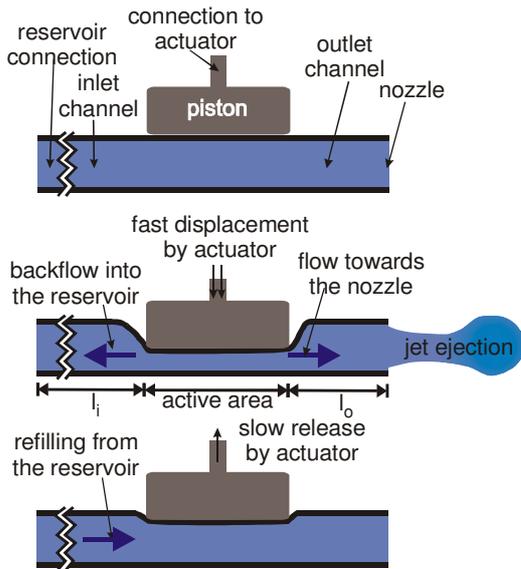
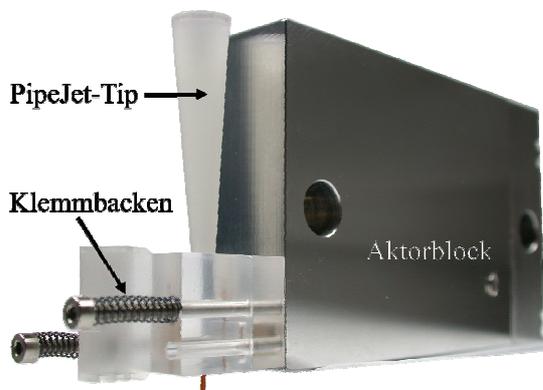


Bild 1 Spritzgegossener PipeJet-Tip<sup>TM</sup>.



**Bild 2** Prinzip des PipeJet™ Dispensierprozesses.

Durch die Kompatibilität zu Standard-Pipetten kann der PipeJet-Tip™ durch klassisches Pipettieren mittels Handpipetten oder Dosierautomaten befüllt werden. Zur Dosierung wird der Tip dann in einer speziellen Aktoreinheit fixiert, in welcher der Piezoaktor und die Klemmvorrichtungen für die Dosierung nach dem PipeJet-Prinzip integriert sind (siehe Abbildung 3). Für größere Volumina kann auch der normale Pipettierrobotter zum Einsatz kommen – hierbei ergibt sich durch die Verwendung des PipeJet-Tips™ der Vorteil, dass auch aus 1536er MTP's die Flüssigkeit sicher aufgenommen und abgegeben werden kann. Die Klemmvorrichtung des Aktors ist durch Federn derart ausgeführt, dass zum Austausch eines Tips keine Schrauben geöffnet werden müssen – ein Wechsel ist somit in wenigen Sekunden möglich. Die Aktoreinheiten selbst können in einem Raster von 18 mm angebracht werden, was eine einfache Verwendbarkeit in kommerziellen Pipettierautomaten sicherstellt.



**Bild 3** PipeJetTip™ im Aktorblock. Durch die Federbacken kann der Tip schnell (< 10 Sek.) und ohne Werkzeug gewechselt werden.

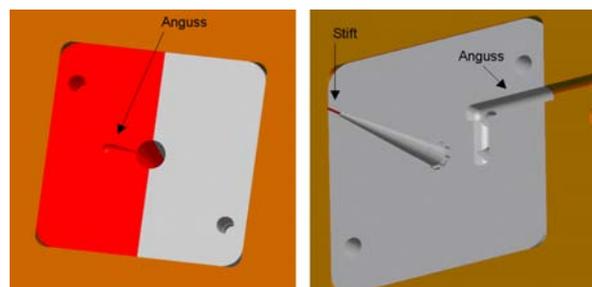
## 4 Fertigung im Mikrospritzguß

Die PipeJet-Tips™ wurden mittels Spritzguss in Polypropylen hergestellt. Der Dosierschlauch wird hierbei von dem Kunststoff umspritzt, wodurch sowohl die mechanische Fixierung als auch die fluidische Verbindung hergestellt wird. Durch die Verwendung des Dosierschlauchs als vorgeschchnittenes Halbzeug kann zum einen eine hohe Düsenqualität erreicht werden (Durchmesser 500 µm, Wandstärke 25 µm), zum anderen muss das Werkzeug und der Spritzgussprozess nicht in der Lage sein, solch einen Mikroschlauch über eine Länge von mehr als 10 mm abzuformen. Der Werkzeugaufbau vereinfacht sich hierdurch deutlich.

