



Mini-curso



Micropipetas: Funcionamento, Uso Correto e Manutenção

Amália Geísa Gama

Juliana Ap. Ferreira

Mário H. Gonzalez

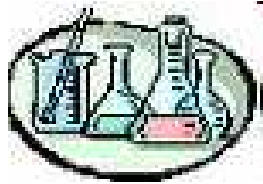
Março de 2009



Sumário

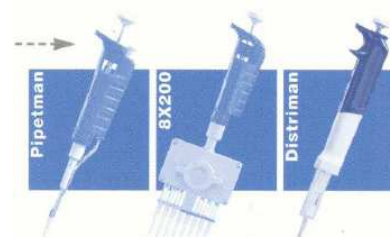
1. Tipos de amostras
2. Tipos de micropipetas (deslocamento positivo e deslocamento de ar) – princípios de funcionamento
3. Adequação da micropipeta ao tipo de amostra
4. Dicas para melhor performance na pipetagem
5. Procedimentos de pipetagem
6. Uso correto da micropipeta
7. Fontes de erro na pipetagem
8. Problemas
9. Limpeza Externa
10. Limpeza Interna
11. Cuidados

Tipos de Amostras



Aquosas

- Quantidade
- Precisão



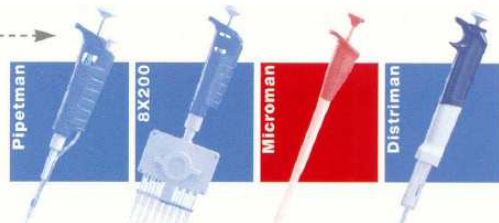
Viscosas

- Reprodutibilidade
- Líquidos mais voláteis e densos



Amostras Radioativas e Corrosivas

- Especificidade
- Menor dano ao usuário e ao instrumento



DNA, RNA, Amostras Biológicas

- Filtros autoclavados
- Capilares e pistões esterilizados
- Precisão e menores contaminações



