

BRAND Ultra Low Retention Spitzen

Bestimmung von Flüssigkeitsrückständen anhand gravimetrischer Messung

Autoren: Rainer Feldmann, Kathrin Kraft, Lisa Pollak, Thorsten Rawinski
BRAND GMBH + CO KG, Wertheim

Zusammenfassung

Die Benetzung unbehandelter Standard-Spitzen beim Pipettieren detergenzhaltiger oder viskoser Medien ist ein generelles Problem im Labor. Es bildet sich ein Film auf der Oberfläche, der bei der Flüssigkeitsabgabe mit normaler Geschwindigkeit ohne Einhaltung langer Wartezeiten zu Restflüssigkeit in der Spitze führt. Teure, zum Teil aufwendig gewonnene Proben gehen verloren und die Flüssigkeitsrückstände in der Spitze führen zu falschen Ergebnissen. Anhand gravimetrischer Messungen wurde die in der Spitze verbleibende Restmenge an Flüssigkeit bei Verwendung der BRAND Ultra Low Retention Spitzen, unbehandelten Pipettenspitzen von BRAND sowie Low Retention Pipettenspitzen anderer Hersteller verglichen. Die Ergebnisse zeigen, dass die BRAND Ultra Low Retention Spitzen – teilweise mit sehr deutlichem Unterschied – die geringsten Rückstände aufweisen und somit die genauesten Ergebnisse erzielen.

Einleitung

Nach der Flüssigkeitsabgabe sind, je nach verwendeten Medien, bei genauem Hinschauen häufig noch Flüssigkeitströpfchen oder ein dünner Film in oder an der Pipettenspitze zu sehen. Maßgeblich für die Bildung solcher Rückstände sind die verschiedenen Anteile der Oberflächenenergie der Pipettenspitzen sowie der pipettierten Proben und deren molekulare Zusammensetzung.

Bei biologischen Applikationen, wie z.B. der PCR, PAGE oder in vielen anderen Bereichen der Proteinchemie müssen die Proben oft mit Detergenzien versetzt werden. Eine exakte Abschätzung des Verhaltens auf PP-Oberflächen ist bei komplexen Medien sehr schwierig bzw. unmöglich. Detergenzien verringern die Oberflächenspannung der Flüssigkeit deutlich, was ein optimales Abfließen der Flüssigkeit aus der Pipettenspitze verhindert und die Pipettierergebnisse verschlechtert.

BRAND bietet ultrahydrophobe Ultra Low Retention Pipetten- und Filterspitzen an, die dieses Problem lösen. Durch ein physikochemisches Spezialverfahren wird die Oberflächenenergie stark reduziert und das Polypropylen der Spitze dadurch extrem flüssigkeitsabweisend. Die Oberflächenenergie ist 3 x niedriger als bei PTFE. Dies reduziert teure Probenverluste beim Pipettieren auf ein Minimum und erhöht die Reproduzierbarkeit auch bei kritischen Medien deutlich. Da die Spitzen bei dieser Behandlung nicht beschichtet werden, können damit verbundene Probenverunreinigungen ausgeschlossen werden.



Material und Methoden:

Zur Überprüfung der Spitzen wurden fünf im Labor häufig eingesetzte Flüssigkeiten ausgewählt, deren Ablaufverhalten beim Pipettieren mit oberflächenbehandelten Low Retention Spitzen getestet werden soll:

- SDS (1 %)
- BSA (1 %) + SDS (0,1 %)
- Glycerin 60 %
- DMSO
- Gelelektrophorese-Puffer

Zusammensetzung Gelelektrophorese-Puffer:

