

Ponteiras de baixa retenção



#05

Nota de
aplicação

#01

Comparação de
desempenho de
ponteiras de pipeta
de baixa retenção de
vários fabricantes

#02

#03

#04

Resumo

A precisão e exatidão da pipetagem são fatores chave para o sucesso dos experimentos em laboratório. O melhor desempenho de pipetagem é alcançado quando a pipeta e a ponteira se ajustam perfeitamente entre si, e quando a ponteira usada é ideal para o líquido que está sendo transferido.

Na pipetagem de líquidos com baixa tensão superficial (por exemplo soluções detergentes), estes tendem a deixar uma película de líquido na superfície interna das ponteiras de pipeta padrão de polipropileno, resultando em inconsistência e inexatidão da pipetagem, assim como na perda de volume de amostras valiosas.

Diversas tecnologias estão sendo utilizadas para modificar as ponteiras de pipeta padrão e solucionar este problema. Esta nota de aplicação descreve uma comparação das ponteiras de baixa retenção de vários fabricantes ao manipular líquidos que contêm detergentes. Os resultados mostram que as ponteiras de baixa retenção da Sartorius asseguram uma recuperação quase total da amostra na pipetagem de líquidos de baixa tensão superficial. Quando comparadas com outras ponteiras de baixa retenção de diversos fabricantes, a ponteiras da Sartorius garantem a melhor recuperação de amostra e a melhor resistência química.

Introdução

Em muitas aplicações de biologia molecular, a alta sensibilidade dos métodos de detecção requerem extrema confiabilidade e reprodutibilidade da pipetagem. Nos métodos de análise de DNA e proteínas, os reagentes e/ou as amostras frequentemente contêm detergentes.

A pipetagem de líquidos que contêm detergentes usando ponteiras de pipeta padrão pode ser problemática.

Frequentemente resíduos de líquido permanecem na ponteira devido às diferenças das energias de superfície entre a amostra e a ponteira de plástico da pipeta. Às vezes invisível, esta película na superfície interna da ponteira causa imprecisão da pipetagem, e uma perda de amostras valiosas ou reagentes caros.

A Sartorius utilizou uma tecnologia avançada para criar uma superfície extremamente hidrofóbica, contudo durável, para suas ponteiras de baixa retenção. Esta característica ajuda os usuários a reduzir claramente a quantidade de resíduos na ponteira ao

manipular detergentes ou outros líquidos de baixa tensão superficial. A melhor reprodutibilidade da pipetagem é especialmente benéfica em aplicações sensíveis, como PCR ou PCR em tempo real.

Nesta nota de aplicação nós:

1. comparamos diversas ponteiras de pipeta com característica de baixa retenção na pipetagem de soluções detergentes comuns usadas nos laboratórios de biologia molecular.
2. mostramos os resultados de um teste que comparou as resistências químicas das ponteiras de baixa retenção de vários fabricantes.

