

Sikkerhet i laboratoriet og grunnleggende laboratorteknikk



Høgskolen i Østfold
Bachelorstudium i bioingeniørfag
Høst 2026



Blandingskompendium

Dette heftet er fremstilt av Høgskolen i Østfold. Dette materialet er vernet etter åndsverksloven, og er helt eller delvis fremstilt etter avtale med Kopinor. Materialet kan benyttes av studenter som deltar i det aktuelle emnet, for egne studier, i ethvert format og på enhver plattform. Uten uttrykkelig samtykke er annen eksemplarframstilling og tilgjengeliggjøring bare tillatt når det er hjemlet i lov (kopiering til privat bruk, sitat o.l.) eller etter avtale med Kopinor (kopinor.no).

Forord

Målet med dette heftet er å lære å følge forskrifter og sikkerhetsrutiner som gjelder for arbeid i våre laboratorier og i sykehuslaboratorier. Dere skal lære å kjenne ulike typer laboratorieutstyr og innøve ferdigheter i enkle og grunnleggende laboratortekniske arbeidsrutiner. Dere skal innøve nøyaktighet og ærlighet i arbeidet og få forståelse for viktigheten av dette.

Det vil være nyttig å ha dette heftet med seg til alt laboratoriearbeid gjennom hele studiet.

Labteknikkheftet omfatter to deler: DEL 1: SIKKERHET I LABORATORIET
 DEL 2: LABORATORIEUTSTYR OG BRUK AV DETTE

Når heftet er gjennomgått, skal dere være kjent med:

- Laboratoriesikkerhet
- Sikkerhetsdatablader og hvordan finne disse
- Hygieniske forholdsregler for å hindre smitteoverføring
- Bruk av verneutstyr

- Betegnelser på forskjellig type laboratorieutstyr og riktig bruk av dette utstyret
- Vaskerutiner for laboratorieutstyr
- Bruk og vedlikehold av vekter
- Hvordan man lager reagenser
- Ulike vannkvaliteter
- Bruk av ulike typer pipetter
- Bruk og vedlikehold av sentrifuger
- Filtrering og filtreringsutstyr
- Bruk og vedlikehold av mikroskopet

Sist revidert august 2025

Birte J. Sjursnes

Innholdsfortegnelse

DEL 1: SIKKERHET I LABORATORIET	3
Informasjon.....	5
Generelle laboratorieregler	5
Ulykker og førstehjelp.....	7
Brannsikkerhet.....	9
Bruk og klassifisering av vernehansker	12
Klassifisering, merking og pakking av kjemikalier (CLP/REACH)	14
Førstehjelp ved fare for blodsmitte	16
Prosedyre ved skader med mulig overføring av blodsmitte.....	16
Avfallshåndtering i laboratoriet	17
Retningslinjer for rengjøring	19
DEL 2: LABORATORIEUTSTYR OG BRUK AV DETTE	20
Vekter og veiling	20
Bruk og vedlikehold av vekter	21
Eksikator	22
Volumetrisk utstyr	23
Byretter og titrering	24
Reagenstillaging.....	25
Behandling av kjemikalier	26
Tillaging av reagenser i målekolbe	27
Etikettering/merking.....	28
Vannkvaliteter.....	29
Pipetter og pipettering.....	32
Separasjonsteknikker	37
Filtrering.....	37
Sentrifugering	38
Sentrifuger	40
Mikroskopet.....	43

DEL 1: SIKKERHET I LABORATORIET

Hensikten med DEL 1 er å forhindre ulykker og helseskader ved arbeid i laboratoriet.

Alle som bruker laboratoriene, har plikt til å gjøre seg kjent med og følge gjeldende regler og retningslinjer.

Høgskolen har en nettside om sikkerhet: <https://www.hiof.no/om/hms/sikkerhet/>
og en underside der går på laboratorier og verksteder:
<https://www.hiof.no/om/hms-sikkerhet-beredskap/hms/laboratorium-og-verksted/>

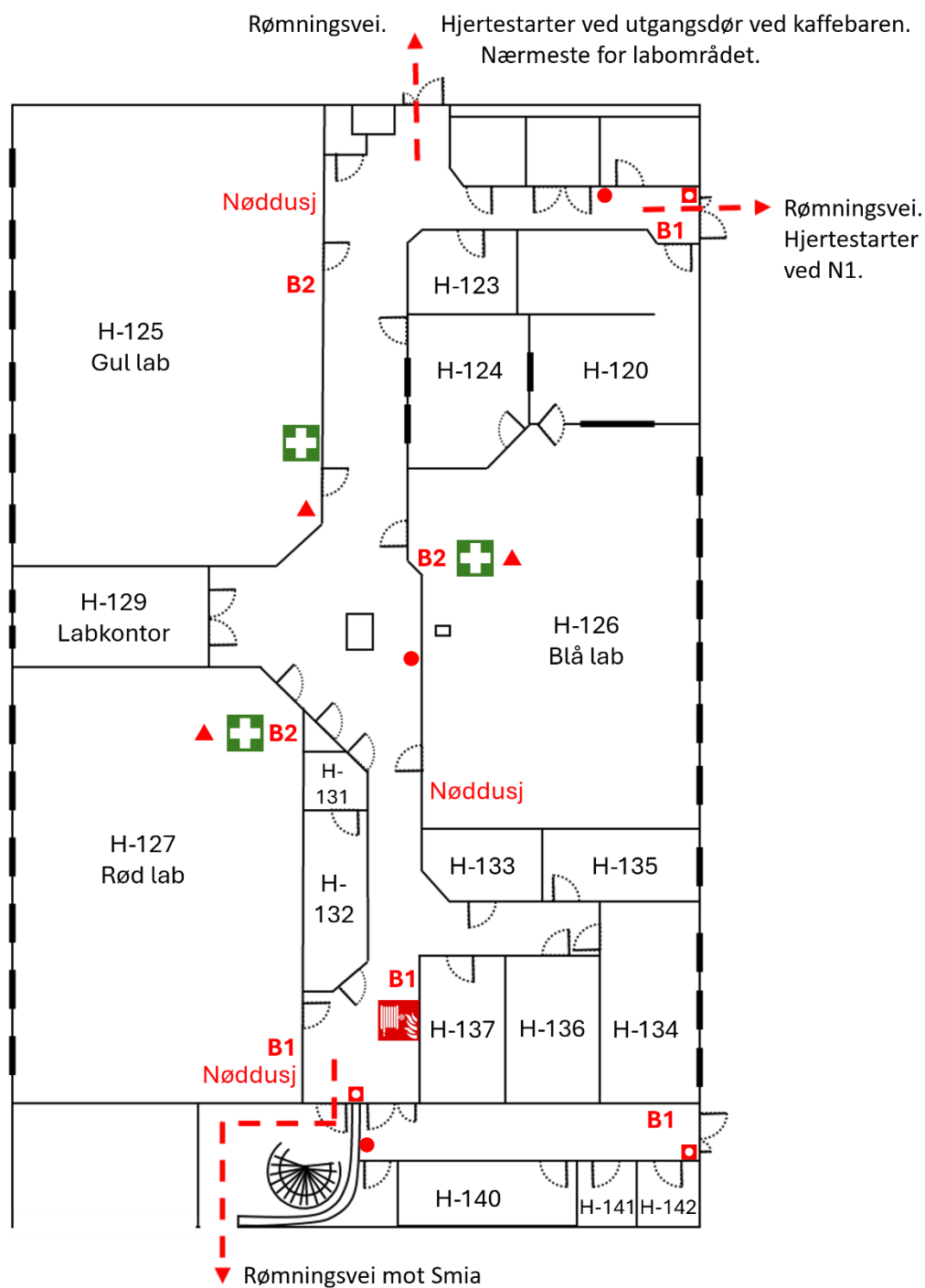
I dette heftet fokuserer vi på det som er viktig i forhold til bioingeniørutdanning ved Høgskolen i Østfold.

Se oversikt på neste side for å gjøre deg kjent med laboratorieområdet i H1.

Før studentene får tilgang til laboratoriene skal følgende punkter være oppfylt:

1. Gjeldene branninstruks samt viktige punkter som gjelder brannsikkerhet må være kjent. Dette gjelder:
 - Plassering av brannslukkere
 - Rømningsveier
 - Varslingssystem for brann
 2. *Del 1: Sikkerhet på laboratoriet* i dette heftet må være lest og forstått, og dette må kunne dokumenteres.
-

Oversikt over laboratoriene i H1 inkludert sikkerhetsutstyr.



H-120: Instrumentlab 2
H-123: Vaskerom
H-124: Instrumentlab 1
H-132: Lager
H-133: Kjølerom
H-137: Kjemikalierom
H-140: Herregarderobe

Informasjon

Ved første oppmøte på laboratoriene skal labansvarlig sørge for å gi studentene orientering om:

- Generelle laboratorieregler
- Brannsikkerhet
- Rutiner ved bruk av verneutstyr og praktisk bekledning

I tillegg skal studentene selv sørge for å sette seg inn i regler og bestemmelser vedrørende laboratoriesikkerhet.

Generelle laboratorieregler

INGEN FÅR ARBEIDE PÅ LABORATORIENE UTEN AT EN ANSVARLIG ER TIL STEDE.

- Alle skal gjøre seg kjent med hvor nærmeste brannslukker, nøddusj, øyeskyller og førstehjelpskap befinner seg.
- Laboratoriefrakk/vernetøy og vernebriller skal alltid brukes. Vernehansker benyttes etter behov. Ta aldri direkte på kjemikalier.
- Vesker, sekker og yttertøy tas ikke med inn på laboratoriet.
- Bekledning skal være praktisk og egnet til arbeid på et laboratorium. Bruk ikke sko med høye hæler, åpne sandaler etc. Langt hår skal holdes på plass med strikk, spenner eller annet. Flagrende gevanter er ikke tillatt, dvs. løsthengende skjerf, sjal eller lignende. Disse må festes skikkelig eller fjernes. Ikke bruk klær som subber i gulvet eller går frem og dekker hendene.
- Spising og drikking er forbudt på laboratoriet. Dette gjelder også tyggegummi, snus etc.

Orden

Orden og renslighet er svært viktig på et laboratorium for å forebygge uhell. Hold derfor orden på laboratoriebenken og sett reagenser og utstyr tilbake på rett plass. Arbeid rolig, løp aldri og tenk alltid over hva du arbeider med. Fjern søl med en gang, og desinfiser om nødvendig. Kjemikalieavfall helles over i egnet emballasje som er merket med type avfall. Arbeidsplassen ryddes, rengjøres og desinfiseres hvis nødvendig.

- Sikkerhetsdatablad skal være kjent for alle stoffer man skal jobbe med. Sjekk også merking på beholder. Høgskolen i Østfold bruker Netpower Workplace Safety som elektronisk kjemikalieregister med sikkerhetsdatablad (<https://www.hiof.no/om/hms-sikkerhet-beredskap/hms/laboratorium-og-verksted/stoffkartotek/index.html>).
- Sikkerhetsdatablader kan også finnes andre steder, som for eksempel SigmaAldrich Merck (<https://www.sigmaaldrich.com/NO/en>). Her må det søkes med engelsk navn for kjemikalie, men flere språk kan velges for SDS. Merck er et stort kjemikaliefirma, og har oppdaterte SDS.
- Avtrekk skal brukes for flyktige stoffer, stoffer som lukter vondt, for stoffer hvor det er angitt i sikkerhetsdatablad eller når labansvarlig vurderer dette som hensiktsmessig.

- Alle beholdere med flyktige kjemikalier skal dekkes til hvis de tas ut av avtrekkskap.
- Ved arbeid med flytende kjemikalier skal man helle dette først i begerglass. Beregn alltid mengde som trengs for øvelsen slik at det ikke helles ut mer enn nødvendig. Fra begerglasset kan man pipettere eller helle over i annet utstyr som skal brukes i øvelsen. Resterende væske skal ikke helles tilbake til flasken. Stikk aldri pipetter eller andre gjenstander ned i flasker, da dette kan føre til at hele flasken blir forurensset.
- Ved overføring av kjemikalier til begerglass eller andre mindre beholdere, eller ved tillaging av reagenser skal beholderen merkes tydelig og forskriftsmessig.
- Hvis det tas ut for mye av et kjemikalium, så skal restene ikke tilbake på original boks/flaske, men behandles som avfall.
- Når det skal luktes på dampen av en væske, så sett aldri nesen direkte over flasken, men vift dampen forsiktig mot nesen med håndflaten.
- Ved fortynning av sterke syrer tilsettes syren forsiktig til vannet under god omrøring.
Husk: *Syre i vann, går an. Vann i syre, blir et uhyre!*
- Ved transport av flasker skal en hånd holdes rundt flaskehalsen og en hånd under bunnen av flasken. Ved transport av større flasker (over 1 liter) bør transport skje i bøtter eller andre egnede beholdere.
- Unngå bråkjøling av glass. Ta ikke i varmt glass med bare hender. Bruk treklyper på reagensglass. En bit gummislange på tommel- og pekefinger gir god beskyttelse.
- Ved oppvarming av reagensglass og lignende må ikke utløpet peke mot andre personer. Hold aldri ansiktet over en beholder som er under oppvarming.
- Varm aldri opp målesylindere, målekolber, pipetter eller annet gradert laboratorieglass.
- Glassrør og glass-staver kan brekkes etter at det er blitt gitt et kutt i overflaten med en glassfil. Bruk et beskyttende tøy eller papir mellom glasset og hendene når du brekker glasset. Avrund de skarpe kantene med en gassflamme. Husk vernebriller.
- Gassbrenner som ikke er i bruk, skal være stengt.
- Påse at det god avstand fra gassbrenner til brennbare ting rundt deg.
- Bruk riktige avfallsbeholdere for ulike typer avfall. Se kapittel for *Avfallshåndtering*.
- Noen stoffer kan avhendes i vask. Informasjon om dette vil bli gitt av labansvarlig. Skyll etter med vann fra springen.
- Merking på brukt glassutstyr skal fjernes, utstyret skylles og samles på angitt plass.
- Hendene og arbeidsbenken vaskes etter avsluttet arbeid på laboratoriet.
- Ikke bruk utstyr og apparater uten at du har fått instruksjon og opplæring.

Ulykker og førstehjelp

Kontakt labansvarlig. Sjekk sikkerhetsdatabladet for det aktuelle kjemikaliet som har forårsaket uhellet. Sikkerhetsdatablad finnes elektronisk.

