

IZASA LAB

www.izasa.es

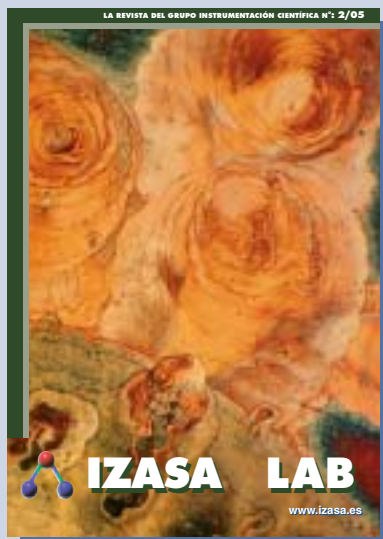


Foto portada: Superficie de película delgada de cobre. Campo Claro.



Teléfonos de interés

Departamento de Atención al Cliente (DAC)

Tfno: 902 20 30 80 • Fax: 902 20 30 81

Centro de Recepción de Avisos (CRA)

Tfno: 902 12 04 89 • Fax: 934 01 03 30

Departamento de Suministros

Tfno: 902 20 30 90 • Fax: 902 22 33 66



Tecnología y servicio

Edita:



Redacción: División Analítica GIC

Supervisión y edición: APRIORI

Papel ecológico

Editorial

El primer semestre de este año ha resultado más activo de lo habitual. Por ello, en este número, incluimos información de más de media docena de empresas con las que recientemente hemos establecido acuerdos de colaboración. De entre ellas destacamos las siguientes:

Arcturus Bioscience, Inc. es una empresa de California que es líder en Microdissección por Captura Láser (LCM). Esta compañía ha desarrollado esta tecnología para análisis genético de muestras de biopsias, para efectuar análisis celulares rápidos de progresión de enfermedades utilizando las muestras más puras y pequeñas disponibles. Actualmente tienen equipos instalados en los centros de investigación más importantes del mundo.

Fluid Imaging Technologies es una compañía americana que fabrica instrumentación para monitorizar células y partículas presentes en fluidos combinando la Citometría de Flujo con la Microscopía, con aplicaciones interesantes tanto en investigación como en la industria química, cosmética, farmacéutica...

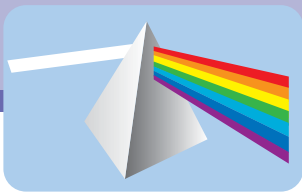
Brookhaven Instruments Corporation es otra compañía americana especializada en la fabricación de Analizadores de Tamaño de Partícula en el rango nanométrico y Potencial Z. El Potencial Z es un indicador de la carga eléctrica de un material en contacto con un líquido y que adquieren en su superficie. Es útil e importante para predecir y controlar la estabilidad de suspensiones coloidales y emulsiones.

Thar Technologies, Inc. es otra compañía americana líder en tecnología de fluidos supercríticos que fabrica, entre otros productos, Cromatógrafos de Fluidos Supercríticos, que son objeto de nuestro acuerdo.

Y, por último, es interesante citar también a **Quantomix**, compañía que comercializa la tecnología WETSEM, que permite a los microscopios electrónicos de barrido trabajar con muestras húmedas (células, tejidos...) en su entorno sin necesidad de aplicar procedimientos de preparación de muestra.

