

# BIO-RAD

ENGLISH	1 – 14
DEUTSCH	15 – 30
FRANÇAIS	31 – 46
ESPAÑOL	47 – 62
ITALIANO	63 – 78

**BIO-RAD**



**US**

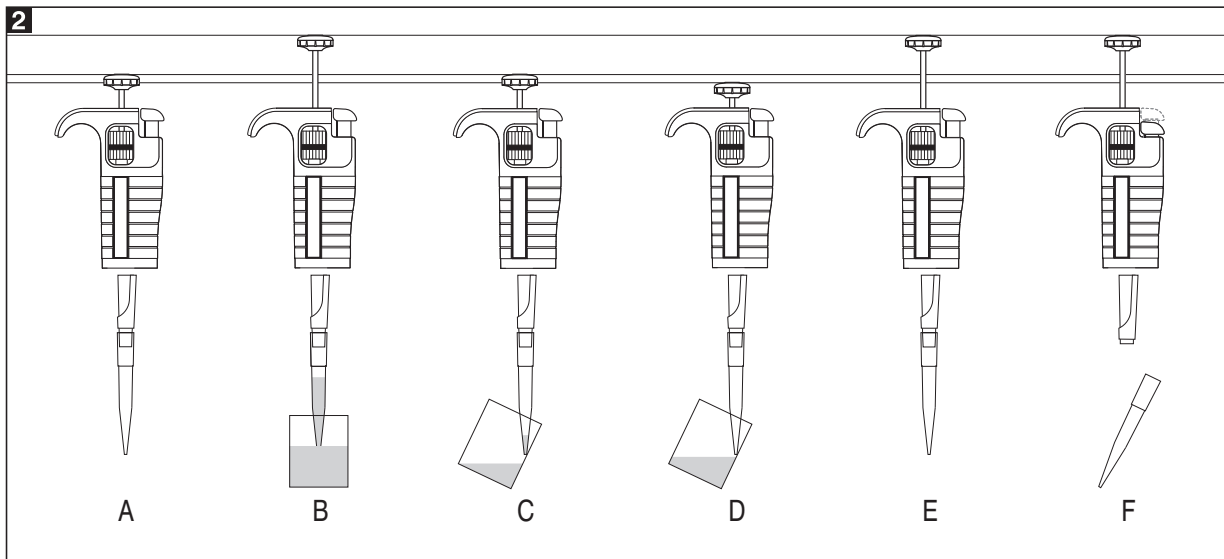
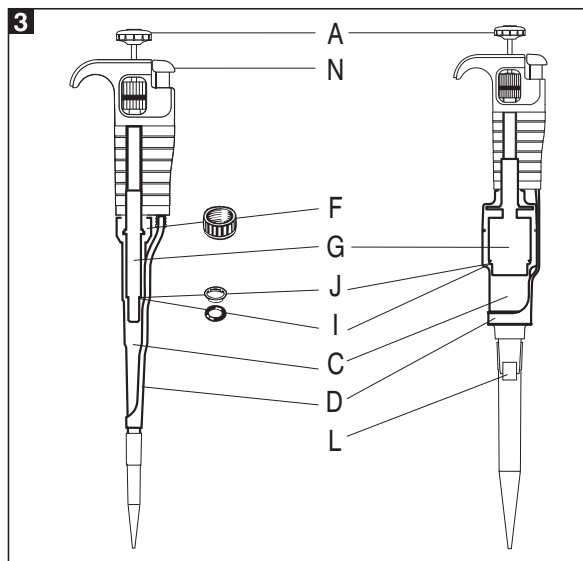
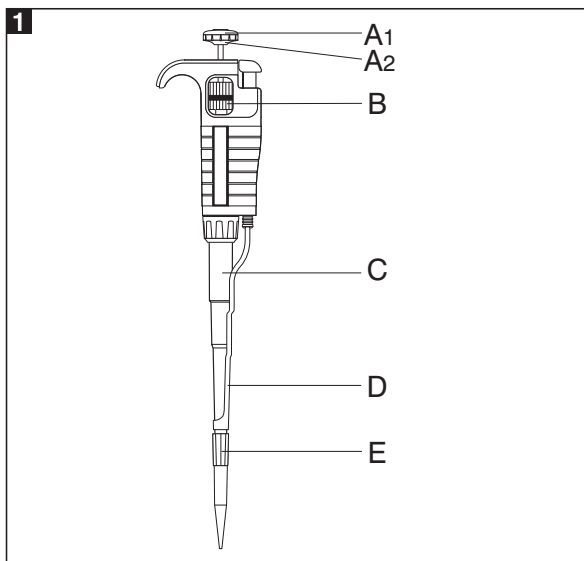
BIO-RAD LABORATORIES  
2000 ALFRED NOBEL DR.  
HERCULES, CA 94547  
1-800-424-6723

**EU**

BIO-RAD LABORATORIES LTD  
MAYLANDS AVENUE  
HEMEL HEMPSTEAD  
HERTS HP27TD

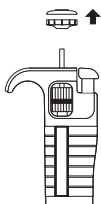
**AUSTRALIA**

BIO-RAD LABORATORIES  
PO BOX 210, REGENTS PARK  
NSW 2143, AUSTRALIA  
ph: +61 (0)29914 2800  
fax: +61 (0)29914 2889  
[www.bio-rad.com](http://www.bio-rad.com)

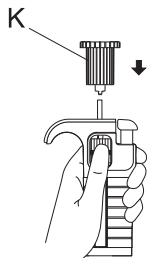


**4**

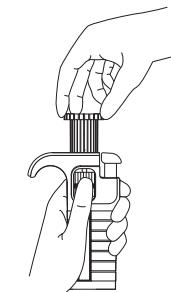
4A



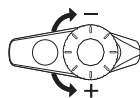
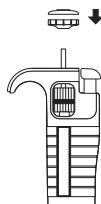
4B



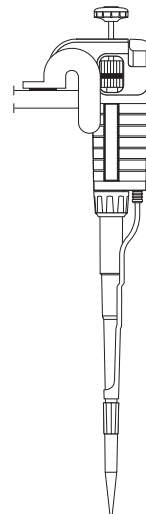
4C



4D

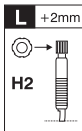
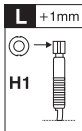
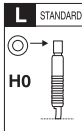
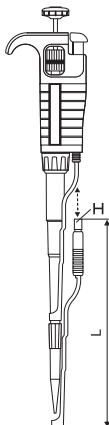


**5**

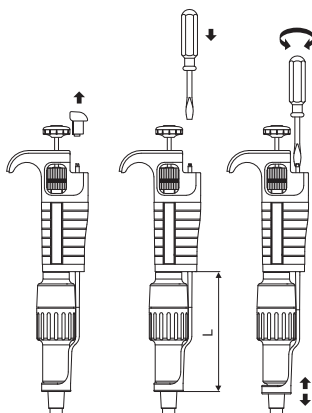


**6**

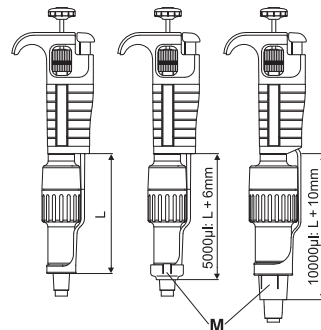
6A  
2-1000  $\mu$ l



6B  
5000, 10000  $\mu$ l



6C  
5000, 10000  $\mu$ l



## CONTENTS

1 - INTRODUCTION
2 - SETTING THE VOLUME
3 - ASPIRATING AND DISPENSING LIQUIDS
4 - PRE-RINSING
5 - DENSE AND VISCOUS LIQUIDS
6 - BIO-RAD PIPETTE TIPS
7 - RECOMMENDATIONS
8 - RECALIBRATION
9 - TROUBLESHOOTING
10 - CLEANING AND STERILIZATION
11 - PIPETTE KIT
12 - SPARE PARTS

## 1 - INTRODUCTION

The **BIO-RAD** pipette is a volumetric instrument designed to measure and transfer liquids precisely and safely. It can measure and transfer volumes from 0.1  $\mu\text{l}$  to 10000  $\mu\text{l}$  depending on the model.

The **BIO-RAD** pipettes are equipped with a digital counter which shows the pipetting volume. The set volume is visible in the window on the handle. The setting of the volume is done by turning of the pipetting pushbutton knob (Fig. 1A2) or by turning of the black knurled adjustment knob (Fig. 1B) in the right direction. The range of the volume of the aspired liquid is shown on the pipetting pushbutton (Fig. 1A1).

The **BIO-RAD** pipettes are produced in 8 models, covering the volume range from 0.1  $\mu\text{l}$  to 10000 ml.

Model	Volume range [ $\mu\text{l}$ ]
BR2	0.1 - 2
BR10	0.5 - 10
BR20	2 - 20
BR100	10 - 100
BR200	20 - 200
BR1000	100 - 1000
BR5000	1000 - 5000
BR10000	1000 - 10000
BR2, BR10	Measurement and transfer of micro-volumes, DNA sequencing and enzyme-assay applications.
BR20, BR100, BR200, BR1000	Measurement and transfer of general aqueous solution, acids and bases
BR5000, BR10000	Measurement and transfer of large volumes.

The liquid is aspirated into disposable tips attached to the pipette shaft. Disposable tips ensure maximum safety and eliminate possibility of crosscontamination of the liquid samples.

To protect the user from contaminated tips the **BIO-RAD** pipette is equipped with a built-in tip ejector, (Fig. 1D).

The construction of the ejector enables the user to set up the length. The adjustable tip ejector accommodates most standard tips available on the market. When using narrow tubes, it may be necessary to remove the tip ejector. It is simply removed by pulling down.

### Adjusting of the Tip Ejector Length

*- in 2-1000  $\mu\text{l}$  pipettes (Fig. 6A).*

The regulated "H" spacers, included in the box allow for regulating the length of tip ejector by +1mm or +2mm. An "H0" spacer is inserted on a standard basis. The outside shape of the spacer identifies the size change.

*- in 5000 and 10000  $\mu\text{l}$  pipettes (Fig. 6B).*

The length of tip ejector is regulated by screwing in or screwing out the tip ejector stem with a screwdriver. Turn the screwdriver counter clockwise to increase the length of tip ejector, and clockwise to reduce the length of tip ejector. The ejector can be adjusted in the range of 5 mm. If above described method of ejector adjustment is not sufficient or the diameter of the ejector opening is too large to eject the tip it is necessary to put the ejector cap "M" onto the ejector, (Fig. 6C).

The **BIO-RAD** pipette is a high quality instrument which offers excellent accuracy and precision.

The accuracy and precision (repeatability) of liquid volume depend on the quality of tips used. The values for accuracy and precision given in the table below were obtained using **BIO-RAD** tips. Only those tips guarantee correct operation of the pipettes and ensure accuracy and precision of liquid sampling.

Model	Cat. no.	Volume [μl]	Accuracy [%]	Precision [%]	Fit to tips μl
BR2	166-0504-EDU	0.2	± 12	± 6.0	10
		1.0	± 2.7	± 1.3	
		Max 2.0	± 1.5	± 0.7	
BR10	166-0505-EDU	Min 0.5	± 4.0	± 2.8	10
		5.0	± 1.0	± 0.6	
		Max 10.0	± 0.5	± 0.4	
BR20	166-0506-EDU	Min 2	± 3.0	± 1.5	200
		10	± 1.0	± 0.5	
		Max 20	± 0.8	± 0.3	
BR100	166-0508-EDU	Min 10	± 1.6	± 0.80	200
		50	± 0.8	± 0.24	
		Max 100	± 0.8	± 0.20	
BR200	166-0507-EDU	Min 20	± 1.2	± 0.60	200
		100	± 0.8	± 0.25	
		Max 200	± 0.6	± 0.20	
BR1000	166-0508-EDU	Min 100	± 1.6	± 0.40	1000
		500	± 0.7	± 0.20	
		Max 1000	± 0.6	± 0.15	
BR5000	166-0509-EDU	Min 1000	± 0.6	± 0.25	5000
		2500	± 0.6	± 0.20	
		Max 5000	± 0.5	± 0.15	
BR10000	166-0503-EDU	Min 1000	± 2.5	± 0.6	10000
		5000	± 0.8	± 0.3	
		Max 10000	± 0.5	± 0.2	

The accuracy and precision are obtained with **BIO-RAD** tips, using a gravimetric method, performing at least 10 measurements of distilled water at a temperature of  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , according to EN ISO 8655 standard.

The pipette design enables the user to perform the recalibration process according to the rules presented in section 8.

## 2 - SETTING THE VOLUME

The volume display shown by the counter has three digits, which should be read from top to bottom. In addition the lowest counter drum is printed in a scale which enables the setting of the volume in the minimum graduation range. Examples of the meanings of the black and red digits:

### Pipettes **BR2**

Red figures at the bottom =  $1/100 \mu\text{l}$   
Increment =  $0.002 \mu\text{l}$

BR2	
	1
red	2
red	5
	1.25 μl

### Pipettes **BR10, BR20,**

Red figures at the bottom =  $1/10 \mu\text{l}$   
Increment =  $0.02 \mu\text{l}$

BR10		BR20	
0		1	
7		2	
5	red	5	
	7.5 μl		12.50 μl

### Pipettes **BR100, BR200**

Black figures only =  $1 \mu\text{l}$   
Increment =  $0.2 \mu\text{l}$

BR100		BR200	
0		1	
7		2	
5		5	
	75 μl		125 μl

### Pipettes **BR1000, BR5000,**

Red figures at the top - ml  
Increment =  $2 \mu\text{l}$        $10 \mu\text{l}$

BR1000		BR5000	
0	red	1	
7		2	
5		5	
	0.75 ml		1.25 ml

### Pipettes **BR10000**

Red figures at the top - ml  
Increment =  $20 \mu\text{l}$

BR10000	
red	0
red	7
	5
	7.5 ml

The volume of the pipette is set by the knob in the pipetting pushbutton (Fig. 1A2) or by the black adjustment knob (Fig. 1B). To attain the maximum accuracy, set volume must be approached from a higher value by diminishing counter readings.

- If the desired volume is lower than set volume shown by the counter, the operator should turn the pipetting pushbutton (Fig. 1A2) or the black adjustment knob (Fig. 1B) to the direction diminishing counter readings to the required volume. Before achieving the required volume slowly rotate the knob and observe carefully diminishing reading to avoid accidentally passing the setting value.

- If the desired volume is higher than set volume shown by the counter, the operator should turn the pipetting pushbutton (Fig. 1A2) or the black adjustment knob (Fig. 1B) increasing the value until the lower figure wheel comes 1/3 of a turn beyond the required setting and then slowly backward until the setting reaches the desired volume. Make sure not to pass the setting value.

If the knob is accidentally turned too far, the process must be repeated. The desired volume must always be set from the higher value in the order of decreasing value.

### 3 - ASPIRATING AND DISPENSING LIQUIDS

Place a tip on the shaft of the pipette. See Section 6 for the appropriate tip. Press the tip on firmly using a slight twisting motion. This will ensure an airtight seal.

**Important: Never aspirate liquids into the BIO-RAD pipette without a tip attached.**

#### Aspiration

Press the pushbutton to the first positive stop, (Fig. 2A). Holding the pipette vertically, immerse the tip into the sample liquid. The depth to which the tip is immersed in the sample liquid depends on the model.

Model	Immersion depth (mm)
BR2	≤ 1
BR10	≤ 1
BR20, BR100	2 - 3
BR200, BR1000	2 - 4
BR5000	3 - 6
BR10000	5 - 7

Release the pushbutton slowly and smoothly to aspirate the sample, (Fig. 2B). Wait one second and then withdraw the tip from the liquid. When the pipette tip is immersed not as deeply as the recommended depth or when the pipetting pushbutton is rapidly released air may enter the disposable tip.

**Avoid touching the orifice of the tip.**

#### Dispensing

- Place the end of the tip against the inside wall of the vessel at an angle of 10 to 40 degrees.
- Press the pushbutton smoothly to the first stop, (Fig. 2C). Wait one second.

- Press the pushbutton to the second stop to expel any remaining liquid, (Fig. 2D).
- Keeping the pushbutton depressed to the very end, remove the pipette by drawing the tip against the inside surface of the receiving vessel.
- Release the pushbutton to its starting position, (Fig. 2E).
- Eject the tip by pressing the tip ejector button, (Fig. 2F). Remember to change the tip whenever a different kind of liquid is to be sampled.

#### Filters

A replaceable filter installed in a seat in the bottom part of the shaft is used in 5000  $\mu$ l and 10000  $\mu$ l pipettes (Fig. 3L). The filter prevents the aspirated liquid from entering into the shaft and thus from contaminating the inside of the shaft and the piston. Using the filter is especially important when aspirating and dispensing large volumes of liquid.

If the filter becomes wet during liquid aspiration it should be replaced with a new one.

### 4 - PRE-RINSING

When pipetting liquids of higher viscosity or lower surface tension than water (e.g. sera or organic solvents), a film of liquid is formed on the inside wall of the pipette tip. This film can create an error. Since the film remains relatively constant in successive pipetting operations with the same tip, this error can be avoided by forming the film before transferring the first sample. This is done by aspirating a sample and dispensing it back into the same vessel. Since the film is already formed, all of the following samples will have better accuracy and repeatability.

This pre-rinsing operation should be repeated when the volume to be aspirated is changed or when a new tip is used.

### 5 - DENSE AND VISCOUS LIQUIDS

The **BIO-RAD** pipette specifications of accuracy and precision are based on pipetting distilled water. The handling of liquids with physical qualities of density, viscosity and surface tension differing extremely from water may need a gravimetrically checked compensation of the volume setting. Normally the degree of error resulting from heavy or viscous liquids is negligible if the pipetting is done slowly

and carefully. It is most important to give the liquids some time to follow the change of pressure by holding the pipette tip in its position for at least 2 sec. after the aspiration and the blow out stroke.

If in extreme cases this method of operation does not result in accurate values, a compensation could be achieved as follows:

Weigh the liquid pipetted when the **BIO-RAD** pipette is set to the nominal value. Then calculate the set-off from the nominal value:

$$\text{Corr: val.} = 2 \times \text{nom. val.} - \frac{m}{\gamma}$$

$m$  - weight of the sample

$\gamma$  - density of liquid

Check this operation once again and correct if necessary. Note the corrected value for further pipetting the same kind of liquid.

## 6 - BIO-RAD PIPETTE TIPS

**BIO-RAD** tips are made from high performance polypropylene and their quality guarantees the precision and accuracy associated with the **BIO-RAD** pipette. Strict control is maintained throughout the manufacturing process to ensure the highest quality.

The accuracy and precision figures for the **BIO-RAD** pipette are only guaranteed when **BIO-RAD** tips are used. The use of inferior quality tips will seriously degrade the performance of the **BIO-RAD** pipette.

### Tips 10

These tips are used for volumes between 0.1  $\mu\text{l}$  and 10  $\mu\text{l}$ . They are used with the BR2 and the BR10 models, which are equipped with the red pushbutton.