### 4.1 Werkzeugaufbau

Beim Werkzeug handelt es sich um ein 2-Platten Werkzeug mit auswechselbaren Kavitäten. Abbildung 4 zeigt links die Konstruktion der festen Seite des Werkzeugs welche aus fertigungstechnischen Gründen aus zwei Teilen besteht. Das Einspritzen der Kunststoffschmelze erfolgt seitlich in die Trennebene. Rechts in der Abbildung ist die bewegliche Seite des Werkzeugs dargestellt. Auf den Stift, der an der Spitze sichtbar ist, wird jeweils vor dem Schließen des Werkzeugs das Schlauchstück aufgesetzt. Beim Füllen der Kavität wird das Schlauchstück dann vom Polypropylen umspritzt. Von seiner Baugröße und den Anschlüssen an die Peripherie her ist das Werkzeug für den Einsatz auf einer Zweikomponenten-Spritzgießmaschine 320S 500 – 60/60 „Allrounder“ der Firma Arburg konzipiert. Die niederen Werkzeugtemperaturen von ca. 60 °C, die wegen der Verwendung von Polypropylen notwendig sind, werden durch eine Flüssigtemperierung erreicht. Zum Auswerfen der Strukturen wurden Rundauswerfer mit 1 mm Durchmesser eingesetzt.

Gefertigt wurden die Spritzgießwerkzeuge mittels High Speed Cutting (HSC) auf einer 5-Achsen-Präzisionsfräsmaschine „Picomax“ 60 M (Fehlmann) mit einer Positioniersicherheit von ±3 µm und einer 3-Achsen-Hochpräzisionsfräsmaschine PFM 24 (Primacon) mit einer Positioniersicherheit von ±2,5 µm.



**Bild 4** Aufbau des Spritzgußwerkzeugs.



**Bild 5 Füllstudie und Füllsimulation (MoldFlow) im Vergleich.**

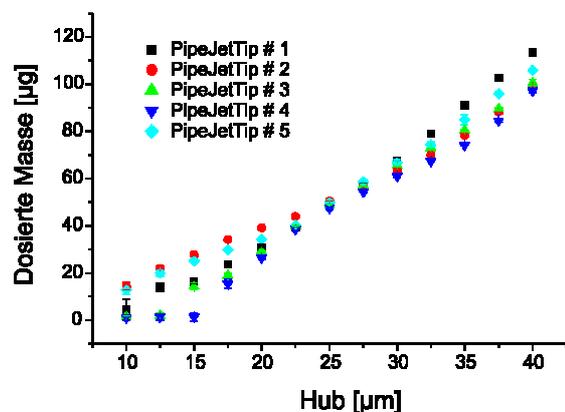
## 4.2 Füllsimulation & Füllstudie

Um vorab das optimale Befüllen der PipeJet-Tip™ zu ermitteln, wurden Füllsimulationen mit dem Programm Moldflow durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass mit einem Punktanguss am unteren Ende der Tip problemlos zu befüllen war. In Abbildung 5 sind die Füllsimulation und die parallel durchgeführte Füllstudie zu verschiedenen Zeitpunkten dargestellt. Hierbei ist zu erkennen, dass die beiden Spritzgussfronten sich bei einer noch hohen Materialtemperatur vereinen (Abbildung 5, Bilder 4/5). Es wird auch deutlich, dass die Spitzgussfront sehr homogen auf den Schlauch auftrifft und ihn daher ohne Querkräfte umschließt. Somit ist zum einen eine hohe Haftung des Schlauchs im Tip sichergestellt und es wird ein sehr guter Rundlauf der Tips erreicht.