Sumario

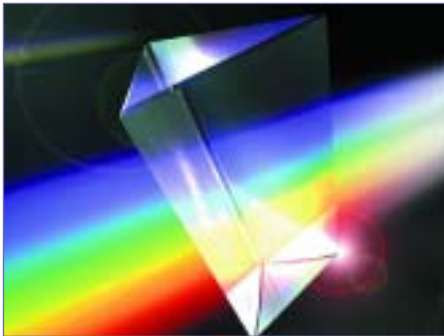
Espectrofotómetro de alta gama UV-VIS-NIR modelo UV-3600 de Shimadzu.	3
Identificación de retardadores de llama bromados en plásticos por FTIR.	4
Familia Companion de Teledyne ISCO.	5
Últimas novedades en análisis de proteína Kjeldahl y grasa por extracción con disolvente.	7
Características técnicas y evaluación de las cabinas de seguridad biológica.	8
Lavador de microplacas ELx405 con Ultrasonic Advantage.	9
PCR set-up con puntas fijas para genotipado de plantas en el Microlab Star de Hamilton.	10
Análisis de distribución de tamaño de partículas en pigmentos por difracción láser.	12
Análisis Dinámico Mecánico (DMA).	14
Medida de potencial Zeta en muestras difíciles.	15
Microscopio Confocal Espectral NIKON mod. C1si.	16
Sistema Veritas de microdissección láser: Flexibilidad y rapidez en Microdissección.	18
Novedades en cromatografía en capa fina: nueva cámara de desarrollo automática ADC2.	19
Microscopía electrónica de barrido en muestras húmedas.	20
Tecnología de Plasma, de Gala Instruments, para preparación y limpieza de superficies.	21
Nueva generación de HPLC de Shimadzu LC-20A PROMINENCE.	22
Thar: cromatografía supercrítica (SFC).	24
Análisis de ácidos grasos en plasma humano por FASTGC.	25
Nuevas tendencias en Citometría de Flujo II.	26
Combinación de citometría y microscopía: Análisis de Materia Orgánica Particulada.	28
Calidad del agua de laboratorio para técnicas analíticas de alta resolución.	30
Microlab Star: La revolución en manipulación automática de líquidos.	31



Espectrofotómetro de alta gama UV-VIS-NIR modelo UV-3600 de Shimadzu

En su proyecto de renovación, Shimadzu completa su nueva línea de Espectrofotómetros de Alta Gama, lanzando este nuevo UV-3600. Este, junto con el de reciente salida, el SolidSpec 3700, refuerza y pone el listón muy alto en este segmento. Con ello, da soluciones específicas que se dirigen tanto al análisis de muestras sólidas, con el SolidSpec 3700, como líquidas con el UV-3600.

El Espectrofotómetro UV-3600 UV-VIS-NIR es el nuevo modelo que Shimadzu saca al mercado de la Espectroscopía dentro de la línea de alta gama que abarca desde el Ultravioleta Lejano pasando por el Visible hasta el Infrarrojo Cercano. Es el sucesor y



sustituto del UV-3101PC, que grandes satisfacciones dio en su momento. Como su compañero, el SolidSpec 3700, espectrofotómetro de alta gama dedicado eminentemente a la medida de muestras sólidas y de gran tamaño, está equipado con tres detectores (tubo foto-multiplicador, fotodiodo de InGaAs y elementos fotoconductivos enfriados de PbS) para conseguir una alta sensibilidad en la región NIR. Tiene el menor nivel de ruido del mercado en la actualidad a 1.500nm y un intervalo espectral de 185nm a 3.300nm superior a su antecesor.

Aunque orientado eminentemente a la medida de muestras líquidas, también se le puede usar para muestras sólidas acoplando el Compartimiento de Muestras Multipropósito (MSC) y la esfera integradora.

Características del UV-3600:

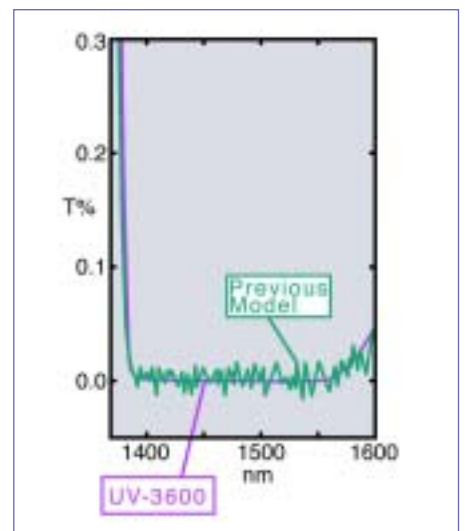
1. Está equipado con tres detectores para asegurar el mínimo ruido posible en la región NIR.

El tubo foto-multiplicador es responsable de las regiones UV y VIS. El InGaAs así como el PbS son detectores para la región NIR. La sensibilidad del tubo foto-multiplicador decrece en la región 850-1.600nm. Sin embargo, el UV-3600 utiliza el detector InGaAs que proporciona una alta sensibilidad en esa zona asegurándola a lo largo de la región NIR. El ruido a 1.500nm es de 0,00003A o menor y es el de más bajo nivel en el mundo (rendija de 2nm, valor RMS).

