



Manejo de micropipetas

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



1 Resumen de las ideas clave

Las **micropipetas** son un instrumento básico en el laboratorio, imprescindible para tomar y dispensar pequeños volúmenes de líquidos de manera precisa. Su correcto manejo es esencial para conseguir unos resultados fiables en nuestro trabajo de laboratorio. En este objeto de aprendizaje vamos a presentar las diferentes partes de una micropipeta y a describir los pasos a seguir para su correcto manejo.

2 Objetivos

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

- Reconocer las diferentes partes de una micropipeta.
- Emplear adecuadamente una micropipeta.

3 Introducción

En el trabajo de laboratorio hay una serie de operaciones básicas, como son la pesada de los reactivos sólidos o la medida del volumen de un líquido, cuya correcta ejecución es determinante para la obtención de unos resultados analíticos fiables.

La medida de volúmenes de los líquidos se puede llevar a cabo mediante diferentes instrumentos como buretas, probetas o pipetas. Estas últimas se pueden encontrar en distintos formatos, fabricadas con materiales diferentes y con tamaños muy diversos. Entre los diferentes tipos de pipetas encontramos las pipetas graduadas o aforadas, las pipetas *Pasteur* o las micropipetas. La técnica mediante la cual se dosifica un volumen de un líquido utilizando una pipeta se denomina pipeteo.

Cuando queremos medir y transferir pequeños volúmenes de un líquido, en el rango desde unos pocos microlitros a mililitros, es muy aconsejable el **uso de micropipetas**. Existen diferentes tipos de micropipetas según si son manuales o electrónicas, de volumen fijo o variable, monocanal o multicanal, de desplazamiento de aire o de desplazamiento positivo, etc. La técnica utilizada para pipetear con cada una de ellas requiere unas condiciones específicas de uso. En este objeto de aprendizaje nos centraremos en el uso de las micropipetas de desplazamiento de aire de accionamiento manual, por ser las más utilizadas en el trabajo rutinario de laboratorio.

4 Desarrollo

4.1 Partes de una micropipeta

Las micropipetas de desplazamiento de aire son instrumentos muy precisos en el manejo de disoluciones acuosas. Dentro de este tipo de micropipetas podemos diferenciar las de accionamiento manual (analógicas) y las electrónicas. A pesar de que ambos tipos de pipetas funcionan con el sistema de pipeteo por cámara de aire, presentan ciertas diferencias en cuanto a formato y modo de uso.

Las pipetas de desplazamiento de aire permiten aspirar el líquido gracias al vacío parcial que se genera cuando el pistón se desplaza hacia arriba en el cuerpo de la pipeta. A medida que el pistón se mueve hacia arriba, el aire de la punta se eleva para llenar el espacio que antes ocupaba el pistón, y el aire de la punta se sustituye entonces por el líquido.

Aunque podemos encontrar formatos diferentes según la marca del fabricante, en general, estas micropipetas de desplazamiento de aire con accionamiento manual constan de las siguientes partes (Imagen 1):

- Empuñadura o cuerpo principal de la micropipeta.
- Émbolo o botón de accionamiento usado para el llenado y dispensado de los líquidos. Presenta dos toques que indican la presión que debemos ejercer para absorber (1^{er} toque) y descargar (2^o toque) el líquido.
- Rueda o tornillo de ajuste del volumen con el que establecemos el volumen exacto que queremos dispensar.
- Ventana indicadora del volumen que muestra el volumen seleccionado.
- Botón de eyección o botón expulsor de la punta para desechar las puntas usadas.
- Cono o soporte de la punta.
- Eje de la micropipeta, que une la empuñadura o cuerpo con el soporte de la punta. En algunos modelos puede tener acoplado el eyector.
- Bloqueo del ajuste del volumen: la mayoría de micropipetas poseen este mecanismo para evitar cambios accidentales en la configuración de volumen seleccionado durante el pipeteo.