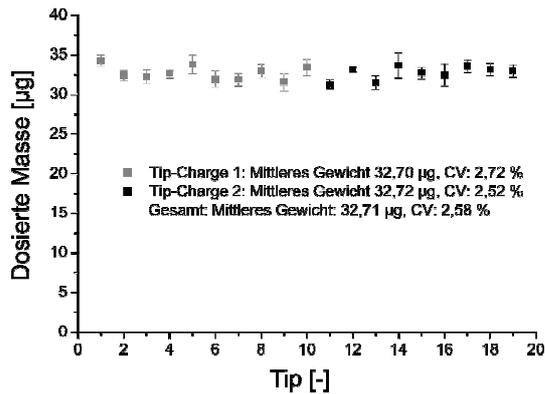
## 5 Experimentelle Ergebnisse

Zur Charakterisierung der Tips wurde ein gravimetrischer Messaufbau verwendet, mit dem es möglich ist, dosierte Flüssigkeitsmengen im einstelligen nL-Bereich verdunstungskompensiert zu bestimmen. Die Genauigkeit des Messaufbaus ist hierbei typischerweise  $\pm 1 \mu\text{g}$  (entspricht ca.  $\pm 1 \text{ nL}$ ).

In ersten Versuchen wurden die Tips in die Aktoreinheit (siehe Abbildung 3) eingebaut und dann mittels Pipettierens befüllt. Im Aktorblock wird dann der Dosierschlauch in einem definierten Bereich mit einem bestimmten Hub deformiert. In Abbildung 6 ist die Abhängigkeit des Dosiervolumens vom Hub für fünf verschiedene Tips dargestellt. Es ist ein nahezu linearer Zusammenhang und – im Bereich zwischen  $22,5 \mu\text{m}$  und  $30 \mu\text{m}$  – eine geringe Tip-zu-Tip Abweichung erkennbar. Im mittleren Bereich wird also eine hohe Richtigkeit des Dosiervolumens erreicht. Die dosierte Masse bzw. das Volumen läßt sich zwischen 10 und 100  $\mu\text{g}$  bzw. 10 und 100 nL einstellen.



**Bild 6 Abhängigkeit des Dosiervolumens vom Piezo-Hub für fünf verschiedene Tips. Medium: Wasser, Aktorgeschwindigkeit:  $150 \mu\text{m}/\text{ms}$ .**



**Bild 7 Dosierverhalten von 19 Tips aus zwei Fertigungschargen bei festen Ansteuerparametern.**

Die Richtigkeit des Systems wurde des Weiteren an insgesamt 19 Tips aus zwei unterschiedlichen Fertigungschargen (sowohl Fertigung des Dosierschlauchs als auch Spritzguß-Chargen) untersucht. In Abbildung 7 sind die Ergebnisse dieser Untersuchung bei einem festen Aktorhub dargestellt: Die Tip-zu-Tip Varianz liegt hier über beide Chargen gerechnet bei 2.58 %, die erzielten Standardabweichungen bei den einzelnen Dosiervolumina lag typischerweise im Bereich der Meßunsicherheit von ± 1 nL – die Messtechnik limitiert demnach eine feinere Auflösung.

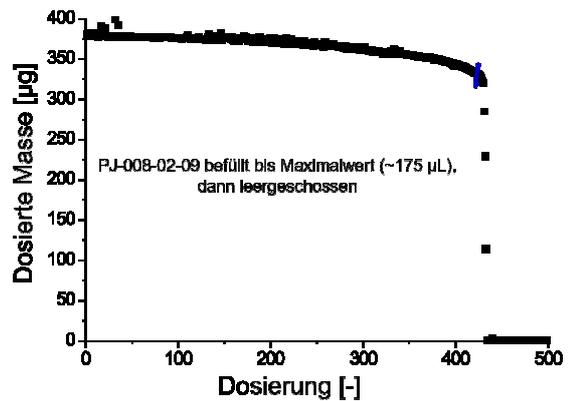
In weiteren Untersuchungen wurde das Verhalten beim dauerhaften Dosieren mit einem Tip und auch das maximale Füllvolumen ermittelt. Es ergab sich ein maximales Füllvolumen mit Wasser von 175 µL, bei höheren Füllständen reicht die Kapillarkraft der Düse nicht mehr aus, die Flüssigkeit zu halten – es formt sich ein großer Tropfen, der sich dann unkontrolliert löst. Für Flüssigkeiten mit niedrigeren Oberflächenspannungen (z.B. Alkohole) reduziert sich der maximale Füllstand entsprechend.

