

## UTILITZACIÓ DE LES MICROPIPETES AUTOMÀTIQUES.

Per transferir volums petits amb exactitud, s'empren les micropipetes automàtiques, tant als laboratoris de recerca com als docents. Aquests són **instruments delicats**, que s'han de manipular amb molta cura, particularment quan es prem el comandament de pipeteig (èmbol) i també quan es deixa anar: s'ha de fer poc a poc i amb suavitat. Hi ha molts models diferents de pipetes automàtiques, però sempre tenen:

**El comandament de pipeteig** s'empra per aspirar el líquid i també per dispensar-lo.

Extrems dels comandaments de pipeteig      Comandaments d'ejecció de la punta de la pipeta



El comandament d'ejecció (botó d'ejecció) s'empra per llençar la punta de pipeta quan ja s'ha utilitzat.

Extrems dels èmbols      Botons d'ejecció



Per un ús correcte d'aquestes micropipetes s'han de seguir les cinc recomanacions següents:

**1ª Seleccionar la pipeta adequada al volum a transferir.**

**Cada micropipeta només es pot utilitzar per transferir volums que estiguin dintre dels marges indicats al seu "llom" (o al seu extrem)**



Dues visions de la mateixa pipeta



Aquesta pipeta només es pot fer servir per transferir volums des de 2 µL, com a mínim i fins a 20 µL, com màxim.



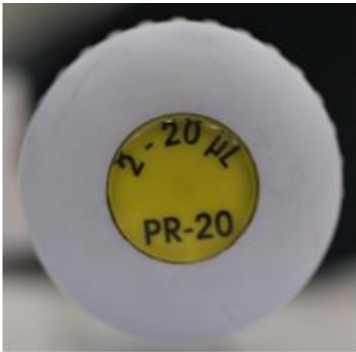
Aquesta pipeta només es pot fer servir per transferir volums des de 20 µL, com a mínim i fins a 200 µL, com màxim



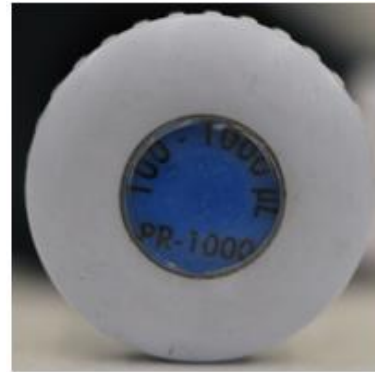
Aquesta pipeta només es pot fer servir per transferir volums des de 100 µL, com a mínim i fins a 1000 µL, com màxim



Si un determinat volum està dins del marge de varies pipetes, triarem la de volums més petits. Per exemple, si volem transferir 150  $\mu\text{L}$ , podríem emprar la que va des de 20 a 200 i la que va de 100 a 1000, perquè 150  $\mu\text{L}$  està dins dels marges de les dos pipetes. **En aquest cas, triaríem la de volums més petits (la que va de 20 a 200).**



Pipeta P20:  
Pot transferir  
entre 2 i 20  $\mu\text{L}$



P1000: pot transferir  
entre 100 i 1000  $\mu\text{L}$



P-1000 = 262  $\mu\text{L}$



Lectura: 18.94  $\mu\text{L}$

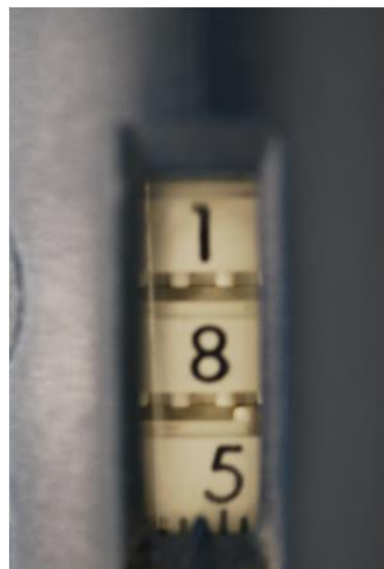


Lectura: 9.1  $\mu\text{L}$



P200: pot transferir entre  
20 i 200  $\mu\text{L}$

Lectura: 185.2  $\mu\text{L}$



Només pot transferir  
entre 200 i 1000  $\mu\text{L}$



Lectura: 890  $\mu\text{L}$

## 2ª Seleccionar el volum que volem pipetejar

...girant el cilindre rugós que està al costat de la micropipeta



...girant l'extrem del comandament



Per augmentar de volum girar en sentit antihorari, per posar un volum més petit, girar en sentit horari