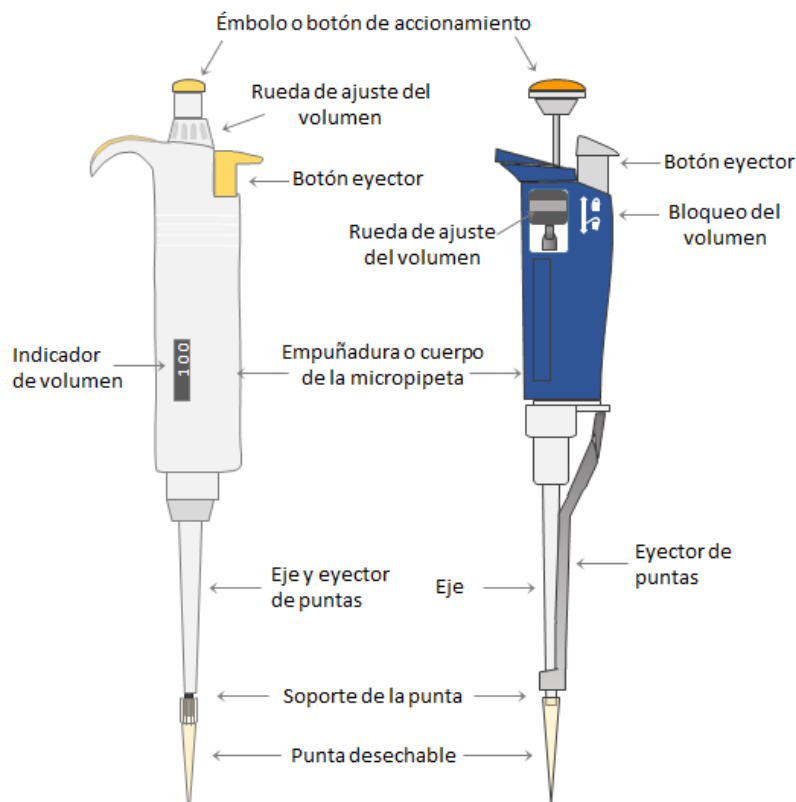


Imagen 1. Partes principales de las micropipetas

4.2 Cómo utilizar correctamente una micropipeta

A continuación, vamos a ver paso a paso cuál es el procedimiento para pipetear empleando una micropipeta.

1. Seleccionar la pipeta según el volumen que queremos tomar

Podemos encontrar micropipetas de volumen fijo o de volumen variable. Lo habitual es utilizar en el laboratorio pipetas donde se puede ajustar el volumen dentro de un rango (Imagen 2); por ejemplo, entre 2-20 μL , 10-100 μL , 20-200 μL , 100-1000 μL o 1-10 mL.



Imagen 2. Micropipetas de diferentes volúmenes

El rango de trabajo de la mayoría de micropipetas es entre el 10 y el 100% de su volumen nominal máximo, es decir, del volumen máximo de líquido teórico que es capaz de medir dicha micropipeta. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la precisión de las micropipetas disminuye al acercarnos a su volumen de trabajo mínimo. Por ello, para elegir la micropipeta con la que vamos a trabajar debemos recordar que el rango de trabajo óptimo de las micropipetas está entre el 35 y el 100% del volumen nominal indicado y que nunca debemos trabajar por debajo del 10% de su volumen máximo.

Por ejemplo, una micropipeta con un volumen nominal de 1000 μL , tendrá un rango efectivo de trabajo entre 350 y 1000 μL , por lo que, aunque en las especificaciones nos indiquen que podemos pipetear desde 100 hasta 1000 μL , lo ideal es emplear esta micropipeta para volúmenes superiores a 350 μL .

2. Seleccionar el volumen a pipetear

Las micropipetas disponen de ruedas de ajuste del volumen en la parte superior que nos permiten seleccionar el volumen exacto deseado. Para ello, debemos girar la rueda de ajuste hasta que el valor que queremos seleccionar aparezca en la ventana indicadora del volumen. Hay que tener en cuenta que cuando pasamos de un volumen mayor a un volumen más pequeño, basta con ir bajando el dial para alcanzar el volumen deseado. Sin embargo, cuando queremos pasar de un volumen más pequeño a otro mayor, debemos

girar primero la rueda del selector aproximadamente 1/3 de vuelta por encima del volumen que queremos medir para luego ir bajando lentamente (Imagen 3).

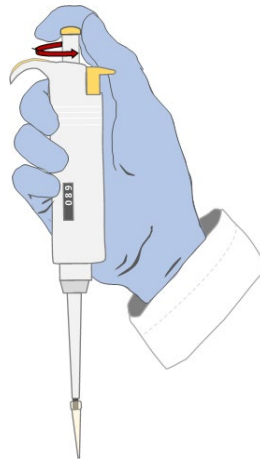


Imagen 3. Selección del volumen a pipetear

En las pipetas de accionamiento manual, el volumen seleccionado se muestra en la ventana indicadora. Según el fabricante, modelo o volumen nominal de la micropipeta, podemos encontrar algunas diferencias en la presentación de estos valores (Imagen 4). En general, el indicador de volumen presenta 3 o 4 dígitos y se lee de arriba abajo.