Førstehjelpsskap

På laboratoriene H-125 (gul lab), H-126 (blå lab) og H-127 (rød lab) er det plassert førstehjelpsskap. Skapene inneholder:

- Forbindingsmateriell som sterile kompresser, sårplaster og heftplaster.
- Mobil engangs øyeskylleflaske eller rensespray for øyne og sår.

Stikk- og kuttskader

Førstehjelp: Stopp blødningen. Desinfiser om nødvendig og forbind såret /kuttet med steril kompress eller sårplaster.

Stikkskader og andre skader med mulig overføring av blodsmitte har egen prosedyre.

Brannskade

Avkjøl/skyl skadestedet med lunkent vann i minst 20 minutter. Ikke fjern stoff som er brent fast i skaden.

Ved ulykker der klær eller hår har tatt fyr må vedkommende stilles under nøddusj, eller få kvelt ilden med klær/ brannteppe.

Alvorlig brannskade må behandles på sykehus. Kontakt lege.

Etseskader

Søl av base (ex NaOH, KOH eller NH₃) eller syre på hud må skylles av fortest mulig med rikelig rennende vann. Fjern eventuell tilsølte klær, sko og fortsett skyllingen. Alvorlige skader må behandles av lege. En pasta laget av natriumbikarbonat gir kjapp lindring.

Øyeskader: Start skylling med vann umiddelbart. Bruk øyespylekran som er plassert på enden av hver arbeidsbenk ved vask eller løse øyespyleflasker.

Oppsøk om nødvendig legevakt eller øyelege. Se oversikt over melderutiner og viktige telefonnummer på slutten av dette kapitlet. Husk å fortsette spylingen med øyespyleflaske underveis. Kontaktlinser må tas ut om mulig.

Innånding

Søk øyeblikkelig frisk luft. Puss nesen grundig. Skyl øyne og munn med rikelig vann. Kontakt lege ved ubehag. Sjekk sikkerhetsdatablad.

Elektrisk støt

Stopp strømgjennomgang. Sjekk at det er kontakt med den skadde. Start hjerte/lungeredning ved hjertestans.

Bruk av hjertestarter

Nærmeste hjertestarter for labområdet i H1 er ved utgangsdør ved siden av kaffebaren. Det er også en hjertestarter ved trappeoppgangen i N1.

Viktige telefonnumre / melderutiner:

Øyeskade: Den skadede fraktes til akuttmottaket på Sykehuset Østfold Kalnes. Ankomst kan meldes gjennom 113 (medisinsk nødnummer).

Akuttmottak, resepsjon: 69 86 80 00

Sykehuset Østfold Kalnes, resepsjon: 08600

Skader/ulykker for øvrig: 113

Brann: Trykk brannalarm.

Giftinformasjonen: 22 59 13 00

Personskader medes via Høgskolens nettsider:

<https://www.hiof.no/om/hms-sikkerhet-beredskap/sikkerhet-og-beredskap/sikkerhet/sikkerhetsrutiner/melde-personskade/>

Brannsikkerhet

- Gasser
- Brannfarlige kjemikalier: Oppbevaring og avhending
- Rutiner for laboratoriearbeid i forhold til brannfare
- Rutiner i tilfelle brann
- Evakuering av laboratoriene
- Soneansvarlige
- Branninstruks

Gasser

Brennbare gasser: Hydrogen, acetylen og propan/butan i gassflasker oppbevares i eget gassflaskerom med ledningsnett til de forskjellige bruksstedene i laboratorieområdet. Små gassbokser med propan/butan oppbevares i eget gassflaskerom og benyttes ved behov.

Ikke-brennbare gasser: Luft, nitrogen og helium i gassflasker oppbevares i eget gassflaskerom med ledningsnett til de forskjellige bruksstedene i laboratorieområdet.

Annet: Hvis gassflasker er i bruk på et laboratorium eller andre steder skal flasken sikres med kjetting. Det er ventiler som kan åpnes/stenges ved lokale uttak av gass. I tillegg er det ventiler i tak i bakgang ved H-141 som kan åpnes/stenges.

Rutiner for laboratoriearbeid i forhold til brannfare

- Bruk rød søppelbeholder for brannfarlig avfall (papir /tekstil).
- Ikke bruk bunsenbrenner i nærheten av brannfarlig løsemidler.
- Tenk sikkerhet når du planlegger laboratorieforsøket.
- Vis respekt for kjemikaliene.
- Spør laboratorieansvarlig når det noe du er i tvil om.

Rutiner i tilfelle brann: Tenk først på egen og andres sikkerhet!

- Studentlaboratoriene (H-125, H-126, H127) er utstyrt med brannslukkere, ullteppe/brannteppe og nøddusj. I korridoren utenfor laboratoriene finnes det brannslange og brannslukkere. Bruk dette dersom det er mulig å begrense brannens omfang.
- Det finnes brannvarslere utenfor H-120 (Instrumentlab 2) ved dør mot N-området og ved rømningsvei ut mot Smia.

- Tilløp til brann/små branner slukkes om mulig. Dekk med noe som ikke brenner eller bruk brannslukningsapparat.
- Utstyr/apparatur: Slå av strøm. Trekk ut kontakt. Dekk over med teppe eller bruk brannslukningsapparat (CO₂).
- Personer: Pakk rundt med teppe. Start med ansikt/hode. Bruk nøddusj.
- Ved større branner: Se branninstruks under som også henger godt synlig i laboratorieområdet.

Evakuering av laboratoriene

- Alle utgangsdører i laboratorieområdet skal være ulåst når laboratoriene er i bruk.
- På dør ved branntrapp er det et nødhåndtak som gjør det mulig å åpne døra.
- Dersom vinduene må benyttes må disse knuses. På H-135 er det en klubbe beregnet til dette formålet. Ellers må det benyttes noe hardt å slå med.
- Når man har kommet ut er det viktig å møte opp på oppsamlingsplass for registrering.

Soneansvarlige

Soneansvarlige har som oppgave å bistå med evakueringen av alle som oppholder seg i de områder som brannalarmen omfatter. Bygningsmassen er inndelt i soner. En sone kan være en etasje, fløy eller et større definert område.

For laboratorieområdet i H1 er det tilstedeværende lærere, laboratorieingeniører eller laboratorieansvarlige som til enhver tid fungerer som soneansvarlige.

Informasjon om brannvern ved Høgskolen i Østfold:

<https://www.hiof.no/om/hms-sikkerhet-beredskap/sikkerhet-og-beredskap/>



 **110**



 **112**



 **113**

Vakt- og beredskapstelefon / Guard and emergency phone
22 88 14 53

Ved brann og brannalarm

Det viktigste er å varsle og redde. Du må selv vurdere om du bør bruke tid på å slokke, begrense og bistå med evakuering.

Varsle

Utløs manuell brannmelder.
Ring brannvesenet på telefon **110**.

Redde

Hjelp dem som trenger det.
Som underviser eller ansvarlig for et arrangement må du bidra aktivt i en eventuell evakueringssituasjon.

Slokke

Hvis mulig, forsøk å slokke.
Ikke utsett deg selv for fare, røyken er svært giftig.

Begrense

Lukk vinduer og dører, men ikke lås.

Evakuere

Forlat bygningen via nærmeste røykfri rømningsvei.
Ikke bruk heis.
Trekk bort fra bygningen og møt opp på nærmeste møteplass.

Informere

Hvis du har viktig informasjon, informer nødetatene eller sikkerhetspersonell ved HiØ.

In the event of fire and a fire alarm

The most important thing is to notify and save. Consider whether you should extinguish, and limit fire spread.

Notify

Activate the manual fire alarm.
Call the fire department at telephone **110**.

Save

Help those in need.
As a lecturer or organiser of an event, you must contribute actively during an eventual evacuation.

Extinguish

Extinguish the fire if you can.
Do not put yourself in danger, the smoke is very toxic.

Limiting fire spread

Shut doors and windows, but do not lock them.

Evacuate

Leave the building via smoke-free escape routes.
Do not use lift.
Move away from the building to the nearest assembly point.

Inform

If you have important information, inform the emergency services or security personnel at HiØ.



Høgskolen i Østfold

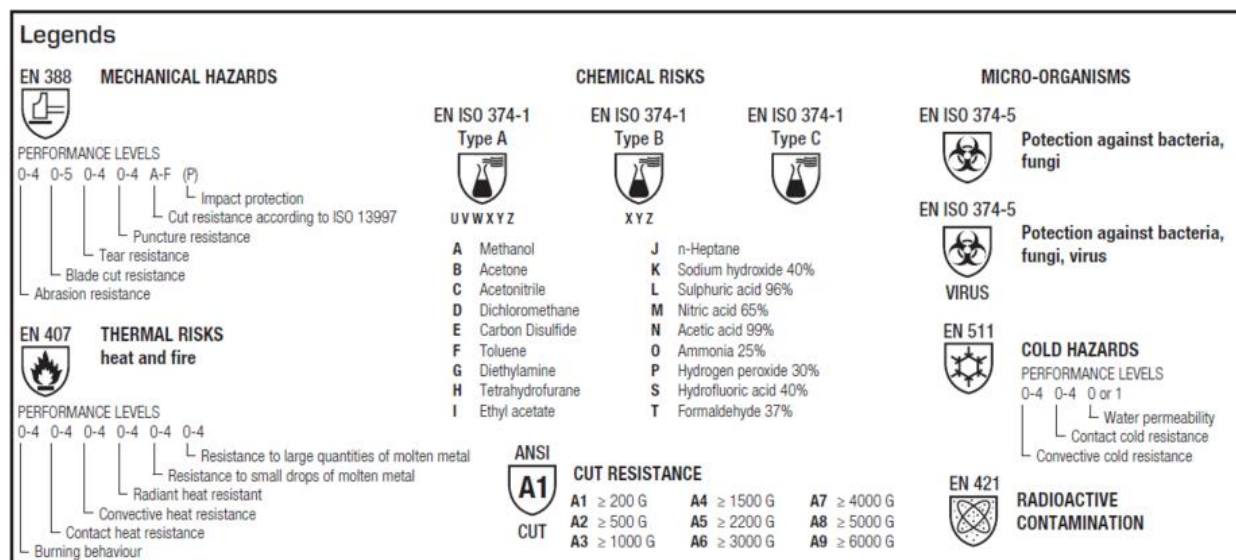
Bruk og klassifisering av vernehansker

Laboratoriearbeid krever i mange tilfeller en bevisst bruk av ulike typer vernehansker.

Generelle regler:

1. Velg hanskemateriale og hanskekvalitet som gir god nok beskyttelse for det du har behov for å bli vernet mot (sjekk bl.a. gjennomtrengelighetstid for ulike kjemikalier).
2. Utfør håndhygiene både før og etter bruk av hansker.
3. Benytt hansker kun under arbeidsoperasjonen. Ha et bevisst og avklart forhold til områder hvor hanskebruk er tillatt (eks enkelte instrumentpaneler) eller ikke tillatt (eks dørhåndtak).
4. Bruk ikke hansker på egen mobiltelefon eller annet utstyr du tar med deg ut av lab (og senere tar på uten hansker).
5. Husk at hel hud også er en god beskyttelse for smittestoffer og at overdreven hanskebruk kan gi tørre og såre hender.

Hvis et spesielt beskyttelsesnivå er nødvendig for arbeidsoperasjonen bør det benyttes hansker testet etter en bestemt standard, f.eks EN-standardene. Hanskekartongen er i så tilfelle merket med en eller flere av de følgende piktogrammene:



I tillegg er boksen ofte merket med hanskens kvalitet, angitt i AQL (acceptance quality limit). Jo lavere AQL, jo bedre kvalitet. AQL er relatert til hanskens beskyttelsesnivå.

Beskyttelsesnivå 1 = AQL > 4

Beskyttelsesnivå 2 = AQL > 1,5 (standard i Europa)

Beskyttelsesnivå 3 = AQL > 0,65

Tabell 1: Oversikt over hanskematerialer som er vanlig i bruk på biologiske/kjemiske laboratorier

Hanskemateriale	Fordeler	Ulemper
Latex	Svært elastiske, med god passevne og høy fingerfølelse. Gir god beskyttelse mot smitte og noe beskyttelse mot kjemikalier (ikke løsemidler). Pga elastisitet gis relativt godt beskyttelse mot stikkskader. Den mest «miljøvennlige» hansken (mest bionedbrytbar).	Kan fremkalle kraftig allergi. Mindre kjemikalieresistent enn nitrill. Kan bli tørre og sprekke ved lengre oppbevaring.
Vinyl	Billige. Gode ved korte og relativt risikofrie arbeidsoperasjoner.	Gir lav beskyttelse mot mikroorganismer og kjemikalier. Har ofte dårlig passform. Inneholder pudder.
Nitrill	Latexfrie og pudderfrie. Elastiske og med god passevne (noe relatert til tykkelse). Gir god beskyttelse mot mikroorganismer og, avhengig av tykkelse, god beskyttelse mot mange kjemikalier. Gir bedre beskyttelse mot stikkskader enn latex. God holdbarhet ved oppbevaring. Lett å se om hansken har fått hull (hansken revner).	Dyrere enn vinylhansker. Ikke like bionedbrytbare som latex.
Neopren/ Chloroprene (spesialhanske)	Gir god beskyttelse mot flere kjemikalier, avhengig av tykkelse. God holdbarhet og motstandsdyktighet mot kuttskader.	Dyrere enn nitrillhansker. Dårlig fingerfølelse.
4H/ etylenvinylalkohol + polyetylen (spesialhanske)	Gir svært god beskyttelse mot de fleste typer kjemikalier, også løsemidler. Tynne og kan has innenfor andre typer hansker.	Dårlig passform og ubehagelige å ha på. Relativt dyre.

Klassifisering, merking og pakking av kjemikalier (CLP/REACH)

CLP = Europeisk kjemikalierregelverk (EU-forordning 1272/2008) for klassifisering, merking og pakking av kjemikalier (classification, labelling and packaging).

REACH = Europeisk kjemikalierregelverk for registrering, evaluering, autorisering og restriksjon av kjemikalier (registration, evaluation, authorisation and restriction of Chemicals).

Når et kjemikaliumprodukt produseres må informasjon om dette registreres etter REACH-regelverket og sendes inn til det europeiske kjemikaliebyrået ECHA, som har ansvaret for regulering av salg og bruk av farlige stoffer.

Dersom stoffet er *merkepliktig*, dvs at stoffet er helseskadelig, brannfarlig eller skadelig for miljøet, må det merkes, pakkes og risikovurderes etter CLP-regelverket.

