

2021年11月26日

关键词或短语:

反向移液, 挥发性液体, 粘性液体, 油类移液

适用于挑战性液体的移液技术

Sandra Söderholm¹ 和 Paulus Artimo²

¹实验室基本应用程序开发, Sartorius Biohit Liquid Handling, 芬兰赫尔辛基

²产品管理, Sartorius Biohit Liquid Handling, 芬兰赫尔辛基

联系方式

电子邮箱: LHinfo.Finland@Sartorius.com

简介

以高准确度和精度重复进行挥发性、粘性、起泡和油性液体移液相当具有挑战性。由于这些液体的固有特性, 它们可能会粘在塑料上或滴漏。这些挑战只需遵循良好移液实践和考虑液体的具体特性即可克服。在本实用指南中, 我们提供了一些建议, 帮助您选择配有兼容移液器吸头的合适移液器, 以及针对困难液体的正确移液技术。

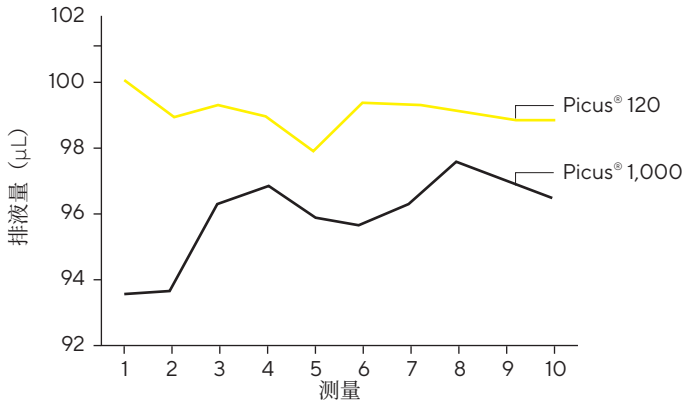
了解更多: www.sartorius.com.cn

我应该选择哪种移液器？

为获得尽量准确和可重复性结果，请选择标称容量（最大容量）最接近移液量的移液器。例如，当试剂移液量为 100 μL 时，请勿使用 1,000 μL 移液器，而应选择较小标称容量的移液器，尽管两者均可移取 100 μL 。为说明这一点，图 1 显示了使用电动 Sartorius Picus® 50-1,000 μL 移液器和 5-120 μL 移液器进行的两组 100 μL 乙醇移液操作。对于 Picus® 5-120 μL 移液器，当操作者、移液模式（反向移液）和移液技术（预润洗循环次数）保持不变时，可获得更好的准确度和再现性。

图1

在最大容量时，移液的准确度和再现性最好



注：使用标称容量尽量接近移液量的移液器有助于提高准确度和再现性。使用电动 Sartorius Picus® 5-120 μL 移液器 (CV% 0.69) 和 Sartorius Picus® 50-1,000 μL 移液器 (CV% 1.70) 对 100 μL 乙醇分别完成了 10 次测量。预润洗吸头后进行反向移液。分别使用与移液器适配的 Sartorius Optifit 5-200 μL 和 100-1,000 μL 移液器吸头，在每次测量之间更换吸头。Picus® 5-120 μL 移液器的准确度和再现性更好。

我应该用哪种移液技术？

正向移液和反向移液是手动移液器可使用的两种基本移液模式。在正向移液中，吸取和排出目标体积的液体，通过将柱塞压到第二个停止位置，使用排空步骤完全清空吸头。

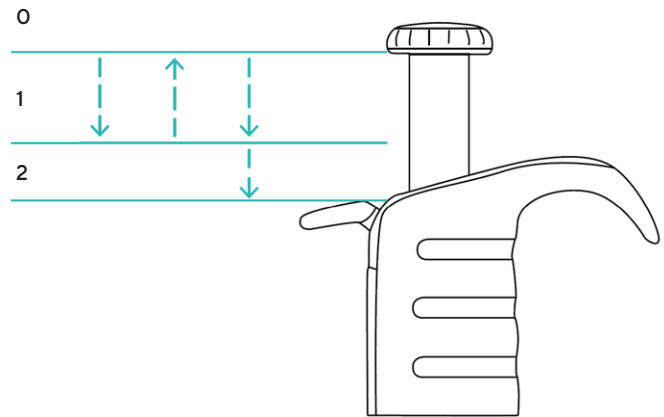
在反向移液中，吸液量超过目标体积。将柱塞压到第一个停止位置后，排出总目标体积，多余的量会留在吸头中。多余的量可返回吸头中继续使用，也可通过将柱塞压到第二个停止位置来废弃吸头中的多余液体。在某些情况下，存在余量对移液性能有明显好处，例如移液挥发性或粘性液体时。这些移液技术之间的差异如图 2 所示。

