

## Puntas de baja retención



#05

Nota de  
aplicación

#01

Comparación del  
rendimiento de las  
puntas de pipeta de  
baja retención de  
diferentes fabricantes

#02

#03

#04

## Resumen

La precisión y la exactitud del pipeteo son factores clave en el éxito de sus experimentos de laboratorio. Se consigue un mejor rendimiento en el pipeteo cuando la pipeta y la punta encajan perfectamente y si la punta que se está utilizando es la óptima para el líquido a transferir.

Al pipetear líquidos con baja tensión superficial (detergentes, p. ej.), estos tienden a dejar una película de líquido en la superficie interna de las puntas de pipeta de polipropileno estándar, produciendo falta de consistencia e inexactitud en el pipeteo, además de una pérdida de volumen en las muestras.

Se están utilizando diversas tecnologías para modificar las puntas de pipetas estándar para mitigar este problema. Esta nota de aplicación presenta una comparación de puntas de pipeta de baja retención de diferentes fabricantes cuando se manejan líquidos que contienen detergentes. Los resultados muestran que las puntas de baja retención de Sartorius aseguran una recuperación casi completa de la muestra al pipetear líquidos con baja tensión superficial. En comparación con las puntas de baja retención de otros fabricantes, las puntas de Sartorius proporcionaron la mejor recuperación de la muestra y la mayor resistencia a sustancias químicas.

## Introducción

En muchas aplicaciones de biología molecular el incremento de la sensibilidad de los métodos de detección requiere una fiabilidad y reproducibilidad del pipeteo extremas. En métodos de análisis de ADN y proteínas, los reactivos y/o las muestras suelen contener detergentes.

El pipeteo de líquidos que contienen detergentes puede ser problemático si se realiza con puntas de pipeta estándar. Debido a la diferencia de energías superficiales entre la muestra y el plástico de la punta de la pipeta, es frecuente que queden residuos de líquidos en esta última. Esta película situada en la superficie interna de la punta, en ocasiones imperceptible, produce imprecisión en el pipeteo y la pérdida de muestras valiosas o caros reactivos.

Sartorius ha utilizado una avanzada tecnología para crear una superficie extremadamente hidrofóbica, a la vez que resistente, en

sus puntas de baja retención. Esta característica ayuda a los usuarios a reducir claramente la cantidad de residuo en la punta al emplear detergentes u otros líquidos con baja tensión superficial. Una mayor reproducibilidad en el pipeteo es especialmente beneficiosa en aplicaciones sensibles como la PCR o la PCR en tiempo real.

En esta nota de aplicación:

1. Compararemos varias puntas de pipeta de baja retención, pipeteando soluciones de detergentes de uso común en laboratorios de biología molecular.
2. Mostraremos los resultados de un ensayo en el que se han comparado las resistencias químicas de pipetas de baja retención de varios fabricantes.

## Materiales y métodos del ensayo

### Materiales

- Puntas Sartorius Optift y SafetySpace™ estándar y puntas de baja retención: 120 µl, 200 µl, 350 µl, 1.000 µl
- Pipetas electrónicas Picus de Sartorius: 5-120 µl, 10-300 µl, 50-1.000 µl, aspirando a una velocidad de 4 y dispensando a la velocidad más baja (1)
- Pipetas mecánicas Sartorius mLINE®: 20-200 µl, 100-1.000 µl
- Soluciones de detergentes: 0,1 % Triton X-100, 10 % Tween 20, 10 % SDS, tampón coloreado de PCR 10X (contiene detergentes, reactivos de densidad y colorantes de seguimiento)
- Otros compuestos químicos: isopropanol, acetonitrilo, DMF (dimetilformamida)
- Colorante alimentario verde
- Puntas de pipeta de baja retención de otros cinco fabricantes
- Microbalanza Sartorius MC5, balanza analítica Sartorius BP211D
- Espectrofotómetro para microplacas de 96 pocillos (Biotek)

### Método gravimétrico

Tras el dispensado, el residuo líquido que quedó en la punta de la pipeta se midió mediante el método gravimétrico. Se taró a cero la balanza con un recipiente de vidrio pequeño que contenía una solución de prueba. Se aspiró el volumen deseado de la solución de prueba del recipiente y después se volvió a dispensar. Se tomó la lectura de la balanza, indicando la cantidad de líquido que permaneció en la punta. Se repitió este procedimiento para cada solución detergente de la lista anterior.