Materiais e métodos do teste

Materiais

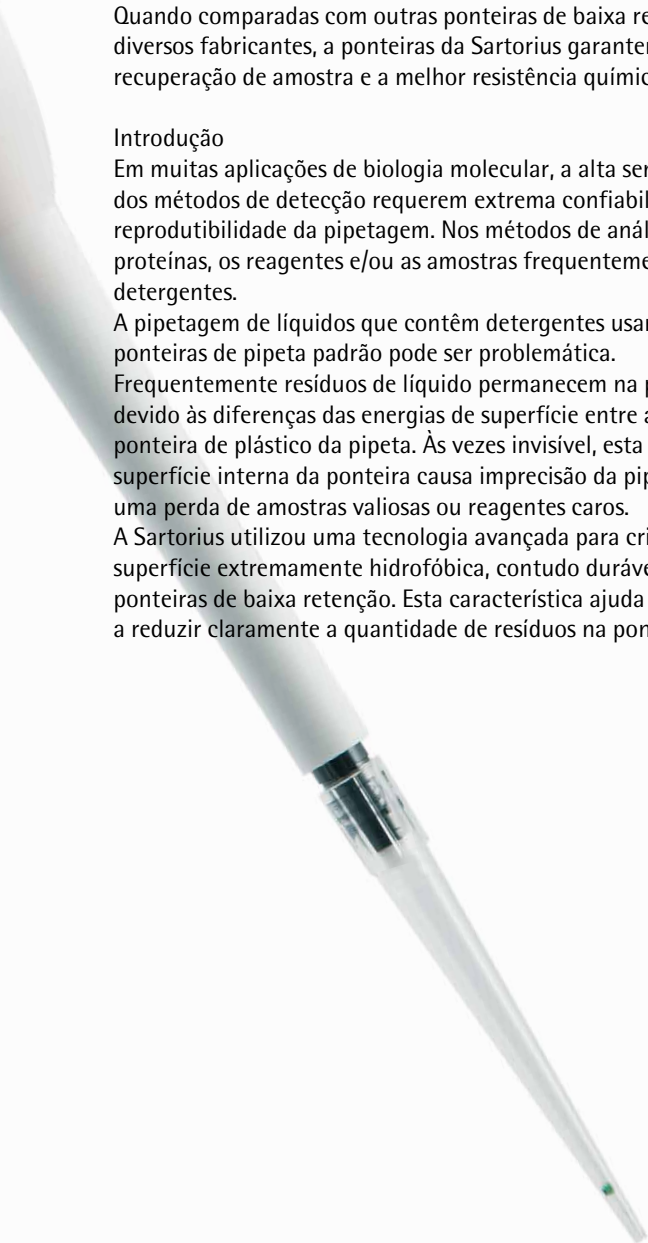
- Ponteiras padrão e de baixa retenção Sartorius Optift e SafetySpace™: 120 µl, 200 µl, 350 µl, 1000 µl
- Pipetas eletrônicas Sartorius Picus: 5-120 µl, 10-300 µl, 50-1000 µl, aspirando em velocidade 4 e dispensando na velocidade mais lenta, 1
- Pipetas mecânicas Sartorius mLINE®: 20-200 µl, 100-1000 µl
- Soluções detergentes: Buffer colorido 10X PCR a 0,1% Triton X-100, 10% Tween 20, 10% SDS (contendo detergentes, reagente de densidade e corantes marcadores)
- Outras substâncias químicas: Isopropanol, Acetonitrila, DMF (dimetilformamida)
- Corante alimentar verde
- Ponteiras de pipeta de baixa retenção de outros cinco fabricantes
- Microbalança Sartorius MC5, Balança Analítica Sartorius BP211D
- Espectrofotômetro para microplacas de 96 poços (Biotek)

Método gravimétrico

Os resíduos de líquido que permanecem na ponteira de pipeta após a dispensação foram medidos usando o método gravimétrico. Um pequeno recipiente de vidro cheio de uma solução de teste foi colocado na balança e o peso foi zerado. Um volume desejado da solução de teste foi então aspirado do recipiente e dispensado de volta. A leitura da balança, indicando a quantidade de líquido que permaneceu na ponteira, foi então registrada. Este procedimento foi repetido para cada solução detergente listada acima.

Teste de absorção

No teste de absorção, uma solução de teste colorida (corante alimentar verde dissolvido em água destilada) foi usada para determinar o líquido residual nas ponteiras de pipeta após a dispensação. O volume nominal máximo da ponteira testada foi usado para aspirar a solução de teste verde. O líquido foi então dispensado diretamente de volta ao seu recipiente. A ponteira foi então enxaguada cinco vezes com água destilada usando o volume máximo da ponteira. A absorção desta solução foi então medida utilizando-se um espectrofotômetro (405 nm), e os resultados foram comparados com o solução de referência. A absorção da solução de enxague da ponteira corresponde diretamente à quantidade residual na ponteira.