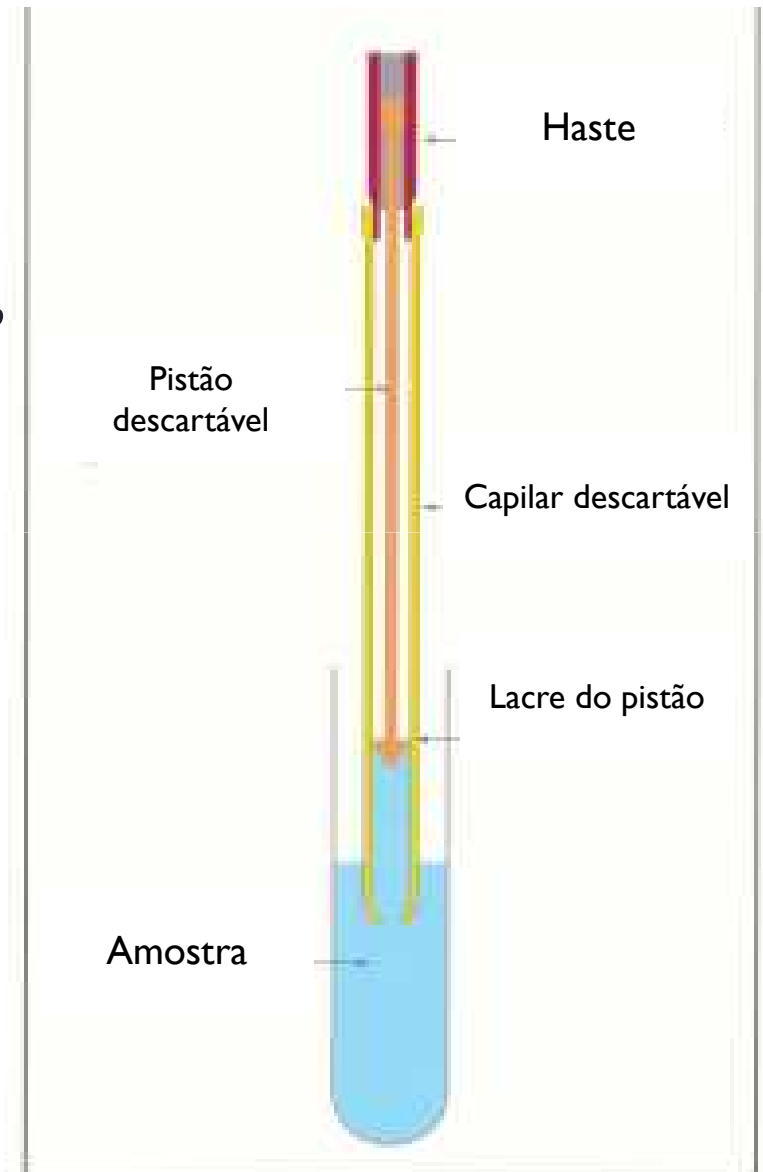
Tipos de Micropipetas

- **Deslocamento Positivo**

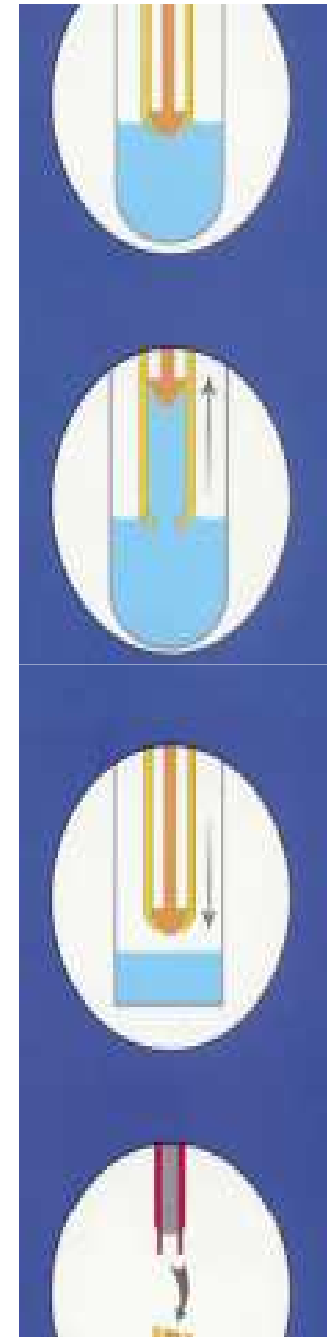


Deslocamento Positivo

1. Amostras problemáticas (viscosas, densas, voláteis, radioativas, corrosivas)
2. Contato direto entre o pistão e a amostra
3. Pistão descartável (não faz parte permanente da pipeta)



1. Contato entre o pistão – amostra.
Não há “volume morto”, facilita amostras densas e voláteis
2. Volume aspirado completamente
A vedação do pistão previne contaminações do usuário
3. Durante a dispersão o pistão “limpa” as paredes do capilar, aumentando a precisão
4. O pistão e capilar devem ser trocados, depois de cada amostra
São ejetados automaticamente