In Abbildung 8 ist zu erkennen, dass sich während des kontinuierlichen Leerdosierens eines Tips ein leichter Abfall des Dosiervolumens einstellt. Dies kann durch die Absenkung des Füllstandes in der Spitze, was zur Änderung des hydrostatischen Drucks führt, erklärt werden. Dieser lineare Drift kann jedoch sehr einfach durch Verfolgen des Füllstandes und Nachregelung des Piezohubs korrigiert werden. Über 400 Dosierungen à 10 Einzeltropfen stellt sich insgesamt (ohne Kompensation des Drifts) dennoch ein sehr guter CV von 1.6 % ein. Zudem kann man im rechten Teil von Abbildung 8 das Verhalten beim Leerlaufen des Tips erkennen. Der hierbei zu beobachtende Übergang erstreckt sich nur über sehr wenige Dosierungen, somit ist das eingebrachte Fluid fast vollständig dosierbar. Das nicht dosierbare Restvolumen im Tip ist kleiner 2 µL.

Des Weiteren wurde die maximale Dosierfrequenz untersucht: Auch bei 50 Hz ist noch kein Abfall im Dosiervolumen zu erkennen. Somit ist das System in der Lage, Volumina im zweistelligen Mikroliterbereich innerhalb einer Sekunde abzugeben.

## 6 Zusammenfassung

Der PipeJet-Tip™ ist ein auf dem PipeJet™-Prinzip basierender Dosierer für den nL bis µL Bereich mit eingebautem Reservoir, der durch die einfach austauschbaren Einwegpipette einen schnellen Medienwechsel ermöglicht. Der PipeJet-Tip™ wurde im Spritzguss hergestellt und ist somit kostengünstig und in großen Stückzahlen produzierbar. Durch die Kompatibilität des Reservoirs mit Standard-Pipettenspitzen ist sowohl eine einfache Integration in konventionelle Pipettierroboter als auch eine manuelle Befüllung leicht möglich. Aufgrund seines komplett radialsymmetrischen Designs kann der Dosierer Medien dosieren, die z.B. in ventilbasierten Systemen zu einer Verstopfung führen würden. Die dosierbaren Medien erstrecken sich über wässrige Lösungen (ggf. mit enthaltenen Beads oder Partikeln), Alkohole, Glycerin-Wasser-Gemische bis 75% sowie Silikonöle bis 100 mPas, die alle mit Wiederholgenauigkeiten von kleiner 5 % und Tip-zu-Tip-Abweichungen von weniger 4 % dosiert werden können. Standard-Tropfenvolumina sind hierbei 10-100 nl, durch Mehrfachdosierung mit bis zu 50 Hz können auch Mikroliter-Volumina schnell und präzise abgegeben werden.



**Bild 8 Ein mit 175 µL befüllter PipeJetTip™ wird mit Salven à 10 Einzeltropfen leer dosiert.**

## 7 Literatur

- [1] W. Streule, et. al., JALA, Vol. 9 Issue 5, pp.300-306, 2004.
- [2] Höchste Präzision für kleinste Teile; Kunststoffe 92 (2002), 12, S. 38
- [3] J. Comley, Drug Discovery World, vol. summer 2004, pp. 1-8, July 2004.
- [4] K. Hiltmann, D. Warkentin, W. Streule: Abschlussbericht „AiF 151 ZN – PlastiJet“, 2006, [http://www.hsg-imit.de/pdfs/Plastijet2005\\_Abschlussbericht.pdf](http://www.hsg-imit.de/pdfs/Plastijet2005_Abschlussbericht.pdf)