



# Consideraciones en el uso y mantenimiento de micropipetas

<b>Apellidos, nombre</b>	Fuentes López, Ana (anfuelo@upvnet.upv.es) Fernández Segovia, Isabel (isferse1@tal.upv.es) Fuentes López, Cristina (crifuelp@upvnet.upv.es)
<b>Departamento</b>	Departamento de Tecnología de Alimentos
<b>Centro</b>	Universitat Politècnica de València



## 1 Resumen de las ideas clave

Las micropipetas son instrumentos de laboratorios diseñados para conseguir una alta precisión y exactitud en la medida y dosificación de líquidos. Para garantizar mediciones precisas y exactas es necesario evitar errores asociados a un manejo inadecuado y a un funcionamiento deficiente de estos instrumentos. En este artículo vamos a presentar cuáles son los errores más habituales que se cometen durante el pipeteo y cómo evitarlos, cómo comprobar el correcto funcionamiento de las micropipetas y, finalmente, veremos una serie de aspectos clave para mantener nuestras micropipetas en perfectas condiciones.

## 2 Objetivos

Una vez que el alumno lea con detenimiento este documento, será capaz de:

- Identificar las posibles fuentes de error en las medidas realizadas con las micropipetas.
- Comprobar el correcto funcionamiento de las micropipetas.
- Realizar un mantenimiento adecuado de las micropipetas.

## 3 Introducción

La calidad de los resultados analíticos depende, entre otros factores, de la exactitud y precisión de las tareas realizadas durante el trabajo en el laboratorio. Una de estas tareas básicas consiste en la medida y dosificación de muestras o reactivos líquidos.

Las micropipetas son instrumentos de laboratorios diseñados para conseguir una alta exactitud y precisión en el manejo de líquidos. Ambos términos pueden ser definidos como:

- **Exactitud de medida:** proximidad entre el valor medido y el valor verdadero de la magnitud que se desea medir.
- **Precisión de medida:** proximidad entre los valores medidos obtenidos en mediciones repetidas.

En este sentido, podríamos decir que una medición es más exacta cuanto más pequeña es la diferencia entre el valor medido y el valor verdadero (o de referencia), mientras que la precisión es un concepto asociado a la repetibilidad, es decir, una medición es más precisa cuanto más cerca estén los valores obtenidos en mediciones repetidas.

Para garantizar la precisión y exactitud de las tareas de pipeteo es necesario un correcto manejo de las micropipetas, garantizar que funcionan dentro de las especificaciones y mantenerlas en perfectas condiciones.

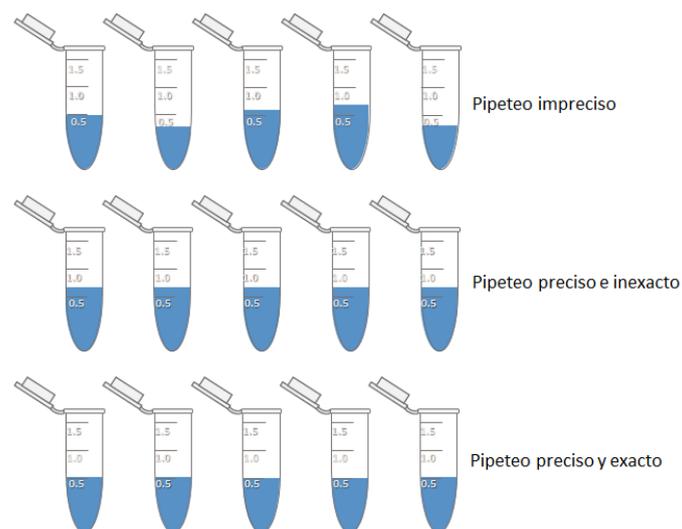
## 4 Desarrollo

Todos aquellos errores que cometemos durante el pipeteo, tanto de manera sistemática como accidental, inciden directamente en la calidad de los resultados obtenidos durante el trabajo en el laboratorio. Los errores sistemáticos y aleatorios que se cometen durante la medida y dosificación de líquidos empleando una micropipeta están relacionados con el sistema de pipeteo y el instrumental utilizado, pero también con el manejo que hagamos del material. Para poder evitarlos, es necesario comprobar que el material empleado funciona conforme a las especificaciones y también que nuestro manejo de las micropipetas no supone una fuente de error.