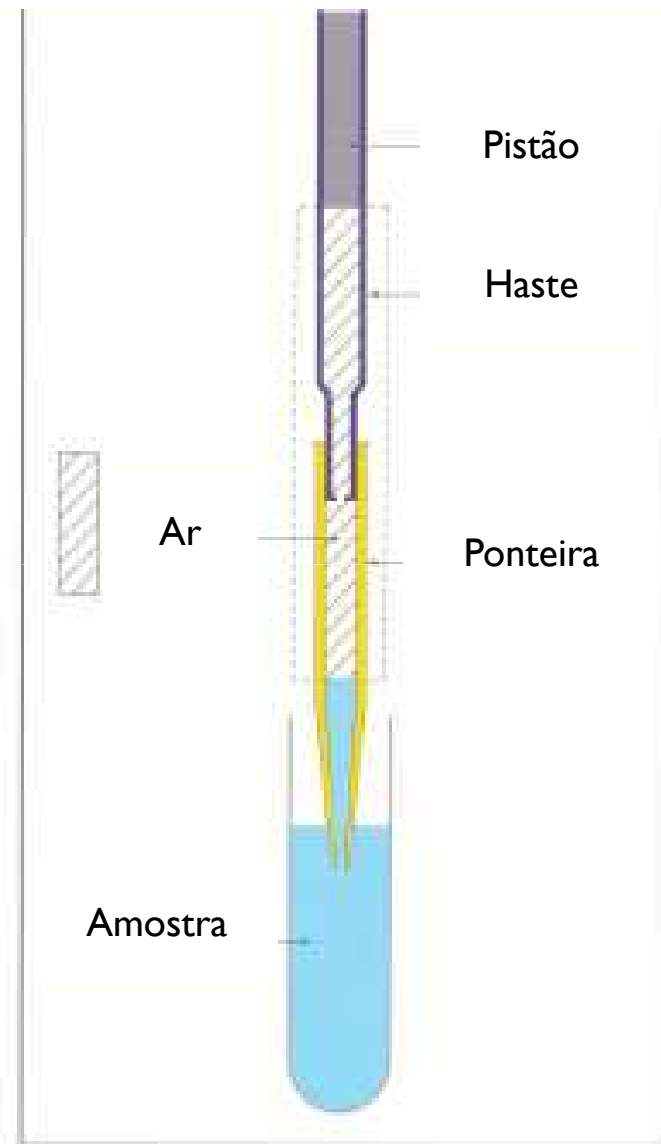
Tipos de Micropipetas

Deslocamento de Ar



Deslocamento de Ar

1. Recomendável para amostras aquosas e para trabalhos em geral
2. “Volume morto” entre o pistão e a ponteira (amostra)
3. O pistão é parte permanente da pipeta



Uso e aplicações

◦ **NÃO RECOMENDÁVEL PARA:**

Materiais voláteis - ↑ pressão interna e faz gotejar

1 – saturar a atmosfera interna da pipeta

2 – utilizar o modo reverso

Materiais viscosos – deslocamento da amostra é mais lento e adesão à parede interna da ponteira - ↑ perda

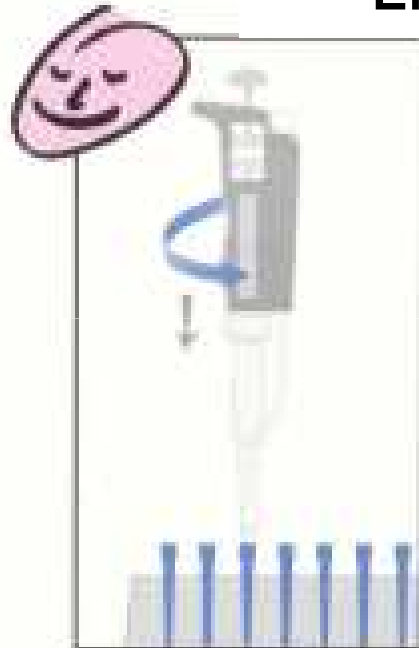
1 – utilizar o modo reverso – área de contato ↓ ∴ perda ↓

Uso e aplicações



Dicas para melhor performance na pipetagem

Encaixe da ponteira



Pressione com movimento de rotação



Evite penetrar a ponteira como se a pipeta fosse uma faca



Dicas para melhor performance na pipetagem

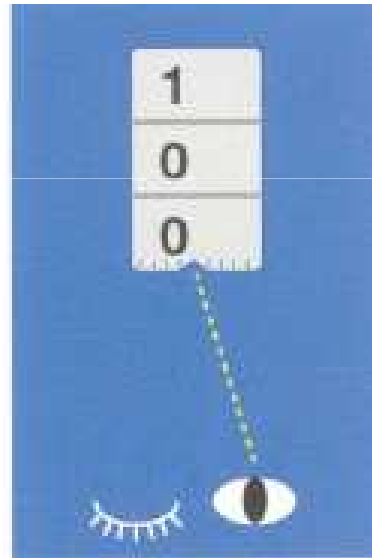
Melhorar reprodutibilidade: finalize o ajuste de volume sempre no sentido horário!