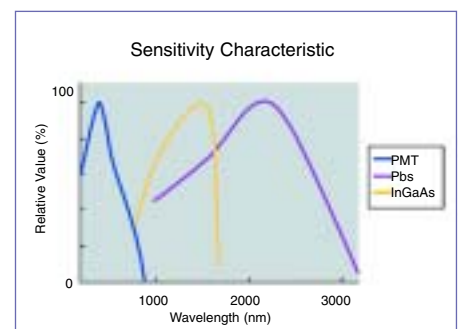
2. Doble monocromador de alta resolución que asegura alta resolución y bajo nivel de luz directa en un amplio intervalo de medida.

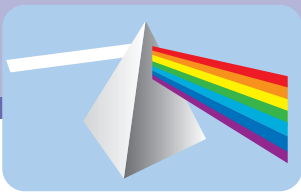
Por medio del doble monocromador de alta resolución, el UV-3600 obtiene una resolución de 0,1nm con nivel mínimo de luz directa de 0,00005% o incluso inferior a 340nm.

3. Útil en una gran variedad de aplicaciones gracias a su amplia gama de accesorios.



Se le pueden acoplar todos los accesorios de la serie UV-2400 así como de la serie UV-3100. Asimismo, utilizando el MPC-3100 (Compartimiento de Muestra Multipropósito) y la esfera integradora, se puede proceder a la medida de sólidos en reflectancia. De igual manera, por medio de los accesorios de la serie ASR, se pueden hacer medidas de reflexión especular. Otros accesorios tales como los soportes de cubetas con termostatación y los soportes para micro-cubetas, se le pueden acoplar dando más riqueza a su gama de aplicaciones.

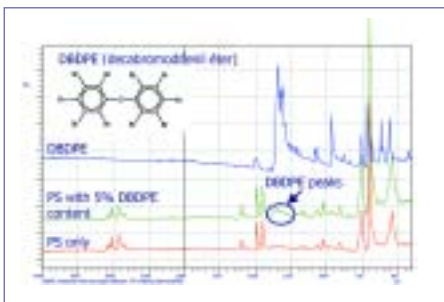




Identificación de retardadores de llama bromados en plásticos por FTIR

La norma RoHS (Restricción del Uso de Sustancias Peligrosas en Equipamiento Electrónico y Eléctrico) restringirá el uso de retardadores de llama bromados para piezas eléctricas y electrónicas a partir del próximo julio del año 2006. Como consecuencia de esta norma, el uso de PBDE (pentabromodifenil éter), Octabromodifenil éter (OBDE) o Decabromodifenil éter (DBDPE) como retardadores de llama bromados que se encuentran de forma típica en PS (Poliestireno), PE (Polietileno) o ABS (Acrilonitrilo-Butadieno-Estireno), no se permitirá o si su concentración está por encima de las 1.000ppm.

Los retardadores de llama bromados en plásticos, no son efectivos como tales si su contenido está en niveles de ppm. Para que sean efectivos, su contenido (en peso) en el plástico debe de estar entre el 5% y el 10%.



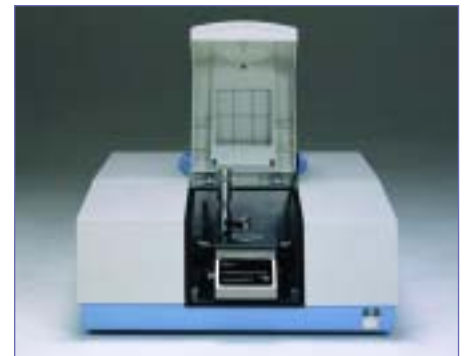
Cuando su contenido está en ese intervalo, aparecen picos visibles en el espectro infrarrojo. Por ello es por lo que la Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR) es útil si se usa para determinar la presencia de este compuesto en polímeros.