Los errores aleatorios están relacionados con la precisión de la medida y provocan variaciones impredecibles de los valores obtenidos. Para mejorar la precisión de nuestras medidas es necesario no solo que los equipos utilizados sean precisos, sino también que haya un procedimiento adecuado de uso, limpieza y experiencia práctica.

Los errores sistemáticos, en cambio, se pueden prever, calcular y eliminar mediante calibraciones y compensaciones. Estos errores están relacionados con la exactitud del instrumento de medida, por lo que para garantizar su exactitud es muy importante utilizar material calibrado y comprobar regularmente que este funciona dentro las especificaciones indicadas por el fabricante.

En la Imagen 1 se muestra un ejemplo de error aleatorio (relacionado con problemas de precisión) y error sistemático (relacionado con problemas de exactitud) durante el pipeteo de una alícuota de 500  $\mu\text{L}$  de un líquido.



*Imagen 1. Ejemplos de errores en el pipeteo.*

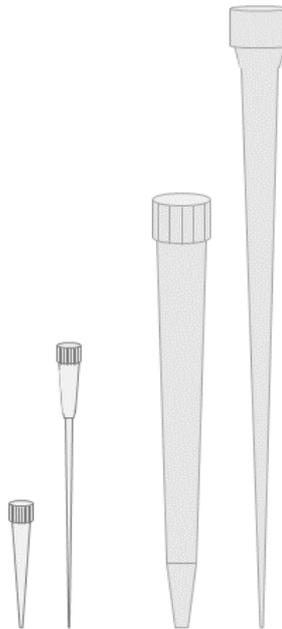
## 4.1 Los errores más frecuentes durante el pipeteo

Los errores aleatorios, tal y como hemos visto antes, son una de las causas de los problemas con la precisión en nuestras medidas. Por ello, es importante conocer cuáles son algunos de estos errores y así poder evitarlos. Los errores más frecuentes que cometemos durante el pipeteo tienen que ver con los siguientes factores:

### 1. Elección la punta adecuada

Es muy importante que la puntas que utilizemos ajusten perfectamente en la micropipeta. No utilizar las puntas adecuadas afecta a la precisión y exactitud de las medidas, ya que un mal ajuste puede provocar que el volumen pipeteado no corresponda con el seleccionado o que se produzcan fugas durante el pipeteo.

Otro aspecto a considerar es la forma de las puntas. Podemos encontrar puntas con el mismo volumen, pero geometrías diferentes (Imagen 2). Por ejemplo, para pipetear en tubos cónicos o recipientes estrechos y profundos es conveniente utilizar puntas de larga distancia, que son más largas y finas que las puntas convencionales, lo que nos permite llegar al fondo del recipiente sin tocar las paredes laterales.

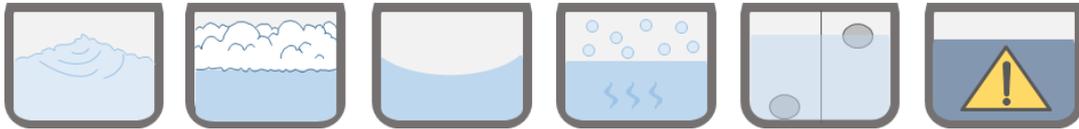


*Imagen 2. Puntas con formatos diferentes*

### 2. Tipos de líquidos a pipetear

Las micropipetas de desplazamiento de aire están diseñadas para pipetear líquidos acuosos. Es por ello que la precisión y la exactitud del pipeteo pueden verse afectadas cuando trabajamos con líquidos con propiedades diferentes a las del agua o líquidos “difíciles” (Imagen 3). En general, son líquidos “difíciles” o problemáticos de pipetear los líquidos viscosos, los líquidos donde se forma espuma, los líquidos con una baja tensión

superficial o una alta presión de vapor, los líquidos muy densos o de baja densidad o los líquidos peligrosos (sustancias infecciosas, corrosivas, tóxicas o radioactivas).