Mer informasjon om dette kan finnes på miljødirektoratets nettsider:

<https://www.miljodirektoratet.no/ansvarsomrader/kjemikalier/clp/>

Merkepliktige kjemikalier merkes med faresymboler/farepiktogrammer, varselord, H-setninger og P-setninger. H- og P-setninger ble tidligere kalt risikosetninger (R-setninger) og sikkerhetssetninger (S-setninger). En oversikt over faresymboler/farepiktogrammer er gitt på neste side.

H-setninger er faresetninger (H = Hazard) og betegner hvilken fare som er knyttet til bruken av kjemikaliene. En liste over H-setninger på engelsk og norsk er tilgjengelig på miljødirektoratets nettsider: <https://www.miljodirektoratet.no/ansvarsomrader/kjemikalier/clp/h-setninger-i-clp/>

P-setninger (precautionary) gir informasjon om hvordan du kan forebygge skade. Disse kan du også finne på miljødirektoratets nettside:

<https://www.miljodirektoratet.no/ansvarsomrader/kjemikalier/clp/p-setninger-i-clp/>

Faresymboler til merking

Alle farlige kjemikalier skal være tydelig merket med faresymbol (farepiktogram), i tillegg til fare- og sikkerhetsinformasjon på norsk. Merkingen informerer om skader som kan oppstå ved bruk. Fram til 1. juni 2015 gjelder to merkesystemer parallelt. På sikt skal den nye merkingen gjelde i hele verden.

NYE FARESYMBOLER (farepiktogram)



Akutt giftig. Kjemikalier som er akutt giftige og kan gi livstruende skader ved svelging, hudkontakt og/eller innånding.



Etsende. Kjemikalier som forårsaker etseskader på hud og øyne eller alvorlige øyeskader. Brukes også for kjemikalier som er etsende for metaller.



Kronisk helsefare. Kjemikalier som forårsaker kroniske helseskader som for eksempel kreft, skader på arvestoffet og redusert fruktbarhet. Omfatter også kjemikalier som forårsaker allergi ved innånding, kjemisk lungebetennelse eller andre alvorlige skader.



Helsefare. Kjemikalier som er farlige ved innånding, hudkontakt eller svelging. Brukes også for kjemikalier som virker irriterende på hud, øyne og luftveier, gir allergiske hudreaksjoner, dødsighet og svimmelhet.



Miljøfare. Kjemikalier som er giftige for vannmiljøet på kort eller lang sikt. Skal oppbevares og håndteres slik at kjemikallet, ved bruk eller som avfall, ikke skader miljøet.



Eksplosjonsfarlig. Kjemikalier og gjenstander som er eksplosjonsfarlige dersom de utsettes for slag, friksjon, gnister eller varme.



Brannfarlig. Kjemikalier som er brannfarlige og kan brenne voldsomt ved antenning eller varmetilførsel. Enkelte kjemikalier utvikler brannfarlig gass i kontakt med vann eller selvanterner i luft.



Oksiderende. Kjemikalier som kan forårsake brann i eller bidra til forbrenning av andre materialer.



Gass under trykk. Gass eller andre kjemikalier som er trykksatt, eller gass som er flytende ved svært lav temperatur. Beholderen kan eksplodere ved ytre brann.



Følbar advarselmerking. De fleste helsefarlige kjemikalier som selges til forbrukere skal ha en følbar advarselmerking i form av en opphøyd trekant på emballasjen.

FARESYMBOLER SOM GJELDER TIL 2015



Meget giftig/
Giftig



Etsende



Helseskadelig/
Irriterende



Miljøskadelig



Eksplosiv



Ekstremt
brannfarlig/
Meget brannfarlig



Oksiderende

Last ned plakaten som pdf på www.klif.no



www.arbeidsmiljoet.no

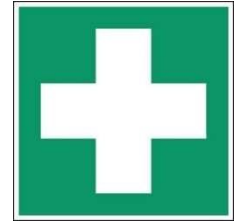


www.dsb.no



www.klif.no

Førstehjelp ved fare for blodsmitte



STIKK/SKJÆRESKADE

- 1) Hvis stikk/skjæreskade med spontan blødning: Tilstreb blødning fra skadestedet ved å klemme og holde skadestedet lavt.
Hvis stikk/skjæreskade uten spontan blødning: Ikke provoser frem blødning.
- 2) Vask og desinfiser stikk/skjæreskaden: Vask med såpe og vann i 10 minutter
Desinfiser med ett av følgende: Klorhexidin 5 mg/mL
Klorhexidin 1 mg/mL

BLODSRUT i øyne, munn og nese: Skyll rikelig med vann i minst 10 minutter

BLODSØL i sår: Skyll rikelig med vann
Desinfiser med vandig klorhexidin-løsning 1 mg/mL

Prosedyre ved skader med mulig overføring av blodsmitte

Se informasjon på Høgskolens nettsider: <https://www.hiof.no/om/hms-sikkerhet-beredskap/hms/laboratorium-og-verksted/studiested-fredrikstad/stikkskade/index.html>

Rekvisisjonsskjema for blodprøver og skademeldingsskjema ligger i skap ved H-127 (rød lab).

Avfallshåndtering i laboratoriet

Det er flere kategorier avfall fra et laboratorium:

- Papiravfall
- Glassavfall
- Plastavfall
- Biologisk avfall/smitteavfall
- DNA-avfall
- Kjemikalieavfall
- Radioaktivt avfall
- Stikkende eller skjærende avfall (for eksempel kanyler, kapillærprøvetagnings- spisser, kapillærprøveglass, objektglass, blodprøveglass)
- Batterier eller "elektronikk- avfall", EE-avfall
- Brannfarlig avfall
- Restavfall/ husholdningsavfall

Papiravfall

Bøker, hefter, ark etc.: Kastes til resirkulering. Unngå plast eller andre materialer i det papiret som resirkuleres.

Papp leveres driftsoperatører for gjenvinning.

Annet papiravfall, som brukt tørkepapir, papir med plast eller andre materialer kastes som husholdningsavfall i hvite plastsekker (står ved alle laboratoriebenkene).

Glassavfall: Kastes i angitt beholder på hvert laboratorium.

Plastavfall

Reagensrør, kyvetter, mikrotiterbrønner, eppendorf-rør uten DNA-avfall, pipettespisser, plastavfall som ikke inneholder blod, karsinogener eller mutagener:

Tømmes for evt. kjemikalier. Kastes som vanlig restavfall/ husholdningsavfall i hvite plastsekker (på/ved laboratoriebenkene).

Plastavfall som inneholder blod kastes i gule poser (evt. i beholder for stikkende/skjærende avfall hvis de kan gi stikkskader).

Plastavfall med mutagener/karsinogener: Behandles som spesialavfall, samles inn av veileder.

Biologisk avfall/smitteavfall

Mindre blod eller serumrester absorbert på bandasjer, tupfere etc. behandles som husholdningsavfall.

Avfall som inneholder større mengder blod, serum (f.eks fylte blodprøvetakingsrør), vevsdeler eller vevssnitt kastes i tynne gule plastsekker. Disse knyttes igjen og kastes i tykke gule, plastsekker.

Agarer med oppdyrkede bakterier kastes direkte i tykke, gule plastsekker. Slike plastsekker plasseres i en egen type smitteavfallskartong. Plastsekken må lukkes før smitteavfallskartongen også lukkes. Kartongen merkes med innhold. Laboratoriepersonalet leverer biologiske materiale/smitteavfall til driftsoperatører som destruerer avfallet.

Avfall som består av materiale fra dyr, for eksempel etter disseksjoner, samles inn i egne beholdere.

DNA-avfall: Samles inn i egne plastbeholdere.

Kjemikalieavfall

Kjemikalier avhendes ifølge anvisning fra laboratorieansvarlig. Organiske løsemidler og halogenholdige organiske forbindelser samles i egne beholdere.

Radioaktivt avfall

Slikt avfall skal behandles etter Strålevernets gjeldende retningslinjer og i henhold til utslippsprosedyrer utarbeidet av strålevernansvarlig.

Stikkende/ skjærende avfall

F.eks. kanyler, lansetter, glasskapillærer, objektglass, skalpeller og blodprøverør som kan gi stikkskader: Kastes i kanylebeholdere eller i merkede plastkanner. Når en slik beholder er full, lukkes den forsvarlig før den behandles som/sammen med biologisk avfall: Kastes i tykke, gule plastsekker. Slike tykke, gule plastsekker plasseres i en egen type smitterisikoavfallskartong. Plastsekk lukkes før kartongen også lukkes. Merkes med innhold. Sendes med driftsoperatører til eget forbrenningsanlegg for slikt avfall på Frevar.

Batterier eller “elektronikk- avfall” EE-avfall: Samles inn av laboratorieansvarlig.

Brannfarlig avfall: Kastes i egnet, rød metallbeholder som er plassert i laboratoriene.

Restavfall/ husholdningsavfall: Kastes i hvite plastposer/sekker.

Annet avfall/ spesialavfall: Ta kontakt med veileder.

Avfallsbeholdere på laboratoriebenkene

Det er to typer avfallsbeholdere på benkene:

- Hvite stativ med pose: Her kan man kaste avfall som senere kastes i plastsekkene ved enden av benken, for eksempel papirrester, brukte pipettespisser, plastrør.
- Gule plastbøtter: Biologisk avfall/smitte avfall og for stikkende og skjærende avfall.

HUSK: GULT ER SIGNALFARGE FOR SMITTEFARLIG AVFALL



Retningslinjer for rengjøring

Desinfeksjon ved søl av biologisk materiale på benker, bord, gulv o.l.

- Bruk hansker
- Bruk absorberende papir fuktet med vann og såpe til å fjerne alle synlige spor av søl
- Hvis lite søl: Kast papiret i husholdningsavfallsbeholderen
Hvis mye søl/oppformerte mikroorganismer: Kast papiret i smitteavfallsbeholderen
- Steng av gassbluss dersom disse er i bruk
- Dusj den tilsølte flaten med 70 % desinfeksjonssprit og tørk av med papir. Dusj på nytt med 70 % desinfeksjonssprit og la lufttørke (alternativt: Benytt 10 % Virkon, la virke 30 minutter)
- Papiret kastes i beholder for brannfarlig avfall
- Kast hanskene og utfør håndvask

Rengjøring av benken etter avslutning av laboratorieøvelser

- Benkepapir kastes i husholdningsavfallsbeholder
- Dusj benken med rengjøringsmiddel og tørk av.
- Kast papiret i beholder for husholdningsavfall.
- Steng av de gassblussene dersom disse er i bruk

Rengjøring av laboratorieutstyr

En generell regel er å hindre at forurensninger tørker inn på utstyret før det vaskes.

- Brukt utstyr skylles med springvann og synlig skitt fjernes. samles på angitt plass.
- Merking fjernes med sprit eller skurekrem.
- Sett brukt utstyr på angitt oppsamlingsplass.

NB! Smitte: Utstyr som har vært i kontakt med biologisk materiale skal desinfiseres før det rengjøres, f.eks vha Virkon. Kontakt eventuelt laboratorieansvarlig.

DEL 2: LABORATORIEUTSTYR OG BRUK AV DETTE

Vekter og veiing

I laboratoriet brukes ulike typer vekter. Vi skiller mellom analysevekt (finvekt) og overskålsvekt (grovvekt).

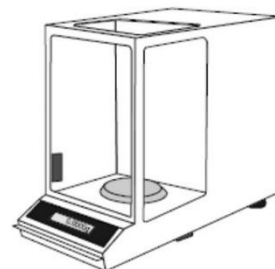
Analysevekt

Analysevekter brukes til veiing som krever stor nøyaktighet.

Skolen har ulike typer, for eks.:

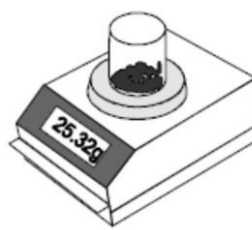
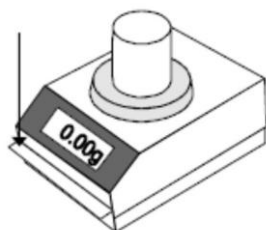
Sartorius BP 210: Veieområde opp til 210 gram, nøyaktighet: 0,0001g

Sartorius B 120: Veieområde opp til 120 gram, nøyaktighet: 0,0001g



Laboratorievekt / Overskålsvekt

Denne type vekt brukes når kravene til nøyaktighet ikke er så store.



Skolen har ulike typer, for eks.:

Sartorius BP 2100: Veieområde opp til 2100 gram,
nøyaktighet: 0,01g

OBS! Vektene skades av belastninger ut over veieområdet! Alle veieresultater er forbundet med en viss minimal usikkerhet som bl.a. skyldes hvordan vekten er konstruert.

Bruk og vedlikehold av vekter

Oppvarmingstid

Generelt bør alle vekter stå på minst en halv time før de brukes. Sartorius-vektene står i "standby"-mode hvis kontakten står i. Da trengs ikke oppvarmingstid.

Forsiktighetsregler

- Vektene skal betjenes med forsiktighet! Unngå brå bevegelser og støt.
- Kjemikalier skal aldri plasseres direkte på vektskålen, bruk veieglass, veieskip, plastskål, begerglass etc.
- Hvis det søles kjemikalier i vekten, skal vekten umiddelbart gjøres ren. Ta kontakt med veileder for å få hjelp til dette. Slå av vekten. Fast stoff børstes vekk med pensel. Væske fjernes med absorberende papir, for eksempel celletørk. Veieskålen fjernes og skylles med høyrenset vann. Børst/ tørk under veieskålen. Sørg for at det ikke kommer væske inn i selve vekten.
- Vektene skal holdes rene for støv. Når analysevektene ikke er i bruk, skal glassdørene på vekten være lukket.
- Vektene skal stå i nullstilling (0,00 eller 0,0000) når de forlates. Noen vekter kan stå i «standby».
- Når vekten brukes, skal bruksanvisningen alltid følges.
- Ta kontakt med veileder om du er usikker på noe, eller det oppstår problemer.

Direkte veiing: Man veier en gjenstand og finner gjenstandens vekt direkte.

Veiing med tara

Vekten av veieemballasje (veieglass / veieskip/ plastskål / etc.) kalles tara.

Tara trekkes fra vekten av emballasjen med stoff for å gi vekten av stoffet.

Dette kan gjøres automatisk på våre vekter, men av og til lønner det seg å gjøre det manuelt (hvis andre benytter en vekt du har tarert, vil din tarering bli slettet)!!

