

Chương 2

DỤNG CỤ CƠ BẢN TRONG PHÒNG XÉT NGHIỆM

MỤC TIÊU HỌC TẬP

1. Trình bày được cách sử dụng cân, nồi hấp.
2. Phân loại được các dụng cụ phòng thí nghiệm.
3. Trình bày được cách sử dụng các loại pipet trong phòng thí nghiệm.
4. Thực hành sử dụng được cân, nồi hấp, sử dụng, hiệu chỉnh pipet và thực hành rửa các dụng cụ thủy tinh.

Các thiết bị và dụng cụ trong phòng xét nghiệm phụ thuộc vào quy mô và số lượng xét nghiệm của phòng xét nghiệm. Những phòng xét nghiệm nhỏ có thể chỉ có kính hiển vi, tủ lạnh, máy ly tâm. Các phòng xét nghiệm lớn có các loại thiết bị khác nhau như máy đo pH, nồi hấp, cân, máy ủ, bể ủ nhiệt và các thiết bị phân tích. Các thiết bị và dụng cụ cần phải được vận hành hay sử dụng đúng. Nhân viên cần phải biết cách sử dụng đúng, chăm sóc, bảo dưỡng và đôi khi có thể phải sửa chữa thiết bị hoặc dụng cụ.

1. CÂN

1.1. Mục đích

- Xác định trọng lượng của vật:
- + Gam (g), Decigam (dg), Centigam (cg).
- + Miligam(mg), Kilogam(kg).
- Là dụng cụ cần thiết trong PXN.

1.2. Yêu cầu

Phải đảm bảo là những cân tốt, được thiết kế phù hợp với mục đích phân tích.

1.3. Điều kiện một cân tốt

- *Cân đúng*: Cân có 2 cánh tay đòn tuyệt đối bằng nhau. Đối vật ở 2 đĩa cân cho nhau sau khi lấy thăng bằng, cân vẫn giữ nguyên vị trí.
- *Cân nhạy*: Khi cân thăng bằng, thêm vào một bên đĩa cân một khối lượng rất nhỏ, kim cân bị lệch đi rõ rệt (các cạnh dao cân phải sắc, thớt cân nhẵn, cứng, đòn cân, quang cân phải nhẹ).
- *Cân tin*: Xê dịch vị trí của vật cân trên đĩa cân, đòn cân vẫn thăng bằng (đòn cân phải cứng, cạnh của dao cân sắc và song song với nhau).

1.4. Phân loại

1.4.1. Cân có 2 cánh tay đòn bằng nhau

- Cân đĩa Roberval:

Là loại cân có 2 cánh tay đòn bằng nhau, có 2 đĩa cân đặt ở 2 bên cán cân. Dùng để cân một khối lượng lớn (có thể tới 10 kg) dùng để cân bằng trước khi ly tâm không cần độ chính xác cao. Độ nhạy bằng 0,5 g.

- Cân quang:

Là loại cân có 2 cánh tay đòn bằng nhau. Có 2 đĩa cân treo trên 2 quang cân, cân này chính xác hơn cân đĩa, về cấu tạo gần giống cân phân tích nhưng không có tủ cân. Độ nhạy là 5 - 10 mg.

- Cân phân tích:

Là loại cân có 2 cánh tay đòn bằng nhau. Có 2 đĩa cân treo trên 2 quang cân. Có tủ cân bằng kính để bảo vệ cân, dùng cân khối lượng tới 100 g. Độ nhạy là 0,01-0,1mg.

- Đơn vị cân:

+ Quả cân:

✓ Gang, đồng, sứ..., hình trụ, tháp có lớp mạ chống rỉ.

✓ Trọng lượng: 1 kg, 500 g, 100 g, 50 g, 20 g, 10 g, 5 g, 2 g, 1 g.

+ Lá cân:

✓ Nhôm, trọng lượng: 500 mg, 200 mg, 100 mg, 50 mg, 20 mg.

+ Con mã:

✓ Dây kim loại uốn cong hình W, hợp kim mỏng.

✓ Trọng lượng từ 20 mg đến 1 mg (hoặc từ 20 mg - 1 g).



Hình 2.1. Cân có hai cánh tay đòn bằng nhau

1.4.2. Cân có 2 cánh tay đòn không bằng nhau

- Cân điện: là loại cân chỉ có một đĩa cân. Tùy nơi sản xuất cân điện có cấu tạo khác nhau.
- Loại cân điện: có tủ cân bằng kính, 2 cửa ở 2 bên cạnh, bọt nước để chỉnh cân thăng bằng ở trên nóc tủ cân, có núm điều chỉnh khối lượng khi cân, có màn hình hiện số, khi cân đạt khối lượng cần xác định.
- Có loại cân điện không có tủ cân, chỉ có bàn cân (đĩa cân).



Cân
điện
có tủ
cân



Cân
điện
không
có tủ
cân



Hình 2.2. Cân có hai cánh tay đòn không bằng nhau

1.5. Các phép cân

1.5.1. Phép cân đơn

So sánh khối lượng của vật cân với quả cân ở 1 bên cánh tay đòn (kém chính xác, trọng lượng của 2 bên cánh tay đòn có thể không bằng nhau).