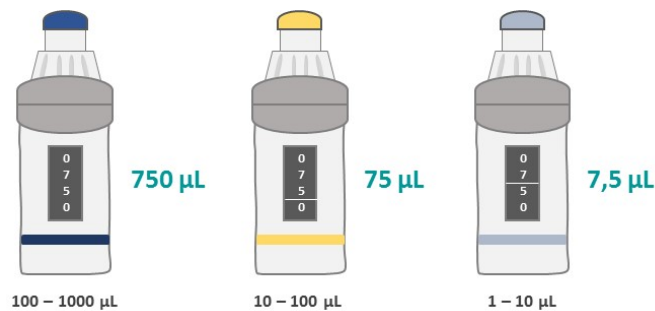


Imagen 4. Ejemplo de volumen en diferentes micropipetas

3. Seleccionar la punta adecuada y acoplarla correctamente a la pipeta

Las micropipetas requieren del uso de puntas desechables que son accesorios de plástico, ajustables, que recogen el líquido a dispensar. Cada micropipeta requiere un tipo de punta específica, que depende del volumen nominal de la pipeta y del modelo y marca del fabricante (Imagen 5).

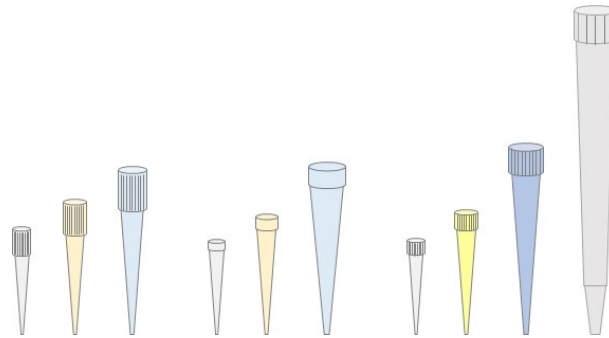


Imagen 5. Ejemplos de puntas

Las micropipetas están codificadas por colores y etiquetadas con el volumen para el que están diseñadas. La codificación por colores permite una identificación rápida de las puntas que vamos a necesitar, ya que el código de color de la micropipeta coincide con el color de las puntas en la mayoría de los casos (Imagen 6).

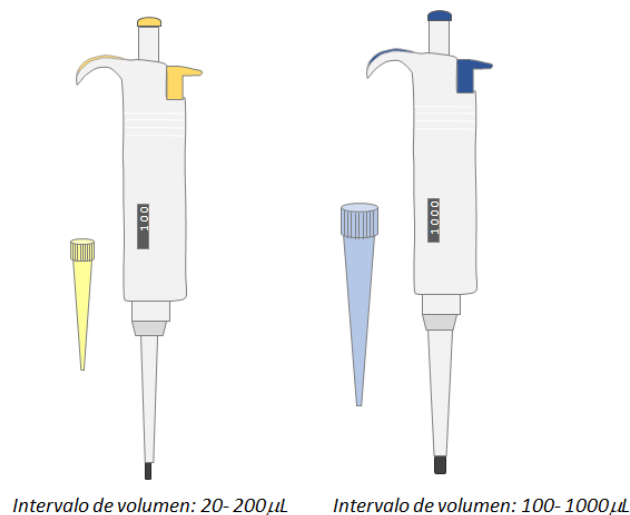


Imagen 6. Micropipetas de diferentes volúmenes y sus puntas correspondientes

La elección de la punta también depende del diseño del fabricante, aunque hay puntas universales que pueden ajustarse a los diferentes modelos. También podemos encontrar puntas con diseños especiales para adaptarse a necesidades concretas como puntas más finas y largas, puntas con filtros, puntas diseñadas para aplicaciones específicas, etc.

4. Mantener la pipeta vertical y presionar el émbolo

Para llevar a cabo una correcta aspiración del líquido es muy importante mantener la micropipeta siempre en posición vertical (Imagen 7). Manteniendo esta posición, deberemos presionar el émbolo o pistón con el pulgar hasta el primer tope antes de introducirlo en el líquido.