Bruk av vekt

- Du må selv vurdere hvilken vekt du bør bruke: Analysevekt når det kreves størst mulig nøyaktighet, grovvekt når det ikke kreves stor nøyaktighet.
- Sjekk at vekten står i vater (sjekk libellen) før veiingen starter.
- Du må selv vurdere veiemetode ut fra oppgaven du skal gjøre; f.eks. om du skal bruke veieskip, begerglass eller annet, om du skal tarere veieskipet før veiing eller veie det tomt og trekke det fra etterpå.
- Sjekk at vekten er ren og at området rundt vekten er ryddig.
- Sjekk at du har med deg det du trenger: Kjemikaler, spatel, veieskip e.l., skrivesaker.
- Lukk alle dører på vekten (analysevekter) og nullstill (tarer) evt. med veieskip.
- Sjekk at vekten viser 0 stabilt i minst 3 sekunder.
- Ha i det du skal veie, og lukk dørene igjen.
- Vent til tallene er stabile i minst 3 sekunder, les av og noter vekten.
- Nullstill vekten, ta med deg alt utstyret og forlat vekten ren og ryddig.

Eksikator

En eksikator er en tykkvegget glassbeholder med lokk som brukes til oppbevaring av digler, tørkede kjemikalier etc. i en tørr atmosfære. Kantene på eksikatorens og lokket er slipt og forsynes med spesialfett for å oppnå god tetning.

I eksikatorens nedre rom er det et tørkemiddel som sørger for lav luftfuktighet inne i eksikatorens. Dette tørkemiddelet kan for eksempel være silikagel (en farge når det er tørt og fint, en annen farge når det er på tide å tørke det), vannfritt kalsiumklorid eller en annen egnet hygroskopisk forbindelse.



Over tørkemiddelet ligger en gjennomhullet porselensplate som hviler på en glasskant i eksikatorens. Digler, begerglass etc. med kjemikalier som skal oppbevares tørt i eksikatorens, plasseres oppå denne platen.

Eksikatorens åpnes ved å trekke lokket forsiktig til siden. Hvis man må legge lokket fra seg, skal det legges med den slippede flaten opp. Ikke la eksikatorens stå åpen mer enn absolutt nødvendig, ellers vil tørkemiddelet tiltrekke seg fuktighet fra luften rundt og etter hvert miste sin effektivitet. Når man skal sette lokket på igjen, skyves det på fra siden. Når det er på plass, roteres det inntil det ikke lenger er noen luftkanaler gjennom fettlaget.

Hvis det man plasserer i eksikatorens har høyere temperatur enn romtemperatur, bør eksikatorens luftes (ved hjelp av korken eller ved å gli lokket til side) et par – tre ganger det første halve minuttet etter at den varme gjenstanden er plassert der.

Hold eksikatorens ren. Porselensplaten må være fri for støv, fett og andre forurensninger. Ved rengjøring og skiftning av tørkemiddel og fett, tas porselensplaten ut.. Gammelt tørkemiddel og fett fjernes og eksikatorens vaskes og tørkes i tørreskap. Ved hjelp av en trakt, f.eks. laget av et papirark, helles nytt tørkemiddel i eksikatorens nedre rom. Det må ikke komme tørkemiddel på sidene av eksikatorens, eller på den glasskanten som porselensplaten hviler på.

Brukt tørkemiddel kan som regel regenereres ved tørking i varmeskap.

En tynn film av nytt fett legges på de slippede flatene. Unngå overskudd av fett.

Volumetrisk utstyr

Målinger av volum er viktige i laboratoriearbeid. Her beskrives et utvalg av vanlig brukt utstyr med eksempler på bruksområder. Krav til hvor nøyaktig vi skal arbeide er viktig for valg av volumetrisk utstyr.

Noe av det volumetriske utstyret er kalibrert for å avgi et bestemt volum (TD = to deliver), noe utstyr er kalibrert for å inneholde et bestemt volum (TC = to contain). Det viktig å kjenne til hva slags kalibrering som gjelder for det utstyret du har tilgjengelig, for å velge riktig type utstyr, og bruke det riktig.

Utstyr som brukes mye i laboratoriet er:

Begerglass

Begerglass finnes i svært mange størrelser og vidder. Mange er laget av pyrexglass (glass med liten varmeutvidelse). Disse kan tåle direkte oppvarming. Begerglass brukes for eksempel til oppbevaring av reagenser under analysearbeidet. Strekmarkeringer angir grovt hvor stort volum det inneholder.



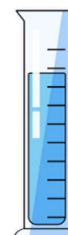
Erlenmeyerkolbe

Erlenmeyerkolbe (E-kolbe) er koniske i formen kolber, og finnes også i mange størrelse og vidder. Mange er laget av pyrexglass, som tåler direkte oppvarming. Strekmarkeringer gir grov volumangivelse. Erlenmeyerkolbe brukes til samme formål som begerglass. Den smale åpningen reduserer fordampning, den vide bunnen gjør E-kolben godt egnet til blanding av løsninger.



Målesylinder

Målesylindere har gradert inndeling og er kalibrert for å avgi et volum. De finnes i mange størrelser og fasonger (smale og høye eller vide og lave). Stor avstand mellom målestrekene gir mulighet for mer nøyaktig avlesning. Derfor er nøyaktigheten bedre jo mindre diameter målesylinderen har.



Målekolber

Målekolber er kalibrert for å inneholde et bestemt volum. De finnes i mange størrelser, fra 5 mL opp til 10 L. Målekolber brukes oftest til å lage løsninger som skal inneholde en viss mengde stoff pr. volumenhet. Kolbehalsen har inngravert målestrek (merke) som viser angitt volum. Kolben er riktig fylt med væske når bunnen av væskemenisken "hviler på merket" på kolbens hals. Bruk dråpepipette til oppfylling mot slutten. Avlesning må skje med målestreken/menisken i øyenhøyde. Halsens diameter bestemmer avlesningsnøyaktighet, Målekolber finnes i ulike kvaliteter, med ulik nøyaktighet (Klasse A bedre enn klasse B).



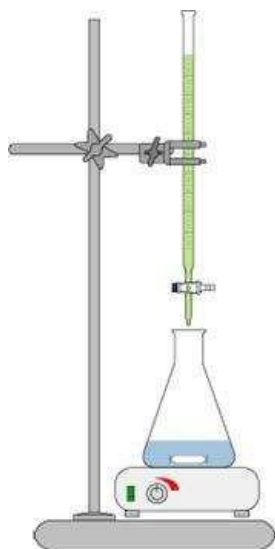
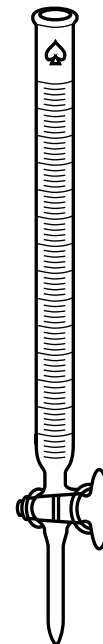
Byretter og titrering

Byretter er volumetrisk utstyr som benyttes til titreringsanalyser.

Byretten består av et langt glassrør. Røret er åpent i toppen for påfylling av væske. Det har en *hane* (kran/ventil) mot nedre ende av røret. På nedsiden av hanen er det en innsnevring og spiss i enden av byretten.

Byretten har en skala hvor man kan avlese hvor store væskevolum man her sluppet ut gjennom byrettespissen, ned i en løsning i for eksempel i en erlenmeyerkolbe. Slik kan man finne ut hvor mye væske man har tilsatt i erlenmeyerkolben. Skalaen starter øverst med volumet 0 mL. Skalaen har økende verdier nedover mot spissen. De vi benytter ved vår utdanning ender på 50 mL, men det finnes byretter beregnet for andre maksimalvolum (5 mL, 10 mL, 100 mL osv.).

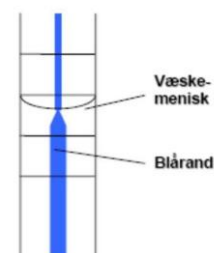
Når byretten skal brukes, fylles den opp med løsning til godt over 0-merket. Væske slippes ut (for eksempel i et lite begerglass) slik at spissen nedenfor hanen fylles helt. Pass på å få fjernet evt. luftbobler fra byretten, også den delen som er nedenfor hanen. Dette kan gjøres for eksempel ved å knipse på byretten mens hanen er åpen.



Når byretten er uten luft, justerer man løsningsvolumet til 0-merket. Husk at øyet skal være i samme høyde som væskesøylen i byretten, og les av der meniskens bunn sees.

Deretter titrerer man ved å slippe væske ut av røret til man når titreringssluttpunkt (ofte et fargeomslag i den løsningen man slipper væsken ned i). Mens væsken slippes ut, blandes den kontinuerlig med løsningen i erlenmeyerkolben, enten for hånd (venstre hånd på hanen, høyre blander løsningen ved å svinge på erlenmeyerkolben), eller ved hjelp av en magnetrører.

Man skal kunne slippe ut væske i små volum gjennom byrettespissen, ned til en halv dråpe eller mindre, gjennom byrettespissen. Dråper som blir hengende på byrettespissen må skylles ned i kolben, for eksempel med litt deionisert vann. Når titreringen er over (eks. ved fargeomslag) avleses volumet av forbrukt væske, ved meniskens bunn.



Avlesningen bør foregå ved at man anslår et siffer mer enn det man kan avlese direkte av skalaen. Man anslår hvor mange 10-deler man har mellom byrettens minste delestreker.

Noen byretter er utstyrt med en farget vertikal linje i glassrøret på motsatt side av skalaen. Ved væskens menisk vil denne linjen sees som to motsatt rettede spisser. Dette kan være en hjelp under avlesningen av byretten.

Vask: Byretten kan ikke vaskes i vaskemaskinen. Den skylles gjentatte ganger med vann og til slutt med høyrenset vann umiddelbart etter bruk. Spennes opp opp-ned i stativ for tørking.

Vedlikehold: Hvis hanen er vanskelig å bevege kan den smøres med hanefett. Vær oppmerksomme på at hanens tilstramming kan justeres på mange byretter.

Reagenstillaging

Renhetsgrader, konsentrasjonsangivelser etc

Renheten angis på emballasjen, og en må velge den renhet oppskriften spesifiserer, eller bruken tilsier.

Betegnelser på renhet i rekkefølge mot økende renhet:

- technicum, venale, crudum, teknisk = kjemikalier av handelskvalitet
- practical = kjemikalier som er industrielt fremstilt og ikke rensset ytterligere. Inneholder som regel minimum 97 %.
- purified, gereinigt
- purum, pure, rein, reagent quality = kjemikalier tilpasset allment laboratoriearbeid og for industribruk. Inneholder som regel minimum 98 %.
- purissimum, reinst = kjemikalier med høy renhet for kvalifisert laboratoriearbeid. Inneholder som regel minimum 99 %,
- pro analysis, p.a. = kjemikalier av høyest renhet for analytiske arbeider

I tillegg har ulike produsenter sine egne klassifiseringer som f.eks Suprapur som er Mercks varemerke for ultrarene kjemikalier. Det finnes også betegnelser som sier noe om bruken kjemikaliene er beregnet på, som f.eks:

- Biopur = kjemikalier som er prøvd og tilpasset biokjemiske arbeider
- HPLC-grade = kjemikalier som er tilpasset kromatografiske metoder (høy renhet)
- For syntese = kjemikalier som er beregnet for organiske syntese

Konsentrasjonsangivelse

- Alle løsninger skal merkes med konsentrasjon av oppløst stoff, og løsemiddel hvis dette ikke er vann.
- Molaritet er mol/L.
- Masse per volumenhet oppgis oftest som g/L.
- Når det bare står % så skal dette være masseprosent, dvs. w/w. Dette er det samme som w/v når tettheten på løsningen er tilnærmet 1 g/mL.
- Volumprosent angis som vol%.
- Mettet løsning er bare meningsfylt når temperaturen er oppgitt.

Noen reagenser skal lages fra tørket stoff. Stoffet tørkes i varmeskap og oppbevares (merket) i eksikator.

Reagenser skal lages med den nøyaktighet som er nødvendig. Det betyr at en tenker over hva det skal brukes til og velger vekt og måleutstyr som er hensiktsmessig.

All fortykning av sterke syrer og baser skal foregå i avtrekk, med verneutstyr

HUSK: VANN I SYRE ER UHYRE!

SYRE I VANN, DET GÅR AN!

Behandling av kjemikalier

- Ved innveiling av faste stoff benyttes RENE veieskjeer/spatler.
- Faste stoffer i form av klumper knuses i morter før innveiling.
- Kjemikalier skal aldri has tilbake i kjemikalieflasken.
- Forurensede kjemikalier kastes.
- Ikke sløs med kjemikalier og reagens. De er kostbare, og det er ikke miljøvennlig å lage unødvendig avfall.
- Stikk aldri pipetter direkte ned i reagensflasker. Overfør reagens til egnet glass/rør før du pipetterer.
- Korken skal slutte tett til kjemikalieflasken.
- Etsende, giftige og eksplosive kjemikalier behandles etter gjeldende regler for de ulike stoffer.

Oppbevaring av reagens

- Lut/lutholdige reagenser oppbevares på plastflasker (bryter ned glass).
- Lysømfintlige løsninger oppbevares på mørke flasker/flasker med aluminiumsfolie rundt.
- Sterke syrer angriper gummi og må derfor oppbevares på flasker med plastkork.

Holdbarhet av reagens

Holdbarheten er ofte begrenset. Det kan skyldes:

- red/oks- reaksjoner
- ulike stoff i reagenser kan langsomt reagere med hverandre
- utfelling
- bakterievekst
- reaksjoner med lys

De fleste reagenser skal være klare og uten bunnfall. Reagens skal inspiseres før bruk. Er det bunnfall eller andre tegn på at reagentet kan være ødelagt bør det som regel ikke benyttes, og reagentet destrueres. Er holdbarheten begrenset skal dette stå på etiketten.

Tillaging av reagenser i målekolbe

Veid stoff overføres vanligvis til målekolben ved vektens arbeidsbenk. Nødvendig utstyr må bringes med.