### Tips 200

These tips are used for volumes between 2  $\mu\text{l}$  and 200  $\mu\text{l}$ . They are used with the BR20, BR100 and the BR200 models, which are equipped with the yellow pushbutton.

### Tips 1000

These tips are used for volumes between 100  $\mu\text{l}$  and 1000  $\mu\text{l}$ . They are used with the BR1000 models, which are equipped with the blue pushbutton.

### Tips 5000

These tips are used for volumes between 1000  $\mu\text{l}$  and 5000  $\mu\text{l}$ . They are used with the BR5000 models, which are equipped with the white pushbutton.

### Tips 10000

These tips are used for volumes between 1000 and 10000  $\mu\text{l}$ . They are used with the BR10000 models, which are equipped with the white pushbutton.

## 7 - RECOMMENDATIONS

Observing the following recommendations will ensure maximum possible accuracy and precision of liquid sampling.

- Make sure to operate the **BIO-RAD** pipette slowly and smoothly.
- The depth of immersion in the sample liquid should be the minimum necessary and should remain constant during aspiration.
- The **BIO-RAD** pipette should be held in a vertical position.
- Change the tip when volume setting is changed or when a different liquid is to be aspirated.
- Change the tip if a droplet remains on the end of the tip from the previous pipetting operation.
- Each new tip should be pre-rinsed with the liquid to be pipetted.
- Liquid should never enter the **BIO-RAD** pipette shaft. To prevent this:
  - Press and release the pushbutton slowly and smoothly.
  - Never turn the pipette upside down.
  - Never lay the pipette on its side when there is liquid in the tip.
- Never force the volume setting beyond its recommended limits.
- When pipetting liquids with temperatures different from the ambient temperature, it is recommended to pre-rinse the tip several times before use.
- Do not pipette liquids with temperatures above 70°C.
- When pipetting acids or corrosive solutions which emit vapours, it is recommended to disassemble the shaft and to rinse the piston and seal with distilled water after finishing the pipetting operation.

## 8 - RECALIBRATION

**BIO-RAD** pipettes are calibrated by gravimetric method, using **BIO-RAD** tips and distilled water, at the temperature  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , according to EN ISO 8655 standard.

If during pipette operation you find that the accuracy error (the difference between the real aspirated volume and the preset volume) exceeds the permissible value given in the table in section 1, the pipette recalibration procedure should be carried out.

Before starting the recalibration it is necessary to check whether the following requirements have been fulfilled during error determination:

- the ambient temperature, and the temperature of the pipette, tips and water was identical
- the density of the liquid used is close to that of distilled water
- a balance with appropriate sensitivity has been used.

Volume checked [ $\mu\text{l}$ ]	Balance sensitivity [mg]
0.1 - 10	$\leq 0.001$
10 - 100	$\leq 0.01$
> 100	$\leq 0.1$

- mg/ $\mu\text{l}$  conversion factor has been taken into account
- the requirements given in sections 3 and 7 have been fulfilled

If the above conditions are satisfied and the accuracy error for selected volume given in section 1 exceeds the permissible value, the pipette recalibration procedure should be carried out.

**The recalibration can be performed within one full turn of the key to the right or to the left only.**

### Recalibration conditions:

- Ambient temperature and the temperature of the pipette, tips and liquid should be within the range  $20\text{-}25^\circ\text{C}$  and stabilised during weighing within  $\pm 0.5^\circ\text{C}$
- Measurements should be conducted using distilled water
- Balance sensitivity should be suitable for the volume to be controlled

### Recalibration procedure:

- Set the dose volume depending on the pipette volume according to the following table:

Model	Range of the pipette volumes [ $\mu\text{l}$ ]	Preset volume [ $\mu\text{l}$ ]	Permissible volumes [ $\mu\text{l}$ ]	Volume change $\Delta V$ for full turn of the calibration key [ $\mu\text{l}$ ] (24 increments)
BR2	0.1 - 2	0.2	0.176 - 0.224	0.06
BR10	0.5 - 10	0.5	0.48 - 0.52	0.33
BR20	2 - 20	2	1.94 - 2.06	0.63
BR100	10 - 100	10	9.84 - 10.16	2.50
BR200	20 - 200	20	19.76 - 20.24	6.30
BR1000	100 - 1000	100	98.4 - 101.6	25.00
BR5000	1000 - 5000	1000	994 - 1006	125.00
BR10000	1000 - 10000	1000	975 - 1025	250.00

- Perform 5 aspirations, weigh each one and calculate the average value of the aspirations
- Calculate average aspirated volume in  $\mu\text{l}$  multiplying the average aspiration amount [mg] by the distilled water density coefficient [ $\mu\text{l}/\text{mg}$ ], which depends on temperature and pressure according to the following table:

Temperature [ $^\circ\text{C}$ ]	Pressure [kPa]		
	95.0	101.3	105.0
20	1.0028	1.0029	1.0029
21	1.0030	1.0031	1.0031
22	1.0032	1.0033	1.0033
23	1.0034	1.0035	1.0036
24	1.0037	1.0038	1.0038
25	1.0039	1.0040	1.0040

If the average aspirated volume exceeds the permissible value, the following should be done:

- Remove the pipetting pushbutton, (Fig. 4A),  
**Warning: The pipetting pushbutton consists of 2 parts: the knob (Fig. 1A2) and the pushbutton (Fig. 1A1). After removal of the pushbutton, both parts are separated.**
- Holding the volume setting knob to protect it against rotation, insert the calibration key into the cuts of the calibration screw, (Fig. 4B),
- Turn the key clockwise to reduce the aspirated volume, or counter-clockwise to increase the volume. One full turn of the calibration key changes the pipette aspiration volume by the amount given in the table, (Fig. 4C),



- Take out the key and fix the pipetting pushbutton (Fig. 4D). The pipetting pushbutton should be fixed by placing the knob on the arbor first (Fig. 1A2) and then the pushbutton (Fig. 1A1).

Determine the average aspirated volume. The average volume should be within the permissible range given in the table. If the volume exceeds the values stated, the recalibration procedure should be repeated.

When pipetting liquids with physical properties considerably different from those of water, follow the rules given in section 5.

## 9 - TROUBLESHOOTING

If you notice an improper pipette operation identify the cause and eliminate the fault. To do this, follow the instruction in the sequence provided. Replacement of parts should be required only occasionally, and should not occur under normal pipette use.

### Droplets of liquid remain in the pipette tip.

- The tip is emptied too fast.  
**Decrease the speed of pressing the pipette pushbutton.**
- The tip wettability has increased due to extensive use.  
**Replace the tip with a new one.**

### Droplets of air appear in the liquid aspirated into the tip.

- The pipette tip immersion is too shallow.  
**Immerse the tip deeper according to the instructions.**
- The pipette tip is incorrectly pressed onto the pipette shaft.  
**Press the pipette firmly.**
- The tip is damaged or worn out due to extensive use.  
**Replace the tip with a new one.**

### The pipette incorrectly aspirates the liquid or liquid drops out from the tip.

- The pipette tip is incorrectly pressed onto the pipette shaft.  
**Press the pipette tip firmly.**
- The shaft nut is loose (Fig. 3F) in the models BR2-BR1000  
**Tighten the shaft nut.**
- The sealing surface of the shaft is cracked or scored.  
**Remove the tip ejector. Unscrew the shaft nut, inspect the shaft and the piston assembly. Replace the damaged parts (see Section 12). When reassembling**

**the pipette, the nut should be hand tightened. In the models BR2, BR10 and BR20, the damage of the shaft may also cause a damage of the piston assembly. Replace the damaged parts (see Section 12). When reassembling the pipette, the nut should be hand tightened.**

**To remove the tip ejector in models BR5000 and BR10000, remove the ejector pushbutton (Fig. 3N) and using a screwdriver unscrew the tip ejector by turning the screwdriver counter-clockwise.**

- Damage to the piston or seal due to prolonged use with the aggressive liquids.  
**Disassemble the pipette as described above. Replace the piston, seal and O-ring (see Section 12). Rinse the inside of the shaft in distilled water and dry. Lubricate the seal and O-ring with the lubricant, that has been included with each pipette. The replacement of the piston requires conducting of calibration procedure.**  
**Note: The parts of BR2 and BR10 pipette should be lubricated evenly with a minimum amount of lubricant.**

- The pipette is reassembled improperly.  
**Disassemble the pipette and reassemble it, observing the proper sequence of steps (Fig. 3).**

- No lubricant on the sealing elements.  
**Remove the tip ejector. Unscrew the shaft nut, remove the shaft, piston assembly, seal and O-ring. Rinse the removed parts in distilled water and dry thoroughly. Lightly lubricate the inside surfaces of the seal and the O-ring with the included lubricant. Reassemble the pipette in the reverse order.**

- Contamination of the inside of the pipette caused by extensive aspiration of chemically aggressive liquids or because liquid got inside the pipette.

**Remove the tip ejector. Unscrew the nut, remove the shaft, piston assembly, seal and O-ring. Rinse the removed parts with distilled water and dry thoroughly. Lightly lubricate the inside surfaces of the seal and the O-ring with the lubricant. Reassemble the pipette in the reverse order.**

If you find an increase in the pipetting force, which could happen after repetitive autoclaving of the pipette: **Remove the tip ejector. Unscrew the shaft nut, and then remove the shaft, piston assembly, seal and**

**O-ring. Rinse the removed parts in distilled water and dry. Lubricate the internal surfaces of the seal and O-ring with lubricant that has been included with each pipette. Reassemble the pipette in opposite order.**

**Note: All parts of the pipette can be autoclaved (see Section 10)**

**The shaft of the 5000 and 10000 models should be autoclaved without the filter.**

If the problem continues after carrying out the above steps, contact **BIO-RAD's** service department.

Before returning the pipette, please ensure that the pipette is completely free of any chemical, radioactive or microbiological contamination which could pose a threat during transport and repair. As far as it is possible, clean the pipette.

## 10 - CLEANING AND STERILIZATION

### Cleaning

External surfaces of the pipetting pushbutton, the ejector pushbutton, the handgrip, the shaft nut and the adjustment knob may be cleaned using a cloth dampened in isopropyl alcohol. The remaining parts removed from the pipette during pipette disassembly may be washed with distilled water or isopropyl alcohol.

### Sterilization:

The pipette can be sterilised in the autoclave at 121°C for 20 minutes. After sterilization, the pipette should be dried and cooled to room temperature.

### It is recommended:

- to sterilize the pipettes in autoclave with an initial vacuum and drying cycle,
- prior to sterilization unscrew the shaft nut slightly in the BR2-BR1000 pipettes, and unscrew the shaft slightly in the BR5000 and BR10000. After autoclaving these parts should be screwed tight again.

The precision of the results should not alter if the pipetting process and autoclaving are carried out as described in this manual. Because a slight change in the accuracy of the dosage may occur, it is recommended to:

- check the calibration of the pipette after the initial first, third and fifth autoclaving cycles and then after every 10 autoclaving cycles.

## 11 - PIPETTE KIT

The pipettes are delivered in the kits including:

- Pipette
- Instruction manual
- Calibration key
- Pipette shelf clip
- Ejector regulation spacers (for pipette models BR2 - BR1000)
- Ejector cap (for pipette models BR5000, BR10000)
- Tips
- Identification labels
- Filters (for pipette models BR5000, BR10000)
- Lubricant

The shelf clip assembly diagram is shown in Fig. 5.

## 12 - SPARE PARTS

The spare parts indicated in Fig. 3, 4 and 6 that is:

- A: Pipetting pushbutton A1: Pushbutton A2: Knob**  
**B: Adjustment knob**  
**C: Shaft**  
**D: Ejector**  
**F: Shaft nut**  
**G: Piston assembly**  
**H: Spacer**  
**I: O-ring**  
**J: Seal**  
**K: Calibration key**  
**L: Filter**  
**M: Ejector cap**  
**N: Ejector pushbutton**

can be ordered from your **BIO-RAD** representative (type of pipette and name of the part for this pipette should be specified).

**Warning: The replacement of the piston requires conducting of calibration procedure according to section 8.**

## INHALT

1 - ALLGEMEINES
2 - EINSTELLEN DES VOLUMENS
3 - PIPETTIEREN
4 - VORSPÜLEN
5 - DICHT E UND VISKOSE FLÜSSIGKEITEN
6 - BIO-RAD PIPETTENSPIITZEN
7 - BENUTZUNGSHINWEISE
8 - REKALIBRIERUNG
9 - BESEITIGUNG KLEINER MÄNGEL
10 - REINIGUNG UND STERILISATION
11 - KOMPLETTIERUNG
12 - ERSATZTEILE

## 1 - ALLGEMEINES

Die **BIO-RAD** ist ein präzises Volumenmessgerät zur Dosierung und zum Transfer von Flüssigkeiten. Je nach Modell können Volumina von 0.1 µl bis 10000 µl genau dosiert werden.

**BIO-RAD**-Pipetten besitzen eine digitale Volumenanzeige. Das eingestellte Volumen ist auf einer im Handgriff befindlichen Anzeige sichtbar. Die Volumeneinstellung erfolgt mit Hilfe der Schraube im Pipettierdruckknopf (Abb. 1A2) oder durch Drehung der schwarzen gerändelten Einstellschraube (Abb. 1B) in der entsprechenden Richtung. Der Volumenbereich wird auf dem Pipettierdruckknopf (Abb. 1A1) angegeben.

**BIO-RAD**-Pipetten werden in 8 Varianten ausgeführt, die den Volumenbereich von 0.1 µl bis 10000 µl abdecken.

Modell	Einstellbereich [µl]
BR2	0.1 - 2
BR10	0.5 - 10
BR20	2 - 20
BR100	10 - 100
BR200	20 - 200
BR1000	100 - 1000
BR5000	1000 - 5000
BR10000	1000 - 10000
BR2, BR10	Messung und Dosierung von Mikrovolumen, bei Anwendungen der DNS-Sequenzierung und Enzymbestimmung.
BR20, BR100, BR200, BR1000	Messung und Dosierung von wässrigen Lösungen, Säuren und Basen.
BR5000, BR10000	Messung und Dosierung großer Volumen.

Die **BIO-RAD** wird mit Einweg-Pipettenspitzen aus Polypropylen benutzt. (Abb. 1E).

Die Flüssigkeit wird in die eingesetzten Pipettenspitzen aufgenommen.

**ACHTUNG: Nur ein einmaliger Gebrauch von Pipettenspitzen garantiert die Sicherheit und schließt die Kontamination zwischen den Proben aus.**

Die **BIO-RAD** verfügt über einen Spitzenabwerfer. Für Arbeiten in engen Röhrchen kann dieser leicht abgezogen werden.

### Einstellung der Spitzenabwerferlänge

- in Pipetten eines Volumens von 2-1000 µl (Abb. 6A).

Den Spitzenabwerfer kann man um +1 bzw. + 2 mm mit mitgelieferten Einstellungshülsen "H" verlängern. Dadurch kann die Pipette an unterschiedliche Spitzensortimente angepasst werden. Vom Hersteller wurde die Hülse "H0" angebracht. Die Hülsen unterscheiden sich je nach Länge in ihrer Außenform, und sind so einfach zu identifizieren.

- in Pipetten eines Volumens von 5000 und 10000 µl (Abb. 6B).

Die Regelung der Länge des Abwerfers erfolgt durch Ein- bzw. Herausdrehen des Abwerferschaftes mittels Schraubendreher. Zwecks Verlängerung des Abwerfers ist der Schraubendreher entgegen dem Uhrzeigersinn zu drehen, dagegen im Uhrzeigersinn zwecks Verkürzung der Abwerferlänge. Der Regelbereich beträgt 5 mm.

Wenn die oben beschriebene Methode keinen Erfolg zeigt, oder die Öffnung des Abwerfers zu groß ist, setzen Sie die Abwerferkappe "M" auf den Abwerfer auf, (Abb. 6C). Die **BIO-RAD** ist ein Präzisionsinstrument, dessen Spezifikationen mit den zugehörigen **BIO-RAD**-Pipettenspitzen ermittelt worden sind. Die in der nachfolgenden Tabelle angegebenen Werte für Genauigkeit und Präzision können deshalb nur bei der Verwendung von Original-**BIO-RAD**-Pipettenspitzen garantiert werden.

Modell	Bestell-Nr.	Volumen [µl]	Genauigkeit [%]	Präzision [%]	Pipettenspitze µl	
BR2	166-0504-EDU	0.2	± 12	± 6.0	10	
		1.0	± 2.7	± 1.3		
		Max 2.0	± 1.5	± 0.7		
BR10	166-0505-EDU	Min 0.5	± 4.0	± 2.8		
		5.0	± 1.0	± 0.6		
		Max 10.0	± 0.5	± 0.4		
BR20	166-0506-EDU	Min 2	± 3.0	± 1.5		200
		10	± 1.0	± 0.5		
		Max 20	± 0.8	± 0.3		
BR100	166-050B-EDU	Min 10	± 1.6	± 0.80		
		50	± 0.8	± 0.24		
		Max 100	± 0.8	± 0.20		
BR200	166-0507-EDU	Min 20	± 1.2	± 0.60	1000	
		100	± 0.8	± 0.25		
		Max 200	± 0.6	± 0.20		
BR1000	166-0508-EDU	Min 100	± 1.6	± 0.40		
		500	± 0.7	± 0.20		
		Max 1000	± 0.6	± 0.15		
BR5000	166-0509-EDU	Min 1000	± 0.6	± 0.25		5000
		2500	± 0.6	± 0.20		
		Max 5000	± 0.5	± 0.15		
BR10000	166-0503-EDU	Min 1000	± 2.5	± 0.6		
		5000	± 0.8	± 0.3		
		Max 10000	± 0.5	± 0.2		

Diese Spezifikationen mit den angegebenen Toleranzen werden bei Anwendung einer gravimetrischen Kontrollmethode erreicht. Dabei wird destilliertes Wasser bei einer Temperatur von 19°C bis 21°C als Probe eingesetzt. Die Pipette, die Spitzen und die Umgebung müssen bei gleicher Temperatur stabilisiert sein. Es müssen mindestens 10 Messungen ausgeführt werden. Die angegebenen Werte umfassen alle Einflussmöglichkeiten durch Handwärme und Spitzenwechsel.

Diese Spezifikationen wurden bei Verwendung von Original **BIO-RAD**-Spitzen erreicht.

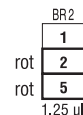
Kontrollvorschrift: Der gravimetrische Test gemäß der Norm EN ISO 8655.

## 2 - EINSTELLEN DES VOLUMENS

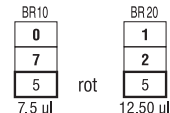
Das Volumen wird auf der dreistelligen Anzeige von oben nach unten abgelesen. Auf der untersten Anzeige befindet sich zusätzlich eine Skala, die die Volumeneinstellung im Bereich des Teilungswertes ermöglicht.