电动移液器提供额外移液技术，有助于减少移液的差异和时间。其中包括多次分液、多次吸液、稀释和滴定等。

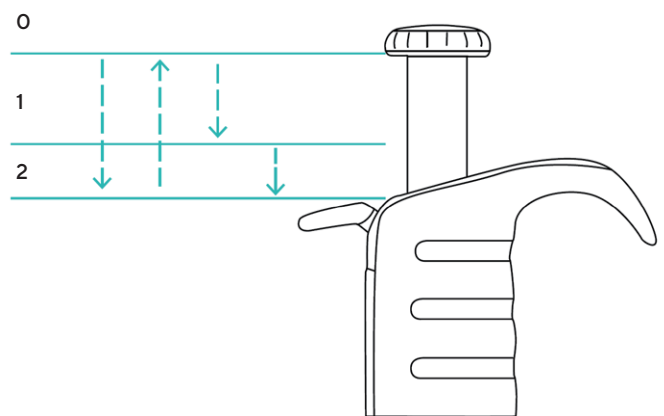
图2

基本移液模式图解

A. 正向移液



B. 反向移液

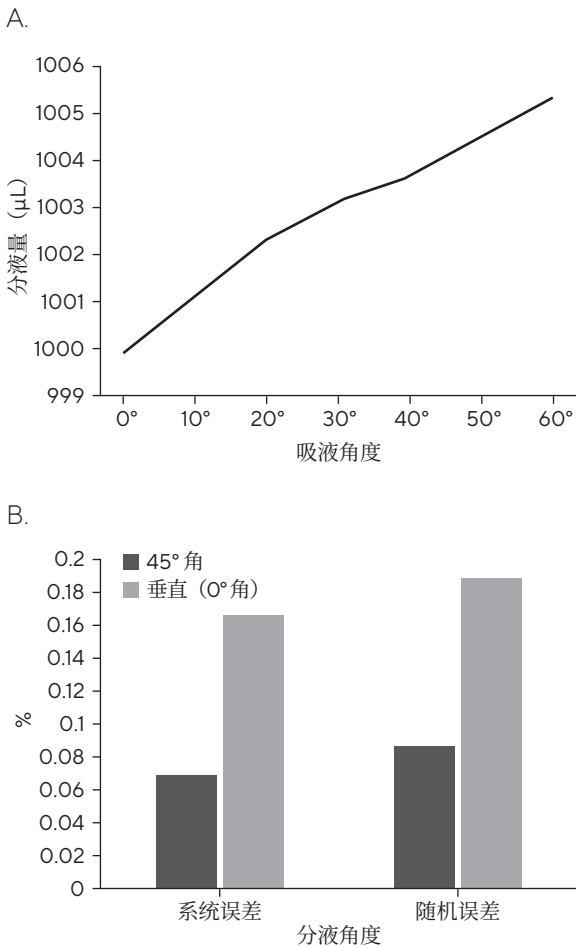


注：向下箭头表示推动柱塞，向上箭头表示释放柱塞。0 号位是柱塞的静止位置；1 号位是第一停止位置，应易于感觉到以确保一致的操作技术；2 号位是第二个停止位置，用于完全清空吸头。

虽然理想的移液技术取决于液体类型，但有些方法在任何情况下可通用。基本的良好操作包括将液体吸入吸头时保持移液器直立（0°角）状态，将液体排液到目标容器时将移液器稍微倾斜（30-45°角）。

图3A显示了移取1,000μL水时的吸液角度对准确度的影响。随着吸液角度的增加，实际移液量几乎呈直线增加。图3B显示了使用反向移液技术排液时，将移液器保持在0°角而非45°角对准确度和精度的负面影响。反向移液1,000μL水时，将移液器保持在45°角可获得更精准的结果。