- Substans veies inn / måles opp i egnet utstyr.
- Substans overføres kvantitativt til målekolben. Dette kan gjøres på forskjellig måte, avhengig av benyttet utstyr:
 - Veieskip: Veieskip settes direkte nedi halsen på målekolben Pass på at det passer!
 - Veieglass, begerglass, engangs-veieutstyr o.l.: Substansen kan overføres via trakt. Unngå klumper som kan sette seg fast!
 - Lettløselige substanser kan løses i begerglass og så overføres kvantitativt til kolben.
 - Målesylindre/pipetter. Væsken overføres direkte i målekolben. Bruk pipettene riktig!
 - Etterskylling med løsemidlet er viktig for kvantitativ overføring. Skyll godt med ionebyttet vann fra sprutflaske, eller bruk pasteurpipetter til andre løsningsmidler. Husk å skylle traktens stilk og målekolbens hals.
- Kolben fylles ca. $\frac{1}{2}$ til $\frac{3}{4}$ full med løsemidlet (opp til videste del av kolben).
- Bland godt til alt er løst, men IKKE mot kork.
 - Noen løsninger må stå natten over før alt er løst.
 - Noen substanser gir varmeutvikling når de løses i vann. Er varmeutviklingen kraftig, må løsningen avkjøles under fremstillingen. Løsningen må ha romtemperatur før det fylles opp til merket.
 - Noen løsninger må varmes for å få substansen til å løse seg. Målekolber må ikke varmes til høyere temperatur enn 60-70° C. Det kan derfor være hensiktsmessig å løse stoffet i erlenmeyerkolbe, avkjøle og overføre kvantitativt til målekolben. Løsningen må ha romtemperatur før det fylles opp til merket.
 - Røreverk med magnetrører kan være nyttig. Røreverk finnes både med og uten mulighet for oppvarming av målekolben. Magneten hentes opp av løsningen med en egen stav og skylles med løsemiddel ned i målekolben.
 - Reagenser som skal pH-innstilles må justeres før det fylles opp til merket. Husk at pH også er temperaturavhengig.
- Når alt tørrstoff er løst, kan kolben nå fylles til merket.
- Bland godt mot kork eller parafilm. Kolben bør vendes minst 15 ganger samtidig med at løsningen roteres i kolben. OBS! Parafilm må strekkes til dobbelt lengde i begge retninger for at den skal fungere tilfredsstillende.
- Ferdig reagens overføres til reagensflaske som er korrekt merket. Flasken korkes og oppbevares forskriftsmessig.

Etikettering/merking

Merking og emballering av merkepliktige kjemikalier skal følge siste versjon av CLP og REACHregelverk fastsatt av EU.

Etiketten skal gi opplysninger om:

- Flaskens (beholderens) innhold, navn og konsentrasjon o Innhold skal angis med navn i henhold til IUPC-nomenklatur, samt med kjemisk identitet (= formel, CAS-nummer eller EC-nummer) og molekylær eller strukturell informasjon (hvis kjent og nødvendig).
- Tillagingsdato
- Navn på den som har laget reagenset
- Holdbarhet og oppbevaring (hvis kritisk)
- Eventuelt: Hvilken analyse reagenset er beregnet til

Reagensflasken skal ha påført farepiktogram dersom stoffkonsentrasjonen er: $\geq 1\%$ (w/w)

Eksempel på etikett:

Høgskolen i Østfold	
Eventuelt: Navn på stoffblandingen	
Kjemisk navn og produktidentifikasjon (eks CAS-nummer)	
Konsentrasjon	
Evt.farepiktogram(mer)	
+ H-setninger (kan velges bort hvis liten emballasje < 125 mL)	
	Oppbevaringsbetingelser/Holdbarhet (Hvis viktig eller begrenset)
Dato for tillaging og signatur	Volum/mengde

Ved søl på etiketten slik at det blir vanskelig å lese noe av informasjonen, skal den byttes.

Vannkvaliteter

Vann kan inneholde flere typer urenheter som kan påvirke biomedisinske analyser negativt. Eksempler på urenheter kan være:

- Bakterier
- Organiske forbindelser
- Uorganiske ioner
- Endotoksiner og nukleaser
- Partikler
- Gasser

For at vann som benyttes i tillaging av reagenser skal påvirke analysen minst mulig må det ofte benyttes rensset vann. Type rensset vann som benyttes må vurderes for hver enkelt analyse ut ifra hvilke urenheter som kan tenkes å påvirke analysen. Laboratoriets økonomi og bygningstekniske konstruksjon må også tas med inn i regnestykket.

Renset vann

Samlebetegnelse for vann som er blitt rensset vha en eller flere av de følgende prosesser:

Destillering, deionisering vha ionebyttekolonne, elektrokjemisk demineralisering, revers (omvendt) osmose, kullfilterfiltrering, ultrafiolett oksidasjon, ultrafiltrering, eller mikrofiltrering.

Avhengig av standard som følges (ISO, ASTM, CLSI eller US Pharmacopeia) for klassifisering av renhetsgrad kan vannet få betegnelsen lavrenset (type 3), høyrenset (type 2), ultrarenset (type 1), grad I-IV, «USP rensset vann» eller «USP vann til injeksjon». Disse har noe ulike krav til de ulike gruppene, men kan til praktisk bruk slås sammen til følgende tabell:

Tabell 2: Oversikt over gruppering av vannkvaliteter (kilde: www.merckmillipore.com)

Laboratory Water Purity Specifications 'Consolidated' Guidelines				
Contaminant	Parameter and Unit	Type 1	Type 2	Type 3
Ions	Resistivity (MΩ-cm)	> 18	> 1	> 0.05 (50 KΩ)
	Silica (ppb)	< 10	< 100	< 1000
Organics	Total Organic Carbon (TOC) ppb	< 20	< 50	< 200
Particles	Particles > 0.2 µm (#/ml)	< 1	N/A	N/A
Bacteria	Particles > 0.2 µm (#/ml)	< 1	< 100	< 1000
	Endotoxin (Eu/ML)	< 0.001	N/A	N/A

Tabell 3: Oversikt over definisjoner, produksjonsmåter og bruksområder for ulike vannkvaliteter

	Type 1 Ultrarensset vann	Type 2 Høyrenset vann	Type 3 Lavrenset vann
Definisjon	Ultrarent vann til analyse- og forsøksformål. Fritt for innhold av uorganiske, organiske eller kolloidale kontaminanter.	Vann til spesifikk laboratoriebruk. Veldig lavt innhold av uorganiske, organiske eller kolloidale kontaminanter.	Vann til generell bruk. Lavt innhold av uorganiske, organiske eller kolloidale kontaminanter.
Produksjon	Produsert av RO-vann, destillert eller deionisert vann som deretter er filtrert gjennom et membranfilter eller porefilter (0,2 µM) for å fjerne partikler, eventuelt redestillert fra et apparat med kondensert silisiumdioksyd.	Produseres ved multiple destilleringer eller deioniseringer eller revers osmose etterfulgt av destillering. Hvis produsert fra springvann må grovfiltrering utføres først.	Produseres ved revers osmose, enkel deionisering eller enkel destillering. Inngangsvann må være grovfiltrert/relativt rent på forhånd.
Bruks-område	Diverse kromatografiske analyser (eks HPLC, GC etc) og sporanalyser (eks ICP-MS). Tillaging av buffere og media for cellekulturer og IVF. Reagenser til molekylærbiologiske analyser, elektroforese og blotting. Vannet kjøpes ofte på flasker, eventuelt kan MilliQ-vann brukes hvis vannet ikke trenger være sterilt eller nukleasefritt. Svært lav ledningsevne. Dyrt alternativ	Biokjemiske og elektrokjemiske analyser, prøvefortynning, radioimmunoassays, inkubatorer, tillaging av dyrkningsmedier i mikrobiologi og tillaging av buffere. Kan også være inngangsvann for produksjon av type 1vann. Lav ledningsevne. Billigere alternativ	Vask av glassutstyr, tillaging av dyrkningsmedier i mikrobiologi, til bruk i autoklaver, varmebad (men obs økt fare for rust) og luftfuktere. Kan også være inngangsvann for produksjon av type 1- eller type 2-vann. Billigst alternativ

Destillert vann (dH₂O)

Vann som er kokt sakte og vanddampen samlet opp og avkjølt i ny, ren beholder. Produktet blir vann som inneholder svært lite urenheter eller mineraler og har en svært lav elektrisk ledningsevne. For ekstra renhet kan destillatet destilleres på nytt eller deioniseres gjennom en ionebytterkolonne.

Dobbeldestillert vann (ddH₂O)

Destillering av produkt (dH₂O) fra tidligere destillering. Tidligere mye bruk for sporanalyser inntil andre mindre tidkrevende og billigere metoder ble utviklet (som f.eks deionisering).

Deionisert/avionisert/ionebyttet vann (diH₂O)

Alle ioner fjernes ved bruk av en kation/anion ionebytterkolonne. Ionebytterkolonner bytter ut mineraler i vannet med H⁺ og OH⁻, som kombineres og danner vann. Renseprosessen er mindre tidkrevende og billigere enn destillering, men fjerner aktivt kun mineraler og ikke andre organiske molekyler, bakterier og virus (disse kan likevel, avhengig av kolonnetype fanges passivt).

Revers/omvendt osmose-vann (RO-vann)

Det motsatte av vanlig osmose, der væsker med lav partikkelkonsentrasjon/saltinnhold forsøker å blande seg med væsker med høy partikkelkonsentrasjon/saltinnhold. En type deionisering, der vann presses gjennom en semipermeabel membran (0,001-0,0001 µM) over til en væske med lavere osmotisk trykk. Vann og gasser vil kunne gå gjennom membranen, samt enkelt andre små molekyler, men de fleste forurensinger stoppes. Ønskes enda renere vann kan flere RO-prosesser kjøres etter hverandre, eventuelt kombineres med deionisering vha ionebytterkolonne.

MilliQ-vann

Produktbetegnelse, men ofte brukt som generisk uttrykk om ultrarent vann. Vannet renses gjennom både et resinfilter og en ionebytterkolonne («mixed bed» deionisering). De fleste MilliQ-systemer filtrerer også vannet gjennom 0,22 µM-filter for å fjerne bl.a bakterielle kontaminanter. MilliQsystemet måler kontinuerlig ledningsevnen og man kan derfor lett følge med på vannets renhet.

Demineralisert vann

Vann hvor noen typer mineraler er fjernet vha elektroder og byttet ut med NaCl. Benyttes når man ønsker kontroll på hvilke mineraler som er i vannet, men har behov for høyere ledningsevne enn deionisert vann.

Høgskolens vann til analysebruk (grønn kran) er «høyrenset vann» som er renset vha deionisering og deretter UV-bestrålt.

Pipetter og pipettering

Pipetter er vanligvis (ikke alltid) laget for å avgi bestemte volum.

Bruk av pipetter kalles pipettering. Pipettering benyttes ofte i laboratoriearbeid. For å oppnå gode resultater må man lære seg riktig valg, bruk og behandling pipetter og utstyr. Det er viktig å følge produsentens anbefalinger for den enkelte type.

Pipetter finnes i mange forskjellige typer, beregnet for ulike formål. Her skal følgende typer beskrives:

- pasteurpipetter (dråpepipetter)
- fullpipetter
- målepipetter (graderte pipetter)
- kapillærpipetter (mikropipetter)
- automatpipetter
- multipipetter

PASTEURPIPETTER (DRÅPEPIPETTER)

Disse kalles også dråpetellere, og finnes i helstøpt plast (gradert eller ugradert), eller i glass med løs smokk. Dråpepipetter er ikke kalibrert for å avgi et bestemt volum. De brukes til ca. utmålinger og til å avgi dråper når man for eksempel fyller målekolber til merket.

Alle andre pipetter leveres kalibrert og justert fra produsent. For alle typer gjelder at pipetteringsvæsken skal ha riktig temperatur, og at viskositet og overflatespenning er mest mulig lik væsken pipettene er kalibrert for. Hvis man har mistanke om at en pipette avgir feil volum, må den kontrolleres. Vanligvis gjøres dette ved innveining av deionisert vann gjentatte ganger. På bakgrunn av resultatene vurderes om pipetten må justeres/kalibreres (hvis det er mulig) eller repareres (evt. kastes).

FULLPIPETTER OG MÅLEPIPETTER

En av forutsetningene for at pipetter skal avgi riktig volum er at de er rene. Hvis rester av fett, proteiner eller andre stoffer tørker på innsiden, kan det dannes luftblærer der når ny væske suges inn. Luftblærene gjør at pipetten avgir feil volum. Husk å sjekke at pipettespissen er hel.

Fullpipetter

Fullpipetter er beregnet for å avgi et bestemt volum, og brukes til nøyaktige utmålinger av løsninger. De finnes i størrelser fra 0.5 mL til 100 mL. Fullpipettene er kalibrert for å avgi det angitte volum vann ved 20°C.

De finnes i to nøyaktigheter, klasse A eller AS (den mest nøyaktige) og klasse B (den minst nøyaktige). Etter-løpsti er angitt i sekunder etter bokstavene Ex eller ID. Hvis intet er angitt, benyttes etterløpsti på 10 sek.

Målepipetter

Et annet navn på målepipetter er differensialpipetter (diff.pipetter). Hver pipette er gradert for utmåling av ulike volumer. De finnes i mange ulike størrelser, vanligst er 1mL, 5mL og 10mL. Målepipettene er greie å bruke når man skal pipettere forskjellige volum av en løsning, eller serier med like volum.



Det finnes flere type målepipetter:

- Noen er kalibrert til å avgi et bestemt volum ved tømning med fritt utløp fra en skalastrek og helt ut (som fullpipetter) med etterløpstid.
- Noen er kalibrert for å avgi et bestemt volum ved å tømme med fritt utløp fra nullstrekken til en skalastrek uten etterløpstid.
- Noen er beregnet for utblåsning av siste dråpe. I så fall er de merket BO (blow out).

Bruk av fullpipetter og målepipetter

Til pipetteringer med fullpipetter og målepipetter må man bruke en "pipettefyller/pipettesuger" for å suge opp væsken. Se nedenfor for nærmere beskrivelse. Munnpipettering skal unngås!

- Væsken suges opp et lite stykke over innstillingsmerket.
- Spissen tørkes av.
- Væskesøylen innstilles deretter på merket med nedre kant på menisken. Det gjelder klare væsker. Når man arbeider med ugjennomsiktige eller mørke væsker, innstilles væsken ved den synlige grense, hvilket i alminnelighet vil si øvre kant av menisken. Under innstillingen av væskesøylen holdes pipetten i loddrett stilling med spissen mot tørr glassvegg og med innstillingsmerket i høyde med øynene. Vinkelen mellom pipetten, som holdes loddrett, og glassveggen skal være 45°.
- Flytt pipetten over til begeret/glasset hvor væsken skal overføres. Pipetten holdes fortsatt loddrett i 45° vinkel mot glassveggen. La væsken renne fritt ut av pipetten.
- Væsken langs pipetteveggen renner til slutt langsommere og samler seg etter hvert i pipettespissen. For å få med det totale volum som pipetten er kalibrert for, skal man vente i ca. 10 sekunder etter at pipetten tilsynelatende er tømt. Denne tiden kalles etterløpstid. Noen ganger er det angitt annen etterløpstid på pipetten, bruk i så fall den tiden som er oppgitt.



Pipettefyllere

Peleusballongen er utstyrt med tre kuleventiler som er merket A, S og E, som åpnes ved å klemme ventilene mellom tommel og pekefinger.