**No s'ha de fer girar el comandament per a seleccionar el volum desitjat (sigui rodeta o sigui l'extrem del comandament) ni a valors més petits, ni a valors més grans als marges indicats per a cada pipeta.**

...si la pipeta té un anell de bloqueig (l'anell de bloqueig es veu a la figura com "lock"), s'ha de desbloquejar (girant-lo) abans de seleccionar el volum: el volum es selecciona girant



l'extrem superior de l'èmbol (veure figura). Un cop seleccionat el volum, s'ha de tornar a bloquejar la pipeta, girant al "lock".





El volum es pot llegir al panell de lectura de la micropipeta: (la figura de baix és un exemple de lectura de volums en dos models de pipetes diferents, amb tres mides diferents per cada model). Són els models usuals als laboratoris.



Pipeta preparada per agafar un volum de 18.8 µL



Pipeta preparada per agafar un volum de 187.4 µL



Pipeta preparada per agafar un volum de 975 µL  
(0.975 mL)

**P20**



P-20 = 6.86 µL

**P200**



P-200 = 132.4 µL

**P1000**



P-1000 = 262 µL

L'indicador del volum a la majoria de micropipetes consisteix en tres números i es llegeix d'esquerra a dreta (en alguns models, de dalt a baix). Els tres dígit indiquen el volum en microlitres i estan colorejats en negre o en vermell. A la pipeta P20, els dígit vermells indiquen dècimes o centèsimes de  $\mu\text{L}$ . A la P1000, el dígit vermell pot ser 0 (per volums menors a 1000  $\mu\text{L}$ ) o 1 (pel volum de 1000  $\mu\text{L}$ ). Exemple de lectures a les pipetes P20, P200 i P1000:

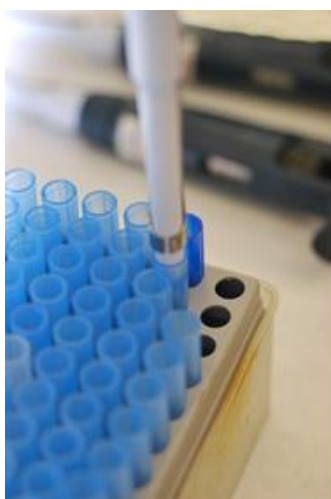
	P20		P200		P1000	
Dígit de dalt	0	1	0	1	0	1
Dígit del mig	6	8	5	3	2	0
Dígit de baix	8.6	4	0	2.4	6.2	0
$\mu\text{L}$	6.86	18.4	50	132.4	262	1000
mL	0.00686	0.0184	0.050	0.1324	0.262	1.0

Les pipetes P20 i P200 poden indicar dècimes (P20 i P200) i centèsimes de  $\mu\text{L}$  (P20)

Com es veu a les pàgines 3 i 5, el tercer dígit es pot posar entremig de dos números i llavors es llegeix com està indicat a les figures i a la taula.

### **3ª Inserir un con de plàstic a la micropipeta**

Les micropipetes sempre s'utilitzen amb cons de plàstic (cada micropipeta té els seus cons de plàstic, així la de 100 a 1000 els té de color blau (o incolor); mentre que la de 2 a 20 i la de 20 a 200, comparteixen els mateixos cons, que són grocs (o també incolor)). L'extrem de la micropipeta s'insereix en el con de plàstic quan aquest encara està a la seva caixa, efectuant una pressió lleugera per acoblar-lo. Si els cons estan en una bossa de plàstic han d'agafar-se per la part superior i inserir a la punta de la micropipeta. **Els dits no han de tocar mai l'extrem inferior de la punta del con de plàstic.**



#### 4ª Agafar el líquid del recipient donador.

Abans, ens hem de familiaritzar amb les tres posicions del comandament (l'èmbol): repòs, primer topall i segon topall.