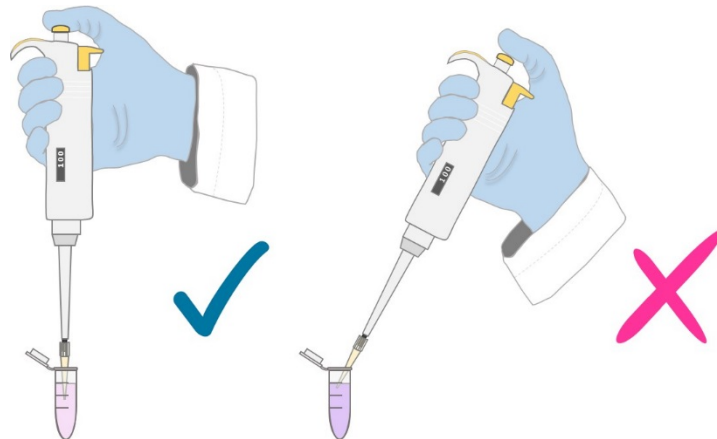


Imagen 7. Ángulo de inmersión de la micropipeta en el líquido

5. Sumergir la punta en el líquido a una profundidad adecuada y aspirar

A continuación, con el émbolo presionado, introduciremos la punta en el líquido, formando un ángulo de 90° con este, y soltaremos el émbolo suavemente. La profundidad de inmersión depende del volumen de la punta que estemos utilizando. Mantener una profundidad de inmersión adecuada nos permitirá mejorar la precisión de nuestro pipeteo más de un 5%. En la imagen 8 podemos observar la profundidad de pipeteo recomendada según el volumen a pipetear. Cuando queramos pipetear volúmenes mayores de 2 mL se recomienda utilizar una profundidad de pipeteo de 6-10 mm.

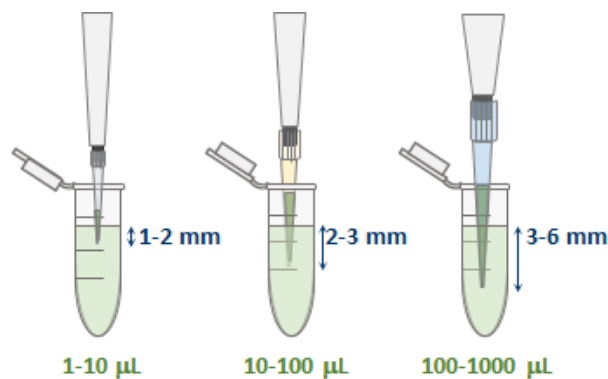


Imagen 8. Profundidad de inmersión de la punta durante el pipeteo

Se recomienda tomar y dispensar el líquido 2-3 veces antes de aspirar el volumen definitivo. Esta acción favorece la formación de un film de líquido en la punta, lo que mejora la precisión del pipeteo, especialmente de líquidos volátiles o con densidad superior a la del agua. Acondicionar el interior de la punta de esta forma permite también neutralizar el efecto capilar que se produce en las puntas de volumen muy pequeño y equilibrar la temperatura de la punta y de la muestra cuando se usan puntas de volúmenes mayores. Esta práctica no es recomendable al pipetear líquidos por encima de 37°C o líquidos muy fríos (Imagen 9).

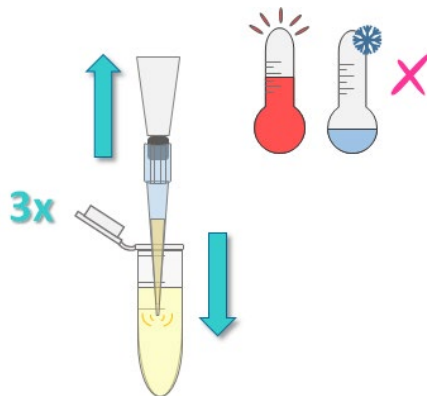


Imagen 9. Lavado de la punta con el líquido a pipetear

Debemos mantener un ritmo constante y una velocidad adecuada para aspirar y dispensar el líquido a lo largo del ciclo de pipeteo. Pipetear muy rápido puede provocar la entrada de aire en la punta, provocando que el volumen de líquido pipeteado no sea el deseado (Imagen 10).

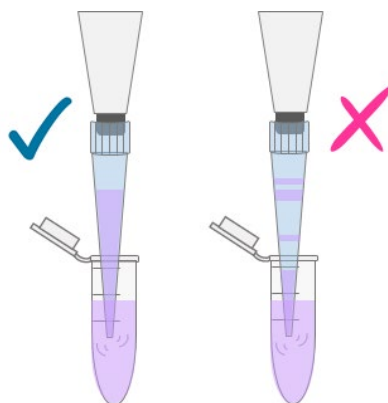


Figura 10. Problemas asociados a una velocidad de pipeteo inadecuada

6. Dispensar el líquido

La mejor técnica para dispensar el líquido es dejarlo caer por la pared lateral del recipiente donde queremos llevar la alícuota. Para ello, tocaremos ligeramente la pared del recipiente con la punta y presionaremos el pistón lentamente hasta llegar al segundo tope.

También se puede dosificar el líquido suavemente sobre la superficie del líquido o introduciendo ligeramente la punta en él (Imagen 11).