La técnica de muestreo a seguir es la Reflectancia Total atenuada o ATR. La Espectroscopia por

Reflectancia Total Atenuada (ATR) se basa en el comportamiento del haz de luz IR en un prisma con índice de refracción alto (cuando el ángulo del haz de incidencia es mayor que el ángulo crítico). Bajo estas condiciones el haz IR se refleja de forma total en la superficie interna del prisma procurando una onda de evanescencia por encima de esta. La interacción de la onda evanescente (radiación electromagnética) con la muestra resulta en un espectro de absorbanza.



El accesorio ATR recomendado para este análisis es el de prisma de diamante en soporte de seleniuro de zinc (ZnSe) por lo que su barrido espectral baja hasta los 350cm^{-1} . Este cristal, por su dureza y comportamiento a lo largo del espectro IR, nos permite su aplicación en una amplia gama de plásticos independientemente de su dureza y composición ya que el



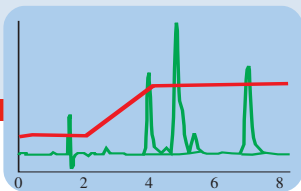
diamante se caracteriza, además, por lo inerte que es.

En el pasado, la preparación de muestra habitual era la preparación de la pastilla de KBr este procedimiento llevaba unos 15 ó 20 minutos. Ahora, en nuestros días, es posible utilizar esta técnica de preparación más confortable y fácil que es la técnica del ATR (Reflectancia Total Atenuada) la cual, además, no destruye la muestra.

En la figura se puede ver el espectro IR del Decabromodifenil Eter (DBDPE) así como su fórmula. Asimismo, podemos ver el espectro del poliestireno (PS) puro y con un 5% de retardador de llama bromado (DBDPE). Vemos entonces que, en el espectro, los picos correspondientes al DBDPE empiezan a dejarse ver a partir de ese 5% de contenido en peso.

Se recomienda entonces este tipo de técnica FTIR con ATR por su limpieza, fácil uso así como no destrucción de muestra para esta aplicación.





Familia Companion de Teledyne Isco

Teledyne Isco presenta la nueva familia Companion para purificación dentro del laboratorio de desarrollo. No importa la necesidad que tenga por particular que sea, seguro que alguno de los Companion se lo resuelve.

En 1.997 Isco lanzó su primer sistema CombiFlash marcando una nueva etapa con los nuevos sistemas de cromatografía de flash automáticos de mayor rapidez en la purificación. Fueron los primeros en sacar sistemas automáticos tanto en paralelo como en separación secuencial. Siempre presente la idea de mejorar y en constante consulta con los usuarios de la cromatografía de flash, nace el primer Companion allá por el 2002, equipo que vino a facilitar las tareas de purificación para cada usuario individual. A éste le siguió el Companion 4X y después, por último llega el Companion XL.

Hemos pasado entonces de tener un modelo en un segmento concreto de la separación a una familia con soluciones más flexibles según las necesidades.

CombiFlash Companion.

Es el primero que apareció de la familia. Reconoce de forma automática el tamaño de la columna eliminando el error de configuración de la separación al cambiar la columna. Puede usar columnas de hasta 330gr. Su sistema de detección UV con matriz de diodos proporciona, junto con su cálculo de picos por pendiente y línea de base, las máximas garantías en la separación de



picos. El cambio de disolventes es muy rápido pudiendo pasar de fase normal a fase reversa en cuestión de minutos. Lleva un colector de fracciones Foxy Junior con capacidad de hasta 144 tubos y con la flexibilidad de poder usar distintas gradillas cuyo tamaño y cantidad de tubos se auto-detecta. Respecto a la seguridad, el Companion está equipado con un sensor de vapor y otro de sobre-presión además de parada automática al final de cada separación. Por último, comentar que con su nuevo Sistema de Gestión de Disolvente opcional, se puede gestionar hasta 4 disolventes distintos, seguir su nivel de llenado en los depósitos y ampliar (duplicar) su capacidad de colección de muestra a 2 colectores Foxy Junior.

CombiFlash Companion 4X.

Suma a las características básicas del Companion estándar otras particulares que le proporcionan su Módulo 4X.



