

**PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO
ORIENTAÇÕES DE USO DE EQUIPAMENTOS**

**MICROPIPETA
BIOPET - MODELO: não identificado**

	NOME	DATA
ELABORAÇÃO	Júlia Dias Cruz	10/05/2024
REVISÃO	Aline Vaz da Silva	14/05/2024
ATUALIZADO POR	-	-

MICROPIPETA

BIOPET

Modelo: não identificado



[A] PRECAUÇÕES

- Quando a micropipeta não estiver em uso, é recomendado manter a micropipeta em posição vertical.
- É recomendado sempre realizar a pipetagem com a micropipeta em posição vertical.
- Recomenda-se que o líquido a ser pipetado esteja à temperatura ambiente.
- É recomendado realizar o controle de calibração do equipamento (item 4) antes de seu uso, de tempos em tempos.
- A pipeta sempre deve ser guardada com o máximo do seu volume.

[B] MODO DE USO

1. PREPARO DA PIPETA

- 1.1. Verificar a faixa de volumes de pipetagem da micropipeta.
- 1.2. Girar o êmbolo superior no sentido horário e antihorário até atingir o volume desejado (leitura do volume deve ser feita pelo visor).
- 1.3. Certificar-se de que o volume desejado esteja corretamente fixado e que os dígitos estejam completamente visíveis no visor.

Nota 01: O uso excessivo da força para girar o êmbolo fora do intervalo definido pode emperrar o mecanismo e danificar a micropipeta.

- 1.4. Encaixar na ponta da micropipeta uma ponteira correspondente ao volume máximo da micropipeta.

Nota 02: O encaixe pode ser feito com a mão, pressionando a ponteira na micropipeta, ou com o uso de um porta ponteiras, pressionando a micropipeta na ponteira (indicado para análises microbiológicas, em que a ponteira está esterilizada).

- 1.5. Certificar-se que o encaixe está correto e firme.

- 1.6. Realizar a pipetagem e dispensação conforme item 2, para a maioria dos líquidos, ou item 3 para líquidos viscosos ou detergentes.

2. PIPETAGEM DIRETA

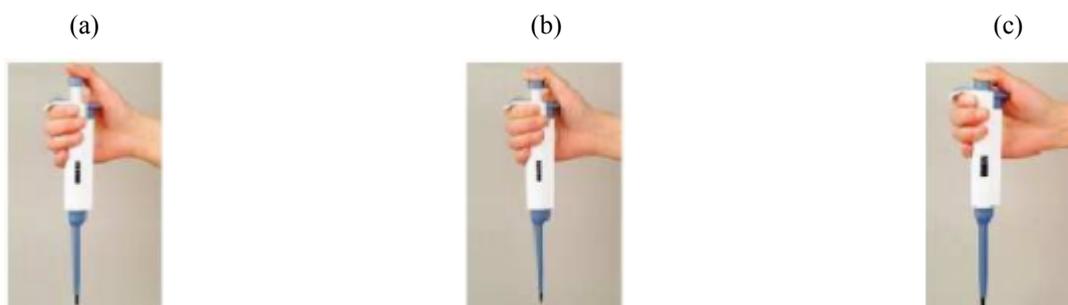
- 2.1. Pressionar o êmbolo até a posição do primeiro estágio (figura 1).
- 2.2. Imergir a ponta da ponteira no líquido a ser pipetado (alguns milímetros) e soltar o êmbolo devagar.

Nota 03: É recomendado que o líquido esteja à temperatura ambiente.

Nota 04: Repetir os itens 3.1 e 3.2 algumas vezes para realizar uma pré-lavagem na ponteira. Prosseguir para os próximos passos com o volume retido na ponteira.

- 2.3. Após sucção, encostar cuidadosamente a ponteira na borda do recipiente, para remover o excesso de líquido aderido à sua superfície externa.
- 2.4. Dispensar o líquido no local desejado pressionando suavemente o êmbolo até o primeiro estágio. Após um pequeno intervalo, continue a pressionar o êmbolo até o segundo estágio (figura 1). Esta ação irá esvaziar a ponteira, garantindo exata dispensação do líquido.
- 2.5. Solte o êmbolo para a posição inicial (figura 1). Se necessário, trocar a ponteira para continuar com os procedimentos.