↓ Volume: gire vagarosamente até obter o volume desejado, **NÃO** ultrapasse a posição desejada

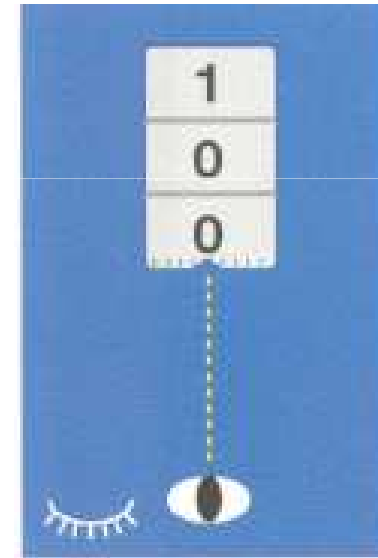
↑ Volume: rotacione 1/3 de volta acima do volume desejado e retorne vagarosamente à posição correta

Dicas para melhor performance na pipetagem

Melhorar exatidão



Alinhamento **INCORRETO**:
Erro



Alinhamento **CORRETO**:
Leitura exata



Dicas para melhor performance na pipetagem

Melhorar precisão: pré-lavagem da ponteira

A pré-lavagem é necessária toda vez que:

- mudar a ponteira
- ajustar para um volume maior

Dicas para melhor performance na pipetagem

- Pressionar o botão de modo lento e constante;
- Enquanto aspirar, mantenha a ponteira a uma profundidade constante abaixo da superfície do líquido;

| Volume da micropipeta (μL) | Profundidade de imersão (mm) | Tempo de espera (s) |
|---|-------------------------------------|----------------------------|
| 2 e 10 | 1 | 1 |
| 20 | 2-3 | 1 |
| 100 | 2-4 | 1 |
| 1000 | 2-4 | 2-3 |
| 5000 | 3-6 | 4-5 |



Procedimento de Pipetagem

Uso do segundo estágio

- 1) Encaixe da ponteira
- 2) Ajuste do volume
- 3) Pré-lavagem da ponteira
- 4) Preparo para aspiração
- 5) Aspiração
- 6) Dispensa
- 7) Descarte da ponteira

Procedimento de Pipetagem

Uso do segundo estágio

Preparação

Aspiração

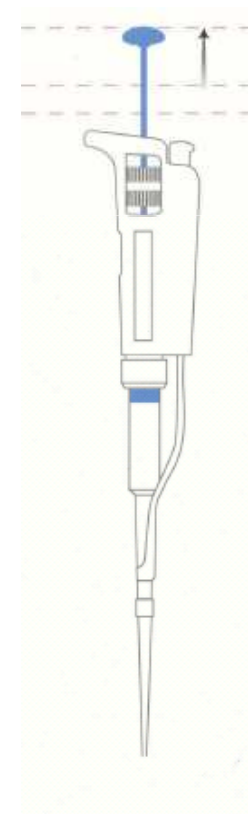
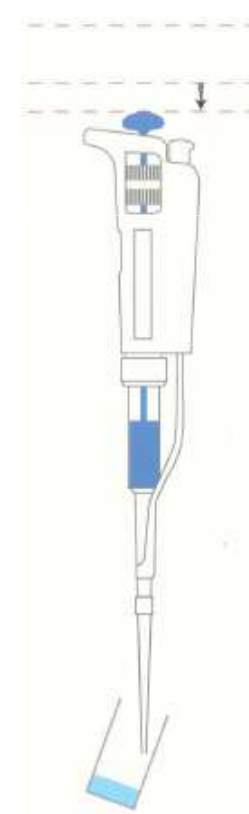
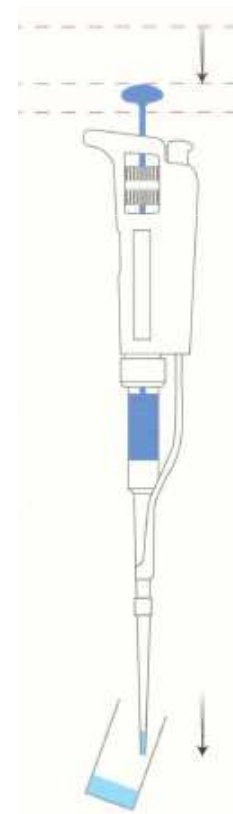
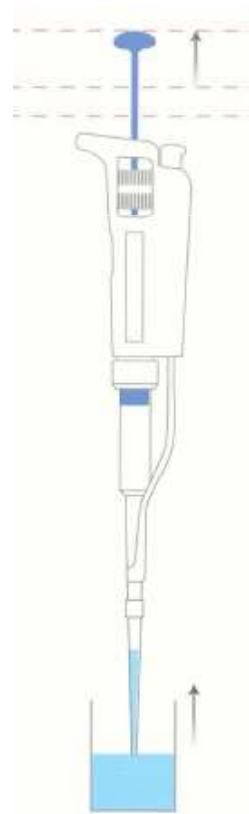
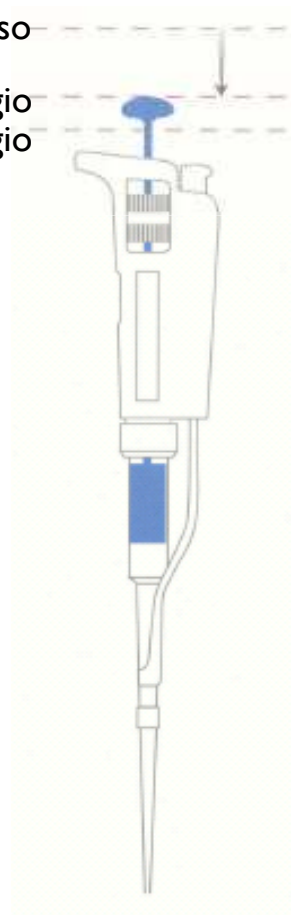
Distribuição