Repòs

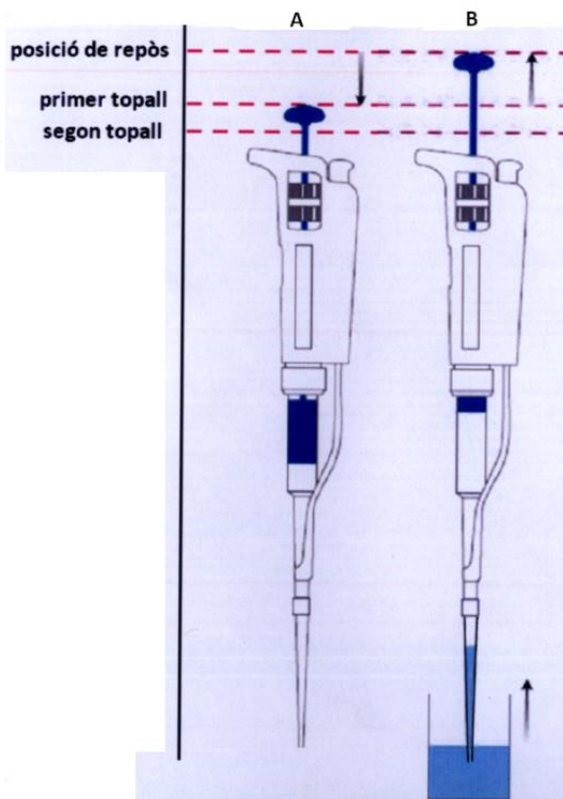


Primer topall



Segon topall

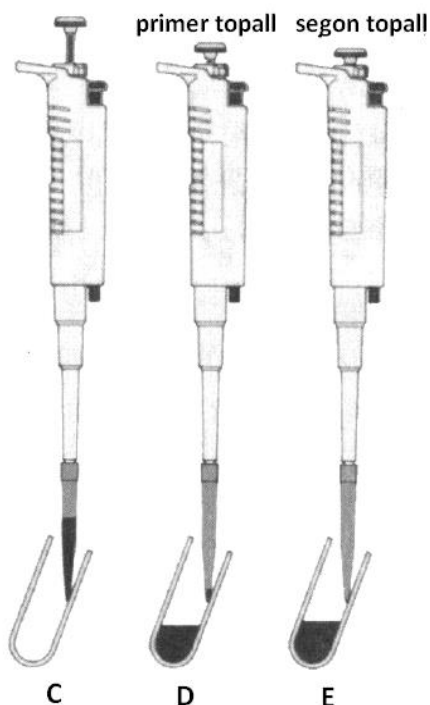
Quan el volum ja s'ha seleccionat i el con de plàstic ja està posat a la punta, s'empeny l'èmbol de la pipeta suaument amb el dit polze fins arribar a un punt de resistència ("primer topall", veure a dalt i figura A, a l'esquerra).



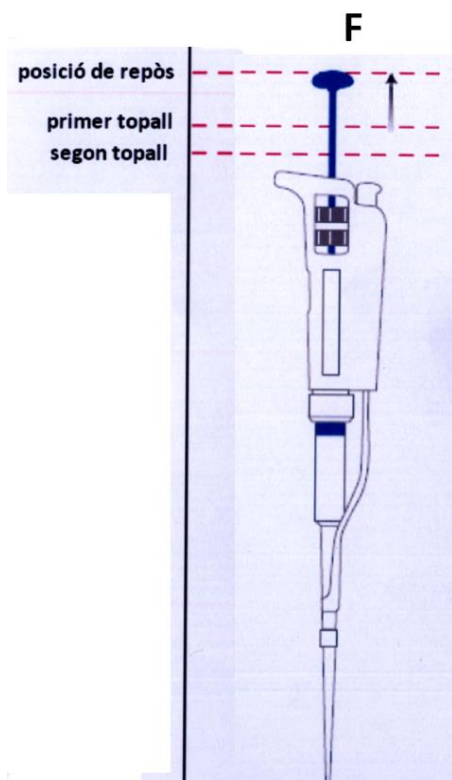
Ara, s'introdueix la punta del con de plàstic dins del líquid (de 5 a 10 mm per sota del menisc del líquid, figura B) en posició vertical i, molt suaument es va alliberant la pressió del dit polze a l'èmbol de la pipeta fins que l'èmbol para de pujar (figura B). No s'ha de deixar que l'èmbol pugi bruscament. El líquid puja pel con de plàstic fins assolir el volum que hem seleccionat. Amb la punta del con de plàstic encara dins del líquid, esperar 1 o 2 segons per assegurar-nos que tot el líquid ha pujat.