图3
吸液和分液角度对准确度和精度的影响

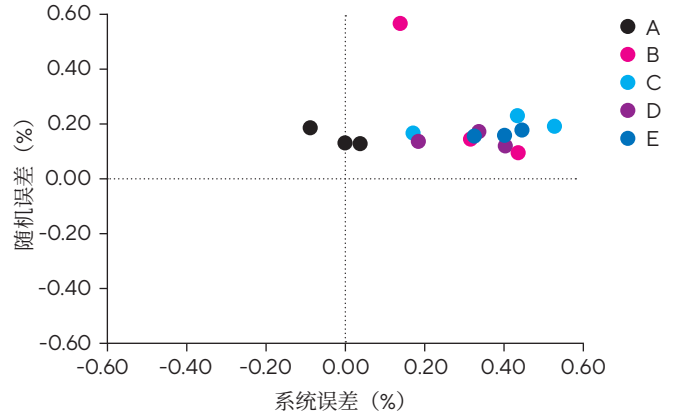


注：吸液角度对排液量的准确度有影响。当移液器设置为 1,000 μL 时，排液量随吸液角度 (A) 的增加而增加。反向移液 1,000 μL 水时，排液角度对随机和系统误差的影响 (B)。数据基于使用 Sartorius Tacta® 1,000 μL 移液器在每种条件下进行的 10 次测量。

如何应对液体从移液器吸头滴落？

如果液体从移液器吸头滴落，应首先确保吸头正确密封在移液器的吸头圆锥上。请记住，有时无法目视检测密封不当情况，因此需在分析天平上验证吸头兼容性。对于移液器制造商推荐的吸头，则不必检测兼容性，因为它有保证。图4显示了使用不同制造商的移液器吸头时的移液性能差异。

图4
吸头和移液器：兼容性很重要



注：不同移液器吸头与 Tacta® 10 μL 移液器结合用于测量 10 μL。每个数据点代表用同一移液器吸头进行的 10 次测量。每种颜色对应一个移液器吸头品牌，其中“A”为赛多利斯移液器吸头，“B-E”为其他制造商吸头。一个品牌内的数据点之间的分布显示了同一吸头盒内的各吸头间的差异。

如果在转移挥发性液体以外的其他液体时有大量泄漏的情况，请检查移液器吸头圆锥是否干净；使用无纺布和合适的清洁剂（如乙醇）将其擦拭干净。检查吸头圆锥或活塞和套筒之间的密封件有无损坏。

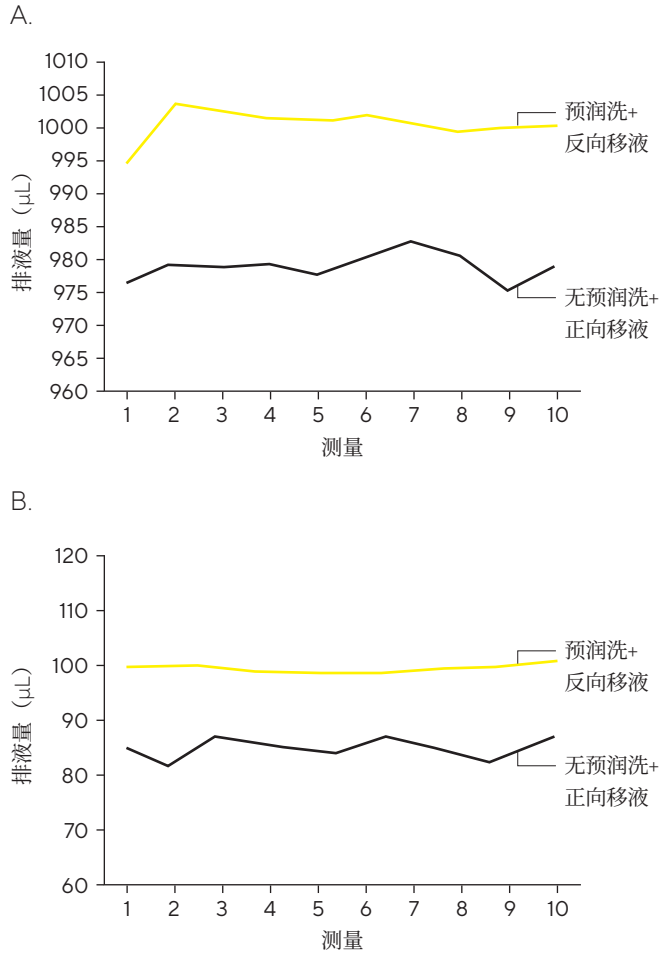
挥发性液体

移取挥发性液体和溶剂（如乙醇、丙酮或乙腈）时，从移液器吸头滴落是常见现象。它由这些溶剂的高蒸汽压引起，导致液体上方的空气柱蒸发和膨胀。为避免滴落，请预润洗吸头，通过吸液和排出所需容量至少润洗五次。这可使空气柱饱和，从而减少蒸发。如果移液量极小，可增加预润洗循环次数，或使用更大容量进行预润洗。