1.5.2. Phép cân kép

So sánh khối lượng của vật cân với quả cân trên cùng một cánh tay đòn (dù 2 cánh tay đòn không bằng nhau phép cân này vẫn chính xác).

- Cân kép kiểu Boocda (xác định một lượng hóa chất cần có):
 - + Lót giấy cân vào 2 bên đĩa cân lấy thăng bằng.
 - + Đặt quả cân lên đĩa cân bên phải.
 - + Cho cát vào đĩa cân bên trái cho tới khi thăng bằng.
 - + Lấy quả cân ra, cho hoá chất vào tới khi thăng bằng.

- Cân kép kiểu Lô môn xôp (khi xác định khối lượng của 1 vật).
- + Lót giấy cân vào 2 bên đĩa cân, lấy thăng bằng.
- + Đặt quả cân có khối lượng lớn hơn khối lượng ước đoán của vật vào đĩa cân bên phải.
- + Thêm cát vào đĩa cân bên trái cho tới khi thăng bằng.
- + Đặt vật cần cân vào đĩa bên phải - rút bớt quả cân ra cho tới khi thăng bằng (khối lượng của vật bằng khối lượng của quả cân rút ra).

1.6. Các bước thực hiện cân

1.6.1. Bước 1: Chuẩn bị dụng cụ

- Số lượng quả cân, lá cân (cân thăng bằng).
- Chén cân, giấy cân, thìa lấy hóa chất...
- Vật định cân.
- Chai, lọ, cốc mở...

1.6.2. Bước 2: Thăng bằng trước khi cân

- Cân thăng bằng: hai đĩa cân cùng nằm trên một đường thẳng.
- Cân điện: vặn ốc ở 2 bên dưới để cân để cho bọt nước trong mặt kính vào chính giữa lỗ tròn.
- Gấp giấy cân (chén cân) đặt vào đĩa cân để lấy thăng bằng.

1.6.3. Bước 3: Thực hiện cân

- Cân điện: Đặt vật định cân lên giấy cân (chén cân). Nhìn vào màn hình số xác định khối lượng của vật.
- Cân thăng bằng: Đặt vật định cân lên giấy cân (chén cân) ở đĩa cân bên trái. Đặt quả cân lên đĩa cân bên phải để lấy thăng bằng. Tính khối lượng của quả cân.

1.6.4. Bước 4: Ghi khối lượng của vật đem cân

1.6.5. Bước 5: Chuyển vật hoặc hoá chất đã cân ra lọ chứa, tránh rơi vãi ra ngoài

1.6.6. Bước 6: Cho cân về vị trí nghỉ

Lau chùi cân, đĩa cân quả cân, lá cân bằng vải mềm, xếp quả cân theo đúng thứ tự trong hộp cân.

1.6.7. Bảo quản cân

- Đặt cân ở một bàn riêng, bằng phẳng, cao ráo, đủ ánh sáng, tránh gió làm ảnh hưởng đến việc cân.
- Khi di chuyển cân phải tháo cân ra (rất hạn chế việc di chuyển).
- Không cân nặng quá sức của cân (thường sức cân được ghi trên cán cân).
- Không cân vật quá nóng hoặc quá lạnh.

- Khi cân phải lót giấy cân vào đĩa cân (cân các chất lỏng, cân xút viên (NaOH) phải cho vào chén cân).
- Khi cân không tỳ tay lên bàn cân để tránh rung làm sai lệch vị trí thăng bằng của cân.
- Lau chùi cân nhẹ nhàng bằng vải mềm.
- Không bôi dầu mỡ vào cân.
- Đặt cân vào trong hòm kín có chất chống ẩm (Silicagen).
- Thường xuyên kiểm tra quả cân, lá cân và xếp theo thứ tự, lau khô, sạch, phải dùng kẹp để gấp quả cân (không dùng tay).
- Khi mở cân chỉ mở 2 bên cánh cửa cân.
- Khi cân có sai lệch phải báo cáo thợ sửa chữa không được tự ý sửa chữa.

2. NỒI HẤP

2.1. Vận hành

Nồi hấp sử dụng hơi dưới điều kiện áp suất để khử trùng các dụng cụ phẫu thuật, thiết bị nha khoa, dung dịch và vật liệu dùng trong vi sinh. Nồi hấp được sử dụng để khử nhiễm các vật liệu như mẫu máu, môi trường nuôi cấy vi khuẩn hay các dụng cụ chứa chất nguy hiểm sinh học trước khi loại bỏ.

Nồi hấp có kích cỡ lớn hoặc nhỏ (để bàn). Các nồi hấp lớn lấy hơi từ một bộ phận điều khiển hơi bên trong hoặc từ ống kết nối với máy tạo hơi nước. Nồi hấp có kích thước nhỏ hơn tự lấy hơi bằng cách đun nóng nước.