Beispiele der Kennzeichnungen der schwarzen und roten Ziffern:

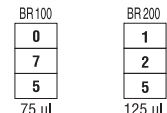
Pipetten **BR2**  
rote Ziffern unten = 1/100 µl  
Skalenteilung - 0.002 µl



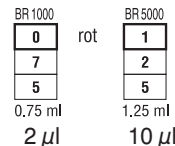
Pipetten **BR10** und **BR20**  
rote Ziffern unten = 1/10 µl  
Skalenteilung - 0.02 µl



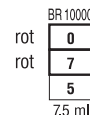
Pipetten **BR100**, **BR200**:  
nur schwarze Ziffern = µl  
Skalenteilung - 0.2 µl



Pipetten **BR1000**, und **BR5000**:  
rote Ziffern oben = ml  
Skalenteilung =



Pipetten **BR10000**:  
Rote Ziffern oben = ml  
Skalenteilung = 20 µl



Das Pipettenvolumen wird mit Hilfe des Rädchens im Pipettierknopf (Abb. 1A2) oder des Volumeneinstellrädchens (Abb. 1B) eingestellt. Die höchste Genauigkeit wird erreicht, wenn von einem höheren Volumen ausgegangen und die Anzeige des Zählers so lange verringert wird, bis der gewünschte Wert erreicht ist.

- Wenn das gewünschte Volumen geringer ist als das auf dem Zähler eingestellte, muss die Anzeige des Zählers durch das Drehen des Rädchens im Pipettierknopf (Abb. 1A2) oder des Volumeneinstellrädchens (Abb. 1B)

auf die gewünschte Größe verringert werden. Vor dem Erreichen der gewünschten Größe muss man die Drehgeschwindigkeit verringern und darauf achten, dass die einzustellende Größe nicht unterschritten wird.

- Wenn das gewünschte Volumen größer ist als das auf dem Zähler eingestellte, muss die Anzeige des Zählers durch das Drehen des Rädchens im Pipettierdruckknopf oder des Volumeneinstellrädchens auf einen Wert erhöht werden, der das gewünschte Volumen um ca. 1/3 Umdrehung der untersten Trommel überschreitet. Anschließend wird die Einstellung durch langsames Drehen auf die gewünschte Größe herabgesetzt, wobei darauf geachtet werden muss, dass sie nicht unterschritten wird.

Beim Unterschreiten der gewünschten Größe muss der Einstellvorgang wiederholt werden. Das gewünschte Volumen muss immer von einem höheren Volumen ausgehend durch die Verringerung der Anzeige des Zählers eingestellt werden.

### 3 - PIPETTIEREN

Die passende Spitze auf den Schaft der Pipette aufstecken. Die Wahl der entsprechenden Spitze ist im Abschnitt 6 beschrieben. Die Spitze wird durch eine Drehbewegung auf den Schaft fest gedrückt. Dies gewährleistet eine dichte Verbindung.

**Achtung: Niemals Flüssigkeiten mit einer BIO-RAD ohne Spitze aufnehmen.**

#### Ansaugen

- Den Druckknopf bis zum ersten Druckpunkt eindrücken, (Abb. 2A).
- Die Pipette senkrecht halten und die Spitze in die Probeflüssigkeit eintauchen. Die Tiefe, bis zu der die Spitze in die Probeflüssigkeit eingetaucht wird, hängt vom Modell ab:

Modell	Eintauchtiefe (mm)
BR2	≤ 1
BR10	≤ 1
BR20, BR100	2 - 3
BR200, BR1000	2 - 4
BR5000	3 - 6
BR10000	5 - 7

- Den Druckknopf langsam loslassen, um die Probe anzusaugen, (Abb. 2B).
- Eine Sekunde lang warten und dann die Spitze aus der Flüssigkeit herausnehmen.
- Eventuell auf der Oberfläche der Pipettenspitze vorhandene Flüssigkeit mit einem Tuch abwischen. Bei geringerer Eintauchtiefe der Pipettenspitze als empfohlen oder bei einem zu schnellen Loslassen des Pipettierknopfes kann Luft aufgenommen werden.

#### Die Öffnung der Spitze nicht berühren.

##### Ausstoßen

- Das Ende der Spitze in einem Winkel von 10 bis 40 Grad gegen die Innenwand des Gefäßes halten.
- Den Druckknopf langsam bis zum ersten Druckpunkt herunterdrücken, (Abb. 2C).
- Eine Sekunde lang warten.
- Den Druckknopf bis zum zweiten Druckpunkt herunterdrücken, um restliche Flüssigkeit auszustoßen, (Abb. 2D).
- Die Pipette mit ganz gedrücktem Druckknopf herausnehmen, indem die Spitze an der Innenwand des Gefäßes entlang gezogen wird. Den Druckknopf loslassen, (Abb. 2E).
- Die Spitze durch Drücken des Spitzenabwerfers abwerfen, (Abb. 2F).

**Achtung: Die Spitze muss gewechselt werden, wenn eine andere Probe pipettiert oder die Volumeneinstellung geändert wird.**

##### Filter

In den Pipetten 5000  $\mu\text{l}$  und 10000  $\mu\text{l}$  wurde ein austauschbares Filter angewandt, welches in der Öffnung im unteren Schafteil montiert wurde (Abb. 3L). Dieses Filter stellt sicher, dass die entnommene Flüssigkeit nicht in den Schaft gelangt. Dadurch wird gewährleistet, dass Schaft und Kolbeneinheit von innen nicht verunreinigt werden. Wesentliche Bedeutung hat der Einsatz eines Filters bei der Entnahme und Ausgabe von Flüssigkeit eines großen Volumens.

Es muss ein neues Filter eingesetzt werden, falls es bei der Entnahme von Flüssigkeit befeuchtet werden sollte.

## 4 - VORSPÜLEN

Beim Dosieren von Flüssigkeiten, die eine höhere Viskosität oder eine niedrigere Oberflächenspannung haben als Wasser (z.B. Serum oder org. Lösungsmittel), bildet sich ein Flüssigkeitsfilm auf der Innenseite der Pipettenspitze. Da diese Benetzung bei aufeinander folgenden Pipettierungen mit derselben Spitze relativ konstant bleibt, kann dieser Fehler dadurch vermieden werden, dass die Benetzung vor Aufgabe der ersten Probe erfolgt. Dazu wird eine Probe angesaugt und wieder in dasselbe Gefäß ausgestoßen. Da sich der Film bereits gebildet hat, werden alle folgenden Proben eine höhere Genauigkeit und Wiederholbarkeit aufweisen.

Dieses Vorspülen sollte immer dann wiederholt werden, wenn das anzusaugende Volumen geändert oder eine neue Spitze benutzt wird.

## 5 - DICHTER UND VISKOSE FLÜSSIGKEITEN

Die für **BIO-RAD** angegebenen Werte für Genauigkeit und Präzision beziehen sich auf destilliertes Wasser. Für Flüssigkeiten, die sich in ihren physikalischen Eigenschaften wie Dichte, Viskosität und Oberflächenspannung erheblich vom Wasser unterscheiden, muss gegebenenfalls eine Kompensation gravimetrisch ermittelt werden.

Im Normalfall genügt es allerdings, wenn man etwas langsamer arbeitet und sowohl nach dem Ansaugen als auch nach dem Auspipettieren mindestens 2 Sekunden lang wartet, bevor die Pipettenspitze bewegt wird, damit die Flüssigkeit Zeit hat, dem Druckunterschied zu folgen.

In Ausnahmefällen, soweit diese Vorgehensweise nicht das Erzielen von genauen Ergebnissen bei der Verwendung der Pipette gewährleistet:

- mit dem Drehknopf das anzusaugende Volumen an der Pipette einstellen und die Flüssigkeit aufnehmen
- das Gewicht des aufgenommenen Flüssigkeitsvolumens messen
- anschließend den Wert einer neuen Einstellung nach der folgenden Formel ermitteln

$$\text{Neueinstellung} = 2 \times \text{Nennwert (aufzunehmendes Volumen)} - \frac{m}{\gamma}$$

*m* - Masse der beim ersten Pipettieren aufgenommenen Flüssigkeit

*γ* - Dichte der aufzunehmenden Flüssigkeit

Dieses Schema ist zur Vermeidung von möglichen Fehlern zu wiederholen. Den Wert der Korrektur, also der Differenz zwischen dem an der Pipette eingestellten Volumen und dem tatsächlich aufgenommenen Wert kann man notieren, um ihn bei späterem Pipettieren derselben Flüssigkeit zu verwenden.

## 6 - BIO-RAD PIPETTENSPITZEN

**BIO-RAD**-Spitzen werden aus hochwertigem Polypropylen hergestellt. Ihre Qualität garantiert zusammen mit der **BIO-RAD** Genauigkeit und Präzision. Strenge Kontrollen während des gesamten Herstellungsprozesses gewährleisten höchste Qualität. Die Werte für Genauigkeit und Präzision für die **BIO-RAD** werden nur garantiert, wenn sie mit **BIO-RAD**-Spitzen benutzt wird. Die Verwendung von Spitzen minderer Qualität beeinträchtigt erheblich die Qualität der Pipettierungen.

### Spitzen 10

Spitzen zur Entnahme von Flüssigkeit eines Volumens von 0.1 µl bis 10 µl. Geeignet für Pipetten Typ BR2, BR10 mit rotem Pipettierdruckknopf.

### Spitzen 200

Spitzen zur Entnahme von Flüssigkeit eines Volumens von 2 µl bis 200 µl. Geeignet für Pipetten Typ BR20, BR100 und BR200 mit gelbem Pipettierdruckknopf.

### Spitzen 1000

Spitzen zur Entnahme von Flüssigkeit eines Volumens von 100 µl bis 1000 µl. Geeignet für Pipetten Typ BR1000 mit blauem Pipettierdruckknopf.

### Spitzen 5000

Spitzen zur Entnahme von Flüssigkeit eines Volumens von 1000 µl bis 5000 µl. Geeignet für Pipetten Typ BR5000 mit weißem Pipettierdruckknopf.

### Spitzen 10000

Spitzen zur Entnahme von Flüssigkeit eines Volumens von 1000 bis 10000 µl. Geeignet für Pipetten Typ BR10000 mit weißem Pipettierdruckknopf.

## 7 - BENUTZUNGSHINWEISE

Die folgenden Benutzungshinweise gewährleisten höchste Genauigkeit und Präzision der Messwerte der **BIO-RAD**:

- Sicherstellen, dass mit der **BIO-RAD** behutsam gearbeitet wird.
- Die Tiefe des Eintauchens in die Probeflüssigkeit sollte so gering wie möglich sein und während des Ansaugens konstant bleiben.
- Die **BIO-RAD** senkrecht halten.
- Die Spitze wechseln, wenn die Volumeneinstellung geändert wird oder wenn eine andere Flüssigkeit pipettiert werden soll.
- Die Spitze wechseln, wenn ein Tropfen von der vorherigen Pipettierung am Spitzenende hängen bleibt.
- Jede neue Spitze mit der zu pipettierenden Flüssigkeit vorspülen.
- Es darf niemals Flüssigkeit in den Pipettenschaft eintreten. Um das zu vermeiden:
  - den Druckknopf behutsam herunterdrücken und loslassen,
  - die Pipette stets senkrecht halten,
  - die Pipette niemals hinlegen, wenn sich Flüssigkeit in der Spitze befindet.
- Das Mikrometer niemals überdrehen.
- Vor dem Pipettieren von Flüssigkeiten mit anderen Temperaturen als der Umgebungstemperatur die Spitze mehrmals vorspülen.
- Keine Flüssigkeiten mit Temperaturen über 70°C pipettieren.
- Nach der Pipettierung von Säuren oder ätzenden Flüssigkeiten sollte der Schaft losgeschraubt und Kolben und Dichtung mit destilliertem Wasser gespült werden.

## 8 - REKALIBRIERUNG

**BIO-RAD**-Pipetten sind nach dem gravimetrischen Verfahren kalibriert, unter Einsatz von **BIO-RAD**-Spitzen und destilliertem Wasser, bei einer Temperatur von  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  gemäß der Norm EN ISO 8655.

Falls bei der Benutzung der Pipette festgestellt wird, dass der Genauigkeitsfehler (Differenz zwischen dem Istwert des entnommenen Volumens und dem Sollwert) den zulässigen Wert überschreitet, der in der Tabelle in Kapitel 1 angegeben wird, ist eine Rekalibrierung der Pipette vorzunehmen.

Vor dem Beginn der Rekalibrierung ist zu prüfen, ob bei der Bestimmung des Fehlers die unten stehenden Bedingungen erfüllt wurden:

- Die Temperatur der Umgebung, der Pipette, der Spitzen und des Wassers war identisch.
- Die Dichte der verwendeten Flüssigkeit hatte einen Wert, der dem von destilliertem Wasser nahe lag.
- Es wurde eine Waage von entsprechender Empfindlichkeit eingesetzt.

Geprüftes Volumen [ $\mu\text{l}$ ]	Empfindlichkeit der Waage [mg]
0.1 - 10	$\leq 0.001$
10 - 100	$\leq 0.01$
> 100	$\leq 0.1$

- Der Umrechnungsfaktor  $\text{mg}/\mu\text{l}$  wurde berücksichtigt.
- Die in den Kapiteln 3 und 7 angeführten Anforderungen wurden erfüllt. Falls die obigen Bedingungen erfüllt wurden, und der Genauigkeitsfehler für das ausgewählte Volumen, angegeben in Kapitel 1, den zulässigen Wert überschreitet, ist eine Rekalibrierung der Pipette vorzunehmen.

**Die Rekalibrierung kann nur im Bereich jeweils einer vollen Umdrehung des Schlüssels nach links oder rechts ausgeführt werden.**

### Bedingungen einer Rekalibrierung:

- Die Temperatur der Umgebung, der Pipette, der Spitze und der Flüssigkeit soll in den Grenzen von  $20 - 25^\circ\text{C}$  liegen und beim Wägen im Bereich  $\pm 0.5^\circ\text{C}$  stabilisiert werden.
- Bei den Messungen ist destilliertes Wasser zu verwenden.
- Die Empfindlichkeit der Waage muss dem geprüften Volumen entsprechen.

### Verfahrensweise bei der Rekalibrierung:

- Dosisvolumen je nach dem Volumen der Pipette gemäß der folgenden Tabelle einstellen.

Modell	Volumenbereich der Pipette [ $\mu\text{l}$ ]	Eingestelltes Volumen [ $\mu\text{l}$ ]	Zulässige Werte [ $\mu\text{l}$ ]	Volumenänderung bei voller Umdrehung des Kalibrierschlüssels $\Delta V$ [ $\mu\text{l}$ ] (24 Skalenteilungen)
BR2	0.1 - 2	0.2	0.176 - 0.224	0.06
BR10	0.5 - 10	0.5	0.48 - 0.52	0.33
BR20	2 - 20	2	1.94 - 2.06	0.63
BR100	10 - 100	10	9.84 - 10.16	2.50
BR200	20 - 200	20	19.76 - 20.24	6.30
BR1000	100 - 1000	100	98.4 - 101.6	25.00
BR5000	1000 - 5000	1000	994 - 1006	125.00
BR10000	1000 - 10000	1000	975 - 1025	250.00

- Fünf Entnahmen vornehmen, diese jedesmal wägen und den Mittelwert dieser Entnahmen berechnen.
- Das mittlere entnommene Volumen in  $\mu\text{l}$  berechnen, indem der Mittelwert der Entnahmen in [mg] durch den temperatur- und druckabhängigen Dichtekoeffizienten des destillierten Wassers [ $\mu\text{l}/\text{mg}$ ] gemäß der folgenden Tabelle multipliziert wird.

Temperatur [ $^{\circ}\text{C}$ ]	Druck [kPa]		
	95.0	101.3	105.0
20	1.0028	1.0029	1.0029
21	1.0030	1.0031	1.0031
22	1.0032	1.0033	1.0033
23	1.0034	1.0035	1.0036
24	1.0037	1.0038	1.0038
25	1.0039	1.0040	1.0040

Wenn das mittlere entnommene Volumen über den zulässigen Werten liegt, ist folgendermaßen vorzugehen:

- Den Pipettierdruckknopf entfernen, (Abb. 4A).  
**Hinweis: Der Pipettierdruckknopf besteht aus zwei Teilen: einer Schraube (Abb. 1A2) und einem Druckknopf (Abb. 1A1). Nach der Abnahme des Druckknopfes werden beide Teile voneinander getrennt.**
- Die Einstellschraube so halten, dass sie vor einer Umdrehung gesichert ist, und den Kalibrierschlüssel in die Kanäle der Kalibrierschraube einstecken. (Abb. 4B).

- Zwecks Verringerung des entnommenen Volumens den Schlüssel im Uhrzeigersinn bzw. entgegen dem Uhrzeigersinn zwecks Erhöhung des entnommenen Volumens drehen. Je eine volle Umdrehung des Kalibrierschlüssels ändert das zu entnehmende Volumen der Pipette um die in der Tabelle angegebenen Werte, (Abb 4C),
- Den Kalibrierschlüssel entfernen und den Pipettierdruckknopf (Abb. 4D) aufsetzen. Der Pipettierdruckknopf wird eingebaut, indem man zuerst die Schraube (Abb. 1A2) und dann den Druckknopf (Abb. 1A1) auf der Druckstange befestigt.

Mittleres entnommenes Volumen bestimmen. Das mittlere Volumen soll im Bereich der zulässigen Werte liegen, die in der Tabelle angegeben sind. Wenn dieses Volumen die angegebenen Werte überschreitet, ist die Rekalibrierung zu wiederholen.

Beim Pipettieren von Flüssigkeiten, deren physikalische Eigenschaften sich wesentlich von den Eigenschaften des Wassers unterscheiden, ist gemäß Kapitel 5 vorzugehen.

## 9 - BESEITIGUNG KLEINER MÄNGEL

Wenn die Pipette fehlerhaft arbeitet, muss die Ursache geprüft und der Fehler beseitigt werden. Bei der Beseitigung des Fehlers muss man entsprechend der in der Bedienungsanleitung angegebenen Reihenfolge vorgehen. Der Austausch der Teile soll als äußerste Notwendigkeit angesehen werden, denn bei einem sachgemäßen Gebrauch treten solche Mängel nicht auf.

### In der Pipettenspitze verbleiben Flüssigkeitstropfen

- Zu schnelle Entleerung der Pipettenspitze  
**Die Geschwindigkeit des Drückens auf den Pipettierdruckknopf verlangsamen**
- Erhöhte Benetzbarkeit der Pipettenspitze, verursacht durch häufigen Gebrauch  
**Die Pipettenspitze gegen eine neue austauschen**
- In der Flüssigkeit, die in die Pipettenspitze aufgenommen wurde, bilden sich Luftbläschen
  - Zu geringe Eintauchtiefe der Pipettenspitze  
**Die Pipettenspitze tiefer eintauchen, gemäß der Bedienungsanleitung**
  - Zu schnelle Flüssigkeitsentnahme  
**Langsamer die Flüssigkeit entnehmen**
  - Die Pipettenspitze sitzt zu locker auf dem Pipettenschaft  
**Die Pipettenspitze fester auf den Schaft drücken**



- Die Pipettenspitze ist beschädigt oder wurde zu häufig gebraucht

**Die Pipettenspitze gegen eine neue austauschen**

**Die Pipette entnimmt fehlerhaft die Flüssigkeit oder die Flüssigkeit tropft aus der Pipettenspitze**

- Die Pipettenspitze sitzt zu locker auf dem Pipettenschaft. **Die Pipettenspitze stärker auf den Schaft drücken.**

- Die Rändelmutter ist lose (Abb 3F).

