

# Per Gewicht zum Volumen

## Gravimetrische Lösungen für die Pipettenkalibrierung

Isabelle Schrepfer, Mettler-Toledo AG

**Labormitarbeiter wissen, dass nur bei regelmässig überprüften Pipetten Genauigkeit und Präzision gewährleistet sind. Doch das Überprüfen der Flüssigkeitsvolumina, speziell wenn diese sehr klein sind, birgt Risiken. Hier stellen gravimetrische Methoden zum Überprüfen und Kalibrieren von Pipetten präzise und normkonforme Lösungen dar, die sicherstellen, dass diese wichtigen Laborinstrumente immer innerhalb der Spezifikationen funktionieren.**

Pipette spielen eine zentrale Rolle im Labor, kommen sie doch bei nahezu jeder chemischen oder biologischen Anwendung zum Einsatz. Daher ist es auch besonders bei Projekten mit langen und kostenintensiven Produktentwicklungsprozessen ratsam, die Auswirkungen der Pipettenpräzision auf die Qualitätssicherung zu berücksichtigen.

### Regelmässige Überprüfung

Jede Pipette ist einzigartig und hat ihre eigene Messungenauigkeit. Das Überprüfen und Kalibrieren von Pipetten soll sicherstellen, dass das abgegebene Volumen innerhalb der spezifischen Prozesstoleranzen liegt. Nur bei regelmässiger Überprüfung können sich Firmen darauf verlassen, dass ihre Pipetten innerhalb der Toleranzen liegen. Diese Tests müssen nachvollziehbar, also speziell auch gegenüber Auditoren lückenlos dokumentierbar sein. Ohne diese regelmässigen Überprüfungen wird es sehr aufwändig, beispielsweise nachträglich festzustellen, seit wann Pipetten nicht mehr im Toleranzbereich liegen. Jeder Labormitarbeiter weiss, wie mühsam und kostspielig spätere Wiederholungen und Korrekturen sind.

### Genauere Voluminaabestimmung durch Wägen

Es gibt kein unabhängiges Standardreferenzvolumen. Der Liter ist offiziell als Kubikdezimeter definiert und basiert so auf Länge anstatt auf Volumen. Das Volumen

einer Flüssigkeit ist abhängig von Temperatur und Druck. Dies macht es extrem schwierig, einen Standard zu definieren, der direkt auf dem Volumen basiert. Im Gegensatz dazu unterliegt das Gewicht an sich nicht diesen Einflüssen, nur die Wäginstrumente zu dessen Bestimmung müssen in Anpassung an die Umgebungseinflüsse kalibriert werden. Geringe Volumen, von beispielsweise nur 1 µl sind nur sehr schwer präzise bestimmbar. Auch die Verdunstung von Testflüssigkeit hat Einfluss auf das Messergebnis. Daher ist eine indirekte Methode zur Bestimmung des Volumens erforderlich.

Die traditionelle Methode zur Volumenbestimmung ist die Gravimetrie. Viele Regulierungen sind eingeführt worden, um die gravimetrische Bestimmung zu standardisieren. Demzufolge sind korrekt justiert und kalibrierte Waagen immer auf das Referenzgewicht, das sogenannte Urkilogramm, rückführbar. Eine korrekt justierte Waage gleicht die Einflüsse von Temperatur oder Luftdruck aus. Diese Einflüsse wirken sich nicht auf das Gewicht der Testflüssigkeit aus, können aber das Volumen ändern. Die Messungenauigkeit einer Waage lässt sich ebenfalls durch standardisierte Verfahren bestimmen, so dass ein Volumen mit höchst möglicher Genauigkeit errechnet werden kann.