Các dụng cụ được khử nhiễm đặt trong các túi, bọc trong giấy hoặc đặt trong vật chứa cách nhiệt. Chất chỉ thị được đặt trong nồi hấp chuyển màu khi đạt được nhiệt độ hợp lý. Điều kiện nồi hấp thường được cài đặt 121°C trong khoảng 15 đến 20 phút. Kết thúc chu kỳ, áp suất và nhiệt độ sẽ giảm, nồi hấp được mở khi đồng hồ đo áp suất buông về 0.

2.2. An toàn vận hành

Do hoạt động dựa theo điều kiện nhiệt độ và áp suất cao cần phải rất cẩn trọng trong khi vận hành. Nồi hấp tuyệt đối chỉ được mở khi áp suất trở về 0. Khi hấp diệt trùng chất lỏng, cần phải đóng hờ nắp, vật liệu phải chịu nhiệt và không đựng vượt quá nửa vật liệu chứa

2.3. Đánh giá chất lượng

Thanh chỉ thị chứa bào tử của vi khuẩn *Bacillus stearothermophilus* được sử dụng để kiểm tra hiệu quả của quá trình tiệt trùng. Thanh được hấp khử trùng, sau đó được ủ trong môi trường nuôi cấy vi khuẩn. Nếu vi khuẩn không mọc xác nhận hiệu quả của quá trình hấp và ngược lại. Việc sử dụng nồi hấp hàng ngày cần phải được ghi chép lại.

3. THIẾT BỊ ĐO PH

3.1. Vận hành

Máy đo pH đo nồng độ ion H^+ trong dung dịch cho biết dung dịch có tính acid hay base. Thang đo pH từ 0 đến 14. Điện cực pH được kết nối với máy đo phát hiện nồng độ ion H^+ bằng cách so sánh với điện cực tham chiếu. Máy đo pH sẽ đo hiệu điện thế đi qua màng bên trong điện cực. Hầu hết các máy đều sử dụng điện cực kết hợp đơn, chứa cả điện cực phát hiện và điện cực tham chiếu trong cùng một thân (probe). Khi nhúng điện cực vào dung dịch chưa biết, điện thế của dung dịch chưa biết sẽ được so sánh với điện thế tạo ra của điện cực tham chiếu. Sự chênh lệch này sẽ được chuyển từ tín hiệu điện ra thang pH. Nếu pH của dung dịch quá thấp có thể thêm vài giọt dung alkaline hoặc NaOH, và ngược lại nếu pH của dung dịch quá cao, có thể sử dụng HCl hoặc acid acetic để làm giảm pH.

3.2. An toàn vận hành

Lưu ý khi sử dụng các hóa chất acid hay base khi điều chỉnh pH của dung dịch. Hóa chất khi tràn, rơi vãi cần phải được lau sạch. Máy đo phải được ngắt kết nối điện trước khi có bất kỳ sửa chữa nào.

3.3. Đánh giá chất lượng

Điện cực pH cần được rửa lại bằng nước cất giữa các lần đo, không được sử dụng nước thường. Điện cực phải được hiệu chuẩn sử dụng giá trị pH đã biết, thường là pH 4.0, 7.0 và 10.0.

4. DỤNG CỤ PHÒNG THÍ NGHIỆM

Dụng cụ phòng thí nghiệm bao gồm: các chai, lọ; cốc thủy tinh (beakers), bình chứa (flasks), các loại ống nghiệm (test tubes), ống đong (graduated cylinders) và pipet.

Dụng cụ phòng thí nghiệm có 2 loại chất liệu: thủy tinh hoặc plastic

Dụng cụ thủy tinh: có thể từ chất liệu kính flin (flint glass), thủy tinh borosilicate hoặc thạch anh.

4.1. Yêu cầu đối với dụng cụ thủy tinh dùng trong phòng thí nghiệm

Chịu hóa chất: là thủy tinh trung tính, chịu được hầu hết các hóa chất, dung dịch ăn mòn mạnh ở nhiệt độ cao (ngoại trừ HF là dung dịch acid có độ ăn mòn cao nhất thậm chí tại nồng độ thấp).

Tính chất nhiệt: chịu được nhiệt độ cao, shock nhiệt.

Ngoài ra dụng cụ thủy tinh dùng cho phòng thí nghiệm cần phải sạch về mặt hoá học (không dính các chất hữu cơ hoặc vô cơ) và sạch về mặt vi sinh vật học (không chứa bất kỳ tế bào vi sinh vật hay bào tử của chúng). Do vậy, trước khi sử dụng thì cần được rửa sạch và khử nhiễm.

Dụng cụ plastic: có thể từ vật liệu poly-ethylen, polypropylen và polysteren.