**Die Rändelmutter anziehen.**

- Brüche oder Risse auf der Dichtungsfläche des Schaftes **Den Spitzenabwerfer abnehmen, die Rändelmutter lösen, Schaft und Kolbeneinheit prüfen. Die beschädigten Teile auswechseln (s. Abschnitt 12), die Pipette durch Festschrauben der Mutter montieren.**

**Bei den Pipetten BR2, BR10 und BR20 kann ein defekter Schaft die Beschädigung der Kolbeneinheit verursachen. Die defekten Teile auswechseln (s. Abschnitt 12), die Pipette wieder zusammensetzen und die Rändelmutter fest anziehen.**

**Um den Abwerfer der Pipetten BR5000 und BR10000 auszubauen, muss der Abwerferdruckknopf (Abb 3N) abgenommen werden. Anschließend wird mit Hilfe eines Schraubenziehers der Abwerfer gelöst, indem man den Schraubenzieher entgegen der Uhrzeigerichtung dreht.**

- Beschädigung des Kolbens oder der Pipettendichtung, verursacht durch häufige Entnahme von aggressiven Flüssigkeiten.

**Die Pipette wie oben angegeben auseinandernehmen. Kolbeneinheit, Dichtung und O-Ring auswechseln (s. Abschnitt 12). Die Innenfläche des Schaftes mit destilliertem Wasser reinigen. Die Dichtung und den O-Ring mit dem beigefügten Schmierfett behandeln.**

**Der Austausch des Kolbens erfordert eine erneute Kalibrierung.**

**Bei den Pipetten BR2, BR10 muss darauf geachtet werden, dass die zu fettenden Teile gleichmäßig mit einer minimalen Schmierfettmenge bedeckt werden.**

- Unsachgemäßes Zusammensetzen der Pipette **Die Pipette auseinandernehmen und erneut zusammensetzen, wobei die vorgeschriebene Reihenfolge der Montage eingehalten werden muss. (Abb 3).**

- Auf den Dichtungselementen befindet sich kein Schmierfett

**Den Abwerfer abnehmen. Die Rändelmutter lösen. Schaft, Kolbeneinheit und O-Ring herausnehmen. Die entnommenen Teile mit destilliertem Wasser reinigen und trocknen. Die Innenflächen der Dichtung und des O-Rings leicht mit dem beigefügten Schmierfett behandeln. Die Pipette in umgekehrter Reihenfolge wieder zusammensetzen.**

- Verunreinigungen des Innenteils der Pipette, verursacht durch häufige Entnahme von aggressiven chemischen Flüssigkeiten oder durch ein Überfließen des Innenteils der Pipette.

**Den Abwerfer abnehmen, die Rändelmutter lösen, den Schaft, Kolbeneinheit, die Dichtung und den O-Ring herausnehmen. Die ausgebauten Teile mit destilliertem Wasser reinigen und trocknen. Die Innenfläche der Dichtung und des O-Rings leicht mit Schmierfett behandeln. Die Pipette erneut zusammensetzen.**

Wenn ein Anstieg der Pipettierkraft festgestellt wird, was nach einer mehrmaligen Autoklavenbehandlung der Pipette erfolgen kann.

**Den Abwerfer entfernen. Die Schraube, die den Schaft befestigt, lösen. Den Schaft, die Kolbeneinheit, die Dichtung und den O-Ring herausnehmen. Die entnommenen Teile mit destilliertem Wasser reinigen und trocknen. Die Innenflächen der Dichtung und des O-Rings leicht mit dem beigefügten Schmierfett behandeln. Die Pipette in umgekehrter Reihenfolge wieder zusammensetzen.**

**Hinweis: Alle Pipettenteile können autoklaviert werden (s. Abschnitt 10).**

Der Schaft der Pipetten 5000 und 10000 muss ohne Filter autoklaviert werden.

Wenn die oben beschriebene Vorgehensweise keine Verbesserung der Pipettierfunktion bringt, senden Sie bitte die Pipette an den **BIO-RAD-Service**.

Vor dem Versand muss geprüft werden, ob die Pipette nicht mit aggressiven chemischen, radioaktiven oder mikrobiologischen Reagenzien kontaminiert ist, was eine Gefährdung während des Transports und der Reparatur darstellen könnte.

Im Rahmen der Möglichkeiten die Pipette reinigen.

## 10 – REINIGUNG UND STERILISATION

### Reinigung:

Die Außenflächen des Pipettierdruckknopfes, des Abwerferdruckknopfes, des Handgriffs und der Kalibrierschraube kann man mit einem mit Isopropanol getränkten Tuch reinigen. Die übrigen bei der Demontage entnommenen Pipettenteile können mit destilliertem Wasser oder ebenfalls mit Isopropanol gereinigt werden.

### Sterilisation:

Die komplette Pipette kann in einem Autoklaven bei einer Temperatur von 121°C 20 Minuten lang sterilisiert werden. Nach der Sterilisation muss die Pipette getrocknet und auf Zimmertemperatur abgekühlt werden.

### Es wird empfohlen:

- die Pipetten in einem Autoklaven mit Vakuumvorbehandlung und Trocknung zu sterilisieren,
- vor der Sterilisation bei den Pipetten BR2 – BR1000 die Mutter, die den Schaft befestigt, und bei den Pipetten BR5000 und BR10000 den Schaft selbst leicht zu lösen. Nach der Autoklavenbehandlung müssen diese Teile wieder angezogen werden.

Bei sachgemäßem Gebrauch und vorschriftsgemäßer Autoklavenbehandlung bleibt die Wiederholbarkeit der Ergebnisse erhalten. Weil eine minimale Änderung der Dosiergenauigkeit auftreten kann, wird empfohlen,

- die Kalibrierung der Pipetten nach der 1., 3. und 5. Autoklavenbehandlung und dann nach jeden 10 Autoklavenzyklen zu prüfen.

**Hinweis: Der Schaft der Pipetten 5000 und 10000 muss ohne Filter autoklaviert werden.**

## 11 - KOMPLETTIERUNG

Die Pipetten sind mit folgenden Komponenten geliefert:

- Pipette
- Bedienungsanleitung
- Kalibrierschlüssel
- Ständer für Pipetten
- Einstellungshülsen (bei BR2 - BR1000)
- Abwerferkappe (bei BR5000 und BR10000)
- Spitzen
- Identifizierungsaufkleber
- Filter (bei BR5000 und BR10000)
- Schmierfett

Das Montageschema des Ständers ist in der Abbildung 5 dargestellt.

## 12 - ERSATZTEILE

Pipettenteile (Abb. 3, 4, 6):

**A: Pipettierdruckknopf A1: Druckknopf A2: Schraube**

**B: Einstellschraube**

**C: Schaft**

**D: Spitzenabwerfer**

**F: Rändelmutter**

**G: Kolbeneinheit**

**H: Einstellungshülsen**

**I: O-Ring**

**J: Teflondichtung**

**K: Kalibrierschlüssel**

**L: Filter**

**M: Abwerferkappe**

**N: Abwerferdruckknopf**

können Sie bei der zuständigen **BIO-RAD** Vertretung bestellen. Bei der Bestellung bitte die genaue Bezeichnung des Teiles und das entsprechende Pipettenmodell angeben.

**Zur Beachtung: Der Austausch der Kolbeneinheit bedarf einer Rekalibrierung gemäß Kapitel 8.**

## SOMMAIRE

- 1 - GÉNÉRALITÉS
- 2 - REGLAGE DU VOLUME
- 3 - ASPIRATION ET DISTRIBUTION DU LIQUIDE
- 4 - PRE-RINCAGE DU CÔNE
- 5 - SOLUTIONS DENSES ET VISQUEUSES
- 6 - CÔNES DE PRELEVEMENT BIO-RAD
- 7 - RECOMMANDATIONS
- 8 - RECALIBRAGE
- 9 - ELIMINATION DE PETITS DEFATS
- 10 - NETTOYAGE ET STERILISATION
- 11 - CONTENU DE L'EMBALLAGE
- 12 - PIÈCES DÉTACHÉES

## 1 - GÉNÉRALITÉS

La **BIO-RAD** est un instrument volumétrique à piston destiné à mesurer et à transférer, avec exactitude et répétabilité, des volumes allant de 0,1  $\mu\text{l}$  à 10000  $\mu\text{l}$ .

Les pipettes **BIO-RAD** sont équipées d'un volumètre numérique. Le volume réglé est visible dans la fenêtre de l'embout. Le réglage du volume s'effectue à l'aide de la vis du bouton poussoir (Fig. 1A2) ou en tournant la vis de réglage noire (Fig. 1B) dans le sens souhaité. Le volume est inscrit sur le bouton poussoir (Fig. 1A1).

Les pipettes **BIO-RAD** existent en 8 modèles dont les volumes varient de 0.1  $\mu\text{l}$  à 10000  $\mu\text{l}$ .

Modèle	Gamme de volume recommandé [ $\mu\text{l}$ ]
BR2	0.1 - 2
BR10	0.5 - 10
BR20	2 - 20
BR100	10 - 100
BR200	20 - 200
BR1000	100 - 1000
BR5000	1000 - 5000
BR10000	1000 - 10000
BR2, BR10	Mesure et transfert de micro-volumes, séquençage de l'ADN et test enzymatique.
BR20, BR100, BR200, BR1000	Mesure et transfert de solutions aqueues, d'acides et de bases.
BR5000, BR10000	Mesure et transfert de volumes importants.

La **BIO-RAD** s'utilise avec des cônes en polypropylène, Fig. 1E. Le liquide est prélevé avec des cônes montés sur la pipette.

**NOTE: L'utilisation d'un cône à usage unique assure la sécurité et élimine la possibilité de contaminer le liquide prélevé.**

L'éjection du cône est facilité par un éjecteur équipant la pipette.

L'éjecteur est facilement démontable ce qui permet d'adapter les pipettes aux tubes de petit diamètre. La possibilité de changer sa longueur permet d'ajuster les pipettes à la gamme d'embouts.

### Réglage de la longueur du cône d'éjection.

- dans les pipettes pour mesurer les volumes entre 2 et 1000  $\mu\text{l}$  (Fig. 6A).

Les systèmes "H" réglés, incorporés dans la boîte permettent de régler la longueur du cône d'éjection de 1 à 2 mm. Le spacer "H0" est compris d'origine. La forme extérieure du spacer permet d'identifier le changement de taille.

- dans les pipettes pour mesurer les volumes entre 5000 et 10000  $\mu\text{l}$ . (Fig. 6B).

Le réglage de la longueur d'éjecteur s'effectue en vissant ou dévissant le mandrin d'éjecteur à l'aide d'un tournevis. Pour allonger l'éjecteur il faut tourner le mandrin dans le sens inverse des aiguilles d'une montre et pour le raccourcir, il faut tourner le mandrin dans le sens des aiguilles d'une montre. La plage de réglage est de 5 mm.

Si la méthode d'ajustage de l'éjecteur décrite ci-dessus n'est pas suffisante ou le diamètre d'ouverture de l'éjecteur est trop grand, il est indispensable d'insérer la tétine "M" sur l'éjecteur pour enlever les cônes, (Fig. 6C).

La **BIO-RAD** est un instrument de précision qui offre une exactitude et une répétabilité excellentes.

Les erreurs de précision (A) et de répétabilité (P) des mesures du liquide dépendent de la qualité des cônes utilisés. Les erreurs indiquées dans le tableau ont été obtenues avec des cônes **BIO-RAD**. La justesse et la répétabilité des volumes prélevés ne sont garanties que si les pipettes sont utilisées avec ces cônes.

Modèle	Référence	Volume [µl]	Exactitude [%]	Fidélité [%]	Cônes µl	
BR2	166-0504-EDU	0.2	± 12	± 6.0	10	
		1.0	± 2.7	± 1.3		
BR10	166-0505-EDU	Max 2.0	± 1.5	± 0.7		
		Min 0.5	± 4.0	± 2.8		
		5.0	± 1.0	± 0.6		
BR20	166-0506-EDU	Max 10.0	± 0.5	± 0.4		
		Min 2	± 3.0	± 1.5		
BR100	166-0508-EDU	10	± 1.0	± 0.5		200
		50	± 0.8	± 0.24		
		Max 100	± 0.8	± 0.20		
BR200	166-0507-EDU	Min 20	± 1.2	± 0.60		
		100	± 0.8	± 0.25		
BR1000	166-0508-EDU	Max 200	± 0.6	± 0.20		
		Min 100	± 1.6	± 0.40		
BR5000	166-0509-EDU	500	± 0.7	± 0.20	5000	
		Max 1000	± 0.6	± 0.15		
BR10000	166-0503-EDU	Min 1000	± 0.6	± 0.25		
		2500	± 0.6	± 0.20		
BR5000	166-0509-EDU	Max 5000	± 0.5	± 0.15		
		Min 1000	± 2.5	± 0.6		
		5000	± 0.8	± 0.3		
BR10000	166-0503-EDU	Max 10000	± 0.5	± 0.2		
		10000	± 0.5	± 0.2		

Les spécifications sont obtenues en mode direct par la méthode gravimétrique, avec des températures stabilisées entre 19°C et 21°C, autant pour l'eau distillée que pour l'air ambiant et les cônes. Nombre de contrôle - minimum 10. Les valeurs indiquées prennent en compte toutes les causes d'erreurs dues aussi bien à l'échauffement de la poignée qu'au changement de cône. Ces spécifications sont obtenues avec des "cônes **BIO-RAD** véritables".

Performances: Les spécifications des performances volumétriques de la **BIO-RAD** sont le résultat de tests gravimétriques rigoureux décrits dans les recommandations ISO. Si vous souhaitez contrôler les performances de vos pipettes en appliquant ces procédures, veuillez vous procurer le document EN ISO 8655.

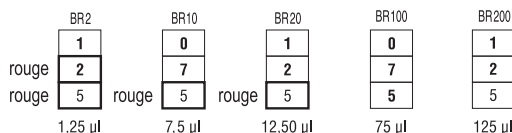
La construction de la pipette permet à l'utilisateur le recalibrage selon les principes présentés dans le chapitre 8.

## 2 - REGLAGE DU VOLUME

Le volume est indiqué par le volumètre, il se compose de trois chiffres qui doivent être lus du haut en bas. En outre, sur le barillet du compteur le plus bas est indiqué l'échelle qui permet de régler le volume dans la gamme élémentaire.

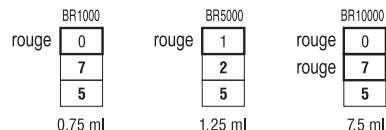
Pour les pipettes BR2, BR10, BR20, BR100, BR200 les chiffres en noir représentent les microlitres, ceux en rouge les dixièmes de microlitres. Un exemple, pour chacune de ces pipettes, est illustré ci-dessous.

### EXEMPLE DE REGLAGE DU VOLUMETRE POUR BR2-BR200



Pour les pipettes BR1000, BR5000 et BR10000 les chiffres en rouge représentent les millilitres, ceux en noir les microlitres. Un exemple, pour chacune de ces pipettes, est illustré ci-dessous.

### EXEMPLE DE REGLAGE DU VOLUMETRE POUR BR1000, BR5000, BR10000



Le volume de la pipette est réglé avec la vis du bouton poussoir (rys.1A2) ou avec la vis de réglage du volume (rys.1B). Pour obtenir une précision maximale, le volume demandé doit être réglé à partir d'un volume plus élevé, par la réduction des valeurs sur le compteur.

- Si le volume demandé est inférieur à la valeur réglée sur le compteur, il faut tourner la vis du bouton poussoir (rys.1A2) ou la vis de réglage du volume (rys.1B) pour réduire la valeur sur le compteur jusqu'à la valeur demandée. Avant d'arriver à la valeur demandée, il faut réduire la vitesse de rotation de la vis et faire attention à ne pas dépasser la valeur à régler.
- Si le volume demandé est supérieur à la valeur réglée sur le compteur, il faut tourner la vis du bouton poussoir ou la vis de réglage du volume pour augmenter la valeur sur le compteur à la valeur qui dépassera la volume demandé d'environ 1/3 de tour du barillet le plus bas. Ensuite, en tournant lentement la vis, il faut réduire la valeur réglée à la valeur demandée en faisant attention à ne pas la dépasser.

Si la valeur demandée est dépassée, le processus de réglage doit être répété. Le volume demandé doit être toujours réglé à partir d'une valeur supérieure par la réduction des valeurs indiquées sur le compteur.

### 3 - ASPIRATION ET DISTRIBUTION DU LIQUIDE

Monter le cône approprié sur l'embout porte cône.

Le choix du cône adéquat est décrit au chapitre 6. Pour effectuer le raccordement de façon étanche, appuyer fermement le cône sur l'embout en employant un mouvement de rotation.

**Note: Ne jamais manipuler un liquide avec BIO-RAD sans l'avoir au préalable équipé d'un cône.**

#### Aspiration

- Presser le bouton poussoir jusqu'à la première butée positive, Fig 2A.
- Tout en maintenant la pipette verticale, plonger l'extrémité du cône dans l'échantillon à prélever.
- La profondeur d'immersion du cône dans le liquide est fonction du modèle de **BIO-RAD** utilisé:

Modèle	Profondeur d'immersion (mm)
BR2	≤ 1
BR10	≤ 1
BR20, BR100	2 - 3
BR200, BR1000	2 - 4
BR5000	3 - 6
BR10000	5 - 7

- Relâcher lentement et régulièrement le bouton poussoir pour aspirer le liquide dans le cône, Fig. 2B.
- Attendre une seconde et retirer le cône du liquide.
- Essuyer éventuellement les gouttes de liquide qui pourraient adhérer sur les parois extérieures du cône avec un papier non tissé (par exemple, mouchoir de cellulose). Après l'immersion du cône sur une profondeur inférieure à celle qui est recommandée ou lors d'une libération rapide du bouton poussoir vers le cône, une certaine quantité d'air pourrait être absorbée.