*Imagen 3. Líquidos “difíciles” de pipetear*

Para pipetear estos líquidos se recomienda el uso de pipetas de desplazamiento positivo o el empleo de puntas especiales, diseñadas según las características del líquido a pipetear.

### **3. Ritmo de pipeteo**

Es muy importante mantener un ritmo de pipeteo constante entre muestras, ya que esto mejora la repetitividad de nuestras medidas. Evita las prisas porque aspirar de forma brusca o muy rápido puede favorecer la formación de burbujas, espuma y aerosoles, producir salpicaduras y provocar la contaminación de la pipeta o la pérdida del líquido pipeteado.

Cuando pipeteamos volúmenes mayores a 1 mL debemos esperar al menos un segundo después de la aspiración, ya que durante este tiempo el líquido continúa ascendiendo. Si sacamos la punta antes de tiempo, no habremos aspirado completamente el líquido.

### **4. Reutilización de la punta**

Las puntas de pipeta están fabricadas para un único uso. Las puntas de pipeta usadas no deben limpiarse para su reutilización, ya que esto perjudicaría la precisión de nuestra medida y podría provocar la contaminación de nuestras muestras.

### **5. Ángulo de la pipeta**

Es importante mantener la micropipeta lo más vertical posible durante la aspiración, formando un ángulo de  $90^\circ$  con el líquido a pipetear. Nunca debemos alejarnos más de  $20^\circ$  de esta posición o de lo contrario podría disminuir la calidad de nuestros resultados (Imagen 4). Por ejemplo, si el ángulo de inmersión es de  $60^\circ$  podemos estar aspirando un 0,7% más de líquido del que habíamos seleccionado realmente.

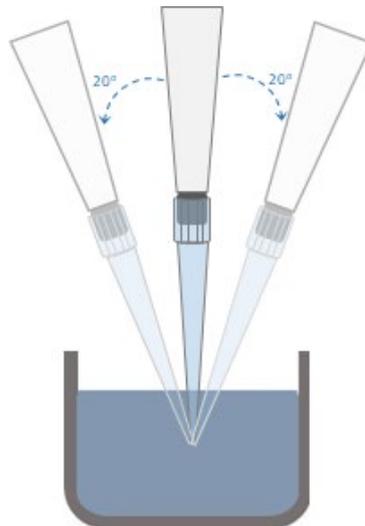


Imagen 4. Ángulo de la micropipeta durante la aspiración

#### 6. Profundidad a la que se sumerge la punta de la pipeta al aspirar

La profundidad de inmersión de la punta en el líquido a pipetear es muy importante, especialmente cuando trabajamos con volúmenes muy pequeños. Esta profundidad no debe superarse, ya que el volumen medido podría ser inexacto o no conforme a las especificaciones. La profundidad recomendada depende del volumen nominal de la punta utilizada, tal y como se muestra en la Imagen 5.

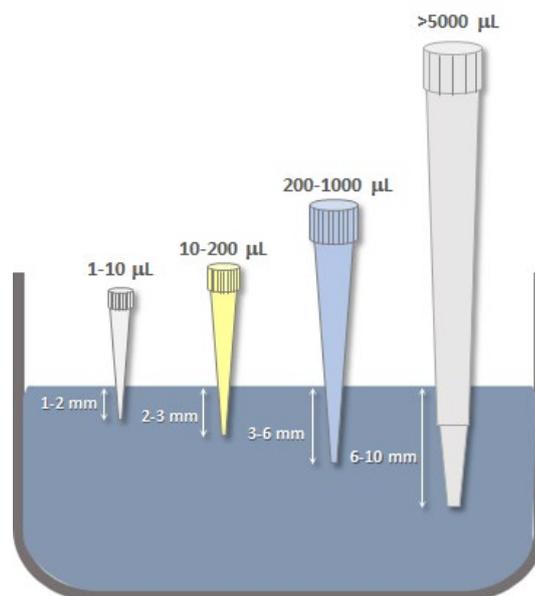


Imagen 5. Profundidad de inmersión de puntas de diferentes volúmenes durante el pipeteo

Si sumergimos demasiado la punta, el volumen de gas presente en la punta de la micropipeta se comprime y provoca que se aspire más líquido del que habíamos seleccionado. Es por ello, que respetar la profundidad de la punta en el líquido mejora la precisión de nuestra operación hasta un 5%.