### Pipettenkalibrierung

ISO 8655 beschreibt nicht nur die Konstruktionsanforderungen an Kolbenhubpipetten, sondern schließt auch die Überprüfung der Instrumente durch das gravimetrische Verfahren zur Bestimmung der Messungenauigkeit ein



**Isabelle Schrepfer**, geb. 1986, studierte Biologie mit Abschluss Bachelor an der ETH Zürich. Im Anschluss erwarb sie dort den Magister im Fach Neurowissenschaften. Danach arbeitete sie am Institut für Hirnforschung als wissenschaftliche Mitarbeiterin. Seit 2010 ist Isabelle Schrepfer für die Mettler-Toledo AG als Product Manager LHCD (Liquid Handling Calibration Devices) tätig. Ihre Schwerpunkte liegen im Bereich Pipettenkalibrierung und Softwarelösungen.

und spezifiziert die Wägenauigkeit, die für die einzelnen Volumina benötigt wird. Die Testflüssigkeit wird direkt von der Pipette in ein Gefäß dispensiert. Das Volumen der Flüssigkeit wird berechnet, indem ein Korrekturfaktor auf das Gewicht angewendet wird, der die Einflüsse von Flüssigkeitsdichte, Temperatur und Luftdruck kompensiert. Typischerweise wird ein Mittelwert aus zehn Messungen ermittelt. Die Standardabweichung oder Verteilung der Ergebnisse ist ein Maß für die Wiederholbarkeit oder Unsicherheit der mit der Pipette erzielten Ergebnisse.

Um so kleine Volumina wie 1µl gravimetrisch bestimmen zu können, sieht die ISO-Norm die Verwendung einer Mikrowaage vor, damit die notwendigen Toleranzbestimmungen eingehalten werden. Die Mettler-Toledo AG bietet mit der XP26PC eine Mikrowaage, die speziell für die Kalibrierung von Mikropipetten konstruiert wurde und für die Bestimmung von Gewichten im Mikrobereich geeignet ist. Eine integrierte Verdunstungsfalle minimiert die Verdunstung der dispensierten Testflüssigkeit. So wird ein genaueres Messergebnis sichergestellt und die Stabilisierungszeit verkürzt. Der Deckel der Verdunstungsfalle öffnet sich automatisch, wenn die Pipette die integrierte Lichtschranke passiert. Das sorgt für einen ergonomischen Handhabungsprozess und minimiert die Benutzerermüdung bei monotonen Arbeitsvorgängen.

## Vom Gewicht zum Volumen

Durch die oftmals hohe Anzahl der auszuführenden Pipettenprüfungen, lassen sich die Volumina am leichtesten via einer Software errechnen. Mit Calibry bietet die Mettler-Toledo AG eine Pipettenkalibriersoftware, die den gesamten Kalibrierprozess mit vollständiger Benutzerführung und umfassender Pipettenmanagement-Funktionalität unterstützt und die Konformität mit ISO 8655 sicherstellt. Calibry rechnet automatisch Gewicht in Volumen um und überträgt auch die Werte für Messunsicherheit auf das Volumen.

Die Software speichert alle Daten in einer sicheren Datenbank und erleichtert es den Anwendern die FDA-Vorschrift 21 CFR Part 11 zu erfüllen, die die komplette Aufzeichnung der Daten fordert. Der gesamte Verlauf der zurückliegenden Kalibrierungen einzelner Pipetten ist somit leicht zugänglich und jederzeit nachvollziehbar.

Die neueste Version der Calibry Software unterstützt erstmalig RFID-fähige Pipetten, wie beispielsweise die Rainin Pipetten aus der Pipet-Lite XLS Serie. Calibry liest via RFID-Lesergerät Informationen wie Seriennummer, Projektname oder Rekalibrierdatum von den Pipetten-Tags und schreibt neue Informationen auf die Tags. RFID-fähige Pipetten und eine RFID-fähige Kalibriersoftware stellen einen großen Fortschritt für die Überwachung von Pipetten dar und geben Firmen ein erhöhtes Maß an Sicherheit bei den täglichen Routinevorgängen.