**Prendre soin de ne pas toucher l'orifice du cône.**

#### Distribution

- Placer l'extrémité du cône de façon à former un angle de 10 à 40 degrés contre la paroi interne du tube récepteur.
- Presser doucement le bouton poussoir jusqu'à la première butée positive, Fig. 2C.
- Attendre une seconde.
- Presser complètement le bouton poussoir afin d'expulser la dernière fraction de liquide, Fig. 2D.
- Tout en maintenant le bouton poussoir complètement pressé, retirez le **BIO-RAD** en glissant le cône le long de la paroi du tube récepteur.
- Relâcher complètement le bouton poussoir, Fig. 2E.
- Ejecter le cône souillé en pressant le bouton de commande de l'éjecteur de cône, Fig. 2F.
- Il est nécessaire d'utiliser un nouveau cône si un liquide différent doit être pipeté ou si le volume à prélever est différent du volume précédent.

#### Filtres

Les pipettes de 5000  $\mu$ l et 10000  $\mu$ l sont équipées d'un filtre échangeable qui est monté dans un siège dans la partie inférieure du corps, (Fig. 3L).

Le filtre protège la pipette contre la pénétration du liquide prélevé à l'intérieur du corps et par conséquent, contre les impuretés qui pourraient pénétrer à l'intérieur du corps et du plongeur. L'utilisation du filtre est importante pour le prélèvement des volumes importants de liquide. Si le filtre se mouille pendant le prélèvement il faut le remplacer par un nouveau.

## 4 - PRE-RINCAGE DU CÔNE

Lors du pipetage des solutions dont la viscosité et la densité sont différentes de celles de l'eau, telles que les solvants organiques, une certaine rétention de liquide peut s'observer sur la paroi interne du cône. Ce film peut créer une erreur. Cependant, une fois formé, il reste relativement constant d'un pipetage à l'autre, avec un même cône. L'erreur peut donc être évitée en formant le film dès la première manipulation d'échantillon. Pour ce faire, l'échantillon doit être aspiré et redistribué dans le même récipient. Une fois le film en place, les pipetages suivants auront une meilleure exactitude et répétabilité.

Cette opération doit être à nouveau effectuée après chaque modification de volume ou changement de cône.

## 5 - SOLUTIONS DENSES ET VISQUEUSES

Pour des solutions modérément denses ou visqueuses, il est possible d'effectuer une compensation en augmentant la valeur du volumètre par rapport à la valeur désirée.

Pour des solutions moins denses que l'eau, il est possible d'effectuer une compensation en diminuant la valeur du volumètre par rapport à la valeur désirée.

*Exemple: Transfert de 10 µl de sérum avec une **BIO-RAD** modèle BR20.*

Régler le volumètre de la **BIO-RAD** sur 10 µl. Aspirer le volume de liquide et le mesurer gravimétriquement. Si l'on détermine que le volume délivré est de 9.5 µl par exemple, l'erreur est de 0.5 µl. Augmenter la valeur du volumètre de 0.5 µl pour l'amener à 10.5 µl et répéter la mesure. Si le volume mesuré n'est pas encore correct, ajuster le volumètre jusqu'à obtenir le volume exact désiré.

Lors de la distribution de liquides denses ou visqueux, avant d'expulser la dernière fraction de liquide, attendre une seconde supplémentaire à la première butée positive.

## 6 - CÔNES DE PRELEVEMENT BIO-RAD

Les embouts **BIO-RAD** sont fabriqués en polypropylène de la plus haute qualité au cours d'un processus de production contrôlé, ce qui permet d'obtenir le produit final de première qualité. Cette qualité garantit la compatibilité avec les

pipettes **BIO-RAD** et assure le prélèvement précis et reproductible du liquide. Au cours de leur fabrication, ces cônes sont soumis à différents types de contrôle qui nous permettent d'assurer leur qualité. Les performances de la **BIO-RAD** ne sont garanties que si elle est utilisée avec des "BIO-RAD véritables". L'utilisation d'autres cônes risque d'entraîner une dégradation notable des performances.

### Micro-cônes 10

Ces cônes sont recommandés pour des volumes compris entre 0,1 µl et 10 µl. Les cônes utilisés pour les pipettes des modèles BR2, BR10 équipés d'un bouton poussoir rouge.

### Cônes 200

Ces cônes sont recommandés pour des volumes compris entre 2 µl et 200 µl. Les cônes utilisés pour les pipettes des modèles BR20, BR100, BR200 équipés d'un bouton poussoir jaune.

### Cônes 1000

Ces cônes sont recommandés pour des volumes compris entre 100 µl et 1000 µl. Les cônes utilisés pour les pipettes du modèle BR1000 équipés d'un bouton poussoir bleu.

### Cônes 5000

Ces cônes sont recommandés pour des volumes compris entre 1000 µl et 5000 µl. Les cônes utilisés pour les pipettes du modèle BR5000 équipés d'un bouton poussoir blanc.

### Cônes 10000

Ces cônes sont recommandés pour des volumes compris entre 1000 µl et 10000 µl. Les cônes utilisés pour les pipettes du modèle BR10000 équipés d'un bouton poussoir blanc.

## 7 - RECOMMANDATIONS

Les recommandations ci-dessous vous permettront d'obtenir de la **BIO-RAD** les meilleures performances d'exactitude et de reproductibilité.

- La **BIO-RAD** doit être manipulée doucement et régulièrement.
- La profondeur d'immersion du cône dans l'échantillon doit être la plus petite possible. Éviter de la faire varier de façon importante au cours de l'aspiration. Maintenir la **BIO-RAD** en position verticale.

- Il est nécessaire de changer de cône lorsque le liquide à pipetter ou son volume sont modifiés.
- Il est nécessaire de changer de cône lorsqu'une goutte de liquide reste piégée à l'extrémité du cône.
- Tout nouveau cône doit être pré-rincé avec le liquide à pipetter.
- Le liquide ne doit jamais entrer dans l'embout porte cône. Pour cela:
  - Presser et relâcher le bouton poussoir avec douceur.
  - Ne jamais mettre la pipette la poignée en bas.
  - Ne jamais poser la pipette à plat lorsque le cône contient du liquide.
- Ne jamais forcer le volumètre au-delà de ses limites de fonctionnement.
- Lors du pipettage de solutions dont la température est différente de la température ambiante, rincer le cône plusieurs fois avant chaque prélèvement.
- Ne pas manipuler de solutions dont la température est supérieure à 70°C.
- Après l'emploi d'acides ou de solutions corrosives émettant des vapeurs, il est conseillé de démonter l'embout porte cône et de le rincer ainsi que le piston et le joint avec de l'eau distillée.

## 8 - RECALIBRAGE

Les pipettes **BIO-RAD** sont calibrées à l'aide de la méthode gravimétrique, avec l'utilisation des cônes **BIO-RAD** et de l'eau distillée, à une température de  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , selon les norm EN ISO 8655.

Dans le cas où vous constatez, pendant l'utilisation de la pipette, que l'erreur de précision (différence entre le volume réel prélevé et le volume fixé) dépasse la valeur admissible, présentée dans le tableau au chapitre I, il faudrait procéder au recalibrage de la pipette. Avant de procéder au recalibrage, vérifiez les conditions dans lesquelles vous avez déterminé l'erreur de précision A, et assurez-vous, que:

- la température ambiante et celles de la pipette et de l'eau, sont identiques,
- le liquide utilisé a une densité pareille à la celle de l'eau distillée,
- la balance que vous utilisez a une sensibilité appropriée,

Volume vérifié [ $\mu\text{l}$ ]	Sensibilité de la 1 balance [mg]
0,1 - 10	$\leq 0,001$
10 - 100	$\leq 0,01$
> 100	$\leq 0,1$

- vous avez pris en considération le facteur de conversion mg/ $\mu\text{l}$ ,
- vous vous conformez aux exigences décrites dans les chapitres 3 et 7.

Quand les conditions sus-mentionnées sont accomplies et l'erreur de précision, pour le volume choisi, présenté au chapitre I, dépasse la valeur admissible, il faut procéder au recalibrage de la pipette.

**Le recalibrage peut être effectué seulement dans les limites d'un seul tour de clé, dans l'un ou l'autre sens.**

### Les conditions de recalibrage:

- la température de l'environnement, de la pipette, des cônes et de l'eau doit être de 20 à 25°C stabilisée durant le pesage, dans les limites de  $\pm 0,5^\circ\text{C}$ ,
- pour les mesures, utilisez de l'eau distillée
- le sensibilité de la balance doit être adéquate au volume vérifié,
- fixer le volume de la dose, selon la capacité de la pipette, conformément aux données du tableau ci-dessous:

Modèle	Capacité de la pipette [ $\mu\text{l}$ ]	Volume fixé [ $\mu\text{l}$ ]	Valeurs admissibles [ $\mu\text{l}$ ]	Changement du volume pour un tour complet de la clé de calibrage $\Delta V$ [ $\mu\text{l}$ ] (24 échelons)
BR2	0.1 - 2	0.2	0.176 - 0.224	0.06
BR10	0.5 - 10	0.5	0.48 - 0.52	0.33
BR20	2 - 20	2	1.94 - 2.06	0.63
BR100	10 - 100	10	9.84 - 10.16	2.50
BR200	20 - 200	20	19.76 - 20.24	6.30
BR1000	100 - 1000	100	98.4 - 101.6	25.00
BR5000	1000 - 5000	1000	994 - 1006	125.00
BR10000	1000 - 10000	1000	975 - 1025	250.00

effectuez 5 prélèvements, pesez-les chaque fois, et calculez la moyenne de ces prélèvements,

- calculez le volume moyen prélevé en  $\mu\text{l}$ , en multipliant la moyenne des prélèvements [mg] par le coefficient de la densité de l'eau distillée [ $\mu\text{l}/\text{mg}$ ]. Celui-ci dépend

de la température et de la pression comme le montre le tableau ci-dessous :

Temperature [°C]	Pressure [kPa]		
	95.0	101.3	105.0
20	1.0028	1.0029	1.0029
21	1.0030	1.0031	1.0031
22	1.0032	1.0033	1.0033
23	1.0034	1.0035	1.0036
24	1.0037	1.0038	1.0038
25	1.0039	1.0040	1.0040

Si cette différence dépasse les valeurs admissibles, il faut :

- enlever le bouton poussoir de la pipette (dessin 4A),  
**Attention: Le bouton poussoir est composé de deux pièces: vis (Fig. 1A2) et bouton (Fig. 1A1). Après le démontage du bouton poussoir, les deux pièces se séparent.**
- tenant le tourne-à-gauche de fixation de la capacité, de façon à interdire sa rotation, introduire la clé de calibrage dans les canaux de la vis de calibrage, (dessin 4B),
- tourner la clé dans le sens des aiguilles d'une montre pour diminuer la valeur (volume) prélevé, ou contre le sens des aiguilles d'une montre, pour augmenter le volume prélevé. Un tour complet de la clé change le volume prélevé de la pipette conformément aux valeurs présentées dans le tableau, (Fig. 4C),
- enlever la clé de calibrage et remettre le bouton poussoir (Fig. 4D). Il faut d'abord monter la vis (Fig. 1A2) sur l'embout et ensuite le bouton (Fig. 1A1).

Fixer le volume moyen prélevé. Le volume moyen doit se tenir dans l'étendue des valeurs admissibles, présentées dans le tableau. Si ce volume dépasse les valeurs mentionnées, le recalibrage doit être répété.

Dans le cas de pipettage des liquides, dont les propriétés physiques sont sensiblement différentes de celles de l'eau, il faut procéder conformément à la teneur du chapitre 5.

## 9 - ELIMINATION DE PETITS DEFAUTS

Si vous constatez un mauvais fonctionnement de la pipette, trouvez la cause et éliminez la défaillance. Suivez l'ordre proposé par la notice. L'échange des

pièces est un ultime recours qui ne devrait pas être nécessaire lors d'une exploitation convenable.

### Présence des gouttes de liquide dans le cône.

- Le liquide est trop rapidement éjecté du cône.  
**Diminuez la vitesse de pression sur le bouton poussoir.**

- Humidification du cône causé par une utilisation prolongée.

**Remplacez le cône.**

### Apparition de bulles d'air dans le liquide aspiré.

- Immersion trop faible du cône.  
**Immergez le cône plus en profondeur comme précisé dans la notice.**

- Cône mal fixé sur l'embout porte- cône.

**Fixez mieux le cône.**

- Cône endommagé ou usé.

**Remplacez le cône.**

### Pipette aspire incorrectement ou le cône perd du liquide.

- Cône mal fixé sur l'embout porte- cône.

**Fixez mieux le cône**

- Ecrou raccord dévissé (Fig. 3F).

**Serrez l'écrou raccord**

- Fissure ou rayure de la surface d'étanchéité de l'embout porte-cône.

**Sortez l'éjecteur, dévissez l'écrou raccord, vérifiez l'embout porte-cône et le piston assemble. Remplacez les pièces endommagées (voir chapitre 12) et montez la pipette en serrant l'écrou.**

**Dans les pipettes BR2, BR10 et BR20 l'endommagement de l'embout porte-cône peut provoquer l'endommagement du piston assemble. Remplacez les pièces endommagées (voir chapitre 12) et montez la pipette en serrant l'écrou.**

**Pour sortir l'éjecteur, dans les pipettes BR5000 et BR10000, enlevez le bouton de l'éjecteur (Fig. 3N) et dévissez l'éjecteur avec un tourne-vis, en tournant celui-ci dans le sens contraire au mouvement de l'aiguille de la montre.**

- Endommagement du piston assemble ou du joint d'étanchéité causé par un pipetage prolongé des liquides corrosifs.

**Démontez la pipette en suivant les inscriptions ci-dessus. Remplacez le piston assemble, le joint**



**d'étanchéité et le joint torique (voir chapitre 12). Nettoyez l'intérieur de l'embout porte-cône avec de l'eau distillée. Lubrifiez le joint d'étanchéité et le joint torique avec la graisse fournie avec chaque pipette.**

**Tout changement du piston assemble demande un calibrage de la pipette.**

**Dans les pipettes BR2, BR10 veillez à ce que les éléments à lubrifier soient correctement couverts d'une quantité minimum de graisse.**

- Montage de la pipette incorrect.

**Démontez la pipette et montez-la en suivant l'ordre du montage (Fig. 3).**

- Absence de la graisse sur les éléments d'étanchéité.

**Retirez l'éjecteur. Dévissez l'écrou raccord, sortez l'embout, le piston assemble, le joint d'étanchéité et le joint torique. Nettoyez les pièces démontées avec de l'eau distillée et séchez. Lubrifiez légèrement les surfaces intérieures du joint d'étanchéité et du joint torique avec la graisse fournie avec chaque pipette. Remontez la pipette dans l'ordre inverse du démontage.**

- Intérieur de la pipette malpropre à cause du pipetage prolongé de liquides corrosifs ou de la pénétration du liquide à l'intérieur de la pipette.

**Retirez l'éjecteur, dévissez l'écrou raccord, retirez le piston assemble et le joint torique. Nettoyez les pièces démontées avec de l'eau distillée et séchez. Lubrifiez légèrement les surfaces intérieures du joint d'étanchéité et du joint torique avec la graisse fournie avec chaque pipette. Remontez la pipette.**

**Constatation de l'augmentation des forces de pipetage (ce qui peut arriver après de nombreux passages de la pipette dans un autoclave).**

**Retirez l'éjecteur. Dévissez l'écrou raccord, sortez l'embout, le piston assemble, le joint d'étanchéité et le joint torique. Nettoyez les pièces démontées avec de l'eau distillée et séchez. Lubrifiez légèrement les surfaces intérieures du joint étanchéité et du joint torique avec la graisse fournie avec chaque pipette. Remontez la pipette dans l'ordre inverse du démontage.**

**Attention: Toutes les pièces de la pipette peuvent être stérilisées dans un autoclave. Voir chapitre 10.**

**Les embouts porte-cône des pipettes 5000 et 10000 doivent être stérilisés dans un autoclave sans filtre.**

Si les opérations mentionnées ci-dessus ne permettent pas de rétablir le fonctionnement de la pipette, renvoyez la au service **BIO-RAD**.

Avant de la renvoyer, assurez-vous que la pipette n'est pas contaminée par des agents chimiques corrosifs, radioactifs ou microbiologiques qui pourraient constituer un risque durant le transport et la remise en état. Dans la mesure du possible, nettoyez la pipette.

## 10 - NETTOYAGE ET STÉRILISATION

### Nettoyage:

Les parties extérieures du bouton poussoir, du bouton de l'éjecteur, de l'embout et de la bague de calibration peuvent être nettoyées avec un tampon imbibé d'alcool isopropylique. Les autres parties tirées de la pipette lors de son démontage peuvent être nettoyées avec de l'eau distillée ou avec de l'alcool isopropylique.

### Stérilisation:

La pipette peut être stérilisée, dans sa totalité, dans un autoclave à la température de 121°C pendant 20 minutes. Après la stérilisation, la pipette doit être séchée et refroidie à la température ambiante.

### On recommande:

- de stériliser les pipettes dans un autoclave avec un cycle du vide primaire et du séchage,
- de dévisser légèrement le piston assemble dans les pipettes BR2 - BR1000 et l'embout dans les pipettes BR5000 et BR10000 avant la stérilisation. Après la stérilisation, les pièces doivent être resserrées.

Dans les conditions correctes d'exploitation et de stérilisation dans un autoclave, la reproduction des résultats ne change pas. Il peut y avoir une légère modification de l'exactitude du dosage. C'est pourquoi, on recommande:

- de vérifier le calibrage des pipettes après 1, 3 et 5 stérilisations dans un autoclave, et ensuite toutes les 10 stérilisations.

**Attention: Les embouts porte-cône des pipettes 5000 et 10000 doivent être stérilisés dans un autoclave sans filtre.**

**11 - CONTENU DE L' EMBALLAGE**

Les pipettes sont fournies dans une complétation suivante:

- pipette,
- instruction
- clé de calibrage,
- support,
- spacer de réglage de l'éjecteur (pipettes BR2 - BR1000),
- tétine (pipettes BR5000, BR10000)
- cônes,
- étiquettes d'identification,
- filtr (pipettes BR5000, BR10000),
- graisse

Le dessin 5. présente le schéma de montage du support.

**12 - PIÈCES DÉTACHÉES**

Les parties présentées sur la Fig. 3, 4, 6:

**A: Bouton poussoir de pipettage** A1: Bouton A2: Vis

**B: Vis de réglage de volume**

**C: Embout porte-cône**

**D: Ejecteur**

**G: Piston assemblé**

**F: Écrou raccord**

**H: Spacer**

**I: Joint torique**

**J: Joint d'étanchéité**

**K: Clé de calibrage**

**L: Filtre**

**M: Tétine**

**N: Bouton de l'éjecteur**

vous pouvez les obtenir chez le représentant **BIO-RAD**.

En commandant les pièces, préciser la désignation et le type de la pipette.