### Ensayo de absorbancia

En el ensayo de absorbancia se utilizó una solución de prueba coloreada (colorante alimentario verde disuelto en agua destilada) para determinar el líquido residual en las puntas de pipeta tras el dispensado. Para aspirar la solución de prueba verde se utilizó el volumen nominal máximo de la punta de prueba. A continuación se dispensó el líquido directamente al recipiente. La punta se enjuagó después con agua destilada cinco veces, utilizando el volumen máximo de la punta. La absorbancia de esta solución se midió luego utilizando un espectrofotómetro (405 nm), y se compararon los resultados con la solución de referencia. La absorbancia de la punta enjuagada en la solución guarda una correlación directa con la cantidad de residuos en la punta.

## Ensayo de resistencia química

1.000 µl de disolventes: Se aspiraron y dispensaron isopropanol, acetonitrilo y dimetilformamida 20 veces cada uno con una punta de pipeta de 1.000 µl. Posteriormente se enjuagaron las puntas tres veces con agua destilada. Se analizó el efecto de este tratamiento en el rendimiento de las puntas de baja retención seleccionadas con el ensayo de absorbancia, utilizando un líquido coloreado como solución de prueba. El ensayo se repitió con 6 puntas para cada disolvente. Los resultados de las puntas tratadas químicamente se compararon con los de las puntas estándar no tratadas y con los de las puntas de baja retención no tratadas.

## Resultados

### Comparación de volúmenes de líquido residual

Usando soluciones de detergente comúnmente utilizados, se comparó el rendimiento de las puntas de baja retención de otros 5 fabricantes con las puntas estándar de Sartorius y las puntas de baja retención de Sartorius. Probados todos los líquidos, las puntas de baja retención de Sartorius fueron las que menor cantidad de residuo retuvieron (Figura 1a). Algunas de las puntas de baja retención de los competidores rindieron incluso peor que las puntas estándar de Sartorius, lo que sugiere que existen diferencias significativas en el rendimiento de las puntas de baja retención disponibles en el mercado.

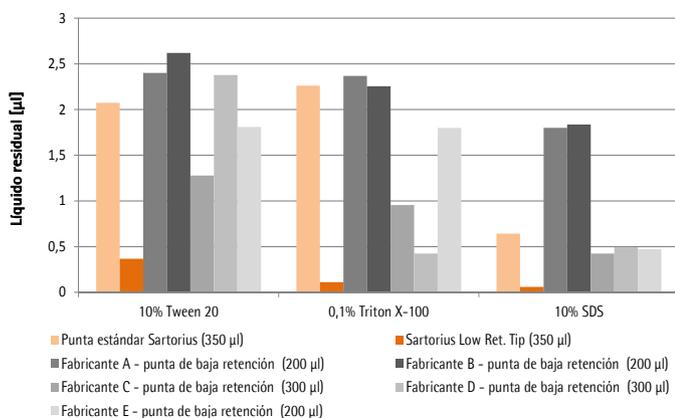


Figura 1a. Comparación de cantidades de líquidos residuales

Se compararon las puntas de baja retención de cinco fabricantes con las puntas estándar y las de baja retención de Sartorius al pipetear 200 µl de los siguientes detergentes: 10 % Tween 20, 0,1 % Triton X-100 y 10 % SDS. Se utilizaron puntas de pipeta de 200 µl, 300 µl y 350 µl de volumen (el tamaño dependió de la compatibilidad y la oferta de los fabricantes) con la pipeta electrónica Picus de 10-300 µl. Se midió la cantidad de líquido que permaneció en la punta utilizando el método de análisis gravimétrico descrito en el capítulo de Materiales y Métodos. El ensayo se repitió 10 veces para cada fabricante.