Teste de resistência química

1000 µl de solventes: isopropanol, acetonitrila e dimetilformamida foram aspirados e dispensados 20 vezes cada com uma ponteira de pipeta de 1000 µl. Em seguida, as ponteiras foram enxaguadas três vezes com água destilada. O efeito deste tratamento sobre o desempenho das ponteiras de baixa retenção selecionadas foi analisado com o teste de absorção usando líquido colorido como solução de teste. O teste foi repetido com 6 ponteiras para cada solvente. Os resultados das ponteiras quimicamente tratadas foram comparados com os das ponteiras padrão não tratadas e os das ponteiras de baixa retenção não tratadas.

Resultados

Comparação dos volumes residuais de líquido

O desempenho das ponteiras de baixa retenção de 5 outros fabricantes foi comparado com o das ponteiras padrão e de baixa retenção da Sartorius na pipetagem de soluções detergente geralmente usadas.

Com todos os líquidos testados, as ponteiras de baixa retenção da Sartorius retiveram a menor quantidade residual (Figura 1a). Algumas das ponteiras de baixa retenção dos concorrentes tiveram um desempenho pior até mesmo que o das ponteiras padrão da Sartorius, sugerindo que há diferenças significativas de desempenho entre as ponteiras de baixa retenção disponíveis no mercado.

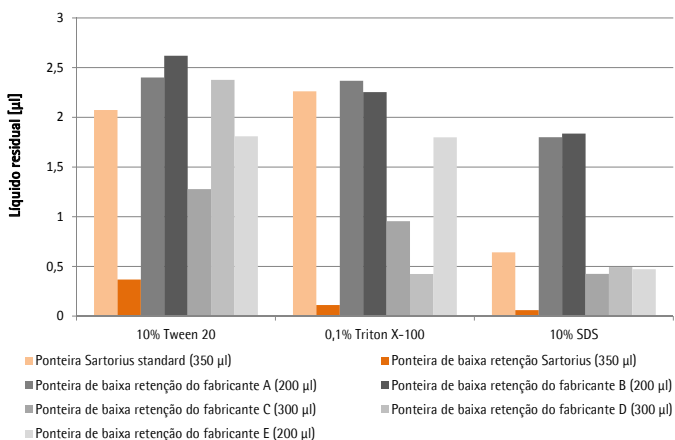


Figura 1a. Comparação das quantidades residuais de líquido

Ponteiras de baixa retenção de cinco fabricantes foram comparadas com as ponteiras padrão e de baixa retenção da Sartorius na pipetagem de 200 µl dos seguintes detergentes: 10% Tween 20, 0,1% Triton X-100 e 10% SDS. Ponteiras de pipeta com volumes de 200 µl, 300 µl e 350 µl (o tamanho depende da oferta dos fabricantes e da compatibilidade) foram usadas com a pipeta eletrônica Picus 10-300 µl. A quantidade de líquido restante na ponteira foi medida usando o método gravimétrico de análise descrito no capítulo de Materiais e Métodos. O teste foi repetido para 10 ponteiras de cada fabricante.

Em outra experiência, um buffer PCR contendo solução detergente colorida foi utilizada como solução de teste para comparar a precisão da pipetagem de diversas ponteiras de baixa retenção e verificar como o volume da pipetagem afeta a retenção de líquido na ponteira. Como mostrado na Figura 1b, as ponteiras de baixa retenção da Sartorius retiveram a menor quantidade residual com ambos os volumes. Até mesmo as ponteiras padrão da Sartorius retiveram níveis de resíduo semelhantes aos de algumas ponteiras de baixa retenção dos concorrentes. O uso das ponteiras de baixa retenção da Sartorius resultou em melhor precisão de pipetagem, confirmando os benefícios destas ponteiras em uma configuração de PCR, por exemplo. Os dados também mostram que as diferenças na quantidade de líquido residual entre as ponteiras padrão e de baixa retenção aumentam conforme os volumes pipetados aumentam. Isto porque o líquido adere a uma área de superfície maior dentro da ponteira.