Først lages undertrykk i ballongen ved å klemme den sammen, mens A holdes åpen.

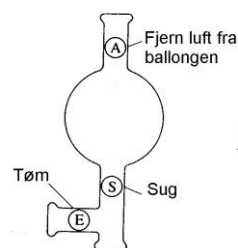
Deretter settes ballongen på pipetten.

Hold øverst på pipetten når du gjør dette.

Pipetten skal sitte så løst at den kan vippes av med en finger.

Væske suges inn ved å åpne ventil S.

Pipetten tømmes ved å trykke på ventil E.



Pi-pumper er utstyrt med et hjul til å dreie på for fylling og tømning av pipetten. Pi-pumper finnes i ulike størrelser, avhengig av volumet som skal pipetteres.



En rekke andre typer pipettefyllere finnes. Alle typer leveres med bruksanvisning fra produsenten.

KAPILLÆRPIPETTER (MIKROPIPETTER)

Kapillærpipetter brukes til små volum av viskøse væsker, for eksempel blod. De er kalibrert for utblåsning og etterskylling. De finnes i størrelser for eksempel fra 10 μL til 100 μL .

Bruk av kapillærpipetter (mikropipetter)

- Pipetten fylles ved hjelp av kapillærkreftene. Noen pipetter skal fylles helt. Andre skal fylles til et innstillingsmerke.
- Pipetten skal tørkes av utenpå. Bruk celletørk.
- For pipetter med innstillingsmerke; Pipetten fylles slik at væsken går over merket. Innstilles så til merket ved å trekke ut væske mot celletørk.
- Ved hjelp av adapter eller smokk blåses innholdet ut i løsningen. Pipetten skylles deretter 3 - 4 ganger med løsningen. For å få med volumet som pipetten er kalibrert for, må den tømmes helt og alt innhold skylles ut.

AUTOMATPIPETTER

Automatpipetter er de mest brukte pipettene i laboratorier i dag. Mange ulike typer er tilgjengelige. Pipettene leveres ferdig kalibrert fra produsent, med sertifikat som angir pipettens ytelse, men kalibreringen må kontrolleres med jevne mellomrom. Automatpipetter finnes innen et stort volumområde, fra 0,5 μL til 10,00 mL. Noen er beregnet for et fast volum, men de mest brukte pipettene kan innstilles på et ønsket volum innen et bestemt volumintervall. En automatpipette kan enten være enkanals eller multikanals (ofte 6, 8 eller 12 kanaler). Til pipettene brukes engangsspiss (tip) i plast. Spissene kan være med eller uten filter. Filteret hindrer carry-over av f.eks DNA eller bakterier mellom prøver og hindrer også at væske fra spissen kommer inn i pipetten. Dersom filterspisser benyttes er det spesielt viktig at man bruker en spiss tilpasset pipettens oppsugningsvolum. I biokjemiske analyser er det ofte ikke nødvendig med filterspisser.

Vanlige intervaller for våre pipetter er:

0,5-10 μL	5-40 μL	40-200 μL	200-1000 μL	1,00 – 5,00mL	2,00-10,00 mL
----------------------	--------------------	----------------------	------------------------	---------------	---------------

Step-pipetter

Step-pipetter er automatpipetter spesielt egnet for å pipettere like volum av samme løsning en rekke ganger etter hverandre. Til pipetteholderen på disse pipettene kan det kobles spesielle sprøyter av forskjellig størrelse. Pipetten innstilles til å avgi ønsket volum og sprøyten fylles med løsning. Ved å gi et trykk på utløsermekanismen avgir pipetten et volum som pipetten er innstilt til. Den kan avgi nye "doser" av samme volum ved å trykke på utløsermekanismen inntil sprøyten er tom.

Bruk av automatpipetter

OBS! LES BRUKSANVISNINGEN FOR DEN PIPETTEN DU SKAL BRUKE. AVVIK FRA DET SOM STÅR NEDENFOR KAN FOREKOMME.

Det er svært viktig at vi ikke "tvinger" en pipette til å avgi volum utenfor området den er angitt for. Gjør vi dette kan den etterpå avgi gale volum og/eller være totalt ødelagt.

1. Still inn ønsket volum på pipetten. Skru volum ovenfra og ned og trykk deretter på knotten på toppen av pipetten et par ganger – i tilfelle stampelet har satt seg litt fast.
2. Fest tip av riktig størrelse til pipetten. Sjekk at tip'en sitter godt på holderen. Ikke dunk pipetten hardt mot pipetteboksen, dette kan føre til at stampelet etter hvert ødelegges. Ikke rugg pipetten frem og tilbake mens spissen står i pipetteboksen, dette kan føre til små riper på pipetten og unøyaktig pipette som følge av små mengder luft som slippes inn i pipetten utenom via spissen.
3. Trykk knotten/stampelet på toppen av pipetten ned til første hakk. Stikk pipettespissen 3 - 4 mm ned i den løsningen du skal pipettere ut fra (jo større spiss og mer volum som skal pipetteres ut, jo dypere ned og vice versa – men ikke helt i bunn!). Pipetten skal holdes loddrett.
4. Slipp forsiktig opp knotten på toppen av pipetten mens du holder tommelen på knotten. Hvis vi pipetterer en viskøs løsning, bør ikke knotten slippes for brått opp. Spissen skal stå nede i væske hele tiden mens stampelet slippes opp. Når knotten slippes opp, vil væske suges inn i spissen. Kontroller at det ikke også suges opp luft dersom volum skal være nøyaktig.

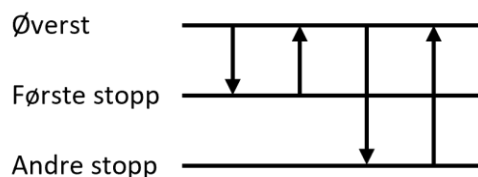
I noen tilfeller anbefales det at spissen skal tørkes utvendig når den er fylt, f.eks ved pipettering av fullblod til kvantitative analyser. Det må i så fall gjøres uten å trekke ut noe av innholdet!.

5. Pipetteholderen holdes fortsatt i loddrett stilling mens den overføres til det glasset væsken skal overføres til. Mottakerglasset holdes på skrå slik at pipettespissen danner ca.45° vinkel med glassveggen. Spissen skal berøre glassveggen.
6. Trykk inn knotten på toppen av pipetten til trinn 1. Det meste av væsken vil da overføres til det nye glasset. Vent et par sekunder med knotten i denne posisjonen.
7. Press så knotten inn til neste trinn. Dette vil tvinge den siste væskeresten ut av spissen.
8. Knotten holdes i denne posisjonen til spissen er fjernet fra mottakerglasset.
9. Spissen kastes direkte i en avfallsbeholder ved å trykke på spiss-utløseren på pipetten.

For nøyaktig pipettering anbefales det å fukte spissen minst tre ganger i løsningen som du skal pipetteres ut fra. Dette gjøres ved å suge løsning opp i spissen og tømme innholdet tilbake i dette begeret et par ganger før du igjen fyller den samme spissen med løsning og overfører til mottakerglasset. Hensikten med dette er å klargjøre plastikken i pipettespissen for løsningen og optimalisere luftfuktigheten inne i pipetten. Pipetteringsteknikken som er beskrevet over kalles **forward** teknikk.

Forward teknikk

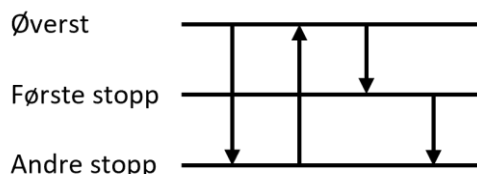
1. Stampelet trykkes ned til **første** stopp.
2. Senk pipettespissen ned i væsken som skal pipetteres. Spissen bør være godt under overflaten, men ikke i bunn.
3. La stampelet rolig gå tilbake til øverste posisjon.
4. Avgi væsken i ønsket beholder ved å trykke stampelet med en kontinuerlig bevegelse helt ned til **andre** stopp. Husk at pipettespissen skal berøre veggen på beholderen i ca. 45 vinkel. Pipetten skal være loddrett og beholderen på skrå.
5. Slipp stampelet opp til øverste posisjon og du er klar for en ny pipettering.



For nøyaktig pipettering av små volumer eller viskøse løsninger anbefales **reverse** teknikk.

Revers teknikk

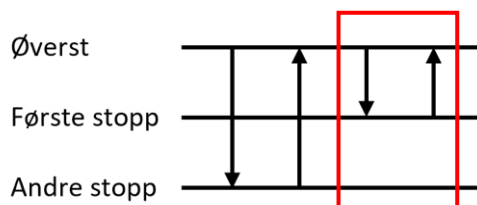
1. Stempelet trykkes ned til **andre** stopp.
2. Senk pipettespissen ned i væsken som skal pipetteres. Spissen bør være godt under overflaten, men ikke i bunn.
3. La stempelet rolig gå tilbake til **øverste** posisjon. Du har nå et overskud av væske i pipettespissen.
4. Avgi væsken i ønsket beholder ved å trykke stempelet med en kontinuerlig bevegelse ned til **første** stopp. Husk at pipettespissen skal berøre veggen på beholderen i ca. 45 vinkel. Pipetten skal være loddrett og beholderen på skrå.
5. Overskuddet som er igjen i pipettespissen tømmes enten til avfall eller tilbake til løsningen det pipetteres fra.
6. Slipp stempelet opp og du er klar for en ny pipettering.



For pipettering av samme løsning i en rekke av nye glass, kan du selvsagt bruke den samme spissen. Husk bare å ikke kontaminere pipettespisse med f.eks andre løsninger. Bruk av **repetitive** teknikk (utvidet revers teknikk) anbefales.

Repetitive teknikk

1. Stempelet trykkes ned til **andre** stopp.
2. Senk pipettespissen ned i væsken som skal pipetteres. Spissen bør være godt under overflaten, men ikke i bunn.
3. La stempelet rolig gå tilbake til **øverste** posisjon.
4. Avgi væsken i ønsket beholder ved å trykke stempelet med en kontinuerlig bevegelse ned til **første** stopp. Husk at pipettespissen skal berøre veggen på beholderen i ca. 45 vinkel. Pipetten skal være loddrett og beholderen på skrå.
5. **Hold stempelet på første stopp**, og senk pipettespissen ned igjen i løsningen det pipetteres fra.
6. La stempelet rolig gå tilbake til **øverste** posisjon.
7. Avgi væsken i ønsket beholder ved å trykke stempelet ned til **første** stopp.
8. Gjenta punkt 5 til 7 for repetitiv (gjentatt) pipettering.



For pipettering av fullblod (svært viskøs væske) anbefales det å starte med vanlig, forward teknikk for å suge opp blodet. Deretter tørkes pipettespissen forsiktig av på utsiden av pipetten, f.eks vha et gassbind. Så settes pipettespissen ned i løsningen som blodet skal fortynnes i og spissen skylles med løsningen. Obs: I prosedyrer kan det være viktig å presisere antall ganger spissen må skylles slik at dette gjøres likt mellom alle som utfører analysen.

Dersom pipetten skal benyttes for analyser med høye krav til nøyaktighet bør pipetten kalibreres med bruk av samme type pipetteknikk som skal benyttes i analysen.

Separasjonsteknikker

Det vil ofte være behov for å skille partikler i en løsning fra væsken de er oppslemmet i. Partikler oppslemmet i en væske lar seg adskille fra løsning pga. partiklenes størrelse og tyngde.

Metodene vi velger for den mekaniske adskillelsen av partikler fra væsken varierer bl.a. avhengig av hva formålet er med separeringen (ønsker vi å få tak i presipitatet – bunnfallet, eller filtratet – væsken)? Enkle og mye brukte metoder er filtrering og sentrifugering.

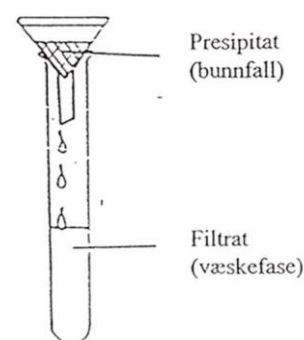
Filtrering

Partiklene blir skilt fra løsningen ved hjelp av filtre. Filtre er porøse membraner med ulik porestørrelse. De slipper partikler som er mindre enn porens størrelse slippes gjennom, mens større partikler holdes tilbake.

Væsken vi oppnår etter filtrering kalles FILTRAT.

Bunnfallet som blir igjen på filteret kalles PRESIPITAT.

Det finnes mange forskjellige filtertyper og filtreringsmetoder. Hva vi velger avhenger av formålet med filtreringen. Ønsker man klart filtrat fra første dråpe kombinert med raskest mulig filtrering, er papirfiltre det mest aktuelle.



Eksempler på ulike typer papirfiltre:

- Sort - båndfilter med stor porestørrelse
- Hvitt - båndfilter med middels porestørrelse
- Blått - båndfilter med liten porestørrelse
- Filtrerpapirark med grove porer

Huskeregel:
SORT går FORT
HVITT går LITT
BLÅTT går SMÅTT

Størrelsen på filtret velger vi etter volumet vi skal filtrere og størrelsen på trakten vi benytter. Velger vi for stort filter, vil vi miste relativt mye av filtratet fordi det blir sugd opp i filteret. Foldefiltre gir stor filtreringsflate (de har større kapasitet og gjør at filtreringen går raskere).

Til en rekke analytiske oppgaver trenger vi spesialpapir i filtrene:

- Askefritt papir (med minimale forurensninger av Na, K, Ca, Mg, Cl, sulfat og fosfat)
- Aktivt gullpapir (adsorberende egenskaper)
- Silikonert papir (slipper gjennom organiske løsninger, vandige holdes tilbake)

Andre filtertyper kan f.eks. være:

- Filterdigel hvor filtret er en plate av sintret glass, porselen eller kvarts
- Büchner-trakt m/flatt filter (Sugekolbe tilkobles ofte for at filtreringen skal gå raskere)

Sentrifugering

Partiklene kan skilles fra løsningen etter både størrelse og tetthet ved hjelp av sentrifuge. Ved sentrifugering utnytter vi sentrifugalkraften til å separere

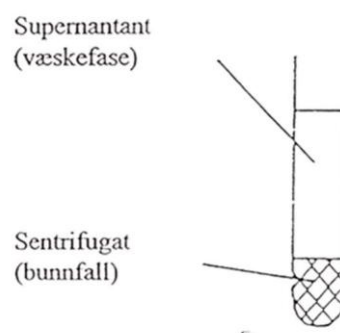
- Faste partikler fra væske
- Partikler med forskjellig masse
- Væskebestanddeler med forskjellig tetthet

Sedimentasjon kalles det når partikler oppslemmet i væske synker til bunns. Dette skyldes at partiklenes tetthet er større enn væskens tetthet. Jo større forskjell det er i tetthet, jo raskere vil sedimentasjonen gå. Partiklenes størrelse og væskens viskositet er også avgjørende for sedimentasjonshastigheten.