Dispensa

Repouso

Posição de repouso

1° estágio
2° estágio





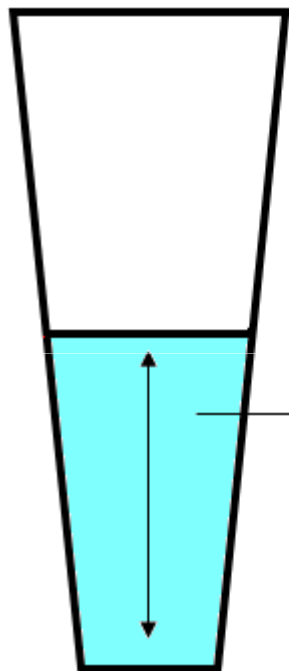
Procedimento de Pipetagem

Modo reverso

- 1) Encaixe da ponteira
- 2) Ajuste do volume
- 3) Pré-lavagem da ponteira
- 4) Preparo para aspiração
- 5) Aspiração
- 6) Dispensa
- 7) Re-aspiração

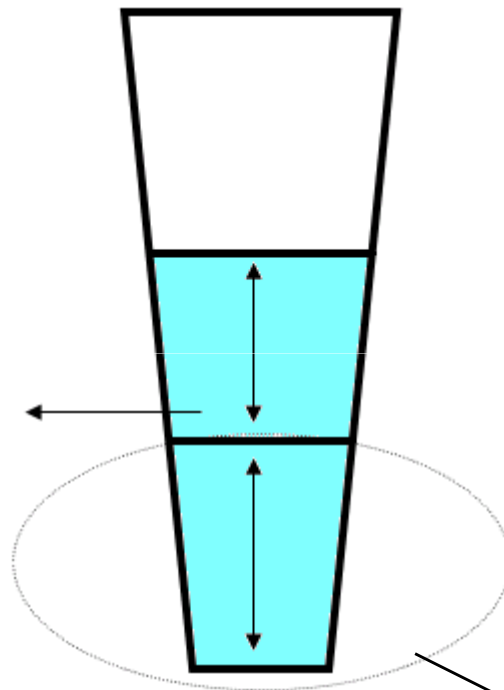
Modo reverso

Modo Normal



400 μ l

Modo Reverso



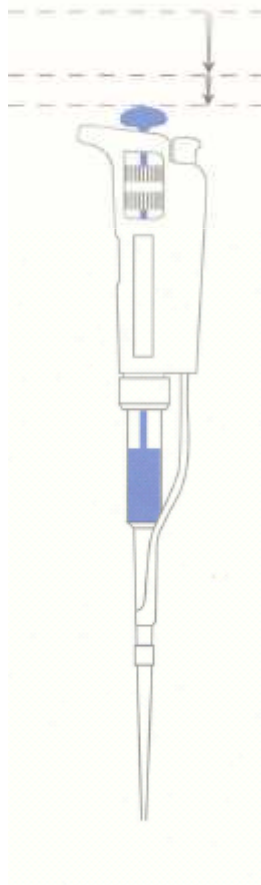
Mesmo volume,
mas com menor
área de contato
com as paredes
da ponteira