■ [isabelle.schrepfer@mt.com](mailto:isabelle.schrepfer@mt.com)

## Effiziente Lösungen für das Kalibrierlabor

Die Pipettenkalibriersoftware Calibry von METTLER TOLEDO wandelt nicht nur das Gewicht automatisch in ein Volumen um, sondern übersetzt auch die Messunsicherheiten. Das System unterstützt den gesamten Kalibrierprozess und bietet umfassende Pipettenmanagement-Funktionen. Das Speichern aller Kalibrierungsdaten in eine sichere Datenbank gewährleistet die Einhaltung der FDA-Vorschrift 21 CFR Part 11.

Die neueste Version von Calibry ist jetzt auch mit RFID-fähigen Pipetten wie der Pipet-Lite-XLS-Serie von Rainin kompatibel. Die Software kann Informationen von RFID-Tags lesen und schreiben, wie zum Beispiel die Seriennummer der Pipette, das zugeteilte Projekt und das Rekalibrierdatum.



**Pipetten spielen im Labor eine zentrale Rolle und müssen komplexe Anforderungen erfüllen. Für die Kalibrierung von Mikropipetten sieht die ISO-Norm die Verwendung einer Mikrowaage vor (im Bild: Die XP26PC von METTLER TOLEDO).**



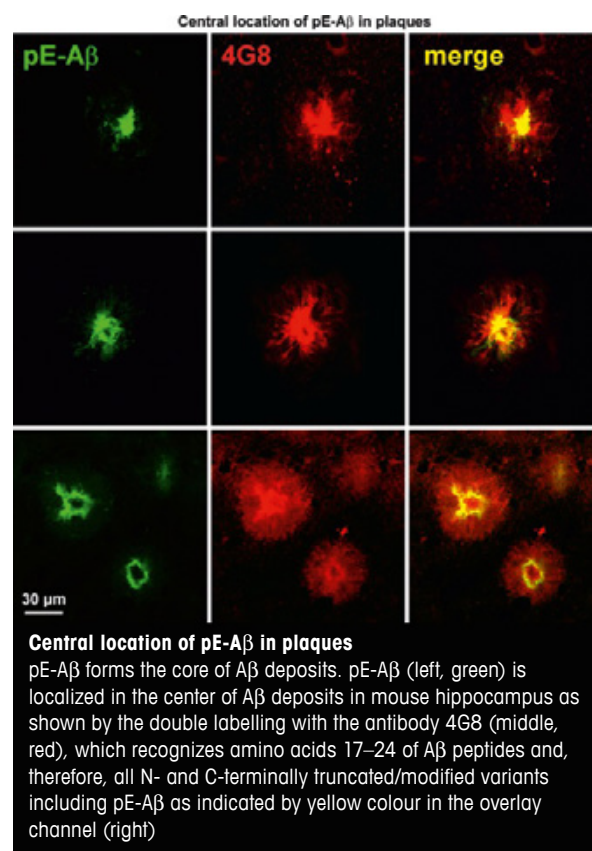
## Wichtiger Schritt in Alzheimer-Forschung gelungen

**Eine Arbeitsgruppe um Prof. Steffen Roßner, Paul-Flechsig-Institut für Hirnforschung der Universität Leipzig, hat gemeinsam mit Experten der Hallenser Biotechnologie-Firma Probiodrug um Prof. Hans-Ulrich Demuth einen Mechanismus aufgeklärt, durch den krankhafte Proteinablagerungen in den Hippocampus von Alzheimer-Patienten gelangen. Der Hippocampus ist der Teil des Gehirns, der für das Lernen und das Gedächtnis verantwortlich ist.**

Die Forscher konnten über Echtzeitbeobachtungen der Transportprozesse herausfinden, dass bösartiges so genanntes Amyloid über Nervenfasern in den Hippocampus gelangt. Zudem fanden sie heraus, dass das Enzym Glutaminyl-Zyklase für verschiedene Formen dieser Ablagerungen verantwortlich ist. Ziel ist es nun, das Enzym durch die Verabreichung zielgerichteter Wirkstoffe zu hemmen. Die Entwicklung und Testung dieser Wirkstoffe

läuft bereits bei den Hallenser Kooperationspartnern. Mit diesem durch die aktuellen Forschungen validierten Therapieansatz könnte die Entstehung einer besonders aggressiven Form der Amyloid-Peptide verhindert werden ohne die für den gesunden Menschen wichtige Funktion der „normalen“ Amyloid-Peptide zu beeinträchtigen.