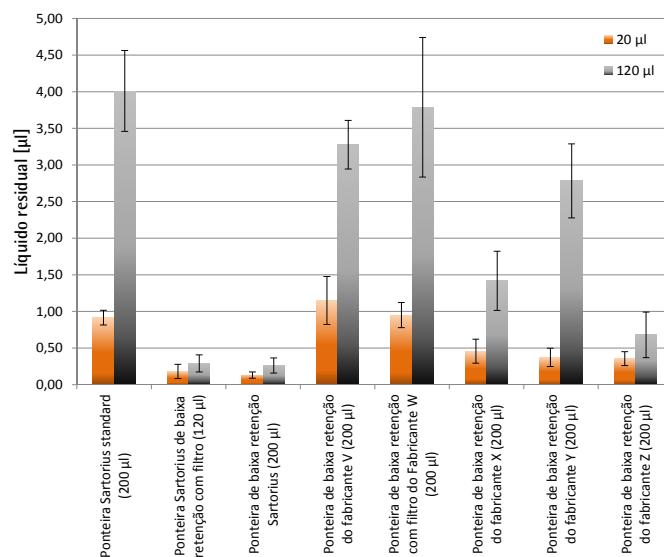


Figura 1b. Comparação das quantidades residuais de líquido e da precisão de pipetagem entre diversas ponteiras de baixa retenção. Um buffer PCR colorido foi usado em 2 volumes.

Ponteiras de baixa retenção de cinco outros fabricantes foram comparadas com as ponteiras padrão e de baixa retenção da Sartorius (filtrantes e não filtrantes). Ponteiras de pipeta com volumes de 120 µl, 200 µl e 300 µl (o tamanho depende da oferta de cada fabricante e da compatibilidade) foram usadas com a Sartorius mLINE® 20-200 µl para aspirar e dispensar 20 µl e 120 µl de um buffer PCR colorido. A quantidade de líquido restante na ponteira foi medida usando o método gravimétrico de análise descrito no capítulo de Materiais e Métodos. O teste foi repetido para 10 ponteiras de cada fabricante. As barras de erro mostram os desvios padrão.

Efeito da tensão superficial

O efeito da tensão superficial do líquido sobre a quantidade residual deixada na ponteira após a dispensação foi testado utilizando-se várias concentrações de isopropanol, o qual apresenta baixa tensão superficial (23 mN/m) (Figura 2). Quanto mais forte a concentração de isopropanol e menor a tensão superficial, mais benéfico foi o uso de ponteiras de baixa retenção altamente hidrofóbicas em vez das ponteiras de pipeta padrão para minimizar a perda de reagente e a imprecisão da pipetagem. Não foi possível observar benefícios semelhantes com água ou outras soluções aquosas devido às maiores diferenças das energias de superfície entre a ponteira de baixa retenção altamente hidrofóbica e a água (72 mN/m).

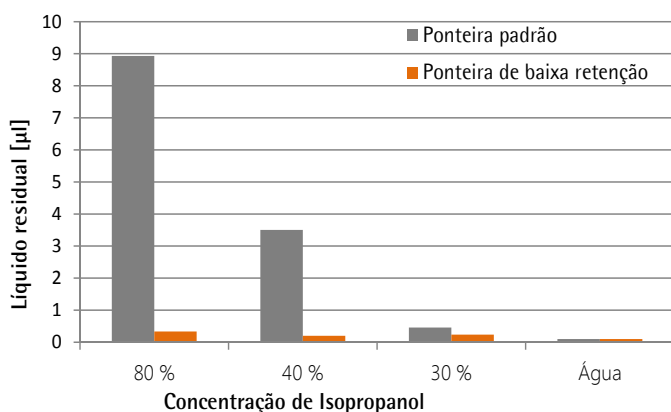


Figura 2. Efeito da tensão superficial do líquido sobre a quantidade residual na ponteira.