A continuació es mou la pipeta cap al recipient on volem dipositar el líquid agafat. La pipeta no ha de gotejar, si ho fa s'ha de llençar la mostra que queda dins del con, canviar el con de plàstic i tornar a agafar mostra.

## 5ª Dispensar el líquid al recipient acceptor



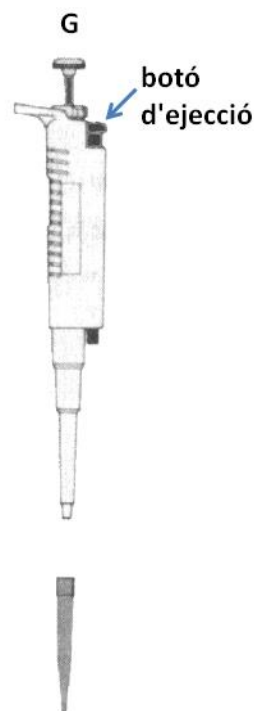
Mantenint la pipeta vertical, es recolza la punta del con de plàstic a la paret del recipient de destí (figura C). Ara s'empunya suaument l'èmbol fins arribar al primer topall (figura D). Esperar 1 o 2 segons per a que pràcticament tot el líquid surti i després s'empunya l'èmbol fins al segon topall (figura E), amb lo que sortirà tot el líquid residual de dins del con de plàstic. Si el volum és molt petit, també es pot posar directament la punta del con de plàstic dins del líquid "receptor" i continuar igual que dalt (D i E). Amb el dit polze encara empenyent l'èmbol, treure la punta del con de plàstic de dins del líquid. Així evitem que la pipeta xucli líquid del recipient en el que l'hem posat. Ara, soltar suaument l'èmbol fins que arribi a la seva posició de repòs (figura F). No deixar anar mai l'èmbol de cop.



Remoure el con de plàstic de la micropipeta empenyent l'ejector (figura G).

Mirar en tot moment el líquid entrant i sortint del con de plàstic, així ens en podem adonar si el con està bloquejat o està agafat massa fluix a la punta de la pipeta.

No s'ha de pipetejar cap bombolla, si n'apareix alguna és millor dispensar el líquid al tub original, ajustar millor el con de plàstic i tornar a pipetejar més lentament.

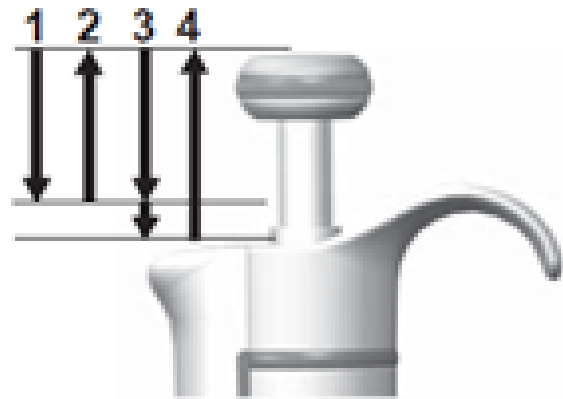




## RESUM DE COM AGAFAR EL LÍQUID I DE COM DISPENSAR-LO:

1. Premeu el comandament fins a la primera posició (posició 1 dibuix dreta).

2. Submergiu la punta del con aproximadament 1 cm sota la superfície del líquid i deixeu anar el comandament lentament (posició 2 dibuix dreta). Traieu la punta del con de dins del líquid, retirant l'excés de líquid que hagi pogut quedar adherit al extrem del con, tocant amb aquest la paret del flascó d'on traieu el líquid.



3. Descarregueu el líquid pressionant lleugerament el comandament fins a la primera posició (posició 3 primera fletxa).

Transcorregut aproximadament un segon, torneu a pressionar el comandament fins a la segona posició per buidar el con (posició 3 segona fletxa). Aquesta acció buidarà el con completament.

4. Deixeu anar el comandament perquè torni a la posició inicial. Si cal, canvieu la punta i seguiu pipetejant.

Algunes imatges s'han agafat de : "Bioquímica Aplicada. Diseño experimental y Análisis de Datos" Claros Díaz, M.G., Avila Sáez, C., Gallardo Alba, F. y Cánovas Ramos, F.M. Universidad de Málaga (2001) Septem ediciones, de "Gilson Guide to Pipetting" 3rd Edition i de "Fisherbrand Elite Single Channel & Multichannel pipette" de ThermoFisher.