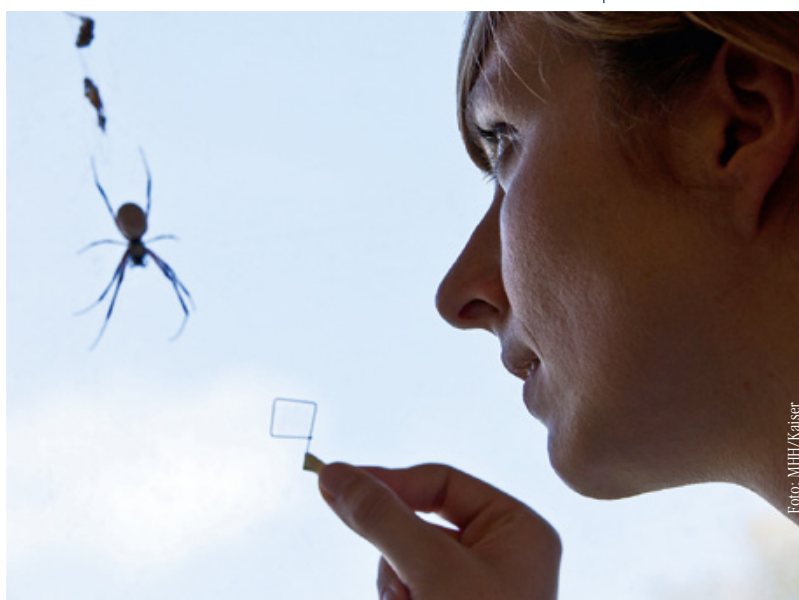
Quelle: Universität Leipzig  
Originalveröffentlichung: Acta Neuropathologica  
Vol. 121 Issue 6, doi: 10.1007/s00401-011-0806-2



## Künstliche Haut dank Spinnenseide

**Spinnenseide könnte der Schlüssel zum erfolgreichen Züchten von künstlicher Haut sein – und somit dazu beitragen, chronische Wunden und Verbrennungen zu heilen. Das hat Hanna Wendt in ihrer Doktorarbeit an der Medizinischen Hochschule Hannover (MHH) herausgefunden.**

Zur Züchtung von Hautzellen nutzte die Wissenschaftlerin von der Klinik für Plastische Hand- und Wiederherstellungschirurgie den Haltefaden der in Tansania heimischen Goldenen Radnetzspinne, dessen Produktion die Tiere nicht kontrollieren können. Dieser Seidenfaden kann durch leichtes Ziehen auf einen ein Quadratzentimeter großen Edelstahlrahmen aufgespult werden, wobei eine Fläche aus kleinen Maschen entsteht. In 10 bis 15 Min. Melkzeit pro Spinne lässt sich ein Strang von bis zu 400 Meter Länge gewinnen. Hautzellen, die Wendt auf diese Maschen aufgetragen und mit Nährstoffen, Wärme und Luft versorgt hat, wuchsen zu zwei übereinanderliegenden gewebeähnlichen Hautschichten heran: Keratinozyten bildeten eine Epidermis, Fibroblasten die darunterliegende Dermis. Im Tierversuch müsse sich nun zeigen, wie gut dieser Ersatz anwächst.



**Hanna Wendt mit dem kleinen Rahmen, auf den sie Seide der Goldenen Radnetzspinne aufgespult hat.**

Quelle: MHH  
Originalveröffentlichung: PLoS ONE 6(7): e21833. doi: 10.1371/journal.pone.0021833