1 M Tris-HCl pH 6,8	3,20 ml
20 % SDS	1 ml
β-Mercaptoethanol	0,02 ml
Glycerin	1 ml
0,2 % Bromphenolblau	0,05 ml

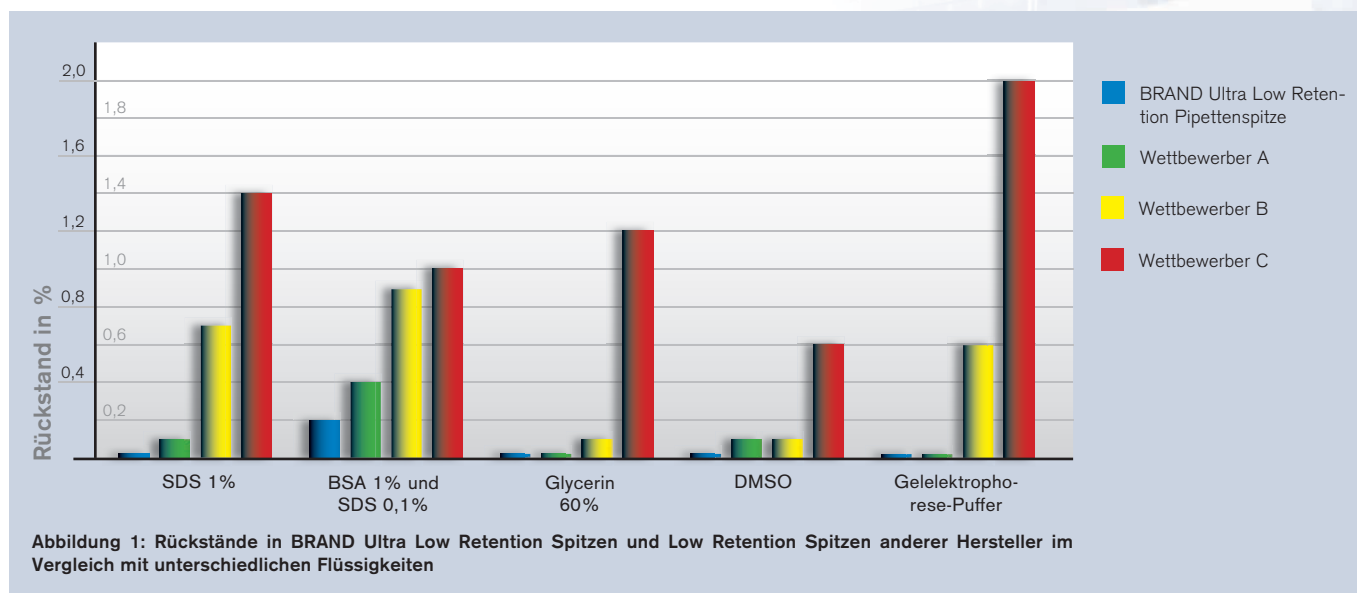
BSA 20 µg/20 µl
+ 8 µl des Probenaufnahmepuffers mischen.

Puffer 5 min kochen.

Für die Messungen wurde die elektronische Mehrkanalpipette Transferpette® -12 electronic 30-300 µl im Pipettiermodus verwendet. Bei Aufnahme- und Abgabegeschwindigkeit wählte man die Stufe 3, da angestrebt wurde, bei den Prüfungen möglichst realitätsnah zu arbeiten. Getestet wurden die 200 µl Standard-Pipettenspitzen und die 200 µl Ultra Low Retention Pipettenspitzen von BRAND sowie die 200 µl bzw. 250 µl-Spitzen mit Bezeichnung ‚Low Retention‘ von drei weiteren Herstellern. Je nach Verfügbarkeit wurden von diesen die 200 µl bzw. die 250 µl Spitzen überprüft. Es wurde immer ein einheitliches Volumen von 200 µl pipettiert. Die Restflüssigkeiten in den Spitzen wurden anhand gravimetrischer Messung mit einer Analysewaage Svon Sartorius bei Raumtemperatur bestimmt. Ein Pipettiervorgang wurde mit 12 Spitzen durchgeführt. Um zusätzliche Sicherheit hinsichtlich der Stabilität der Ergebnisse zu erhalten, wurde dieser Ablauf drei Mal durchgeführt. Der Gesamtmittelwert wurde verwendet, um den prozentualen Rückstand des pipettierten Volumens bestimmen zu können.