4.2. Yêu cầu đối với dụng cụ plastic dùng trong phòng thí nghiệm

Những dụng cụ bằng plastic có ưu điểm hơn so với dụng cụ thủy tinh trong phòng thí nghiệm: ít bị vỡ, giá thành rẻ và an toàn hơn vì có thể dùng một lần. Nhưng chúng cũng có một số nhược điểm: dễ thấm với không khí, dễ bị oxy hóa, bị thay đổi bởi pH và không khử trùng được. Hiện nay các vật liệu nhựa plastic có độ bền cao với các điều kiện thí nghiệm thường ít thông dụng, vì vậy khi sử dụng dụng cụ bằng plastic cần chú ý:

- Không sử dụng với những chất oxy hóa mạnh.
- Không để tiếp xúc trực tiếp với lửa hoặc kim loại nóng.

Chức năng của các dụng cụ phụ thuộc vào kích cỡ và tiêu chuẩn sản xuất. Một vài dụng cụ như chai, lọ, cốc mỏ và bình nón được xếp vào nhóm dụng cụ không đo lường. Các dụng cụ khác được thiết kế chuẩn, được dùng với các phép đo đòi hỏi độ chính xác được xếp vào nhóm dụng cụ đo lường.

4.3. Chai, lọ

Các loại chai, lọ hóa chất với các kích cỡ và các loại khác nhau. Các chai nhựa nên được sử dụng đựng cho tất cả các loại hóa chất mà không tương tác với chất liệu nhựa. Hóa chất không nên được lưu trữ trong thời gian dài trong các bình thủy tinh có chất lượng thấp vì có thể giải phóng chậm các ion vào hóa chất. Các chai hóa chất nên lớn hơn thể tích cần chứa. Chất liệu plastic hoặc kính tối màu được sử dụng cho các hóa chất nhạy cảm ánh sáng.



Hình 2.3. Các loại chai lọ thủy tinh trong phòng thí nghiệm

4.4. Cốc thủy tinh

Cốc thủy tinh (cốc mỏ): Dùng để hòa tan các chất và đong các dung dịch với dung tích lớn, độ chính xác không cao. Thân cốc có vạch chia độ. Phần miệng cốc rộng hơn đáy cốc. Có nhiều loại: 100 mL, 250 mL, 500 mL... Để ước tính thể tích cần đong, cần lựa chọn thể tích cốc mỏ gần nhất.

4.5. Bình chứa

- *Bình nón*: có hình thon, cổ hẹp. Dùng trong chuẩn độ.

- **Bình định mức:** Bình có cổ dài, nhỏ. Trên cổ có gắn đánh dấu dung tích của bình. Độ chính xác cao. Bình được dùng để pha các dung dịch có độ chính xác cao và các dung dịch bay hơi. Có nhiều loại: 50 mL, 100 mL, 200 mL...



Hình 2.4. Bình định mức các thể tích khác nhau

4.6. Các loại ống nghiệm, phễu

- Phễu: chuyển dung dịch vào bình chứa hoặc dùng trong thí nghiệm.
- Ống nghiệm: 10 mL đến 30 mL. Dùng trong tiến hành thí nghiệm.

4.7. Ống đong

Có vạch chia thể tích trên thân, độ chính xác không cao. Có nhiều kích cỡ: 5 mL, 10 mL, 25 mL, 50 mL, 100 mL... Ống đong càng lớn, độ chính xác càng kém. Khi đong, chọn ống đong có khối lượng gần nhất với khối lượng cần đong. Ví dụ: đong 45 mL dùng ống đong loại 50 mL, đong 850 dùng ống đong 1000 mL. Để tránh sai lầm khi đọc mức đong, phải đặt ống đong trên một mặt phẳng và tầm mắt ngang tầm với bề mặt chất lỏng.

4.8. Pipet

4.8.1. Pipet Pasteur

Pipet Pasteur chất liệu bằng thủy tinh hoặc nhựa được dùng để lấy giọt hoặc mL với thể tích không chính xác. Bình thường, đầu hút pipet thường được hàn kín bằng nhiệt, khi sử dụng phải dùng kẹp bẻ một phần đầu hút pipet rồi mới tiếp nối pipet vào quả bóp cao su hoặc trợ pipet để sử dụng. Sau sử dụng loại pipet này có thể sấy khử trùng rồi hủy bỏ, hoặc có thể rửa làm sạch, kéo lại đầu hút pipet và làm kín lại bằng nhiệt để tái sử dụng.



Hình 2.5. Pipet Pasteur

Cách sử dụng:

- Bóp nhẹ nhàng để thả từng giọt.
- Pipet luôn giữ ở tư thế thẳng đứng.
- Nếu có bọt phải thả hết bọt ra trước.
- Mỗi “giọt chuẩn” có thể tích là 50 μL , 20 giọt sẽ là 1 mL.

4.8.2. Pipet định mức và pipet chia độ

4.8.2.1. Pipet định mức (pipet có bầu)

Pipet định mức được thiết kế để lấy một thể tích cố định các dung dịch dạng nước một cách chính xác. Độ tin cậy của việc hiệu chuẩn các pipet định mức giảm đi khi thể tích pipet giảm, do vậy người ta đã chế tạo các micropipette đặc biệt.