- Store partikler sedimenterer raskere enn små
- En viskøs væske vil virke bremsende

Sentrifugering gir raskere sedimentasjon pga. at partiklene blir "tyngre" under sentrifugering enn ved henstand.

Bunnfallet som samles nederst i røret kalles SENTRIFUGAT (eventuelt pellet). Væsken vi oppnår etter sentrifugering kalles SUPERNATANT. Supernatanten kan dekanteres fra sentrifugatet dersom bunnfallet er tungt og kompakt (dekantere betyr «å helle av»).



Når vi skal sentrifugere er som regel vårt problem hvor fort sentrifugen må gå rundt for å oppnå ønsket resultat. Det som er avgjørende for separeringen er antall G (tyngdeakselerasjon) og antall minutter.

G-verdien forteller hvor mange ganger tyngre partiklene er under sentrifugering enn ved henstand. Eksempel: Når vi sentrifugerer ved 400 G, er partiklene 400 ganger «tyngre» i sentrifugen enn utenfor. G- kraften avgjøres av sentrifugens rotasjonsradius og hastighet (omdreininger pr minutt).

G-verdien angir sentrifugeringskraft og angis som rcf (relative centrifugation force). Sentrifugens omdreiningshastighet (N) angis som rpm (rotations per minute).

Rotasjonsradius (r) angis i mm eller i cm (velg enhet som stemmer med nomogrammet).

Radius for sentrifuger/holdere er angitt av produsenten. Vi kan også måle selv – se hvordan på neste side (avsnitt med eksempler på ulike typer sentrifuger).

Ved hjelp av beregning (sentrifugeformelen):

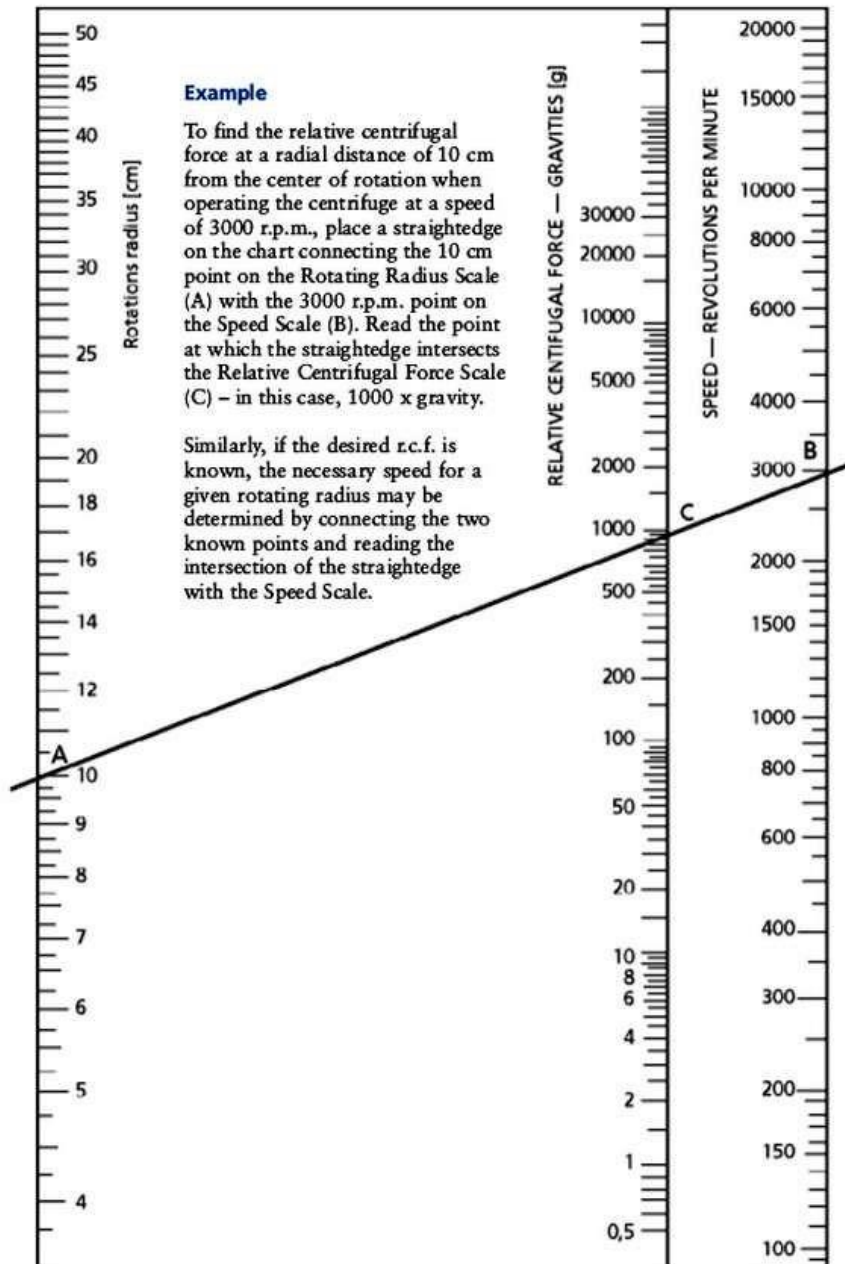
Hvis r er oppgitt i antall mm: $RCF = 1,118 \times 10^{-6} \times r \times N^2$

Hvis r er oppgitt i antall cm: $RCF = 1,118 \times 10^{-5} \times r \times N^2$

eller avlesning i et nomogram (se under) finner man

- G-kraften som oppnås i en sentrifuge når hastighet og rotasjonsradius er kjent.
- Hastigheten som trengs for å oppnå en viss G-kraft når rotasjonsradius er kjent.

I moderne sentrifuger kan man ofte velge ønsket G-verdi direkte på betjeningspanelet.



Figur 2: Nomogram over G-krefter

Sentrifuger

Sentrifuger finnes både som gulvmodeller og benkmodeller, med og uten kjøling. En elektromotor driver en loddrett akse som bærer sentrifugehodet. Til sentrifugehodet er det festet rotor med en krans av holdere. Alt etter bruk og behov har de ulike sentrifugene forskjellige sentrifugehoder og holdere. Det benyttes forskjellige holdere til ulike typer sentrifugerør.



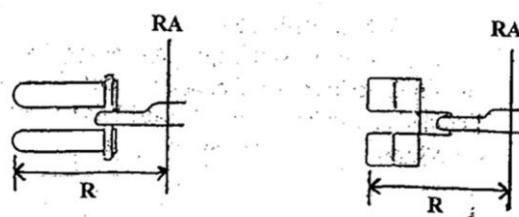
Eksempler på sentrifugetyper

Sentrifuge med "swing-out"-hode (swing-out-sentrifuge)

Holderne henger loddrett ned når sentrifugen står i ro og svinger ut i vannrett stilling når sentrifugen kjører. I enkelte slike sentrifuger svinger hodet bare ut i en bestemt vinkel.

Disse sentrifugene har stor luftmotstand (kan reduseres noe ved hjelp av medroterende "vindkjele" som omslutter hode og holdere).

Slike sentrifuger kan ha stor rotasjonsradius. Sentrifugens rotasjonsradius (R) regnes som avstand fra rotasjonsaksen (RA), som tilsvarer sentrum av sentrifugehodet.



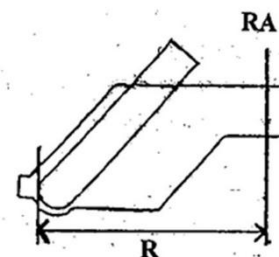
Sentrifuger med "swing-out"-hoder

Sentrifuge med vinkelhode

Holderne er utformet slik at glassene holdes fast i en skråstilling. Med en slik sentrifuge vil sedimentasjonsveien forkortes.

Luftmotstanden er mindre enn for «swing-out»-hoder.

Slike sentrifuger har kort rotasjonsradius, men til gjengjeld høy rotasjonshastighet.



Sentrifuge med vinkelhode

Kjølesentrifuge

Brukes dersom prøvene tar skade av oppvarmingen som forårsakes av luftmotstanden eller ikke tåler temperaturer over kjøleskaptemperatur.

Eppendorf-sentrifuge (mikrorørsentrifuge)

Liten sentrifuge med vinkelhode. Beregnet for sentrifugering av såkalte eppendorfrør (mikrorør) ved høy hastighet.



Hematokrit-sentrifuge

Liten sentrifuge til kapillærrør for hematokrit-måling. Rørene legges radiale i riller på en flat tallerkenformet rotor. Slike sentrifuger kjøres med fast høy hastighet og man kan variere sentrifugeringstid.

Blodbanksentrifuge

Spesialdesignet for sentrifugering av blodposer o.a.

Ultrasentrifuge

Spesialsentrifuge for svært høye rotasjonshastigheter som bl.a oppnås ved at rotor spinner i vakuum og samtidig kjøles ned.

BRUK AV SENTRIFUGER

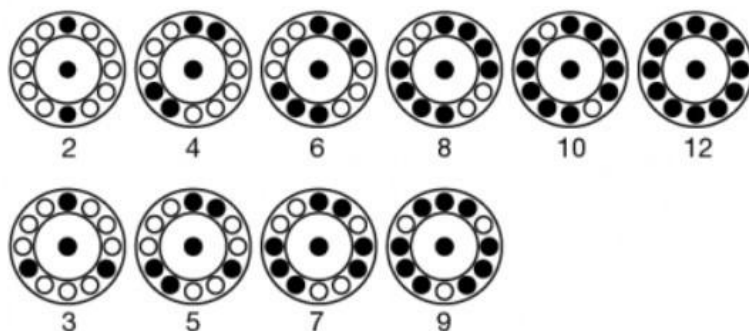
Plassering

Sentrifuger må alltid plasseres på et stabilt underlag.

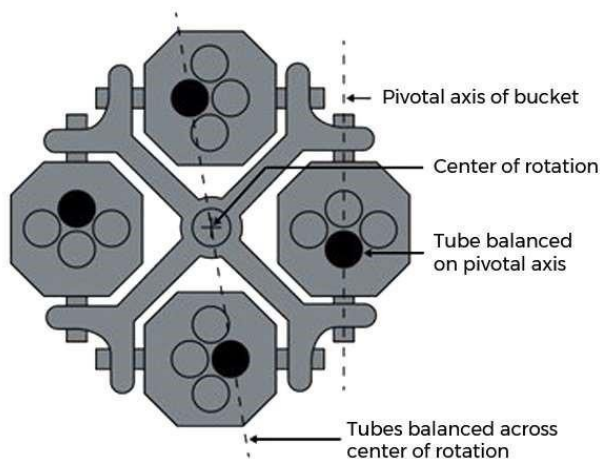
Avbalansering

Hode og holdere er avbalansert fra fabrikk. Vi må selv passe på at sentrifugen er riktig avbalansert før den startes.

1. Velg holdere som er tilpasset rørene som skal sentrifugeres. Påse at det er gummipakning i bunnen av holderne hvis sentrifugen krever det. Sjekk også at rørene ikke er for lange (da vil de knuses når holderne svinger ut i horisontal posisjon).
2. Når prøverør settes i, sørg for at tyngdepunktet fortsatt er i omdreiningsaksen, se forslag til balansering av fast rotor og swing-out rotor under. Avhengig av sentrifugens følsomhet benyttes veiing eller øyemål ved balanseringen. Ved dårlig avbalansering vil sentrifugen gi støy og eventuelt bevege seg på underlaget. Den må da straks stoppes!



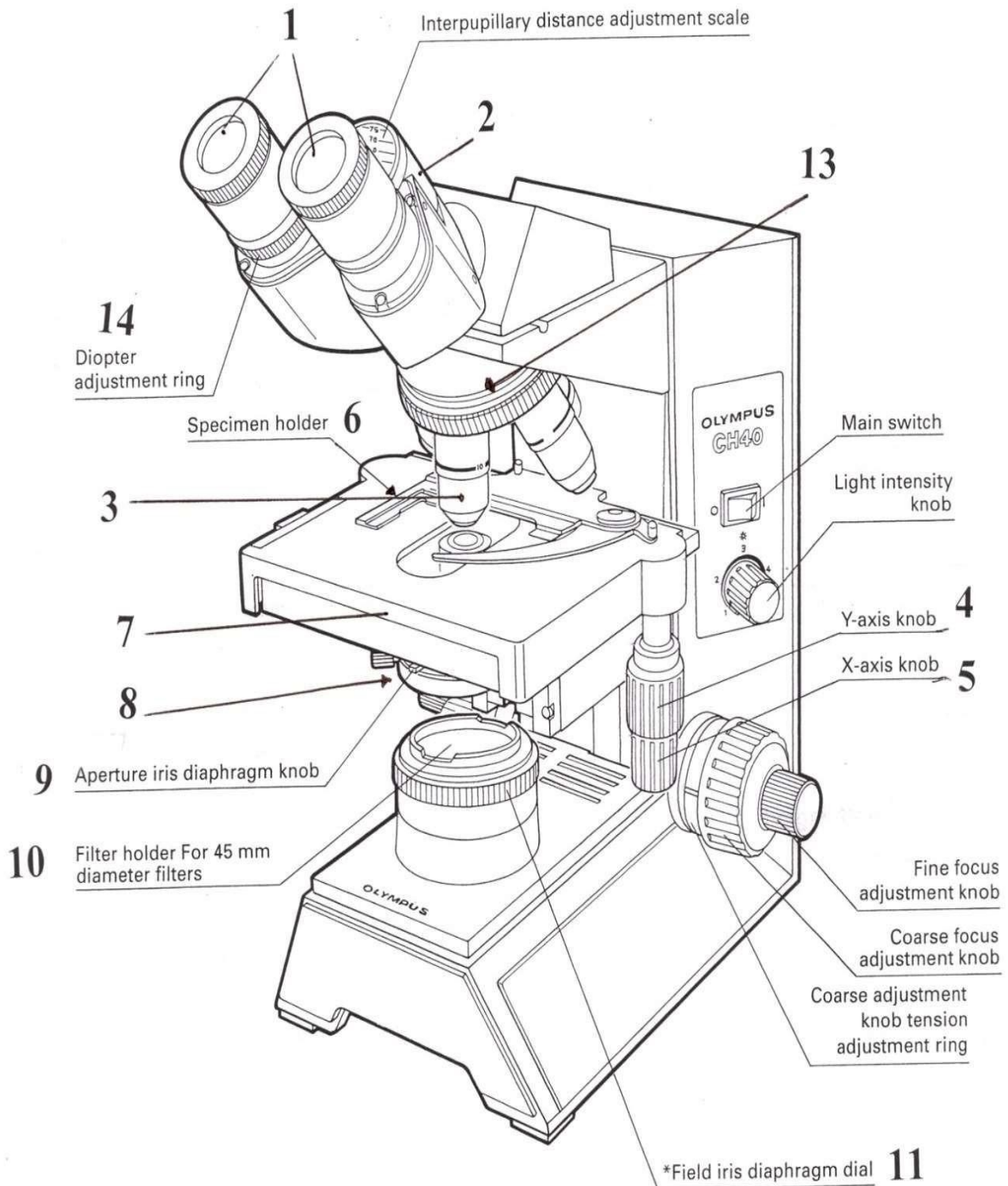
Figur x: Eksempel på balansering av en fast rotor-sentrifuge. Hentet fra https://www.medlabmag.com/article_print.php?id=1103



Figur x: Eksempel på balansering av swing-out rotor. Hentet fra <https://www.beckman.com/resources/discover/fundamentals/principles-of-centrifugation/balancing-yourrotor>

3. Følg bruksanvisningen for sentrifugen ved start og stopp.
4. Gå aldri fra sentrifugen før den har nådd konstant hastighet.
5. Åpne aldri lokket før sentrifugen har stoppet helt. Bruk aldri hånden som brems!
6. Grundig rengjøring (og evt. desinfeksjon) er påkrevet dersom det søles i sentrifugen.
7. Hvis rør ødelegges i sentrifugen, må den straks rengjøres og alle glasskår fjernes. Etsende kjemikalier kan gi korrosjon.
8. Ved søl av biologisk materiale, gjøres sentrifugen ren etter smitteforskriftene.
9. Regelmessig rengjøring av sentrifugen og sentrifugedelene er nødvendig i vanlig vedlikehold.
10. Ved slitasje må børstene i motoren skiftes. Se veiledning fra fabrikant.