1000 µl de várias concentrações de isopropanol (30%, 40%, 80%) e água destilada foram aspirados e dispensados com ponteiras padrão e Optifit de baixa retenção da Sartorius (1000 µl) usando a pipeta eletrônica Sartorius Picus (1000 µl). O líquido residual nas ponteiras foi medido usando o método gravimétrico de análise descrito no capítulo de Materiais e Métodos. O teste foi repetido com 10 ponteiras de cada fabricante.

Resistência química das ponteiras de baixa retenção

Várias tecnologias estão sendo utilizadas para criar superfícies de baixa retenção para ponteiras de pipeta. Os métodos mais estáveis produzem ponteiras que têm cobertura completa em termos de hidrofobia e que não apresentam lixiviação. Como mostrado na Figura 3, há uma discrepância significativa em termos de resistência química nas ponteiras de baixa retenção testadas. Em algumas ponteiras dos concorrentes, a característica de baixa retenção foi significativamente reduzida após o tratamento com os solventes selecionados. O desempenho das ponteiras de baixa retenção da Sartorius após o teste químico ficou no mesmo nível daquelas sem nenhum tratamento químico, sugerindo que estas ponteiras são inertes e não apresentam lixiviação. A autoclavagem das ponteiras de baixa retenção da Sartorius também não exerceu nenhum efeito sobre o desempenho das ponteiras (dados não mostrados).

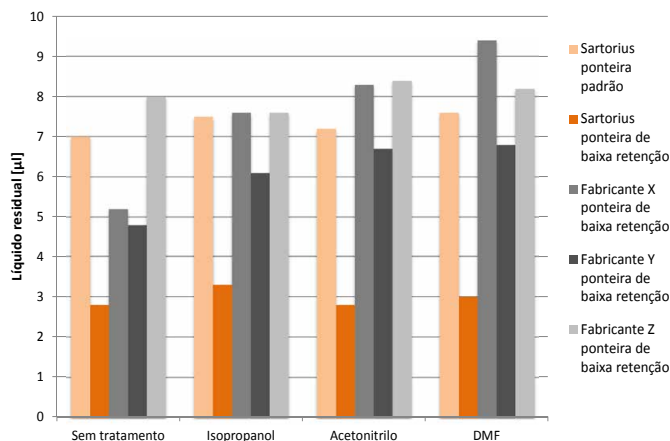


Figura 3. Comparação da resistência química das ponteiras de pipeta de baixa retenção.

Ponteiras de baixa retenção de três fabricantes foram comparadas com as ponteiras padrão e de baixa retenção da Sartorius. O teste de resistência química foi executado como descrito no capítulo de Materiais e Métodos usando ponteiras de pipeta de 1000 µl com a pipeta eletrônica Sartorius Picus (1000 µl). O teste foi repetido para seis ponteiras de cada fabricante.

Discussão

Os resultados dos testes mostram que as ponteiras de baixa retenção da Sartorius reduzem claramente o líquido residual na ponteira ao manipular soluções detergentes ou outros líquidos de baixa tensão superficial. Os dados também sugerem que as ponteiras de baixa retenção disponíveis no mercado podem diferir significativamente em termos de desempenho e tolerância às substâncias químicas. Entre as várias ponteiras testadas, as ponteiras de baixa retenção da Sartorius garantiram as melhores recuperações de amostra, maior precisão e a melhor resistência química.

Sartorius do Brasil Ltda
Avenida Senador Vergueiro 2962
CEP 09600-000 São Bernardo do Campo
São Paulo - Brasil
Tel: + 55.11.4362.8900
Fax: + 55.11.4451.4369
sartorius@sartorius.com.br
www.sartorius.com.br

Sartorius Lab Instruments GmbH & Co. KG
Weender Landstrasse 94-108
37075 Goettingen, Germany
Phone +49.551.3080
Fax +49.551.308.3289

Sartorius Biohit Liquid Handling Oy
Laippatie 1
00880 Helsinki, Finland
Phone +358.9.755.951
Fax +358.9.755.95.220
www.sartorius.com