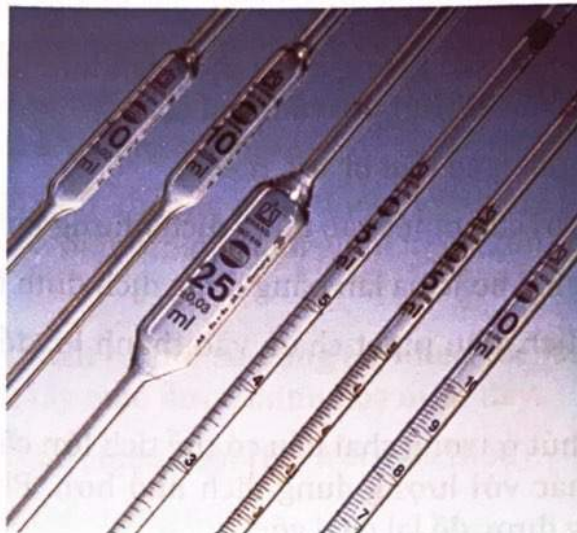
Trên thân có bầu hoặc ngấn dùng để lấy thể tích cần độ chính xác cao.

Pipet Ostwald - Folin tương tự như pipet định mức nhưng bầu gần với đầu dưới hơn và được dùng để đo lường thể tích chính xác các loại dịch quánh như máu, huyết thanh.

Dung tích của pipet ghi trên bầu, có nhiều loại: 2 mL, 5 mL, 10 mL...

- *Loại thả hết:* dung tích của pipet tính từ ngấn đến hết phía dưới của pipet. Khi sử dụng nhả hết lượng dung dịch có trong pipet.

- *Loại không thả hết:* Dung tích của pipet tính từ ngấn trên đến ngấn dưới. Khi sử dụng nhả đến ngấn phía dưới của pipet, không nhả hết toàn bộ lượng dung dịch có trong pipet.



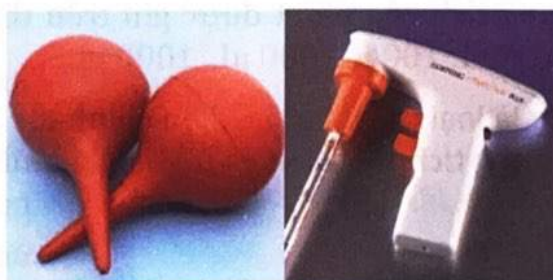
Hình 2.6. Pipet thủy tinh định mức và pipet thủy tinh chia vạch

4.8.2.2. Pipet chia độ

- Có nhiều vạch trên thân để chia dung tích trong ống. Có thể bằng thủy tinh hoặc bằng nhựa dùng một lần.
- Loại pipet này dùng để lấy thể tích nhỏ 1 - 10 mL. Độ chính xác không cao.
- Có hai loại 1 ngăn và 2 ngăn.

4.8.3. Cách sử dụng pipet với quả bóp cao su hoặc trợ pipet

- Tay thuận cầm pipet bằng ngón cái và ngón giữa. Ngón trỏ dùng để bịt đầu pipet.
- Hút dung dịch vào pipet bằng quả bóp cao su đến quá vạch cần lấy. Hiện nay còn có một số dụng cụ hỗ trợ hút loại pipet này thay thế cho dùng quả bóp.
- Bỏ quả bóp cao su ra và dùng ngón trỏ bịt phần trên.
- Cầm pipet thẳng đứng, mở ngón trỏ nhẹ nhàng điều chỉnh về vạch 0 hoặc vạch cần lấy.
- Thả dung dịch vào bình hoặc ống nghiệm đến vạch cần dùng
- Tùy thuộc vào loại pipet mà yêu cầu thả hết toàn bộ, không thả hết (thả đến vạch dưới) hoặc phải đẩy hết dung dịch sau khi thả.



Hình 2.7. Trợ pipet

Lưu ý:

- Chọn pipet phù hợp với lượng dung dịch cần hút. không lấy loại pipet lớn quá gấp 2 lần thể tích cần lấy để hút để tránh sai số.
- Không sử dụng pipet có đầu bị nứt, mẻ.
- Cắm sâu đầu dưới của pipet vào dung dịch nhưng không chạm đáy lọ.
- Hút tráng pipet hai hoặc ba lần bằng dung dịch định hút.
- Khi nhả dung dịch, đầu pipet chạm vào thành lọ, để dung dịch chảy từ từ vào lọ, tránh tạo bọt.
- Dung dịch cần hút ở trong chai nếu có thể tích lớn cần được chuyển ra một chai khác hoặc bình khác với lượng dung dịch nhỏ hơn. Phần còn lại sau khi sử dụng pipet để lấy không được đổ lại chai gốc.
- Không sử dụng quả bóp cao su hoặc trợ pipet đẩy hết giọt cuối cùng còn đọng lại ở đầu pipet để tránh tạo khí dung.
- Pipet thủy tinh sau khi sử dụng cần được sấy khử trùng, dùng kẹp nhỏ lấy bông ở đầu trên ra rồi ngâm vào dung dịch tẩy rửa đồ thủy tinh, sau đó rửa, sấy khô, đóng gói để tái sử dụng.