Mikroskopet



OPPBYGNING AV MIKROSKOPET

(Tallene i parentes henviser til skissen av mikroskopet på forrige side.)

Lyskilde

Mikroskoplampen er vanligvis innebygget i mikroskopet. I de enkleste mikroskopene brukes vanlig elektrisk lyspære som sender lys gjennom en matt glassplate. Nyere mikroskop har en lavvoltage lampe (vanligvis 6 -12 volt) som får strøm gjennom en transformator. Lavvoltage lampen har liten glødetråd. Dermed blir lyskilden tilnærmet punktformet. Mikroskopet vist her er utstyrt med en regulator for lysintensiteten (plassert nær av/på-knappen, i tillegg til en regulerbar irisblender kalt feltblender (11) som avgrenser hvor stor del av lyset som brukes. Innstilling av mikroskopbelysningen er et meget viktig punkt ved mikroskopering.

Kondensor

Lyset fra mikroskoplampen går opp i et linsesystem som kalles kondensor (8), Denne kan beveges opp og ned ved hjelp av en skrue på stativet (eller ved å dreie hele kondensoren i et spor – på noen typer). Kondensoren er utstyrt med en irisblender kalt aperturblender (9). Mange mikroskop har også en ekstra samlelinse, «kipplinse» oppe på kondensoren. Denne kan vippe til side dersom det er ønskelig. Dessuten finnes på de fleste mikroskop to sentreringsskruer til nøyaktig sentrering av kondensor. Disse brukes ved «Køhler innstilling» av mikroskopet.

Mange mikroskop har også en ekstra samlelinse, "kipplinse" oppe på kondensoren. Denne kan vippe til side dersom det er ønskelig.

Filterholder

Mellom lampen og kondensoren har de fleste mikroskop en eller flere filterholdere Den kan sitte direkte over lyskilden (10) eller under på kondensoren. Ved å sette inn ønsket fargefilter oppnås lys som egnet for det aktuelle formål. Vanlig brukt er et "blåfilter" som gir lys som ligner dagslys: Dette bidrar til å gjøre mikroskoperingen mindre anstrengende for øynene.

Objektbord

Kondensoren samler lyset og sender lysstrålebunten opp gjennom en åpning i objektbordet (7) På objektbordet legges preparatet (objektet) som skal undersøkes. Dette holdes fast i objektholderen (6). Ved hjelp av et såkalt kryssbord kan holderen med preparatet beveges horisontalt i to retninger (x og y) ved hjelp av to skruer (4,5).

Objektiv

Fra preparatet går lyset gjennom et linsesystem, objektivet (3). Mikroskopet har som regel flere objektiv med forskjellig evne til å forstørre, festet til en dreibar skive, objektivrevolver (13). Objektivet lager et forstørret bilde av objektet (det vi ser på).

Okular

Via et rør, tubus (2), går lyset fra objektivet til okulalet, det linsesystem som er nærmest øyet (1). Der blir bildet ytterligere forstørret. Det finnes okularer med ulik forstørrelse. Mikroskopets totale forstørrelse er produktet av objektivets og okulalets forstørrelse. Linsesystemenes forstørrelse er som regel inngravert på linseholderne.

De fleste mikroskop er binokulare, det vil si at de har to okularer, slik at en kan se i mikroskopet med begge øynene. I tubus er det da lagt inn prismen som fordeler lyset mellom de to okularene. Binokulare mikroskop er utstyrt med et korreksjonssystem slik at man kan korrigere for eventuell forskjell på øynenes synsevne. Korreksjonen utføres ved at en benytter dreiemekanisme på det ene okulalet (14). Dessuten kan okulalet innbyrdes avstand innstilles slik at de passer til den enkeltes øyeavstand.

BRUK AV MIKROSKOPET

Mikroskopet er et meget holdbart instrument dersom det brukes og behandles riktig.

Plassering av mikroskopet

Mikroskopet bør stå på et stabilt bord der det ikke utsettes for sprut av vann eller kjemikalier, kjemikaliedamper eller mekaniske støt. Direkte sollys og plassering nær varmekilder bør unngås. Kjemikaliedamper vil kunne etse på linser og metalleder, fuktighet kan forårsake rust. Et støt vil for eksempel kunne føre til at linsesystemets sentrering forskyves, og derved ødelegges billedannelsen.

OBS! Ved flytting av mikroskopet: Ta godt grep i selve stammen, og støtt under. Når mikroskopet ikke brukes, skal lyset slukkes og mikroskopet beskyttes mot støv med plasthette.

Arbeidsstilling

Mikroskopering krever riktig arbeidsstilling for å unngå belastningsskader.

- Sitt rett foran og nær arbeidet
- Still inn bord, stol og mikroskop slik at du sitter riktig/ behagelig
- Hodet rett
- Senkede skuldre
- Underarmene hvilende med ca. 90 vinkel i albuen
- Ryggstøtte i nedre del av korsryggen
- Hele foten hvilende på gulvet

Generell framgangsmåte ved mikroskopering:

1. Tenn mikroskoplampe og innstill til behagelig lysstyrke med regulatorknappen.
2. Tilpass okulalet avstand etter egen øyeavstand
3. Plasser objektiv som gir liten forstørrelse (eks.10x) i posisjon ved å dreie på objektivrevolveren.
4. Legg preparatet på objektbordet og fest det ved hjelp av objektholderen (kryssbord).

OBS! Påse at avstanden mellom objektbord og objektiver er stor nok til tykkelsen på preparatet.

5. Skru objektbordet opp så langt det går uten at linsen berører preparatet. Senk så objektbordet forsiktig med grovinnstillingsskruen mens du ser i mikroskopet. Forviss deg om at du skrur riktig vei. Når objektet sees, skarpstilles med fininnstillingsskruen (fokusering av preparat).
6. Korrigere for evt. synsforskjeller på øynene.
7. Innstill mikroskopet etter «Køhlers prinsipp» med preparatet du skal mikroskopere.
8. Reguler lysintensiteten til passe nivå med regulatorknappen.

9. Objektivene er vanligvis synkroniserte: En skal kunne skifte forstørrelse og stille bildet skarpt ved kun å bruke fininnstillingsskruen.
10. Slå av mikroskoplampen etter avsluttet mikroskopering. Husk at lampen bare skal stå på når en bruker mikroskopet. Sett alltid hetten på når mikroskopet ikke er i bruk.

Køhlers innstilling

1. Tenn mikroskoplampen
2. Legg på et preparat på mikroskopbordet
3. Bruk 10 x objektivet
4. Finn bildet og still skarpt
5. Skru kondensor opp til anslag (helt opp)
6. Sjekk at bildet er skarpt (juster med fininnstillingsskruen)
7. Lukk lysfeltblenderen (nede på mikroskopfoten)
8. Lysfeltblenderens kant stilles skarpt med høydeinnstilling på kondensor, dvs. senk kondensoren svært langsomt og bare litt, samtidig som du ser ned i mikroskopet.
9. Lysfeltblenderen sentreres hvis nødvendig med kondensors sentreringsskruer.
10. Lysfeltblenderen åpnes til akkurat utenfor synsfeltet.
11. Ta ut okulalet, se ned i tubus og åpne kondensors aperturblender, til synsfeltet her blir belyst etter følgende regler:

Ved bruk av:

- x10-objektivet – la 1/2 av synsfelt-diameter være belyst
- x40-objektivet – la 3/4 av synsfelt-diameter være belyst
- x100 objektivet – la 9/10 av synsfelt-diameter være belyst

12. Sett okulalet på plass, og du er klar til mikroskopering.
13. Hvis bildet er for lyst/mørkt, reguler lysintensiteten med regulatorknappen.

Mikroskopi med immersjonsolje

Et godt mikroskop gir ikke bare stor forstørrelse, men må også gi god oppløsning, dvs. vise fine detaljer. Oppløsningsevnen angir hvor liten avstanden mellom to punkter i preparatet kan være uten at bildet av dem faller sammen til ett punkt.

For å bedre oppløsningsevnen kan en ved de største objektivforstørrelsene bruke immersjonsolje (olje med samme brytningsindeks som glass) slik at oljedråpen forbinder preparatet og objektivet. **OBS! Objektiver beregnet for slik bruk spesielt merket, med Oil 100x og sort ring. Vanlige objektiver (tørrobjectiver) må aldri komme i kontakt med oljen.**

Legg preparatet på objektbordet og fokuser med objektiv 10X. Drei vekk objektivet slik at en dråpe immersjonsolje kan dryppes på preparatet uten at man søler olje på 10X- objektivet. Skift direkte fra

objektiv 10X til immersjonsobjektivet. Fininnstill forsiktig med mikrometerskruen. Pga. den nære kontakten med preparatet er vanligvis immersjonsobjektivet utstyrt med «fjæring» for å unngå skade på linsen dersom en skrur objektivet for langt ned mot preparatet.

Umiddelbart etter mikroskopering må oljen fjernes fra objektiv og preparat. Bruk linsepapir og egnet rensemiddel, eks. heptan.

RENHOLD AV MIKROSKOPET

Alle forurensninger som kommer på mikroskopet, må fjernes med en gang. Særlig støv på kondensorens frontlinse og på okularlinsene virker sjenerende ved mikroskopering.

OBS! Øyensverte kan «smitte» over på okulalet, og etse seg fast hvis dette ikke fjernes raskt!

Støvpartikler på objektivets linseflater vil ikke sees skarpt, men føre til uskarpt, kontrastfattig bilde. Støvpartikler på linseflater fjernes ved å blåse på linsen (eks. med øreskylleballong), deretter tørke med linsepapir. Søl på linsene må fjernes straks med linsepapir, evt. fuktet med vann.

Immersjonsolje fjernes med linsepapir og rensemiddel (eks. heptan) umiddelbart etter bruk. Kraftigere løsningsmiddel (eks. xylen) brukes hvis dette er nødvendig for å få linsene helt rene OBS! Følg gjeldende sikkerhetsrutiner ved bruk av løsningsmidler.

For øvrig: Følg alltid linseprodusentens anbefalinger ved valg av rensemidler. F.eks. kan etanol løse opp kittet som enkelte linser er festet med.

Objektbordet og mikroskopkroppen rengjøres regelmessig med en klut fuktet med vann. Tørk omhyggelig etterpå, og sett på støvhetten.

Kort forklaring av de vanligste spesifikasjoner på okular, objektiv og kondensor

Spesifikasjoner kan være ulike fra produsent til produsent. Under står kun et lite utvalg av vanlige forkortelser, med en kort forklaring. For mer informasjon, se de ulike mikroskopiprodusentenes hjemmesider.

Plan: Korrigert for sfæriske avvik (samt delvis for kromatiske). Kan brukes til fotografering.

Akrom: Akromat linsesystem. Korrigert for kromatiske avvik (to farger, vanligvis blått og rødt). Også korrigert for sfæriske avvik hvis merket «Plan akromat».

Apo: Apokromat linsesystem. Korrigert for kromatiske avvik (tre farger, vanligvis blått, rødt og grønt) og «automatisk» også for sfæriske avvik.

- N.A:** Numerisk apertur. En størrelse som sier noe om objektivets evne til å samle lys og dermed dens oppløsningsevne. $N.A = n \times \sin \alpha$, der n = brytningsindeksen til mediet mellom objekt og objektiv og α er $\frac{1}{2}$ x åpningsvinkelen til lyskjeglen som tas imot av objektiv. Et objektivs oppløsningsevne (d) er beskrevet som: $d = (0,61 \times \lambda) / N.A$, der d = avstanden mellom to punkter som kan skilles fra hverandre. Jo mindre d , jo høyere oppløsningsevne. For en gitt bølgelengde betyr det da at objektivets oppløsningsevne øker med økt N.A.
- W.D:** Working distance. Minste avstand målt i millimeter mellom objekt og objektivets frontlinse.
- Oil/Öl:** Objektivet må brukes med immersjonsolje for å oppnå merket N.A.
- 160 eller ∞ :** Objektivets mekaniske tubuslengde. I objektiver med «uendelig» tubuslengde» elimineres muligheten for spøkelsesbilder og ekstra tilbehør som f.eks kamera kan settes inn i lysveien uten at det forringer bildet.
- X10/40 etc:** Okularet- eller objektivets forstørrelse. Obs: Husk at endelig forstørrelse = objektivets forstørrelse x okularets forstørrelse.
- FOV, WF m.m:** Okular som kan brukes med briller.
- M:** Okular som kan justeres for ulikt syn på ulike øyne.
- Ph:** Fasekontrast.