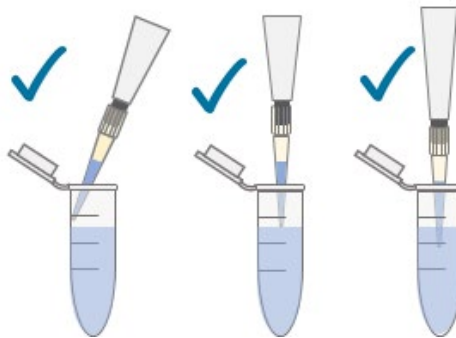


Figura 11. Formas de dosificación del líquido

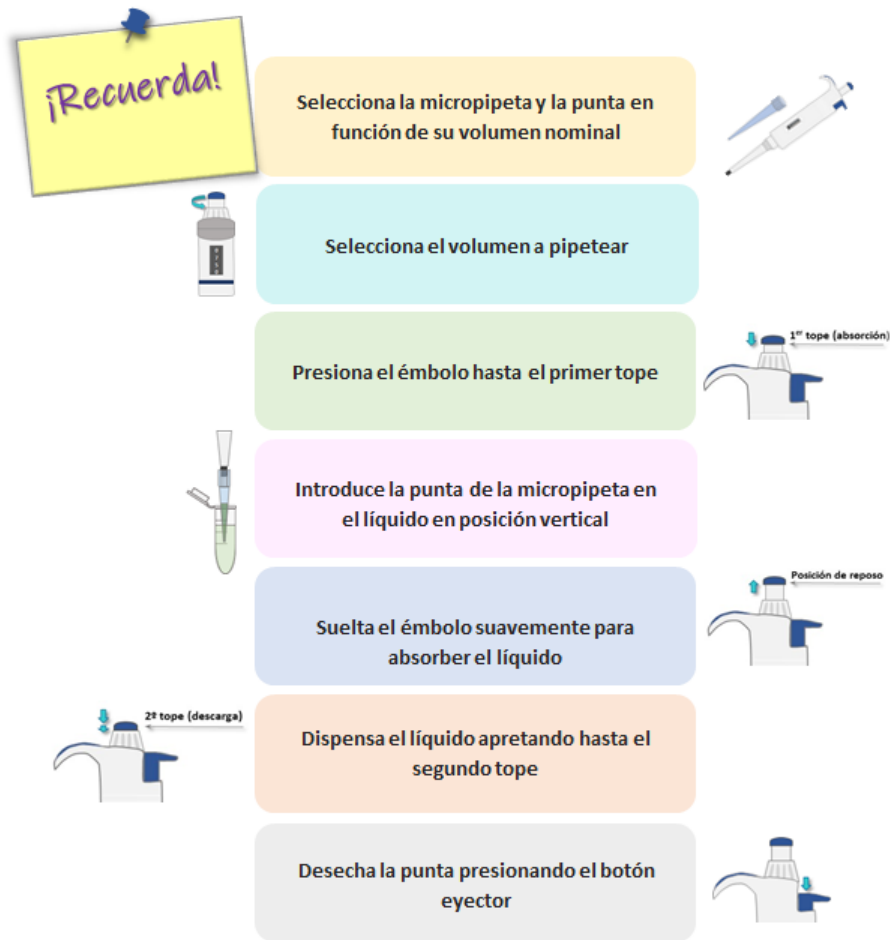
7. Expulsar y desechar la punta utilizada

Las micropipetas disponen de un botón eyector que nos permite expulsar las puntas de manera automática, facilitando su reemplazo y reduciendo el riesgo de contaminaciones.

Siempre debemos depositar las puntas utilizadas en un contenedor destinado para ello, según las características de los materiales o reactivos con los que estemos trabajando. Recuerda que una buena gestión de los residuos o material desechado en el laboratorio es esencial para nuestra seguridad en el trabajo y para el medioambiente.

5 Cierre

A lo largo de este objeto de aprendizaje hemos visto las diferentes partes de una micropipeta de desplazamiento de aire con accionamiento manual y cómo utilizarla de manera correcta en el laboratorio. Antes de empezar a pipetear debemos elegir la micropipeta según el volumen que vayamos a dosificar y las puntas adecuadas. Para pipetear correctamente deberemos recordar las reglas básicas del pipeteo:



6 Bibliografía

Eppendorf AG (2020). Eppendorf Research plus. Manual de instrucciones. Disponible en: https://www.eppendorf.com/product-media/doc/es/174967/Eppendorf_Liquid-Handling_Operating-manual_Research-plus.pdf

Mettler-Toledo AG (2014). Pipetting Handbook. Disponible en: <https://www.mt.com/es/es/home/library/guides/rainin-pipettes/rainin-pipetting-handbook.html>