4.8.4. Micropipette



Hình 2.8. Pipet tự động một kênh và nhiều kênh

Micropipet hay thường gọi là pipet tự động, là pipet có thể hút lượng mẫu nhỏ từ 0,2 đến 1ml.

Có hai loại: pipet cố định và pipet bán cố định.

- *Pipet cố định*: dung tích của pipet được ghi trên thân, không thể thay đổi thể tích. Có nhiều loại bao gồm: 100 μL , 500 μL , 1000 μL ...
- *Pipet bán cố định*: là loại pipet có thể điều chỉnh thể tích dịch cần lấy theo ý muốn. Trên pipet có ghi dung tích tối thiểu và tối đa. Có nhiều loại: 20 - 100 μL , 100 - 500 μL ...

Cách cầm pipet

- *Cái móc*: cầm Pipet nghiêng về một phía hơi cách lỏng lẻo trên sống bàn tay khi không sử dụng, như vậy sẽ làm cơ tay ít bị quá sức.

- *Cầm chắc bằng cả bàn tay.* Tránh cầm pipet quá chặt để giảm mỏi cơ tay và cơ vai sau khi sử dụng pipet lâu.

- *Để lộ phần ghi số thể tích:* có thể nhìn trong suốt thời gian để có thể kiểm soát thể tích lấy ngay cả khi đang sử dụng.

- *Nút bật lớn:* để một khoảng cách thuận lợi trong khoảng với của ngón tay cái và có một diện tích bề mặt rộng để làm giảm mỏi ngón tay cái.

Cách lấy mẫu

Phương pháp lấy mẫu có thể đa dạng tùy theo các loại dung dịch khác nhau, trên thực tế có hai cách lấy mẫu được minh họa dưới đây.

- Cách lấy mẫu theo chiều xuôi (Forward method):

+ Cầm pipet ở tư thế thẳng đứng.

+ Ấn tới nấc dừng thứ nhất. Nhúng đầu pipet tip khoảng 3 - 4 mm vào dung dịch. Thả pittông ra từ từ.

+ Để thả mẫu, ấn tới nấc dừng thứ nhất.

+ Chuyển tất cả phần còn lại của chất lỏng ở đầu pipet tip ra, ấn tới nấc dừng thứ hai (để thả hết dung dịch ra khỏi pipet tip).

- Cách lấy mẫu theo chiều ngược lại (Reverse method):

+ Cầm pipet ở tư thế thẳng đứng.

+ Ấn tới nấc dừng thứ hai. Nhúng đầu pipet tip khoảng 3 - 4 mm vào dung dịch.

+ Thả pittông ra từ từ.

+ Để thả mẫu, ấn tới nấc dừng thứ nhất. Loại bỏ phần dung dịch còn lại ở pipet tip.

Cách thả mẫu

- Cách thả mẫu vào ống nghiệm:

+ Không thao tác quá nhanh tránh tạo khí dung, tạo bọt.

- Cách tra mẫu vào giếng thạch điện di:

+ Không nhỏ giọt.

+ Không ấn mạnh vào đáy giếng.

+ Không tạo thành góc nhọn.

+ Đầu pipet chạm vào cạnh của giếng và chất nước.

Cách kiểm tra độ chính xác

- Dùng pipet hút và nhả ra 5 lần, bỏ đầu tip thứ nhất đi.

- Lấy đầu tip thứ hai hút và nhả ra 2 lần đến lần thứ 3 mới lấy để cân.

- Với mỗi một loại pipet sẽ kiểm tra độ chính xác qua 3 mức lấy mẫu: mức thấp nhất, mức trung bình và mức tối đa.
- Cân liên tiếp 10 lần, kiểm tra sai khác (yêu cầu CV < 10%, lý tưởng là < 0,5%. Nếu độ sai khác vượt quá 10% cần có sự chỉnh lý lại pipet).
- Với pipet nhiều kênh phải thực hiện với từng kênh một.

Lưu ý: không cầm pipet chặt quá, vì cầm pipet lâu có thể làm nóng pipet, sẽ làm thay đổi kích thước pittông, dẫn đến sai số (có thể đi gắng tay để cách nhiệt).

Cách bảo dưỡng và làm sạch pipet bán tự động

Tùy từng loại pipet khác nhau mà bảo dưỡng và làm sạch pipet theo các cách khác nhau, nhưng thường theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Sự lây nhiễm từ mẫu ở ống nghiệm sang pipet và từ pipet sang mẫu của ống nghiệm khác và rồi lại lây nhiễm sang pipet đã được chứng minh. Để khắc phục hiện tượng này, nhiều hãng đã thiết kế ra các loại pipet tip có lọc, hoặc các loại pipet tip có pit tông để hạn chế sự lây nhiễm chéo. Tuy nhiên những loại pipet tip này giá thành rất cao.