**Attention: Après chaque changement de l'ensemble du piston-plongeur il faut procéder au calibrage conformément aux instructions du chapitre 8.**

## CONTENIDO

1 - INTRODUCCIÓN
2 - AJUSTE DEL VOLUMEN
3 - ASPIRACIÓN Y DOSIFICACIÓN DEL LÍQUIDO
4 - LAVADO
5 - LÍQUIDOS DENSOS Y VISCOSOS
6 - PUNTAS BIO-RAD
7 - RECOMENDACIONES
8 - RECALIBRACIÓN
9 - SOLUCIÓN DE PROBLEMAS MENORES
10 - LIMPIEZA Y ESTERILIZACIÓN
11 - JUEGO DE ENTREGA
12 - PIEZAS DE REPUESTO

## 1 - INTRODUCCIÓN

**BIO-RAD** es un instrumento volumétrico diseñado para medir y transferir líquidos de manera precisa y segura. Puede medir y transferir, según el modelo, volúmenes desde 0.1  $\mu\text{l}$  a 10000  $\mu\text{l}$ .

Las pipetas **BIO-RAD** vienen con un indicador digital de volumen. El volumen ajustado aparece en la ventanilla de visualización del mango. El volumen del líquido a dispensar se ajusta con el tornillo del botón pulsador (fig. 1A2) o girando la rueda dentada de graduación del volumen de color negro (fig. 1B) hacia la dirección adecuada. El volumen de cada pipeta está indicado en el botón pulsador (fig. 1A1).

Hay 8 modelos de pipetas **BIO-RAD** cubriendo el rango desde 0.1  $\mu\text{l}$  hasta 10000  $\mu\text{l}$ .

Modelo	Rango de volumen [ $\mu\text{l}$ ]
BR2	0.1 - 2
BR10	0.5 - 10
BR20	2 - 20
BR100	10 - 100
BR200	20 - 200
BR1000	100 - 1000
BR5000	1000 - 5000
BR10000	1000 - 10000
BR2, BR10	Medida y transferencia de microvolúmenes. Secuencias DNA y aplicación de ensayo de enzima.
BR20, BR100, BR200, BR1000	Medida y transferencia de soluciones acuosas generales, ácidos y bases.
BR5000, BR10000	Medida y transferencia de grandes volúmenes.

Las pipetas **BIO-RAD** utilizan puntas ("tips") de polipropileno, de un solo uso, (fig. 1E). El líquido a dispensar es aspirado dentro de las puntas, las cuales se insertan en el cono de la pipeta, (fig. 1D).

Importante: El uso de puntas desechables garantiza la seguridad y elimina el riesgo de contaminación de la muestra.

Un expulsor de puntas incorporado, facilita la expulsión de las mismas, protegiendo al operador del contacto con la punta contaminada.

El expulsor puede ser desmontado fácilmente permitiendo el uso de la pipeta en tubos de ensayo de diámetro pequeño.

- en las pipetas de una capacidad de 2 a 1000  $\mu\text{l}$  (fig. 6A)

También puede modificarse la longitud del mismo en +1 ó +2mm, para adaptarlo a una amplia variedad de puntas. Para modificar la longitud del expulsor se utilizan los espaciadores "H" provistos con la pipeta. Un espaciador "H0" es provisto para identificar el cambio.

- en las pipetas de una capacidad de 5000 y 10000  $\mu\text{l}$  (fig. 6B)

La longitud del expulsor se regulará atornillando o desatornillando su vástago. Para alargar el expulsor se dará vuelta al destornillador en el sentido contrario al de las manecillas de un reloj; para reducir su longitud se le hará girar en el mismo sentido que las manecillas de un reloj. El intervalo de esta regulación es de 5 mm.

Si el método descrito más arriba para el ajuste del expulsor no es suficiente o el diámetro de la abertura del expulsor es demasiado grande para expulsar la punta, es preciso poner sobre el expulsor el accesorio "M" (fig. 3C).

**BIO-RAD** es un instrumento de alta calidad con excelente exactitud y precisión. Los valores de exactitud y precisión indicados en la tabla siguiente, han sido determinados utilizando las puntas **BIO-RAD** y sólo se garantizan con el uso de las mismas.

Modelo	Referencia	Volumen [µl]	Exactitud [%]	Precisión [%]	Punta µl	
BR2	166-0504-EDU	0.2	± 12	± 6.0	10	
		1.0	± 2.7	± 1.3		
BR10	166-0505-EDU	Max 2.0	± 1.5	± 0.7		
		Min 0.5	± 4.0	± 2.8		
		5.0	± 1.0	± 0.6		
BR20	166-0506-EDU	Max 10.0	± 0.5	± 0.4		
		Min 2	± 3.0	± 1.5		
BR100	166-050B-EDU	10	± 1.0	± 0.5	200	
		50	± 0.8	± 0.24		
BR200	166-0507-EDU	Max 100	± 0.8	± 0.20		
		Min 20	± 1.2	± 0.60		
BR1000	166-0508-EDU	100	± 0.8	± 0.25		1000
		500	± 0.7	± 0.20		
BR5000	166-0509-EDU	Max 200	± 0.6	± 0.20		
		Min 100	± 1.6	± 0.40		
BR10000	166-0503-EDU	500	± 0.6	± 0.25	5000	
		1000	± 0.7	± 0.20		
BR10000	166-0503-EDU	Max 1000	± 0.6	± 0.15		
		Min 1000	± 2.5	± 0.6		
BR5000	166-0509-EDU	2500	± 0.6	± 0.20		10000
		5000	± 0.5	± 0.15		
BR10000	166-0503-EDU	Max 5000	± 0.8	± 0.3		
		10000	± 0.5	± 0.2		

Estas especificaciones se obtuvieron por método gravimétrico, con agua destilada, a temperatura estabilizada entre 19 y 21°C y repitiendo como mínimo 10 mediciones. Dichos valores incluyen todos los componentes de error resultantes, incluyendo el debido al calor normal de la mano y al intercambio de puntas. Estas especificaciones fueron obtenidas utilizando puntas **BIO-RAD**. Tests de verificación: La verificación volumétrica de las pipetas **BIO-RAD** se basan en los tests gravimétricos extensivos, con arreglo a la norma EN ISO 8655.

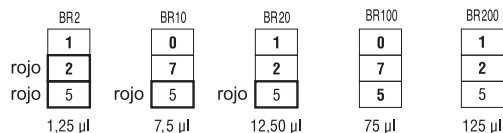
La pipeta puede ser calibrada por el propio usuario siguiendo los pasos indicados en el apartado 8.

## 2 - AJUSTE DEL VOLUMEN

El volumen demostrado por el indicador está compuesto de tres dígitos que hay que leer de arriba hacia abajo. Además, en la parte más baja del indicador hay una escala que permite el ajuste del volumen dentro de la división elemental.

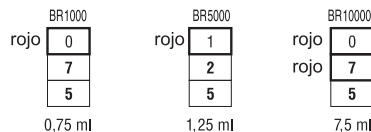
En los modelos BR2, BR10, BR20, BR100, BR200 los dígitos negros indican microlitros y los dígitos rojos décimas de microlitro.

DEBAJO FIGURAN EJEMPLOS PARA CADA UNO DE DICHS MODELOS



En los modelos BR1000, BR5000, BR10000 los dígitos rojos indican mililitros y los negros microlitros.

DEBAJO FIGURAN EJEMPLOS PARA CADA UNO DE DICHS MODELOS



Se ajusta el volumen de la pipeta con el tornillo del botón pulsador (fig. 1A2) o la rueda de graduación del volumen (fig.1B). Para obtener la mayor precisión, el volumen deseado debe ser ajustado desde un volumen más alto hacia la dirección de la disminución de las indicaciones del indicador.

- Si el volumen requerido es más bajo que el ajustado en el indicador, girando el tornillo del botón pulsador (fig. 1A2) o la rueda de graduación del volumen (fig. 1B) hay que disminuir las indicaciones del indicador hasta el valor requerido. Antes de alcanzar el valor requerido hay que disminuir la velocidad del giro y prestar la atención para no exceder el volumen para ajustar.
- Si el valor requerido es más alto que el ajustado en el indicador, girando el tornillo del botón pulsador o la rueda de graduación del volumen hay que aumentar las indicaciones del indicador hasta llegar a 1/3 por encima del valor deseado. Luego, lentamente, girando

el tornillo o la rueda disminuir el ajuste hasta el valor deseado prestando la atención para no excederlo.

En el caso de exceder el valor requerido, se aconseja repetir el procedimiento del ajuste. Siempre se debe ajustar el volumen deseado desde un volumen más alto disminuyendo las indicaciones del indicador.

### 3 - ASPIRACIÓN Y DOSIFICACIÓN DEL LÍQUIDO

Para seleccionar una punta adecuada, ver el apartado 6. Al insertar la punta en el cuerpo de la pipeta hay que aplicar una fuerte presión con movimiento giratorio para asegurar la hermeticidad.

**Advertencia: Nunca utilice la pipeta BIO-RAD, con líquidos, sin la punta colocada.**

#### Aspiración:

- Apretar el botón pulsador hasta el primer tope (fig. 2A).
- Con la pipeta en posición vertical sumergir la punta en la muestra. La profundidad a la que se sumerge la punta en el líquido depende del modelo:

Modelo	Profundidad (mm)
BR2	≤ 1
BR10	≤ 1
BR20, BR100	2 - 3
BR200, BR1000	2 - 4
BR5000	3 - 6
BR10000	5 - 7

- Liberar el botón pulsador lenta y suavemente para aspirar la muestra (fig. 2B).
- Esperar un segundo y retirar la punta del líquido. Limpiar la parte exterior de la punta de las gotas de líquido. Al sumergir la punta a la profundidad menor que la recomendada o al librar rápidamente el botón pulsador puede entrar el aire a la punta.

**No debe tocarse el orificio de la punta.**

#### Dosificación:

- Colocar la parte inferior de la punta contra la pared interior del recipiente, con un ángulo entre 10° y 40°.
- Apretar el botón pulsador suavemente hasta el primer tope (fig. 2C).
- Esperar un segundo.

- Apretar el botón pulsador hasta el segundo tope, para vaciar el resto del líquido (fig. 2D).
- Manteniendo apretado el botón pulsador en el segundo tope, retirar la pipeta deslizando la punta por la pared interior del recipiente. Soltar luego el botón pulsador (fig. 2E).
- Expulsar la punta apretando el botón del expulsor (fig. 2F).

Es necesario cambiar la punta solamente en el caso de tomar la muestra de otro líquido o cuando se cambia el volumen.

#### Filtros

Las pipetas de 5000  $\mu$ l y 10000  $\mu$ l llevan un filtro, insertado en un asiento en la parte inferior del cuerpo de la pipeta (fig. 3L), para evitar que el líquido penetre dentro del cuerpo, ensuciando este y el émbolo. Se recomienda el uso del filtro especialmente cuando se toman grandes cantidades de líquido.

En el caso de mojarse el filtro, debe ser cambiado por uno nuevo.

### 4 - LAVADO

Al pipetear líquidos de viscosidad o densidad diferentes a las del agua, p. ej., disolventes orgánicos, se crea una capa superficial de líquido en la pared interior de la punta. Esta capa puede ser causa de error. Dado que dicha capa se mantiene relativamente constante en operaciones sucesivas de pipeteado con la misma punta, puede evitarse el error creando la capa superficial antes del pipeteado de la primer muestra. Esto se logra aspirando la muestra y dispensándola nuevamente en el mismo recipiente. Hecho esto, las muestras subsiguientes tendrán mayor exactitud y repetibilidad. Es conveniente repetir esta operación de enjuague cada vez que se modifique el volumen o se utilice una nueva punta.

### 5 - LÍQUIDOS DENSOS Y VISCOSOS

En el caso de líquidos densos o viscosos, es posible compensar el error ajustando el volumen por encima del requerido.

En el caso de líquidos menos densos que el agua, puede compensarse ajustando el mismo por debajo del valor requerido.

Ejemplo: para transferir 10  $\mu\text{l}$  de suero con la **BIO-RAD** BR20, se puede ajustar el volumen a 10  $\mu\text{l}$  y comprobarlo en forma gravimétrica. Si el volumen medido resultara 9.5  $\mu\text{l}$ , odemos aumentar el mismo en 0.5  $\mu\text{l}$  (o sea a 10.5  $\mu\text{l}$ ) y medir nuevamente. Podemos repetir las mediciones gravimétricas, ajustando el volumen hacia arriba o hacia abajo hasta obtener el ajuste exacto para dicha muestra y el volumen requerido. De esta forma queda la pipeta ajustada en forma exacta para las sucesivas operaciones con dicha muestra.

Cuando se dosifican líquidos densos o viscosos, es aconsejable esperar uno o dos segundos más en el primer tope, antes de pipetear el resto del líquido.

## 6 - PUNTAS BIO-RAD

Las puntas **BIO-RAD** son fabricadas en polipropileno de excelente calidad, bajo un estricto control de producción, garantizando con su uso la precisión y exactitud de las pipetas **BIO-RAD**.

Es aconsejable la utilización de las puntas **BIO-RAD** con las pipetas **BIO-RAD**, ya que las especificaciones de exactitud y precisión de las mismas ha sido determinada con dichas puntas. El uso de puntas de calidades inferiores, pueden dañar el cono de las pipetas **BIO-RAD**.

### Punta 10:

Puntas usadas para tomar cantidades de líquido de 0.1 a 10  $\mu\text{l}$ . Se utilizan con las pipetas BR2 y BR10, las cuales tienen el botón pulsador de color rojo.

### Punta 200:

Puntas usadas para tomar cantidades de líquido de 2 a 200  $\mu\text{l}$ . Se utilizan con las pipetas BR20, BR100, BR200, las cuales tienen el botón pulsador de color amarillo.

### Punta 1000:

Puntas usadas para tomar cantidades de líquido de 100 a 1000  $\mu\text{l}$ . Se utilizan con las pipetas BR1000, las cuales tienen el botón pulsador de color azul.

### Punta 5000:

Puntas usadas para tomar cantidades de líquido de 1000 a 5000  $\mu\text{l}$ . Se utilizan con las pipetas BR5000, las cuales tienen el botón pulsador de color blanco.

### Punta 10000:

Puntas usadas para tomar cantidades de líquido de 1000 a 10000  $\mu\text{l}$ . Se utilizan con las pipetas BR10000, las cuales tienen el botón pulsador de color blanco.

## 7 - RECOMENDACIONES

Las siguientes recomendaciones facilitan la máxima exactitud y precisión de sus pipetas **BIO-RAD**.

- Operar la pipeta **BIO-RAD** de manera lenta y suave.
- Sumergir el mínimo posible la punta de la pipeta en la muestra y mantener dicha profundidad durante la aspiración.
- Sitúe la pipeta **BIO-RAD** en posición vertical.
- Reemplazar la punta cada vez que modifique el ajuste de volumen o cambie de muestra.
- Reemplazar la punta siempre que ésta quede con alguna gota de líquido del pipeteado anterior.
- Cada vez que reemplace la punta, ésta debe ser enjuagada con el líquido a pipetear.
- El líquido nunca debe entrar dentro del cono de la pipeta **BIO-RAD**. Para ello:
  - apretar el botón pulsador lenta y suavemente.
  - nunca vuelque la pipeta con la parte de arriba hacia abajo.
  - nunca coloque la pipeta en forma horizontal cuando la punta contenga líquido.
- Nunca ajuste el volumen fuera de los límites recomendados.
- Si la temperatura de los líquidos a pipetear es diferente de la del ambiente, se recomienda enjuagar la punta un par de veces antes de usarla.
- No pipetear líquidos con temperatura superior a 70°C.
- Cuando se pipeteen ácidos o soluciones ácidas que producen vapores, se recomienda desmontar el cono de la pipeta y enjuagar el pistón y los sellos con agua destilada al terminar la operación.

## 8 - RECALIBRACIÓN

La calibración de las pipetas **BIO-RAD** se realiza por gravimetría con el uso de puntas **BIO-RAD** y agua destilada, en una temperatura de  $20 \pm 1^\circ\text{C}$ , con arreglo a la norma EN ISO 8655.

Cuando se constate un error de precisión (diferencia entre la cantidad real y la nominal) de una pipeta, mayor al que se indica en el cuadro del capítulo 1, será necesario proceder a una nueva calibración. Antes, sin embargo, deberá comprobarse que al calcular el error se cumplieron los siguientes requisitos:

- una misma temperatura de la pipeta, puntas, agua y ambiente - líquido de una densidad semejante a la del agua destilada,
- balanza de precisión para las mediciones:

Volumen homologado [ $\mu\text{l}$ ]	Sensibilidad de la balanza [mg]
0,1 - 10	$\leq 0,001$
10 - 100	$\leq 0,01$
> 100	$\leq 0,1$

- conversión de mg en  $\mu\text{l}$ ,
- y los especificados en los apartados 3 y 7.

Cumplidos estos requisitos, si el error de precisión en un volumen dado es mayor al indicado en el apartado 1 será necesario proceder a una nueva calibración de la pipeta.

**La llave de calibración puede girar solamente de una vuelta entera hacia la derecha o la izquierda.**

### Requisitos para la calibración:

- la temperatura de la pipeta, punta, líquido y ambiente se estabilizará entre los  $20$  y  $25^\circ\text{C}$  con una exactitud de  $\pm 0,5^\circ\text{C}$ ,
- en las pruebas se usará agua destilada,
- la sensibilidad de la balanza se adecuará al volumen que se quiera verificar.

### Calibración:

- seleccionar el rango correspondiente a la capacidad de la pipeta, conforme lo indicado en la tabla que sigue:

Modelo	Rango de capacidad de la pipeta [ $\mu\text{l}$ ]	Rango de ajuste [ $\mu\text{l}$ ]	Valor admitido [ $\mu\text{l}$ ]	Diferencia de volumen a una vuelta entera de la llave de calibración $\Delta V$ [ $\mu\text{l}$ ] (25 unidades elemental)
BR2	0.1 - 2	0.2	0.176 - 0.224	0.06
BR10	0.5 - 10	0.5	0.48 - 0.52	0.33
BR20	2 - 20	2	1.94 - 2.06	0.63
BR100	10 - 100	10	9.84 - 10.16	2.50
BR200	20 - 200	20	19.76 - 20.24	6.30
BR1000	100 - 1000	100	98.4 - 101.6	25.00
BR5000	1000 - 5000	1000	994 - 1006	125.00
BR10000	1000 - 10000	1000	975 - 1025	250.00

- realizar cinco tomas, pesando cada una, y calcular la media de esas tomas,
- calcular la porción media en  $\mu\text{l}$  multiplicando la media de las tomas realizadas [mg] por el índice de densidad del agua destilada [ $\mu\text{l}/\text{mg}$ ], con dependencia de su temperatura y presión.