En otro experimento, se utilizó un detergente coloreado que contenía tampón para PCR como solución de prueba para comparar la precisión de varias puntas de baja retención y ver cómo el volumen de pipeteo afectaba la retención de líquido en la punta. Tal y como se muestra en la Figura 1b, las puntas de baja retención de Sartorius retuvieron la menor cantidad de residuo con ambos volúmenes. Incluso las puntas estándar de Sartorius retuvieron niveles de residuo similares a los de las puntas de baja retención de la competencia. Al usar las puntas de baja retención de Sartorius se consiguió la mayor precisión en el pipeteo, mostrando así los beneficios del uso de estas puntas en la preparación de PCR, p. ej. Los datos muestran también que las diferencias entre la cantidad de líquido residual en las puntas estándar y de baja retención crecen conforme aumentan los volúmenes pipeteados. Esto se debe a que el líquido se adhiere a una mayor superficie en el interior de la punta.

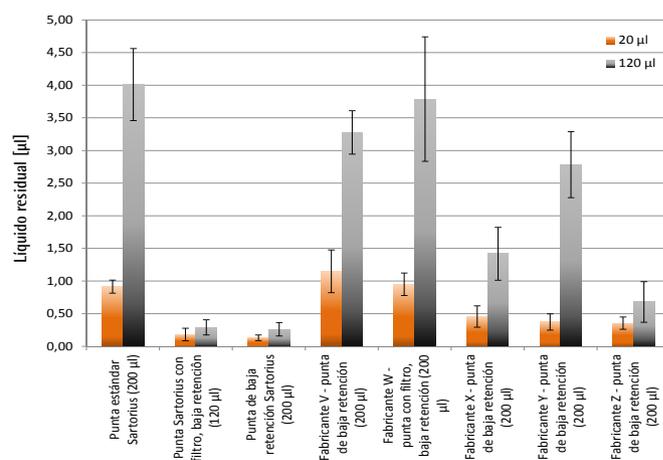


Figura 1b. Comparación de las cantidades de residuo líquido y la precisión de pipeteo de diferentes puntas de baja retención. Se utilizaron 2 volúmenes de un tampón de PCR coloreado

Se compararon las puntas estándar y de baja retención de Sartorius (con filtro y sin filtro) con las puntas de baja retención de otros cinco fabricantes. Se utilizaron puntas de pipeta de 120 µl, 200 µl y 300 µl de volumen (el tamaño dependió de la compatibilidad y la oferta de los fabricantes) con la pipeta Sartorius mLINÉ® de 20-200 µl para aspirar y dispensar 20 µl y 120 µl de un tampón coloreado de PCR. Se midió la cantidad de líquido que permaneció en la punta utilizando el método de análisis gravimétrico descrito en el capítulo de Materiales y Métodos. El ensayo se repitió 10 veces para cada fabricante. Las barras de error muestran las desviaciones estándar.

## Efecto de la tensión superficial

Se puso a prueba el efecto de la tensión superficial del líquido sobre el residuo que permaneció en la punta tras el dispensado, mediante el uso de varias concentraciones de isopropanol, el cual tiene una baja tensión superficial (23 mN/m) (Figura 2). A mayor concentración de isopropanol y menor tensión superficial, más beneficioso fue el uso de puntas altamente hidrofóbicas de baja retención frente a las puntas de pipeta estándar para la reducción de la pérdida de reactivo y la imprecisión en el pipeteo. No se pudieron observar ventajas similares con agua u otras soluciones acuosas, debido a las grandes diferencias de energía superficial entre la punta altamente hidrofóbica de baja retención y el agua (72 mN/m).

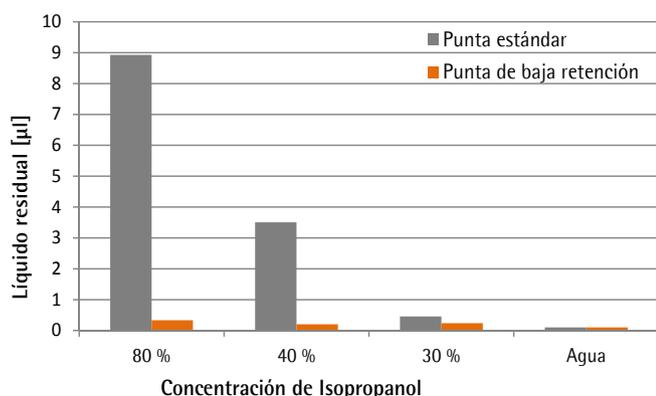


Figura 2. Efecto de la tensión superficial del líquido en la cantidad de residuo de la punta