Do vậy, thao tác làm sạch pipet sau sử dụng sẽ hạn chế được sự lây nhiễm mẫu trong quá trình thực hiện. Sự lây nhiễm mẫu trong quá trình sử dụng pipet bán tự động khác nhau tùy theo loại chất làm lây nhiễm, do vậy cách làm sạch pipet cũng khác nhau.

Cách làm sạch thông thường

- Mở phần dưới của pipet.
- Tháo pít-tông, làm hết lớp nhờn của pittông bằng cồn 70°.
- Để pít-tông khô tự nhiên. Bôi một lớp mỡ mỏng và lắp ráp lại vào pipet.
- Nếu cần thiết, lau phần phần dưới của pipet bằng cồn 70° hoặc dung dịch khử trùng nhẹ, để khô trước khi lắp ráp lại vào vỏ bao ngoài của pipet.
- Khi sử dụng xong pipet cần được lau sạch toàn bộ pipet phía bên ngoài bằng cồn 70° hoặc dung dịch khử trùng nhẹ và để lên giá đỡ tránh rơi.

Cách làm sạch khi pipet khi hút các dung dịch lỏng, đậm, acid vô cơ và các chất kiềm

- Mở pipet. Tháo phần dưới.
- Rửa những phần bị dính hoá chất với nước cất.
- Để pipet khô (làm khô bằng không khí hoặc nhiệt độ dưới 60°C).
- Khi đã khô hoàn toàn, pít tông nên được phủ một lớp mỡ mỏng. Lắp lại vào pipet.

- Khi dùng cho những chất này hoặc các chất base thông thường, nên súc rửa những phần dưới của pipet với nước cất. Có như vậy, mới làm cho pipet được sạch và tránh tạo khí dung mà nó có thể tích lũy theo thời gian.

Cách làm sạch pipet khi hút dung dịch có tính chất gây nhiễm tiềm tàng

- Tháo phần dưới của pipet và sấy ở 121°C trong 20 phút.
- Để tất cả các phần của pipet khô trước khi lắp ráp chúng lại với nhau. Nếu cần thiết, bôi một lớp mỡ mỏng lên pít tông.
- Có thể làm bằng cách tháo phần dưới của pipet, ngâm trong dung dịch khử trùng thông thường của phòng thí nghiệm. Súc rửa kỹ lại với nước cất. Để khô, cho dầu vào pít tông và lắp ráp lại.

Cách làm sạch pipet khi hút các dung môi hữu cơ

- Sau khi hút các loại dung môi hữu cơ khác nhau, nên mở pipet ra và để dung môi còn lưu lại tự bay hơi.
- Hoặc phần lây nhiễm của pipet có thể nhúng vào dung dịch khử trùng. Súc rửa với nước cất và làm khô.
- Cho dầu vào pít tông và để khô.

Cách làm sạch pipet khi hút các loại protein

- Tháo pipet. Đặt phần bị lây nhiễm vào trong dung dịch đặc biệt và ủ tùy theo hướng dẫn của nhà sản xuất dung dịch.
- Súc rửa kỹ với nước cất. Làm khô và bôi một lớp dầu mỏng vào pít tông.
- Tuyệt đối không sử dụng các loại cồn (alcohol) để làm sạch pipet.

Cách làm sạch pipet khi hút các chất có hoạt tính phóng xạ

- Tháo pipet. Đặt phần bị lây nhiễm vào trong dung dịch đặc biệt và ủ tùy theo hướng dẫn của nhà sản xuất dung dịch.
- Súc rửa kỹ với nước cất. Làm khô và bôi một lớp dầu mỏng vào pít tông.

Cách làm sạch pipet khi hút các chất là vật liệu di truyền (Nucleic acids)

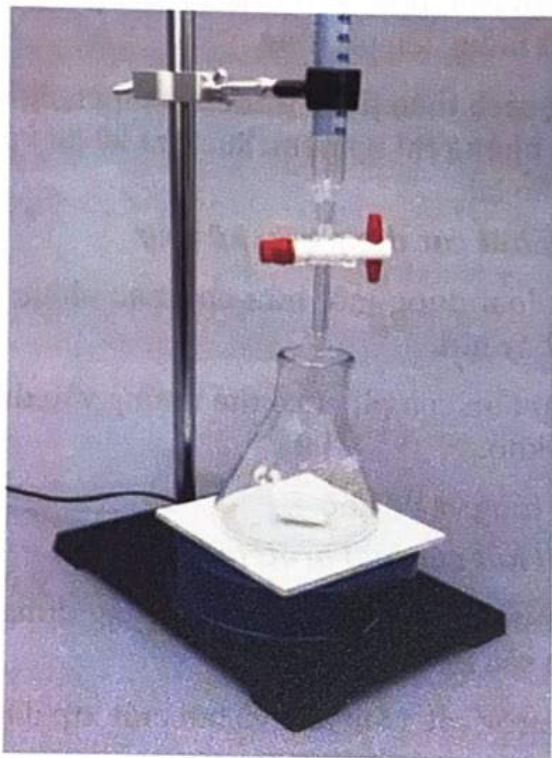
- Khử nhiễm phần dưới pipet bằng cách đun sôi trong đệm glycine/HCl (pH=2) khoảng 10 - 20 phút.
- Súc rửa kỹ với nước cất. Để khô và bôi một lớp mỡ mỏng lên pít tông.
- Hoặc ngâm phần dưới pipet trong dung dịch HCl 5 - 10 % khoảng 20 - 30 phút. Súc rửa kỹ với nước cất. Để khô và bôi một lớp mỡ mỏng lên pít tông.