反向移液更有助于改善滴漏情况。它可消除蒸发对分配总目标体积的影响。任何额外蒸发液体都会从多余液体中逸出，不会影响移液结果。在正向移液中，任何进一步蒸发都会减少总液体量，直接降低准确度。

图 5A 显示了在处理乙腈时，无预润洗的正向移液和适当预润洗的反向移液之间的差异。正确移液技术的价值显而易见。同样的建议适用于任何容量，如图 5B 所示。

图5
移取挥发性液体



注：移取挥发性液体时，移液器吸头应至少预润洗（润湿）五次，应采用反向移液技术。使用 Sartorius Tacta® 1,000 µL 手动移液器对 1,000 µL 乙腈进行了连续 10 次移液，移液技术采用预润洗吸头和反向移液，或不预润洗吸头和正向移液(A)。使用 Sartorius Optifit 100-1,000 µL 移液器吸头，并在测量之间更换移液器吸头。使用相同实验方法，但使用 100 µL 丙酮和 Sartorius Tacta® 100 µL 手动移液器 (B)。

粘性液体

有些情况下，基本不可能完全准确地移取粘性液体。应避免为了让粘性液体流动更快而剪切移液器吸头，因为这将对准度和再现性产生灾难性影响。由于缓慢的吸液和排液速度至关重要，因此实现粘性液体的可靠移液其实只需适当的技术和耐心。

反向移液可提高准确度。甘油等粘性液体会附着在吸头内表面，采用正向移液会降低排液准确度。采用反向移液时，粘附的液体会量会从多吸的过量液体中消耗，因此可排出全部目标体积。

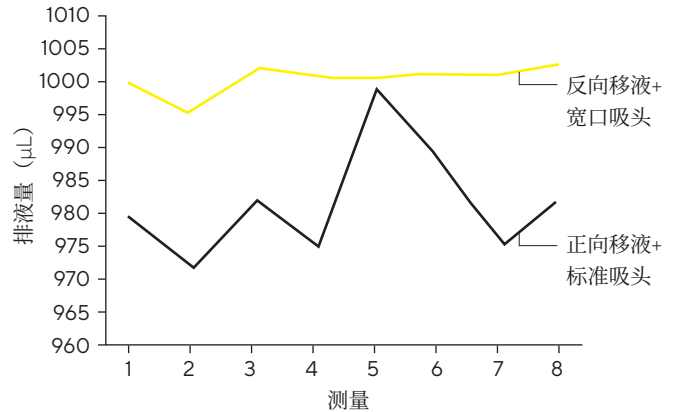
还需注意的是，请勿将吸头浸入液体太深，通常2-3mm足矣。这样可防止粘附到吸头外部的液体在排液过程中转移到目标容器，导致无意间转移了额外的容量。如果液体粘在吸头外面，请轻轻接触试剂容器壁将其擦掉。

保持低流速也很重要，这样可以确保对目标液体进行吸液或分液，避免了吸入空气等误操作。此外，吸液时，移液器吸头应在液体中多浸几秒钟，因为这样将使液体足以全部吸入到吸头中。如果过早将吸头从液体中取出，可能会吸入空气。排液时，建议将吸头抵住目标容器壁，使液体附着在目标容器上。宽口吸头也可用于促进液体流动，尤其是在溶液中有颗粒的情况下。

