



## Cvičení 1: Bezpečnost, základy pipetování a vybavení laboratoře

Cílem praktického cvičení je seznámení se s bezpečností, vybavením laboratoře a se správným postupem pipetování.

### Mikropipeta

Pipeta je kalibrovaná odměrná nádoba určená pro dávkování přesného objemu kapaliny. Automatická mikropipeta má na spodním okraji odnímatelnou špičku a na horním okraji dvoupolohový ovladač určený k nasávání a vypouštění roztoků. Při kalibraci je již zohledněno určité ulpění pipetovaného roztoku na stěnách nebo v důsledku působení kapilárních sil. Objem kapaliny je nastavován pomocí mikrometrického šroubu.



Obrázek 1: Mikropipeta

Většina pipet má možnost nastavení definovaného objemu. Nastavování se provádí pomocí voliče objemu, což je většinou otočené kolečko. Cvičící vám zadá objem, který se bude pipetovat, vyberte vhodnou pipetu a nastavte na ní požadovaný objem.

### Přímé pipetování

Připravte si zásobní roztok, ze kterého budete odebírat kapalinu a nádobu, do které budete kapalinu dávkovat. Vyzkoušejte si pipetování „nanečisto“. Zjistíte, že pipeta má 2 polohy. Při prvním nasátí roztoku jej vraťte zpět do zásobního roztoku, abyste eliminovali chybu měření vytvořením filmu na vnitřní straně špičky. Poté použijte následující postup:

- 1) Pomocí ovladače nastavte požadovaný objem kapaliny.
- 2) Na dávkovač nasadte vhodnou velikost špičky.
- 3) **Držte pipetu vždy kolmo k podložce a nikdy ji nepřeklápějte do vodorovné polohy ani vzhůru nohama!** Poškodili byste filtr. Tlačítko ovladače stiskněte do 1. polohy a za stálého držení ponořte špičku dávkovače pod hladinu roztoku (pozor ať neponoříte celou špičku, ale pouze její část).
- 4) Poté pomalu povolte stisknuté tlačítko. Kapalina se nasaje do špičky (pozor na tvorbu bublinek značící nasátí vzduchu nedostatečným ponořením špičky do kapaliny nebo vytažením špičky z roztoku).



- 5) Pomalu vytáhněte špičku z kapaliny.
- 6) Kapalinu poté dávkujte do zvolené nádoby (pokud již nádoba obsahuje kapalinu, ponořte špičku do ní). Při vytlačování kapaliny držte špičku v mírném úhlu proti stěně nádoby. Plynule stiskněte tlačítko ovladače do 1. polohy, vyčkejte cca 1 vteřinu a domáčkněte pipetu až do 2. polohy (pozor na to, aby nezůstaly kapičky na špičce).
- 7) Tlačítko ovladače držte zmáčknuté ve 2. poloze a špičku pomalu vytáhněte z nádoby ven. Poté povolte tlačítko ovladače a postup opakujte.

Pipetu při odložení nepokládejte na podložku, ale pomocí háčku nasadte do držáku. Při výměně špičky použijte „vyhazovač“ nikoliv ruce.

### **Motorizovaná pipeta – „pipetman“**

Pipetman má dvě tlačítka, kterými se ovládá rychlost nasávání a vypouštění. Do nástavce se upínají sérologické skleněné pipety. Při nasávání kapaliny dbejte na nasávaný objem, aby nedošlo k nasátí kapaliny až do filtru a případného zanesení pipetmana. Zkuste si pomocí pipetmana a serologických pipet navázat požadované množství kapaliny do připravené nádoby.