## 4.2 Calibración y comprobación de las micropipetas

Las micropipetas se venden con un certificado individual de calibración. La calibración garantiza la exactitud de la pipeta, ya que permite establecer la relación entre el volumen dispensado y el volumen nominal o seleccionado correspondiente del instrumento.

La calibración de las micropipetas debe ser realizada por personal cualificado y formado para ello. Es un proceso complejo que puede verse afectado por diversos factores como el equipo utilizado, la cualificación del personal o el entorno del laboratorio. Sin embargo, para verificar la exactitud de nuestras micropipetas también se pueden hacer comprobaciones periódicas sencillas, realizando un **test gravimétrico**. Para ello, se toman alícuotas de agua destilada con la micropipeta y se pesa el volumen absorbido en una balanza analítica adecuada. En el caso de las micropipetas de volumen variable, esta comprobación la realizaremos tomando volúmenes diferentes del líquido, que corresponderán con el 100% (volumen máximo del instrumento), el 50% y el 10% (volumen mínimo) del volumen nominal de la micropipeta (Imagen 6). Esta operación se repite 3-5 veces y con los resultados obtenidos podemos calcular los valores de exactitud y precisión de nuestra micropipeta. En último lugar debemos comprobar que los datos obtenidos coinciden con los indicados en las especificaciones de la micropipeta o en el certificado de calibración. Si es así, podemos asegurar que nuestras micropipetas funcionan adecuadamente.

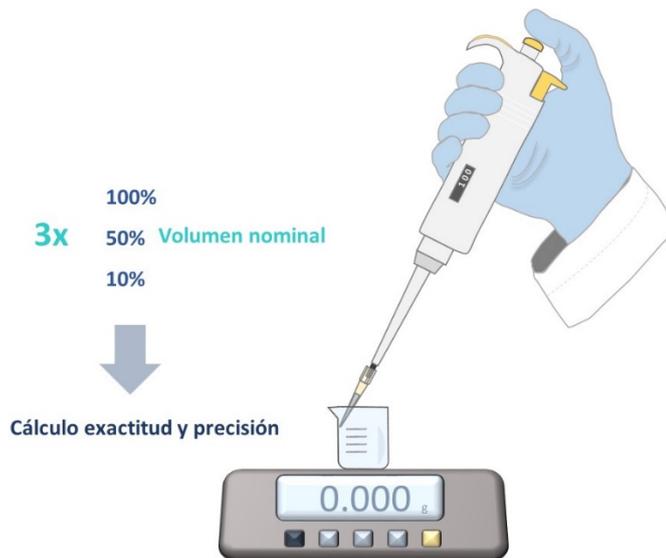


Imagen 6. Test gravimétrico para comprobar la exactitud de las micropipetas

## 4.3 Cuidados y mantenimiento de las micropipetas

Es importante mantener las micropipetas siempre en perfectas condiciones, para ello es necesario realizar un uso adecuado de las mismas, extremando las precauciones cuando se



trabaje con líquidos peligrosos o de difícil manejo, y limpiarlas y guardarlas convenientemente.

### **Medidas de seguridad y protección de las micropipetas**

- Evitar que el líquido penetre en el eje de la micropipeta, ya que podría contaminarse. La contaminación del eje, de los sellos o del émbolo de la micropipeta puede provocar la acumulación de sedimentos que acaban provocando una aspiración del líquido defectuosa y, por tanto, unos resultados inexactos.
- Las micropipetas de volúmenes nominales mayores (5-10 mL) suelen llevar filtros de seguridad en el cono donde se acoplan las puntas, lo que evita que entre líquido en el interior de la micropipeta.
- Se deben extremar las precauciones cuando se trabaje con disoluciones ácidas o muy corrosivas, ya que un contacto prolongado de la micropipeta con estas sustancias puede dañar el émbolo. La exposición de las diferentes piezas a gases corrosivos puede reducirse empleando puntas con filtros que ejercen de barreras frente a los aerosoles.