Temperatura [ $^\circ\text{C}$ ]	Presión [kPa]		
	95.0	101.3	105.0
20	1.0028	1.0029	1.0029
21	1.0030	1.0031	1.0031
22	1.0032	1.0033	1.0033
23	1.0034	1.0035	1.0036
24	1.0037	1.0038	1.0038
25	1.0039	1.0040	1.0040

Cuando el valor medio de las medidas tomadas difiera del admisible se procederá como se indica a continuación:

- desmontar el pulsador de pipeteo, (fig. 4A),  
**Atención: El botón pulsador se compone de dos piezas: un tornillo (fig. 1A2) y un botón (fig. 1A1). Desmontando el botón ambas piezas se separan.**
- Introducir la llave de calibración en las muescas del tornillo de calibración, (fig. 4B), sujetando al mismo tiempo el botón de graduación del volumen para evitar que cambie de posición,

- Darle vuelta a la llave - hacia la derecha para reducir la volumen o hacia la izquierda para aumentarla. Con una vuelta entera de la llave se aumenta o disminuye la porción en la cantidad que se ha indicado en el cuadro, (fig. 4C),
- Retirar la llave de calibración y montar el botón pulsador. (fig. 4D). Para montar el botón pulsador hay que poner en el cuerpo primero el tornillo (fig. 1A2) y luego el botón (fig. 1A1).

Calcular nuevamente la porción media que deberá ajustarse a los valores admisibles indicados en el cuadro. En el caso contrario se repetirán las operaciones de calibración.

Cuando las propiedades físicas del líquido manipulado con la pipeta difieren mucho de las del agua se deberá proceder de acuerdo con las indicaciones del apartado 5.

## 9 - SOLUCIÓN DE PROBLEMAS MENORES

Al constatar el trabajo incorrecto de la pipeta compruebe la causa y elimine el defecto. Al eliminar un defecto actúe de acuerdo con el orden indicado en la instrucción. El cambio de algunos elementos por unos nuevos hay que tratar como necesidad extrema, que no debe producirse en el caso de la correcta explotación de la pipeta.

**En la punta quedan las gotas del líquido.**

- Demasiado rápido vaciado de la punta.  
**Disminuya la velocidad de opresión del botón pulsador.**
  - Aumento de humidificación de la punta causado por su múltiple uso.  
**Cambie la punta por una nueva.**
- En el líquido tomado a la punta aparecen las burbujas de aire.**
- Poca profundidad de inmersión de la punta.  
**Hunda la punta a una profundidad mayor, acorde con la instrucción.**
  - Débil colocación de la punta en el cuerpo de la pipeta.  
**Fíjela mejor.**
  - Punta deteriorada o utilizada muchas veces.  
**Cámbiela por una nueva.**

**La pipeta toma el líquido de una manera incorrecta o el líquido sale goteando de la punta.**

- Débil colocación de la punta en el cuerpo de la pipeta.  
**Fíjela mejor.**
- Tuerca de conexión floja (fig. 3F).  
**Ajuste la tuerca de conexión.**
- Superficie del cuerpo rota o rayada.  
**Retire el expulsor, afloje la tuerca de conexión, verifique el cuerpo y el pistón de la pipeta. Reemplace los elementos deteriorados (ver apartado 12) y vuelva a montar la pipeta ajustando la tuerca de conexión. En las pipetas BR2, BR10 y BR20, si el cuerpo está dañado, puede estarlo también el pistón. Reemplace los elementos deteriorados (ver apartado 12) y vuelva a montar la pipeta ajustando la tuerca de conexión. Para retirar el expulsor en el caso de las pipetas BR5000 y BR10000 hay que retirar el botón del expulsor (fig. 3N) y para desatornillar el expulsor se dará vuelta al destornillador en el sentido contrario al de las manecillas de un reloj.**
- Deterioro del pistón o la junta a causa de la medición prolongada de líquidos agresivos.  
**Desmonte la pipeta como fue indicado arriba. Reemplace el pistón, la junta y el O-ring (ver apartado 12). Lave el interior del cuerpo con agua destilada. Engrase la junta y el O-ring con grasa adjunta a cada pipeta. El reemplazo del pistón requiere una recalibración de la pipeta. En las pipetas BR2, BR10 hay que engrasar las piezas uniformemente y utilizando una cantidad mínima de la grasa.**
- Mal ensamblado.  
**Desmonte la pipeta y móntela nuevamente siguiendo el correcto orden del montaje (fig. 3).**
- Falta de la grasa en las piezas de hermeticidad.  
**Retire el expulsor. Afloje la tuerca de conexión, retire el cuerpo, el pistón, la junta y el O-ring. Lave las piezas sacadas con agua destilada y séquelas. Engrase un poco las superficies interiores de la junta y del O-ring con la grasa adjunta a cada pipeta. Monte la pipeta en un orden contrario a su desmontaje.**



- Contaminación del interior de la pipeta causado por una prolongada toma de los líquidos químicamente agresivos o bien la humidificación del interior de la pipeta.

**Retire el expulsor. Afloje la tuerca de conexión, retire el cuerpo, el pistón, la junta y el O-ring. Lave las piezas sacadas con agua destilada y séquelas. Engrase un poco las superficies interiores de la junta y del O-ring con la grasa. Vuelva a montar la pipeta.**

**Al detectar el aumento de la fuerza de pipeteo, lo que puede ocurrir después de haber realizado muchas veces la esterilización en autoclave:**

**Retire el expulsor. Afloje la tuerca de conexión, retire el cono, el pistón, la junta y el O-ring. Lave las piezas sacadas con agua destilada y séquelas. Engrase un poco la superficie interior de la junta y del O-ring con la grasa que acompaña a cada pipeta. Monte la pipeta en un orden contrario a su desmontaje.**

**Atención: Todas las piezas de la pipeta son autoclavables. Ver el apartado 10.**

**Los cuerpos de las pipetas 5000 y 10000 se esterilizarán sin filtro.**

Si el procedimiento arriba descrito no eliminase el funcionamiento incorrecto de la pipeta hay que enviarla al servicio técnico **BIO-RAD**.

Antes de enviar la pipeta al servicio técnico, asegúrese que la misma no esté contaminada con sustancias químicas agresivas, radioactivas o microbiológicas que puedan ser peligrosas durante el transporte y la reparación. Si es posible, limpie la pipeta.

## 10 - LIMPIEZA Y ESTERILIZACIÓN

### Limpeza:

Las superficies exteriores del botón pulsador, el botón del expulsor, el mango y el tornillo de calibración pueden limpiarse con un tapón de algodón empapado de alcohol isopropílico. Las demás piezas desmontables pueden ser lavadas con agua destilada o alcohol isopropílico.

### Esterilización:

Podemos esterilizar la pipeta entera en autoclave a la temperatura de 121°C durante 20 minutos. Después de esterilizar la pipeta, ésta debe ser secada y enfriada hasta alcanzar la temperatura de ambiente.

### Se recomienda:

- esterilizar las pipetas en un autoclave con la fase del vacío preliminar y secado,
- antes de la esterilización aflojar un poco la tuerca de conexión en las pipetas BR2 – BR1000, y en las pipetas BR5000 y BR10000 aflojar un poco el cuerpo. Después de la esterilización fijar de nuevo estas piezas.

Con la correcta explotación y el adecuado procedimiento de la esterilización en autoclave no cambia la repetibilidad de los resultados obtenidos. Sin embargo puede ocurrir un pequeño cambio de la precisión de la dosificación, entonces se recomienda:

- verificar la calibración de las pipetas después de la 1, 3 y 5 esterilización en autoclave y luego cada 10 ciclos de esterilización durante la explotación de la pipeta.

**Atención: Los cuerpos de las pipetas 5000 y 10000 se esterilizarán sin filtro.**

## 11 - JUEGO DE ENTREGA

- la pipeta
- un manual de usuario
- una llave de calibración
- un portapipetas
- espaciador para la regulación del expulsor (para las pipetas BR2 - BR1000)
- abertura del expulsor (para las pipetas BR5000, BR10000)
- puntas
- pegatinas de identificación
- filtros (para las pipetas BR5000, BR10000)
- grasa

En la fig. 5 se explica los pasos a seguir para ensamblar el portapipetas

**12 - PIEZAS DE REPUESTO**

Ver fig. 3, 4, 6:

**A: Botón pulsador**      **A1: Botón**      **A2: Tornillo**

**B: Rueda de graduación del volumen**

**C: Cuerpo**

**D: Expulsor de puntas**

**F: Tuerca de conexión**

**G: Pistón**

**H: Espaciador**

**I: O-Ring**

**J: Junta de Teflón**

**K: Llave de calibración**

**L: Filtro**

**M: La abertura del expulsor**

**N: Botón del expulsor**

Estos repuestos pueden solicitarse al representante de **BIO-RAD**, detallando el modelo de pipeta y el nombre del repuesto.

**Atención: Siempre que se cambie el émbolo se calibrará la pipeta de acuerdo con lo señalado en el apartado 8.**

## INDICE

1 - INFORMAZIONI GENERALI
2 - REGOLAZIONE DEL VOLUME
3 - PRELIEVO E DISTRIBUZIONE DI LIQUIDO
4 - RISCIAQUO
5 - PRELIEVO DI LIQUIDO MOLTO DENSO E VISCOSO
6 - PUNTALI DI PRELIEVO PER LE PIPETTE BIO-RAD
7 - RACCOMANDAZIONI
8 - RICALIBRAZIONE
9 - ELIMINAZIONE DI PICCOLE ANOMALIE
10 - PULIZIA E STERILIZZAZIONE
11 - PARTI DI RICAMBIO

## 1 - INFORMAZIONI GENERALI

Le pipette **BIO-RAD** appartengono alla famiglia di strumenti destinati a misurare e trasferire con precisione e in modo sicuro i liquidi di diversi volumi tra 0.1  $\mu$ l e 10000  $\mu$ l in funzione al modello.

Le pipette **BIO-RAD** sono dotate di un volumetro digitale che legge il volume misurato. Il volume impostato si vede nella spia sulla maniglia. Il volume viene regolato con una manopola situata sul pulsante di prelievo (fig. 1A2) oppure girando la manopola di regolazione del volume nera, dentata (fig. 1B) nella direzione corretta. Il volume di prelievo è indicato sul pulsante di prelievo. (fig. 1A1).

Le pipette **BIO-RAD** sono realizzate in 8 modelli e coprono i volumi compresi da 0.1 $\mu$ l a 10000  $\mu$ l.

Modello	Gamma di volume [ $\mu$ l]
BR2	0.1 - 2
BR10	0.5 - 10
BR20	2 - 20
BR100	10 - 100
BR200	20 - 200
BR1000	100 - 1000
BR5000	1000 - 5000
BR10000	1000 - 10000

La destinazione delle pipette in funzione al volume.

BR2, BR10	Misura e trasferimento di micro-volumi, sequenza DNA e test enzimatico.
BR20, BR100, BR200, BR1000	Misura e trasferimento di soluzioni acquose, acidi e di basi.
BR5000, BR10000	Misura e trasferimento di volumi grossi.

Il liquido è prelevato con dei puntali montati sulla pipetta. (fig. 1E).

**NOTA: L'uso di un puntale monouso garantisce la sicurezza ed elimina la possibilità di contaminare il liquido prelevato.**

L'espulsione del puntale è facilitata da un espulsore incorporato nella pipetta (fig. 1D). L'uso delle pipette con l'espulsore protegge dal contatto con un puntale contaminato.

L'espulsore è facilmente smontabile, per cui si possono usare le pipette con le provette a piccolo diametro e la possibilità di modificare la lunghezza dell'espulsore permette di adattare le pipette all'ampia gamma di puntali.

### Regolazione di lunghezza dell'espulsore.

- per le pipette da 2-1000  $\mu$ l (fig. 6A)

I manicotti di regolazione ad "H" inclusi nella scatola permettono di modificare la lunghezza dell'espulsore di +1mm o +2mm. Nella versione standard viene montato il manicotto "H0". La forma esterna del manicotto permette di identificare le variazioni di misurazione.

-per le pipette da 5000 e da 10000  $\mu$ l (fig. 6B)

La regolazione della lunghezza dell'espulsore avviene avvitando o svitando lo stelo dell'espulsore con un cacciavite. Per ridurre la lunghezza bisogna girare il cacciavite nel senso orario, invece per aumentare la lunghezza girare il cacciavite nel senso antiorario. L'intervallo della regolazione è di 5 mm. Se tale regolazione risulta insuffi-

ciente (fig. 6B) oppure si verificano i problemi di espulsione dei puntali a causa dell'eccessivo diametro del foro dell'espulsore, bisogna mettere sull'espulsore il tappo "M" in dotazione (fig. 6C).

Le pipette **BIO-RAD** sono strumenti da laboratorio di alta qualità che garantiscono la massima esattezza e precisione di misurazione.

Gli errori di precisione e di riproducibilità della misurazione di liquido dipendono dalla qualità dei puntali utilizzati. Gli errori indicati nella tabella sono stati riscontrati nel caso venissero usati i puntali **BIO-RAD**. Solo questi puntali garantiscono una corretta compatibilità con le pipette e assicurano l'esattezza e la riproducibilità di prelievo.

Simbolo	N. catalogo	Capacità [ $\mu$ l]	Errore di precisione [%]	Errore di riproducibilità	Estremità $\mu$ l
BR2	166-0504-EDU	0.2	$\pm 12$	$\pm 6.0$	10
		Max 2.0	$\pm 2.7$	$\pm 1.3$	
BR10	166-0505-EDU	Min 0.5	$\pm 4.0$	$\pm 2.8$	10
		Max 10.0	$\pm 1.0$	$\pm 0.6$	
BR20	166-0506-EDU	Min 2	$\pm 3.0$	$\pm 1.5$	200
		Max 20	$\pm 1.0$	$\pm 0.5$	
BR100	166-0508-EDU	Min 10	$\pm 1.6$	$\pm 0.80$	200
		Max 100	$\pm 0.8$	$\pm 0.24$	
BR200	166-0507-EDU	Min 20	$\pm 1.2$	$\pm 0.60$	200
		Max 200	$\pm 0.8$	$\pm 0.25$	
BR1000	166-0508-EDU	Min 100	$\pm 1.6$	$\pm 0.40$	1000
		Max 1000	$\pm 0.7$	$\pm 0.20$	
BR5000	166-0509-EDU	Min 1000	$\pm 0.6$	$\pm 0.25$	5000
		Max 5000	$\pm 0.6$	$\pm 0.20$	
BR10000	166-0503-EDU	Min 1000	$\pm 2.5$	$\pm 0.6$	10000
		Max 10000	$\pm 0.8$	$\pm 0.3$	

Gli errori di precisione e di riproducibilità sono stati determinati usando i puntali **BIO-RAD** nei test gravimetrici eseguiti su un minimo di 10 prelievi dell'acqua distillata a temperatura di  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  secondo la norma EN ISO 8655.

La struttura delle pipette permette all'utente di procedere alla ricalibrazione secondo le istruzioni presentate nella sezione 8.

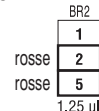
## 2 - REGOLAZIONE DEL VOLUME

Il volume indicato sul contatore digitale è composto di 3 cifre, da leggere dall'alto verso il basso. In aggiunta, nella parte più bassa del tamburo del contatore si trova una scala che permette di regolare il volume compreso nell'intervallo di una scala elementare. Alcuni esempi delle indicazioni con le cifre rosse e nere:

Le pipette **BR2**

Cifre rosse in basso =  $1/100 \mu\text{l}$

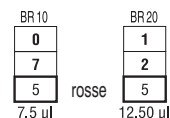
Scala elementare =  $0,002 \mu\text{l}$



Le pipette **BR10, BR20,**

Cifre rosse in basso =  $1/10 \mu\text{l}$

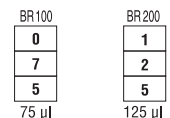
Scala elementare =  $0,02 \mu\text{l}$



Le pipette **BR100, BR200**

Solo cifre nere =  $1 \mu\text{l}$

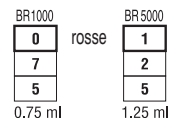
Scala elementare =  $0.2 \mu\text{l}$



Le pipette **BR1000, BR5000,**

Cifre rosse in alto - ml

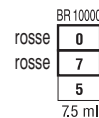
Scala elementare =  $2 \mu\text{l}$



Pipettes **BR10000**

Cifre rosse in alto - ml

Scala elementare =  $20 \mu\text{l}$



Il volume delle pipette viene determinato tramite una manopola montata sul pulsante di prelievo (fig.1A2) oppure una manopola di regolazione del volume (fig.1B). Per ottenere la massima precisione, il volume desiderato deve essere selezionato partendo da un volume più alto e riducendo man mano le indicazioni del contatore.

- Se il volume desiderato è inferiore a quello impostato sul contatore bisogna girare la manopola del pulsante di prelievo (fig.1A2) oppure la manopola di regolazione del volume (fig.1B) per diminuire le indicazioni del contatore fino al valore desiderato. Prima di raggiungere il valore desiderato bisogna ridurre la velocità di giro della manopola, badando a non superare il valore impostato.

- Se il volume desiderato è superiore a quello impostato sul contatore, girando la manopola del pulsante di prelievo oppure la manopola di regolazione del volume aumentare le indicazioni del contatore fino ad un valore superiore al valore desiderato di ca un terzo del giro del tamburo inferiore. Di seguito, girando lentamente la manopola, ridurre man mano il valore a quello desiderato, badando a non superarlo.

Se il valore desiderato viene superato, bisogna ricominciare la regolazione del volume. Il valore desiderato si regola sempre partendo da un volume superiore e procedere riducendo le indicazioni del contatore.

### 3 - PRELIEVO ED EROGAZIONE DI LIQUIDI

Montare il puntale sul gambo della pipetta. La scelta dell'adeguato puntale è descritta nella sezione 6. Montando il puntale, premerlo forte sul gambo con il moto rotatorio per assicurare una tenuta ermetica.

**NOTA: NON PRELEVARE MAI LIQUIDI CON LE PIPETTE BIO-RAD SENZA IL PUNTALE!**

#### Prelievo di liquido

Premere il pulsante di prelievo fino alla resistenza (fig. 2A). Tenendo la pipetta in posizione verticale, immergere il puntale nel liquido da prelevare. La profondità di immersione del puntale dipende dal modello della pipetta.

Modello	Profondità di immersione (mm)
BR2	≤ 1
BR10	≤ 1
BR20, BR100	2 - 3
BR200, BR1000	2 - 4
BR5000	3 - 6
BR10000	5 - 7

Per prelevare il liquido bisogna allentare il pulsante di prelievo lentamente e con movimento agile (fig. 2B). Prima di togliere il puntale dal liquido, attendere circa 1 secondo. Immergendo il puntale ad una profondità inferiore a quella raccomandata oppure allentando il pulsante rapidamente si rischia di prelevare l'aria.

**ATTENZIONE: non toccare il puntale usato.**

#### Erogazione di liquido

- Tenendo la pipetta declinata dal piane ad un angolo da 10 a 40 gradi accostare l'estremità del puntale alla parete interna della provetta.
- Premere lentamente e delicatamente il pulsante di prelievo fino alla resistenza comportando l'erogazione del liquido (fig. 2C).
- Dopo un secondo premere al massimo il pulsante al fine di espellere i residui del liquido dal puntale (fig. 2D).
- Tenendo il pulsante schiacciato al massimo, togliere la pipetta spostando il puntale lungo la parete della provetta.
- Di seguito rallentare completamente il pulsante di prelievo fino alla posizione iniziale (fig. 2E) ed espellere il puntale premendo il pulsante dell'espulsore (fig. 2F).