4.9. Buret

Thường có dung tích 10 mL, trên thân có vạch chia độ, có khóa. Dùng trong chuẩn độ để xác định nồng độ các chất.

Khi dùng cần lưu ý khoá của buret nên bôi vaselin để không bị rít, tuyệt đối không để có bọt khí khi chuẩn độ. Nên cầm khoá buret bằng tay trái còn tay phải cầm bình để lắc lúc chuẩn độ.

Khi đọc thể tích dung dịch thì mắt phải nhìn thẳng và buret phải được kẹp thẳng trên giá, cho chảy với tốc độ chậm để tránh sai số. Sau khi dùng xong, rửa sạch, tráng nước cất, lau khô.



Hình 2.9. Hình ảnh chuẩn độ sử dụng buret

4.10. Bảo quản dụng cụ thủy tinh

Nhìn chung tất cả các dụng cụ thủy tinh trong phòng thí nghiệm đều phải rửa rất cẩn thận, phải thật sạch, thật khô trước khi sử dụng.

4.10.1. Xử lý dụng cụ trước khi rửa

- Dụng cụ thủy tinh mới mua, chưa sử dụng, cần ngâm nước hoặc dung dịch H_2SO_4 loãng trong khoảng 24 giờ. Rửa lại bằng xà phòng và nước nhiều lần.
- Các dụng cụ sau khi làm xong phải rửa sạch ngay, cần ngâm natri hoặc kali dicromat và dung dịch H_2SO_4 loãng/24 giờ. Rửa lại bằng xà phòng, tráng sạch bằng nước cất, để khô.

4.10.2. Rửa dụng cụ thủy tinh

- Tráng dụng cụ bằng nước để loại hết cặn bẩn.
- Dùng miếng nhám thấm xà phòng hoặc bông thấm cồn để lau sạch các ký hiệu ghi bằng bút dạ trên thủy tinh.

- Chọn chổi rửa thích hợp với từng loại ống hoặc bình, một đầu nên buộc miếng mút nhỏ để phần sắt không chọc thủng đáy ống nghiệm hoặc đáy bình. Dùng chổi rửa thấm xà phòng cọ kỹ phía trong, dùng khăn mềm thấm xà phòng cọ phía ngoài. Xả sạch bằng nước nhiều lần, tráng lại bằng nước cất.

- Nếu dụng cụ bẩn nhiều hoặc dính dầu mỡ, ngâm các dụng cụ đó vào dung dịch sunfocromic trong nhiều giờ sau đó rửa lại.

- Dụng cụ sau khi rửa phải đảm bảo sạch, úp ngược dụng cụ cho ráo nước, làm khô ở nhiệt độ phòng hoặc đem sấy ở nhiệt độ 600°C - 800°C /vài giờ.

- Sau đó cất giữ đồ thủy tinh khô.

* Dung dịch sunfocromat

Thành phần:

Dung dịch đặc:

Kali/Natri dicromat: 50 g nghiền nhỏ.

Acid sulfuric công nghiệp: 500 mL.

→ Gạn lấy dịch rồi thêm 1 thể tích acid mới

Dung dịch loãng:

Kali/Natri dicromat 10% trong nước 1 thể tích

Acid sulfuric công nghiệp 1/2 thể tích

→ Đổ acid vào dung dịch dicromat rồi lắc đều

Cách pha:

- Hòa tan K_2CrO_7 vào nước cất, đặt bình vào chậu nước để tránh bị bỏng khi bổ sung acid.

- Bổ sung từ từ dung dịch acid H_2SO_4 vào dung dịch K_2CrO_7 trên đến khi tan hết.

- Bổ sung nước cất vừa đủ 1 lít. Bảo quản trong bình tối màu, tránh ánh sáng để dùng dần.

CÂU HỎI LƯỢNG GIÁ

1. Liệt kê các bước thực hiện khi sử dụng cân?
2. Trình bày cách thức, các vấn đề an toàn và kiểm tra chất lượng khi vận hành nồi hấp?
3. Trình bày được phân loại các loại pipet?
4. Trình bày được cách sử dụng và bảo quản micropipet?
5. Trình bày cách bảo quản các dụng cụ thủy tinh?

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bishop, M. L., Fody, E. P., & Schoeff, L. E. (2018). Clinical chemistry: principles, techniques, and correlations. Eighth edition. Philadelphia: Wolters Kluwer.
2. Bộ môn Hóa sinh, Trường Đại học Y Hà Nội (2003). Thực tập Hóa sinh. Nhà xuất bản Y học