### **Limpieza**

Se recomienda limpiar el exterior de la pipeta adecuadamente después de su uso para evitar contaminaciones. Algunas recomendaciones para la limpieza de las micropipetas son:

- Limpiar el exterior con un paño suave y humedecido con agua destilada. También se puede utilizar alcohol isopropílico al 60%, lejía diluida al 10% o una disolución de detergente adecuado para material de laboratorio.
- Hay que tener cuidado durante la limpieza con la ventana de visualización del volumen, especialmente en las micropipetas digitales, ya que el exceso de líquido puede empañar o manchar la pantalla.
- En ocasiones puede ser necesario una descontaminación total de la micropipeta. Estas medidas son necesarias cuando se trabaja con sustancias peligrosas, con sustancias corrosivas o cuando hay riesgo de contaminación de las muestras. En estos casos, se debe consultar las instrucciones indicadas por el fabricante de la micropipeta.
- Muchas micropipetas pueden esterilizarse en autoclave. Antes de esterilizar la micropipeta debe consultarse el manual, la esterilización siempre se realizará según las indicaciones dadas por el fabricante.

### **Almacenamiento**

No debemos guardar las micropipetas en posición horizontal. La mejor forma para almacenarlas es en posición vertical, utilizando los soportes diseñados para ello (Imagen 7). Esto evitará que si durante el pipeteo ha entrado algo de líquido en el cuerpo de la pipeta, este avance y provoque su corrosión y/o contaminación.

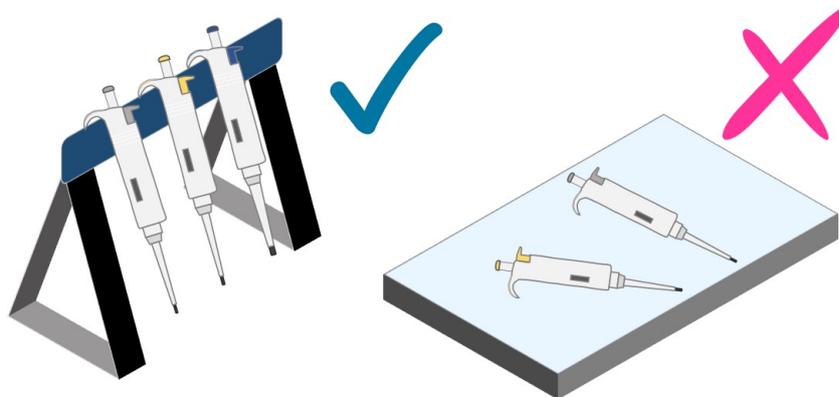


Imagen 7. Almacenamiento correcto e incorrecto de las micropipetas

## 5 Cierre

A lo largo de este objeto de aprendizaje hemos analizado aquellos aspectos que influyen directamente en la precisión y exactitud de nuestras operaciones de pipeteo. En primer lugar, hemos enumerado los errores más frecuentes que se cometen durante el pipeteo y cómo podemos evitarlos. A continuación, hemos visto cómo realizar un test sencillo que nos permite comprobar si nuestras micropipetas funcionan adecuadamente. Finalmente, hemos descrito las acciones que debemos llevar a cabo para el correcto mantenimiento, limpieza y almacenamiento de las micropipetas en el laboratorio. Siguiendo estas indicaciones, conseguiremos prevenir errores y aumentar la vida útil de nuestras micropipetas.

## 6 Bibliografía

Centro Español de Metrología (2012). Vocabulario Internacional de Metrología. Conceptos fundamentales y generales, y términos asociados. 3ª Edición. Disponible en : <https://www.cem.es/sites/default/files/vim-cem-2012web.pdf>

Departamento de Servicio Técnico de Eppendorf (2017). Calibración y ajuste de sistemas de dispensación en el laboratorio. Farmaespaña industrial, Septiembre-octubre 2017, pp. 86-88. Disponible: <http://www.farmaindustria.com/digital-versions/magazines/index.html?id=61>

Mettler-Toledo AG (2020). How to clean a pipette. Disponible en: <https://www.mt.com/in/en/home/library/know-how/rainin-pipettes/cleaning-pipette-poster.html>

Mettler-Toledo AG (2015). Quick Check. Disponible en: <https://www.mt.com/es/es/home/perm-lp/product-organizations/pipe/rainin-quick-check.html>