Se aspiraron y dispensaron 1.000 µl de varias concentraciones de isopropanol (30 %, 40 %, 80 %) y agua destilada con puntas Sartorius estándar y de baja retención Optifit (1000 µl) utilizando la pipeta electrónica Picus de Sartorius (1.000 µl). Se midió la cantidad de líquido residual en las puntas utilizando el método de análisis gravimétrico descrito en el capítulo de Materiales y Métodos. El ensayo se repitió 10 veces para cada fabricante.

## Resistencia química de puntas de baja retención

Se están utilizando diversas tecnologías para crear superficies de baja retención para puntas de pipeta. Los métodos más estables producen puntas con cobertura completa en términos de hidrofobicidad y no lixiviantes. Tal y como se muestra en la Figura 3, hay una variación significativa entre las puntas de baja retención probadas en términos de resistencia química. En algunas de las puntas de la competencia, la baja retención se redujo significativamente tras el tratamiento con los disolventes seleccionados. El rendimiento de las puntas de baja retención de Sartorius se mantuvo al mismo nivel tras el tratamiento químico, lo cual sugiere que son inertes y no lixiviables. La esterilización en autoclave de la punta de baja retención de Sartorius no tuvo ningún efecto en el rendimiento de las puntas (datos no mostrados).

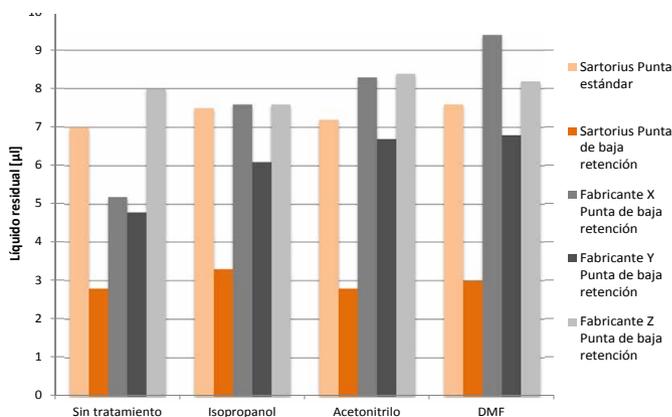


Figura 3. Comparación de la resistencia química de las puntas de baja retención

Se compararon las puntas de baja retención de tres fabricantes con las puntas estándar y de baja retención de Sartorius. El ensayo de resistencia química se llevó a cabo tal y como se describe en el capítulo de Materiales y Métodos, utilizando puntas de pipeta de 1.000 µl con la pipeta electrónica Picus de Sartorius (1.000 µl). El ensayo se repitió seis veces para cada fabricante.

## Conclusión

Los resultados del ensayo muestran que las puntas de baja retención de Sartorius reducen claramente el residuo líquido en la punta cuando se trabaja con detergentes u otros líquidos con baja tensión superficial. Los datos también sugieren que las puntas de baja retención disponibles en el mercado pueden presentar diferencias significativas en su rendimiento y tolerancia química. De todas las puntas probadas, las de baja retención de Sartorius son las que garantizan una mejor recuperación de la muestra, una mayor precisión y una resistencia química superior.

Sartorius Argentina S.A.  
Int. A. Ávalos 4251  
B1605ECS Munro Buenos Aires, Argentina  
Phone: +54.11.4721.0505  
Fax: +54.11.4762.2333  
sartorius@sartorius.com.ar

Sartorius de México S.A. de C.V.  
Circuito Circunvalación Poniente No. 149, Ciudad Satélite  
53100 Estado de México, Mexico  
Phone: +52.55.5562.1102  
Fax: +52.55.5562.2942  
sartorius@sartomex.com.mx

Sartorius Lab Instruments GmbH Et 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