图6显示了采用反向移液和 Optifit 宽口吸头移取 1,000 μL 甘油与采用正向移液和标准 Optifit 吸头移取 1,000 μL 甘油的差异。

Picus[®] NxT 移液器在用户认为有帮助的情况下，可通过正向移液进行重复吹出。

图6
移取粘性液体

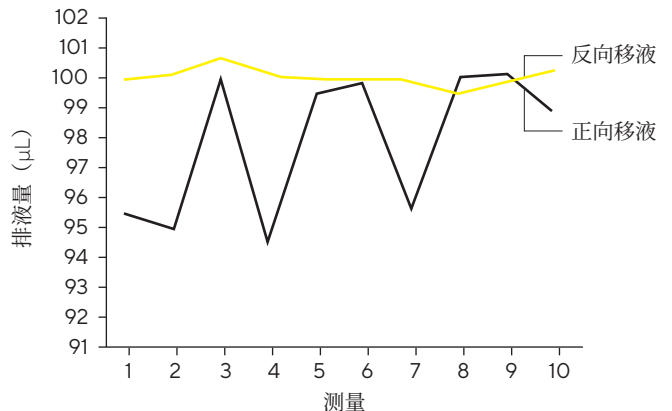


注：对于粘性液体，使用反向移液缓慢进行，并使用宽口吸头。在此处示例中，Sartorius Mline[®] 100-1,000 μL 手动移液器上的容量设置为 1,000 μL 。使用宽口径或标准 Optifit 吸头，采用反向或正向移液技术移液后，测量 1,000 μL 甘油的排液量。测量之间更换了移液器吸头。

油类

与正向移液相比，反向移液油的排液更准确，再现性更好，因为油会在塑料上形成一层薄膜。油的粘附会降低正向移液的准确度。在反向移液中，附着在塑料上的油会从多余容量中逸出，从而提高准确度。在图7中，使用 Sartorius Tacta[®] 10-100 μL 手动移液器移取丁香酚，即一种从精油中提取的芳香油状液体。

图7
油类移液



注：应使用反向移液技术移取油类。在此处显示的示例中，使用 Sartorius Tacta[®] 10-100 μL 手动移液器，采用反向或正向移液技术，对 100 μL 丁香酚进行了连续 10 次移液。测量之间更换了移液器吸头。

泡沫液体

含清洁剂或蛋白质的液体容易起泡。处理这些液体时，必须缓慢移液并使用反向移液技术。如果首选正向移液技术，应避免使用吹空或按压柱塞至第二个停止位置，因为这会导致泡沫液体中形成气泡。正向移液的最大准确度只能通过吹空实现。反向移液的明显优势是不需要通过吹空精确分配所需容量，并且避免了泡沫形成。

移液器应多久维护一次？

经常清洁移液器是一种良好操作，当处理挥发性液体和溶剂时，更应减少间隔时间。每天擦拭外部和吸头圆锥可减少交叉污染机率，并确保正确吸头密封。清洁移液器下端内部可去除积聚的灰尘，这有助于活塞密封并保持较低的操作力。清洁还有助于发现移液器是否因溶剂或蒸汽而老化，以免影响结果。

请记住，无论何时拆装下端，最好在分析天平上检查移液器性能，确认组装正确，无任何东西阻碍活塞的完全密封。关于清洁赛多利斯移液器的详细说明，请访问：<https://sartorius.com/pipette-cleaning-guide>

建议移液器的最长维护间隔时间为一年。但应根据移液频率、已移液的液体以及移液器的使用年限和型号等因素来调整间隔时间。在常规性转移挥发性液体或溶剂的情况下，应进行更频繁的维护。校准应至少每年进行一次，或根据使用频率每3-6个月进行一次。更换移液器零件（如吸头圆锥或活塞）后，还应进行校准；现场高压灭菌后，只需进行性能检查。

总结

移液技术在获得理想结果方面具有核心作用。移取具有挑战性液体时，学会利用反向移液非常有用。良好实践是始终首先考虑液体，并相应采取移液操作。

表1总结了各种液体的建议移液技术。

表1

针对不同类型液体的建议移液技术和操作*

| 液体类型 | 移液技术 | 预润洗 | 备注 |
|------|------|------|----------------------------------------|
| 水 | 正向移液 | 3-5次 | |
| 粘性 | 反向移液 | 3-5次 | 慢速，在吸液和排液时，保持吸头浸入液体的时间比平时长，同时接触目标容器的内壁 |
| 挥发性 | 反向移液 | 5次+ | |
| 泡沫 | 反向移液 | 3-5次 | 低速 |
| 油类 | 反向移液 | 3-5次 | |

*请记住，吸液时请始终将移液器保持在0°角，排液时保持在30°-45°角。

销售与服务 联系方式

更多联系信息，请访问

www.sartorius.com.cn

赛多利斯（上海）贸易有限公司

邮箱 lab.cn@sartorius.com

服务热线 400 920 9889 | 800 820 9889

上海

上海市浦东新区盛荣路 388 弄

百佳通产业园 3 号楼, 7-11 层,

200120

电话 +86 21 6066 6100

广州

广州市越秀区水荫路 117 号

1105 单元, 510075

电话 +86 20 3761 7284

成都

成都市上东大街 246 号新良大

厦 2406 室, 610012

电话 +86 28 8666 6877

