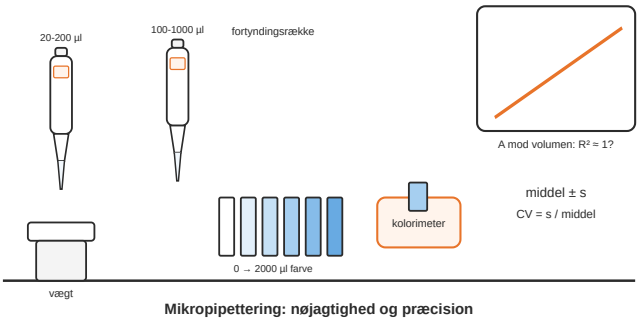
Mikropipettering: nøjagtighed og præcision

Navn: Klasse: Dato:

> **Hvor nøjagtigt og hvor præcist kan vi afmåle små volumener med en mikropipette, og hvordan kan vi kontrollere det?**



Mikropipettering: nøjagtighed og præcision

Vores hypotese

Det skal I bruge

- Kit: Øvelser i mikropipettering
- Mikropipette, justerbar, 2-20 µl
- Mikropipette, justerbar, 20-200 µl
- Mikropipette, justerbar, 100-1000 µl
- Kern vægt 620 g/0,001 g (PNJ 600-3M)
- Vejebåd, plast 44 x 44 x 10 mm,
- Kolorimeter og turbiditetssensor, trådløs (PASCO PS-3215)
- Kuvetter, polystyren, 10 x 10 mm
- Frugtfarve, blå
- Vand, demineraliseret
- Bægerglas 100 ml
- Beskyttelsesbriller, komfort
- Pipettespidser, der passer til de tre mikropipetter (standard spidser til 10, 200 og 1000 µl)
- Affaldsbæger til brugte spidser
- Køkkenrulle
- Tablet eller computer med SPARKvue og evt. regneark

Sikkerhed

Væskerne i øvelsessættet og frugtfarven er ikke farlige, men intet må smages i laboratoriet. Brug beskyttelsesbriller, så elever vænner sig til det fra første modul. Mikropipetter går i stykker, hvis de drejes ud over deres område, hvis de lægges ned med væske i spidsen, eller hvis væske suges op i selve pipetten: hold pipetten lodret, og slip stemplet langsomt. Frugtfarve farver hud og tøj.

Sådan gør I

1. Øv jer først med øvelsessættets farvede væsker og pipettekort: indstil volumenet, tryk ned til første stop, sug langsomt op, og tøm ved at trykke ned til andet stop. Skift spids mellem væskerne.
2. Vejetest: Stil en vejebåd på vægten, og nulstil. Indstil 20-200 µl-pipetten til 200 µl, og pipettér demineraliseret vand i båden. Notér massen. Gentag, til I har ti portioner (nulstil ikke, men notér stigningen hver gang).
3. Gentag vejetesten med 100-1000 µl-pipetten indstillet til 1000 µl. Hver elev i gruppen tager mindst tre portioner.

4. Beregn volumenet af hver portion (vand: ca. 0,998 g/ml), middelværdien, spredningen og variationskoefficienten CV = s / middel. Sammenlign middelværdien med det indstillede volumen.
5. Fortyndingsrække: Lav en stamopløsning af 3 dråber blå frugtfarve i 100 ml demineraliseret vand. Pipettér 0, 400, 800, 1200, 1600 og 2000 µl stamopløsning i seks kuvetter, og fyld op med demineraliseret vand til 2000 µl i alt.
6. Tænd kolorimeteret, forbind det i SPARKvue, og nulstil med kuvetten med 0 µl. Mål absorbansen ved den kanal, der giver størst udslag (orange eller rød), for alle kuvetterne.
7. Plot absorbansen som funktion af volumenet af stamopløsning, og lav lineær regression. En R^2 over 0,99 tyder på god pipettering. Find det punkt, der afviger mest, og diskutér hvorfor.

Vores målinger

Portion	Masse i alt (g)	Portionens masse (g)	Volumen (µl)	Afvigelse (µl)

Graf eller tegning

Spørgsmål

1. Hvor stor var CV for 200 µl og for 1000 µl? Hvilket volumen var mest præcist?

2. Lå middelværdien over eller under det indstillede volumen? Hvad kan være årsagen?

3. Var der forskel på gruppens medlemmer? Hvad gjorde den mest præcise anderledes?

4. Hvorfor er det vigtigt at skifte spids, når man skifter væske?

5. Hvordan ville en pipetteringsfejl på 10 % påvirke resultatet af et senere forsøg, fx en standardkurve eller en PCR?

Vores konklusion