**NOTA: cambiando il liquido da prelevare, bisogna sostituire il puntale con un puntale nuovo.**

#### Filtri

Nelle pipette da 5000  $\mu$ l e da 10000  $\mu$ l viene usato un filtro ricambiabile, montato in una sede parte bassa del gambo (fig. 3L). Il filtro protegge contro il travaso del liquido prelevato nell'interno del gambo, con lo stesso anche contro la contaminazione dell'interno del gambo. L'uso del filtro è molto importante, in particolare nel prelievo e l'erogazione di grossi volumi di liquidi.

Se il filtro si bagna al prelievo, bisogna sostituirlo con uno nuovo.

### 4 - RISCIAQUO

Pipettando i liquidi di una densità superiore oppure la cui tensione superficiale è inferiore all'acqua (p. es. sieri o solventi organici), lo strato di liquido sulla parete si deposita sulla parete interna del puntale. Questo strato può creare un errore di misurazione. Siccome il volume di quello strato rimane più o meno costante nel corso delle successive operazioni di pipettaggio con lo stesso puntale, si può evitare l'errore formando lo strato prima della prima operazione. Per fare questo bisogna effettuare un ciclo completo di pipettaggio del liquido allo stesso recipiente. Dopo tale procedimento lo strato di liquido rimane nel puntale, assicurando una migliore precisione e riproducibilità delle operazioni successive.

## 5 - PRELIEVO DI LIQUIDI MOLTO DENSIE E VISCOSI

I valori degli errori di precisione e riproducibilità, indicati nella tabella di valori sono stati determinati pipettando l'acqua distillata. Quando si procede alle operazioni di pipettaggio di liquidi aventi le caratteristiche fisiche tipo densità, viscosità o tensione superficiale molto diverse dalle caratteristiche dell'acqua, può risultare necessaria una compensazione dei valori di volume.

Di solito l'errore risultante dalla densità o viscosità di liquido è da omettere se l'operazione viene effettuata lentamente e con prudenza. È molto importante procedere lentamente, affinché il liquido possa seguire le variazioni della pressione. Per far questo bisogna, ogni volta, aspettare almeno 2 secondi dopo il prelievo e l'erogazione di liquido senza cambiare la posizione della pipetta.

In casi particolari, quando questo metodo non assicura l'ottenimento dei risultati precisi, bisogna:

- regolare il volume del liquido da prelevare con la manopola e prelevare il liquido,
- pesare il volume prelevato del liquido,
- calcolare il valore del nuovo volume secondo la seguente formula:

$$\text{Nuovo valore} = 2 \times \text{valore nominale (volume da prelevare)} \cdot \frac{m}{\gamma}$$

*m* - massa del liquido prelevato nel primo pipettaggio  
*γ* - densità del liquido prelevato

Bisogna ripetere questo schema per evitare eventuali errori. Si può registrare il valore della correzione – ossia della differenza tra il valore del volume regolato sulla pipetta e il volume effettivamente prelevato per utilizzarlo durante il successivo pipettaggio dello stesso liquido.

## 6 - PUNTALI PER LE PIPETTE BIO-RAD

I puntali **BIO-RAD** sono realizzati in polipropilene di ottima qualità in un processo controllato, per cui si ottiene un prodotto della massima qualità. Tale qualità garantisce la compatibilità con le pipette **BIO-RAD** ed assicura un prelievo di liquidi preciso e riproducibile.

Gli errori di precisione e di riproducibilità delle pipette **BIO-RAD** sono stati individuati usando i puntali **BIO-RAD**. La sostituzione dei puntali con quelli di qualità inferiore può comportare il peggioramento della precisione e ri-

producibilità del prelievo.

### Puntali 10

Puntali destinati a prelevare i volumi da 0,1 a 10  $\mu\text{l}$ . Utilizzati per le pipette tipo BR2, BR10 munite di pulsante di pipettaggio rosso.

### Puntali 200

Puntali destinati a prelevare i volumi da 2 a 200  $\mu\text{l}$ . Utilizzati per le pipette tipo BR20, BR100, BR200 munite del pulsante di pipettaggio giallo.

### Puntali 1000

Puntali destinati a prelevare i volumi da 100 a 1000  $\mu\text{l}$ . Utilizzati per le pipette tipo BR1000 munite del pulsante di pipettaggio blu.

### Puntali 5000

Puntali destinati a prelevare i volumi da 1000 a 5000  $\mu\text{l}$ . Utilizzati per le pipette tipo BR5000 munite del pulsante di pipettaggio bianco.

### Puntali 10000

Puntali destinati a prelevare i volumi da 1000 a 10000  $\mu\text{l}$ . Utilizzati per le pipette tipo BR10000 munite del pulsante di pipettaggio bianco.

## 7 - RACCOMANDAZIONI

Il rispetto delle raccomandazioni sottoelencate assicura un prelievo di liquido preciso e riproducibile.

- Il pulsante di prelievo deve essere manipolato lentamente e con movimento agile.
- La profondità d'immersione del puntale nel liquido prelevato deve essere costante e possibilmente piccola.
- Mantenere la pipetta in posizione verticale.
- Bisogna sostituire il puntale se cambia il liquido da pipettare.
- Bisogna sostituire il puntale se vi rimangono le gocce di liquido visibili.
- Tutti i puntali nuovi devono essere sciaquati.
- Il liquido prelevato non deve mai entrare all'interno del gambo di pipetta. Per assicurare questo:
  - premere e allentare il pulsante di prelievo lentamente e con movimento agile.
  - non posare mai la pipetta quando nel puntale rimane il liquido.
  - non capovolgere la pipetta.

- Non regolare mai volumi oltre i valori nominali.
- Prima di pipettare liquidi ad una temperatura diversa dalla temperatura ambiente, si raccomanda di sciacquare il puntale più volte con il liquido prelevato.
- Non prelevare liquidi ad una temperatura superiore a 70°C.
- Terminato il prelievo di acidi e soluzioni aggressive si raccomanda di svitare il gambo della pipetta e di sciacquare lo stantuffo tuffante, la guarnizione e il gambo con l'acqua distillata.

## 8 - RICALIBRAZIONE

Le pipette **BIO-RAD** sono calibrate con il metodo gravimetrico, usando i puntali **BIO-RAD** e l'acqua distillata alla temperatura di  $20 \pm 1^\circ\text{C}$  conformemente alla norma EN ISO 8655.

Se nel corso di questa operazione si verifica che l'errore di precisione (la differenza tra il volume prelevato effettivamente e il volume impostato) supera il valore di tolleranza ammissibile nella tabella riportata nella sezione 1, bisogna ricalibrare la pipetta.

Prima di iniziare la ricalibrazione bisogna controllare se alla determinazione dell'errore sono state soddisfatte le seguenti condizioni:

- temperatura ambiente, temperatura della pipetta, dei puntali e dell'acqua erano identiche,
- la densità del liquido usato era simile a quella dell'acqua distillata,
- è stata usata una bilancia a sensibilità adeguata

Volume controllato [ $\mu\text{l}$ ]	sensibilità della bilancia [mg]
0.1 - 10	$\leq 0.001$
10 - 100	$\leq 0.01$
> 100	$\leq 0.1$

- si teneva conto del calcolatore  $\text{mg}/\mu\text{l}$ ,
  - sono state soddisfatti i requisiti di cui alle sezioni 3 e 7.
- Qualora tutte queste condizioni siano rispettate e l'errore di precisione per il volume impostato, riportato nella sezione 1 supera il valore ammissibile, bisogna procedere alla ricalibrazione della pipetta.

**La ricalibrazione può essere effettuata con un solo giro completo della chiave, a destra o a sinistra.**

## Condizioni di ricalibrazione:

- Temperatura ambiente, temperatura della pipetta, del puntale e del liquido deve rimanere nell'intervallo di  $20\text{-}25^\circ\text{C}$  e deve essere stabilizzata nel corso della pesatura nei limiti di  $\pm 0.5^\circ\text{C}$ ,
- Le misurazioni devono essere effettuate usando l'acqua distillata,
- La sensibilità della bilancia deve essere adeguata al volume controllato.

## Modo di procedere alla ricalibrazione:

o Impostare il volume della dose in funzione alla capacità della pipetta secondo la seguente tabella:

Modello	Intervallo della capacità della pipetta [ $\mu\text{l}$ ]	Volume impostato [ $\mu\text{l}$ ]	Valori ammissibili [ $\mu\text{l}$ ]	Variazione di volume al giro completo della chiave di calibrazione $\Delta V$ [ $\mu\text{l}$ ]
BR2	0.1 - 2	0.2	0.176 - 0.224	0.06
BR10	0.5 - 10	0.5	0.48 - 0.52	0.33
BR20	2 - 20	2	1.94 - 2.06	0.63
BR100	10 - 100	10	9.84 - 10.16	2.50
BR200	20 - 200	20	19.76 - 20.24	6.30
BR1000	100 - 1000	100	98.4 - 101.6	25.00
BR5000	1000 - 5000	1000	994 - 1006	125.00
BR10000	1000 - 10000	1000	975 - 1025	250.00

- effettuare 5 prelievi, pesandoli tutte le volte e calcolandone il valore.
- calcolare il volume medio prelevato in  $\mu\text{l}$ , moltiplicando il valore medio di prelievi [mg] per il coefficiente di densità dell'acqua distillata [ $\mu\text{l}/\text{mg}$ ] dipendente dalla temperatura e dalla pressione secondo la seguente tabella:

Temperatura [ $^\circ\text{C}$ ]	Pressione [kPa]		
	95.0	101.3	105.0
20	1.0028	1.0029	1.0029
21	1.0030	1.0031	1.0031
22	1.0032	1.0033	1.0033
23	1.0034	1.0035	1.0036
24	1.0037	1.0038	1.0038
25	1.0039	1.0040	1.0040

Se il volume medio prelevato supera i valori ammissibili, bisogna:

- Togliere il pulsante di prelievo (fig. 4A),

**Nota: Il pulsante di prelievo è composto di due parti: manopola (fig. 1A2) e pulsante (fig. 1A1). Dopo aver tolto il pulsante, le due parti rimangono distaccate.**

- Tenendo il pulsane di regolazione del volume, per evitare rotazione, inserire la chiave di calibrazione nei piccoli canali della vite di calibrazione (fig. 4B).
- Girare la chiave di calibrazione in senso orario per ridurre il volume prelevato oppure in senso antiorario per aumentare il volume. Un giro completo della chiave di calibrazione cambia il volume prelevato della pipetta di valori indicati nella tabella (fig. 4C).
- Togliere la chiave di calibrazione e mettere il pulsante di prelievo (fig. 4D). Montare il pulsante di prelievo mettendo sullo stelo prima la manopola (fig.1A1) e di seguito il pulsante (fig.1A2).

Impostare il volume medio di prelievo. Il volume medio deve essere compreso nell'intervallo dei valori ammissibili riportati nella tabella. Se tale volume supera i valori riportati nella tabella, bisogna ripetere la procedura di ricalibrazione.

Nel caso di pipettaggio di liquidi delle caratteristiche fisiche molto diverse da quelle dell'acqua, bisogna procedere secondo le istruzioni della sezione 5.

## 9 - ELIMINAZIONE DI PICCOLE ANOMALIE

In caso di scorretto funzionamento della pipetta bisogna verificarne la causa ed eliminare l'anomalia. Eliminando l'anomalia, seguire la sequenza riportata nelle istruzioni. La sostituzione delle parti deve essere considerata come soluzione definitiva, che non dovrebbe accadere, se la pipetta viene usata correttamente.

**Nel puntale rimangono le gocce di liquido.**

- Svuotamento del puntale è troppo veloce.  
**Ridurre la velocità di pressione del pulsante di pipettaggio.**
- Il puntale troppo bagnato, conseguente all'uso frequente.  
**Sostituire il puntale.**

**Nel liquido prelevato nel puntale appaiono le bolle d'aria.**

- La profondità di immersione è troppo poca.  
**Immergere il puntale secondo le istruzioni.**
- Il puntale risulta appena premuto nel gambo della pipetta.  
**Premere più forte.**
- Il puntale è rotto o usato più volte.  
**Sostituire il puntale.**

**La pipetta preleva scorrettamente oppure il liquido fuoriesce dal puntale.**

- Il puntale è appena premuto nel gambo della pipetta.  
**Premere più forte.**
- Il dado di fissaggio del gambo risulta svitata (fig. 3F) nelle pipette BR2 – BR1000.  
**Avvitare il dado di fissaggio.**
- La superficie di guarnizione del gambo risulta rotta o danneggiata.  
**Togliere l'espulsore, svitare il dado, controllare il gambo e lo stantuffo tuffante. Sostituire le parti difettose (vedi sezione 12), montare la pipetta stringendo il dado.**  
**Nelle pipette BR2, BR10 e BR20 il danno del dado può portare al danneggiamento dello stantuffo tuffante. Sostituire le parti difettose (vedi sezione 12), montare la pipetta stringendo bene il dado.**  
**Per togliere l'espulsore nelle pipette BR5000 e BR10000 bisogna togliere il pulsante dell'espulsore (fig. 3N) e con un cacciavite svitare l'espulsore girando il cacciavite in senso anti-orario.**

- Danneggiamento dello stantuffo o della guarnizione della pipetta causato da un pipettaggio prolungato di liquidi aggressivi

**Smontare la pipetta come sopra. Sostituire il gruppo stantuffo, la guarnizione e l'O-ring (vedi la sezione 12). Lavare l'interno del gambo con l'acqua distillata. Lubrificare la guarnizione e l'O-ring con il grasso di dotazione ad ogni pipetta. La sostituzione dello stantuffo richiede la procedura di ricalibrazione della pipetta.**

**Nelle pipette BR2, BR10 bisogna badare che gli elementi lubrificati siano coperti in modo omogeneo con un minimo strato del lubrificante.**

- Irregolare montaggio della pipetta.  
**Smontare la pipetta e rimontarla rispettando l'ordine di montaggio corretto (fig. 3).**



- Manca il lubrificante sugli elementi di guarnizione.  
**Togliere l'espulsore. Svitare il dado di fissaggio del gambo. Togliere il gambo, il gruppo stantuffo, la guarnizione e l'O-ring. Lavare i pezzi tolti con l'acqua distillata e asciugarli. Lubrificare le superfici interne della guarnizione e dell'O-ring con un fine strato del lubrificante in dotazione ad ogni pipetta. Riasssemblare la pipetta.**

- Contaminazione dell'interno della pipetta causata da un pipettaggio prolungato dei liquidi aggressivi chimicamente oppure dalla penetrazione di liquidi.  
**Togliere l'espulsore. Svitare il dado di fissaggio del gambo. Togliere il gambo, il gruppo stantuffo, la guarnizione e l'O-ring. Lavare i pezzi tolti con l'acqua distillata e asciugarli. Lubrificare le superfici interne della guarnizione e dell'O-ring con il lubrificante in dotazione ad ogni pipetta. Riasssemblare la pipetta.**

**Aumento della forza di pipettaggio, verificatosi dopo più autoclavaggi della pipetta.**

**Togliere l'espulsore. Svitare il dado di fissaggio del gambo. Togliere il gambo, il gruppostantuffo, la guarnizione e l'O-ring. Lavare i pezzi tolti con l'acqua distillata e asciugarli. Lubrificare le superfici interne della guarnizione e dell'O-ring con il lubrificante in dotazione. Riasssemblare la pipetta.**

**Nota: Tutte le parti della pipetta si possono autoclavare, vedi sezione 10.**

**I gambi dei modelli 5000 e 10000 bisogna autoclavare senza filtro.**

Se la realizzazione delle operazioni sopraelencate non porta all'eliminazione dell'irregolare funzionamento della pipetta, rispedire la pipetta all'assistenza tecnica **BIO-RAD**.

Prima di spedire la pipetta, assicurarsi che la pipetta non sia stata contaminata da agenti chimici aggressivi, radioattivi, microbiologici che potrebbero costituire un rischio durante il trasporto o la riparazione. Pulire la pipetta, se possibile.

## 10 – PULIZIA E STERILIZZAZIONE

### Pulizia:

Le parti esterne del pulsante di pipettaggio, del pulsante dell'espulsore, del manico e della manopola di calibrazione si possono lavare con un panno imbevuto di isopropanolo. Le altre parti, tolte dalla pipetta durante lo smontaggio si possono lavare con l'acqua distillata o con isopropanolo.

### Sterilizzazione:

L'intera pipetta può essere autoclavata alla temperatura di 121°C per 20 minuti. Dopo la sterilizzazione la pipetta deve essere asciugata e raffreddata fino alla temperatura ambiente.

### Si raccomanda:

- autoclavare le pipette nel ciclo a vuoto preliminare ed asciugarle,
  - prima di autoclavare, svitare leggermente il dado di fissaggio del gambo nelle pipette BR2-BR1000, mentre nelle pipette BR5000 e BR10000 – svitare leggermente il gambo. Dopo la sterilizzazione riavvitare tutte le parti.
- Se la pipetta viene usata correttamente e il processo di autoclavaggio è corretto, non cambia la riproducibilità dei risultati ottenuti. In quanto si può verificare una leggera variazione della precisazione del dosaggio, si raccomanda di:
- controllare la calibrazione delle pipette dopo il 1., 3. e 5. autoclavaggio e ogni 10 cicli di autoclavaggio nel successivo periodo di impiego delle pipette.

**11 – KIT PIPETTA**

Le pipette sono fornite con il seguente kit:

- Pipetta
- Manuale d'istruzione
- Chiave di calibrazione
- Supporto pipetta
- Boccole di regolazione espulsore (per le pipette BR2-BR1000)
- Tappo espulsore (per le pipette BR5000 e BR10000)
- Puntali
- Etichette d'identificazione
- Filtri (per le pipette BR5000 e BR10000)
- Lubrificante

Schema di montaggio del supporto è riportato nella figura 5.

**12 – PARTI DI RICAMBIO**

Le parti di ricambio per le pipette **BIO-RAD** sono rappresentate nelle figure 3, 4 e 6.

**A: Pulsante di prelievo**   **A1: Pulsante**   **A2: Manopola**

**B: Manopola di impostazione del volume**

**C: Gambo**

**D: Espulsore**

**F: Dado di fissaggio del gambo**

**G: Gruppo stantuffo tuffante**

**H: Boccole di regolazione**

**I: O-ring**

**J: Guarnizione**

**K: Chiave di calibrazione**

**L: Filtro**

**M: Tappo per espulsore**

**N: Pulsante dell'espulsore**

Per ordinare le parti di ricambio per le pipette, specificare il tipo di pipetta, il suo numero di catalogo, numero di serie e la denominazione della parte di ricambio.

**ATTENZIONE: La sostituzione del gruppo stantuffo richiede la messa in atto della procedura di ricalibrazione secondo la sezione 8.**