Figura 1 - Posições para aperto do êmbolo



Legenda: (a) Estágio inicial; (b) Primeiro estágio; (c) Segundo estágio.

Fonte: Manual do equipamento

3. PIPETAGEM REVERSA

Nota 05: A técnica de pipetagem reversa é recomendada para dispensação de líquidos viscosos ou detergentes. Esta técnica também é utilizada para a dispensação de volumes muito pequenos, quando é recomendado preparar a ponteira com o líquido antes da pipetagem.

- 3.1. Pressionar o êmbolo até o segundo estágio (figura 1).

- 3.2. Imergir a ponteira na superfície do líquido (alguns milímetros) e, suavemente, soltar o êmbolo (figura 1).
Nota 06: É recomendado que o líquido esteja à temperatura ambiente.
- 3.3. Repetir os itens 3.1 e 3.2 algumas vezes para realizar uma pré-lavagem na ponteira. Prosseguir para os próximos passos com o volume retido na ponteira.
- 3.4. Após a sucção, retirar a ponteira do líquido e tocar contra a borda do recipiente para remover o excesso de líquido aderido à sua superfície externa.
- 3.5. Dispensar o líquido, suavemente, pressionando o êmbolo até o primeiro estágio (figura 1, p.3). O líquido que restar na ponteira não deve ser dispensado no recipiente.
- 3.6. O líquido residual deve ser desprezado em um recipiente de descarte.
- 3.7. Descartar a ponteira.

4. CONTROLE DE CALIBRAÇÃO

Nota 07: Os procedimentos devem ser executados em temperatura ambiente de 20°C a 25°C, evitando correntes de ar.

- 4.1. Ajustar o volume de teste desejado de sua micropipeta.
- 4.2. Encaixar cuidadosamente a ponteira na micropipeta.
- 4.3. Preparar a ponteira com água destilada, pipetando o volume selecionado, ao menos cinco vezes.
- 4.4. Aspirar cuidadosamente o líquido, mantendo a micropipeta na vertical.
- 4.5. Utilizando uma balança analítica calibrada e um recipiente de baixo peso, pipetar água destilada no recipiente previamente tarado. Realizar a leitura do peso em mg.
Nota 08: Utilizar uma balança analítica com legibilidade de 0,01 mg.
- 4.6. Repetir o procedimento 4.5 ao menos cinco vezes, registrando cada resultado.
- 4.7. Para calcular o volume, dividir o peso obtido da água pela sua densidade (de acordo com sua temperatura - valores em ANEXO).
Nota 09: Este método baseia-se na DIN 12650.
- 4.8. Comparar os resultados com a tabela de variação permitida (tabela 1, p.5). A calibração da micropipeta deve ser ajustada, mesmo que apenas um resultado esteja fora da variação permitida.
- 4.9. Se for necessário o reajuste, prosseguir para o item 5.

Tabela 1 - Variação permitida em função do volume

Volume (μL)	Variação permitida (μL)
1	$\pm 0,15$
2	$\pm 0,20$
5	$\pm 0,30$
10	$\pm 0,30$
20	$\pm 0,40$
50	$\pm 0,80$
100	$\pm 1,50$
200	$\pm 2,00$
500	$\pm 5,00$
1000	$\pm 10,00$
5000	$\pm 50,00$

Fonte: Manual do equipamento

5. CONTROLE DE CALIBRAÇÃO

- 5.1. Posicionar a chave de calibração nos orifícios de bloqueio do ajuste de calibração (figura 2).
- 5.2. Girar no sentido anti-horário para diminuir o volume e no sentido horário para aumentar o volume.
- 5.3. Repetir o procedimento de verificação da calibração até que os resultados de pipetagem estejam corretos, de acordo com a tabela 1.

Figura 2 - Posicionamento da chave de calibração



Fonte: Manual do equipamento

REFERÊNCIA

BIOPET TECHNOLOGIES. **Manual de Instruções:** Micropipetas.

ANEXO

Tabela - Densidade da água em função da temperatura

Temperatura (°C)	Massa específica da água (kg m ⁻³)
15	999,1
16	998,9
17	998,8
18	998,6
19	998,4
20	998,2
21	998,0
22	997,8
23	997,5
24	997,3
25	997,0
26	996,8
27	996,5
28	996,2
29	995,9
30	995,6

Fonte: Handbook of Chemistry and Physics, CRC press, Ed 64.