Volume não
dispensado

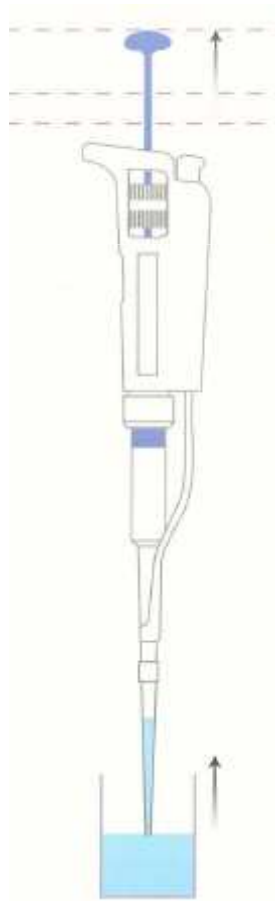
Procedimento de Pipetagem

Modo reverso

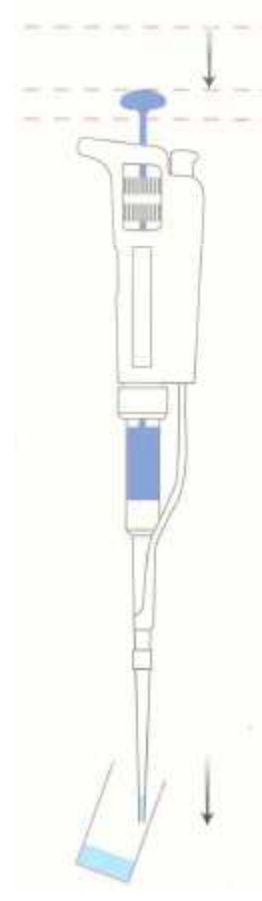
Preparação



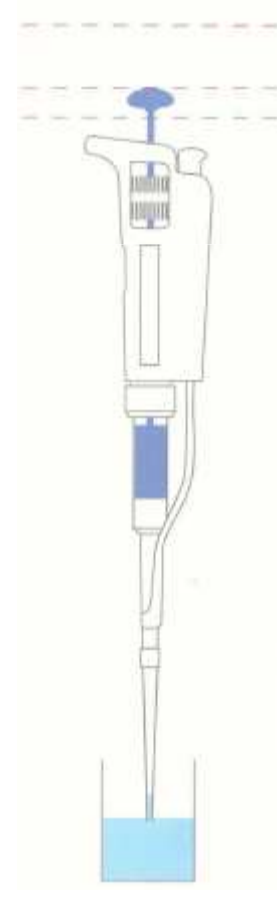
Aspiração



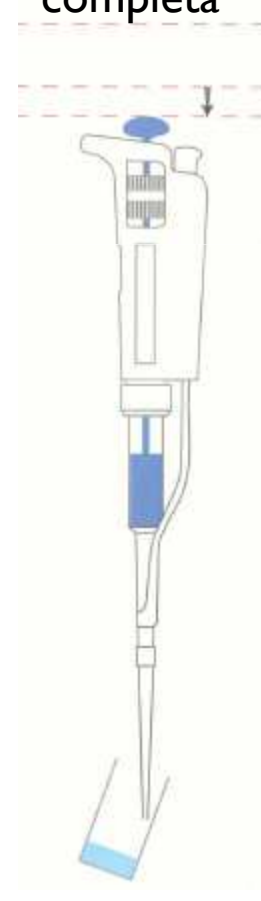
Distribuição



Re-aspiração



Dispensa completa



Uso correto da micropipeta

- Trocar a ponteira antes de aspirar líquido, amostra ou reagente diferente;
- Pressione e solte o botão de modo lento e constante;
- **NUNCA** pipete líquidos onde $T > 70^{\circ}\text{C}$ ou $T < 4^{\circ}\text{C}$;
- **NUNCA** vire a pipeta de cabeça para baixo
- **NUNCA** deite a pipeta enquanto houver líquido na ponteira;
- **NUNCA** utilize graxa ou silicone no pistão ou selos
- **NUNCA** tente ajustar o volume acima da especificação