Ergebnisse und Diskussion:

Die prozentuale Restflüssigkeitsmenge in den Spitzen wurde schließlich in zwei Diagrammen gegenübergestellt und miteinander verglichen. Die Abbildung 1 zeigt die Rückstände in den BRAND Ultra Low Retention Spitzen im Vergleich zu den Restflüssigkeiten in den Low Retention Spitzen anderer Hersteller. Klar erkennbar ist, dass die Flüssigkeiten bei den BRAND Ultra Low Retention Spitzen sehr gut abfließen und die geringsten Rückstände in der Spitze blieben. Bei SDS 1 %, Glycerin 60 % und dem Gelelektrophorese-Puffer konnte die Flüssigkeit sogar ganz ohne Restflüssigkeit vollständig abgegeben werden. Bei den Low Retention Spitzen des Wettbewerbers C konnte man sehr schlechte Abflüsseigenschaften beobachten. Mit diesen Spitzen liegen die Messwerte bei allen Flüssigkeiten deutlich über denen von BRAND Ultra Low Retention Spitzen und von den Low Retention Spitzen der anderen beiden Hersteller.



Der Vergleich der BRAND Ultra Low Retention Spitzen mit den BRAND Standard-Pipettenspitzen in der Abbildung 2 verdeutlicht, dass bei den ausgewählten Flüssigkeiten enorme Unterschiede hinsichtlich des Ablaufverhaltens festgestellt werden konnten. Bei SDS 1% und dem Gelelektrophorese-Puffer waren die Wände der Standard-Spitzen beispielsweise stark benetzt, sodass nach dem Pipettieren viel Restflüssigkeit in der Spitze zurück blieb. Allerdings gibt es auch Flüssigkeiten wie Glycerin 60%, die auch bei unbehandelten Spitzen gut ablaufen. Trotz unterschiedlicher Ablaufverhalten ist bei dieser Gegenüberstellung klar ersichtlich, dass die Restmengen an Flüssigkeit in den Ultra Low Retention Spitzen durchweg deutlich geringer sind als in den Standard-Pipettenspitzen.

In Abbildung 1 wurden die unterschiedlichen Ablaufeigenschaften der Low Retention Spitzen auf dem Markt bereits deutlich dargestellt. Wenn man nun aber beide Diagramme miteinander vergleicht, kann man die großen qualitativen Unterschiede unter den Low Retention Spitzen der verschiedenen Hersteller noch klarer erkennen. Es gibt Spitzen mit der Bezeichnung ‚Low Retention‘ auf dem Markt, deren Rückstände beim Pipettieren fast vergleichbar sind mit denen bei Verwendung von BRAND Standard-Spitzen.

Fazit:

Die Messungen zeigen, dass es enorme Qualitätsunterschiede zwischen den Low Retention Spitzen verschiedener Hersteller gibt. Es hat sich herausgestellt, dass beim Pipettieren der getesteten Flüssigkeiten mit BRAND Ultra Low Retention Spitzen die besten Werte erzielt werden. Abhängig von den Flüssigkeiten liegen zwar große Schwankungen vor, die oberflächenbehandelten Spitzen von BRAND zu verwenden ist aus bisheriger Erfahrung aber bei keiner Flüssigkeit von Nachteil. Die Rückstände können durch Verwendung der Ultra Low Retention Spitzen in der Regel deutlich reduziert werden. Ein einfacher photometrischer Test wird im Produkt-Video auf www.brand.de gezeigt. Dem Anwender ist trotzdem immer zu empfehlen, für seine spezielle Applikation das Ablaufverhalten seiner Flüssigkeiten mit Low Retention Spitzen und Standard-Spitzen zu testen. So kann er selbst feststellen und beurteilen, ob Medienverlust und ungenaue Pipettierergebnisse vermieden werden können.