Fontes de erro na pipetagem

| Parâmetro | Efeito (% Vol. Nominal) | Influenciado por: |
|--|--------------------------------|---|
| Profundidade de imersão da ponteira | Até 1,0 % | Segurar a pipeta na posição vertical |
| Varição da temperatura (pipeta, ambiente e ou líquido) | Até 0,3 % / °C | Manter a pipeta e o líquido a ser pipetado na mesma temperatura da sala |
| Ponteiras vazando e mal encaixadas | De 0,5 % até 50,0 % | Utilizar ponteiras originais e recomendadas |
| Reutilização das ponteiras | Até 4,0 % | Utilize as ponteiras uma única vez |
| Ponteiras tortas | Até 10,0 % | Utilizar as ponteiras uma única vez |
| Vazamento devido ao Pistão | De 1,0 % até 50 % | Verificação regular da pipeta |

Problemas

| Problema | Causa do problema | Ação Corretiva |
|-------------------------------|--|--|
| Amostra aspirada está vazando | <ul style="list-style-type: none">○ Selo e o'ring gastos;○ Pistão danificado;○ Encaixe da ponteira inadequado; | <ul style="list-style-type: none">○ Trocar as duas peças;○ Enviar pipeta para reparo;○ Ejetar e encaixar a ponteira; |
| Pipeta não está aspirando | <ul style="list-style-type: none">○ Selo e o'ring gastos;○ Porta-cone frouxo ou entupido; | <ul style="list-style-type: none">○ Trocas as duas peças;○ Apertar a porca de conexão ou limpar a peça; |
| Pipeta está inexata | <ul style="list-style-type: none">○ Porta-cone danificado;○ Pistão danificado;○ Porca de conexão frouxa;○ Erro na montagem da pipeta; | <ul style="list-style-type: none">○ Trocar o porta-cone;○ Enviar pipeta para reparo;○ Apertar a porca de conexão; |

Problemas

| Problema | Causa do problema | Ação Corretiva |
|--------------------------------|--|--|
| Pipeta está imprecisa | <ul style="list-style-type: none">○ Porta-cone frouxo;○ Porca de conexão frouxa;○ Técnica de operação incorreta;○ Selo e o'ring gastos;○ Pistão danificado;○ Porta-cone danificado;○ Ponteiros de baixas qualidades; | <ul style="list-style-type: none">○ Apertar a porca de conexão;○ Apertar a porca de conexão;○ Treinamento para o operador;○ Trocar as duas peças;○ Enviar a pipeta para reparo ;○ Trocar o porta-cone;○ Utilizar ponteiros corretas; |
| Ponteiras caem ou não encaixam | <ul style="list-style-type: none">○ Porta-cone danificado;○ Ejetor de ponteiros frouxo;○ Ejetor de ponteiros danificado; | <ul style="list-style-type: none">○ Trocar porta-cone;○ encaixar o ejetor corretamente;○ Trocar o ejetor de ponteiros; |

Limpeza Externa

- Remover o ejetor de ponteiros;
- Limpar o ejetor de ponteiros com um pano embebido em solução de detergente;
- Limpar a parte externa da pipeta;
- Passar um pano embebido com água destilada para enxaguar o ejetor de ponteiros e no corpo da pipeta;
- Recolocar

Limpeza Interna

- Desmontar a pipeta;
- Deixar o corpo da pipeta em um local seco;
- Limpar as peças da parte inferior utilizando um banho de ultrassom por 20 min;
- Enxaguar as peças com bastante água corrente, o último enxágüe deve ser feito com bastante água destilada;
- Deixar secar em temperatura ambiente;
- Montar a pipeta, para um novo uso.



Depois de pipetar líquidos ácidos ou corrosivos, remova o porta-cone e lave o pistão, o selo, o ring e o interior do porta-cone com água destilada.

Este procedimento não altera a calibração nem prejudica o desempenho de sua pipeta!



Referências Bibliográficas

<http://www.analiticaweb.com.br/pipetas>

Harris, D. C. Análise química quantitativa,
LTC, 6^a ed, 2005.