Ofrece la posibilidad de compartir recursos (el propio sistema CombiFlash) con otros usuarios del laboratorio al poder trabajar con hasta 4 columnas (separaciones) independientes de forma secuencial e inatendida. Al igual que su hermano, el Companion Estándar, puede trabajar con columnas desde 4gr.

hasta 330gr por canal. En cada canal, entonces, pueden usar tanto diferentes columnas como diferentes flujos y gradientes. Al igual que el modelo Estándar, puede ampliar sus posibilidades de trabajo con el Sistema de Gestión de Disolvente.

CombiFlash Companion XL.

Está dirigido eminentemente a separaciones de gran volumen. El tamaño de columna que usa va de 120gr. a 1.500gr. Estamos hablando pues de purificaciones que pueden llegar a los 150gr, es decir, las mayores del mercado para un instrumento de estas características con flujos de hasta 450ml / minuto.



Reúne las mismas características de detección y seguridad que el Companion Estándar pero, en el caso del XL, dado el tamaño de columnas y por ende de muestra a purificar, en vez de llevar un Colector de fracciones Foxy Junior, lleva el Foxy 200 de mayor capacidad dándose el caso de poder conectar hasta dos colectores si las necesidades de purificación lo requieren.

Tanto la versión estándar como la 4X y la XL pueden trabajar bien conectados a un PC vía conexión de red local (ethernet) como con PDA o pocket PC o bien con una pantalla táctil incorporada que le hace trabajar de forma autónoma.

Renove UV-VIS

válido hasta fin de año

UV-1240

Espectrofotómetro analítico compacto y de bajo coste de inversión con un intervalo de medida de 190-100nm y un ancho de banda espectral de 5nm. El sistema se controla vía software incorporado con pantalla LCD. El usuario tiene a su elección tres modos de operación básicos: fotométrico, espectro y cuantitativo.

Además de estos tres métodos estándar, se dispone de tarjetas con programas para ampliar las aplicaciones: Registro Temporal, Cinéticas, Long. Onda Múltiple, DNA/Proteína, etc. Con capacidad de intercambio / transferencia de datos a PC.

Asimismo, hay disponibles gran variedad de accesorios que se pueden insertar individualmente en el compartimiento de muestras.



3.200 € PVP* por un nuevo UV-1240
al entregarnos su viejo UV-VIS

UV-1700

Espectrofotómetro de haz doble compacto y robusto con un intervalo de long. de onda de 190-1100 nm y rendija fija de 1 nm. El cambio de longitudes de onda se lleva a cabo a una velocidad de 6.000 nm/min y un registro espectral a 3.200 nm/min. Sus características ópticas le garantizan una alta fiabilidad y precisión debido a su mínima luz directa (0,05%). Su software integrado posee las funciones espectro, cuantitativo, cinéticas y multi-componentes con posibilidad de ampliación vía tarjetas IC. Posibilidad de trabajo con software de control de PC.



6.200 € PVP * por un nuevo UV-1700
al entregarnos su viejo UV-VIS

UV-2401PC

Espectrofotómetro de haz doble compacto y robusto para uso en las aplicaciones que demanda la investigación. Su intervalo de long. de onda de 190-900 nm se puede ampliar por un fotomultiplicador específico hasta 1100 nm y se puede medir con 6 resoluciones diferentes y a 4 velocidades de barrido. Con rendija variable que se ajusta en 6 niveles desde 0,1 nm a 5 nm. Software de control por PC con programas estándar y opcionales de cinéticas, fotométrico y validación. Para problemas más científicos y complejos hay software especiales como el Hyper UV o el UV-Probe con posibilidad de programación de macros.



9.100 € PVP * por un nuevo UV-2401PC

* Precios sin IVA

 **SHIMADZU**

Solutions for Science
since 1875

 **IZASA**



Últimas novedades en análisis de proteína Kjeldahl y grasa por extracción con disolvente

Gerhardt, en su inquietud continua por desarrollar nuevos productos / accesorios que faciliten el trabajo en el laboratorio, nos muestra dos novedades que serán útiles para el análisis tradicional por Métodos Oficiales.

VAPODEST 10: unidad básica para el análisis Kjeldahl.

El VAPODEST 10 es el nuevo modelo básico para la destilación rápida y automática. Está especialmente diseñada para disoluciones procedentes de digestiones Kjeldahl bien en matraces o bien en tubos de digestión.



El VAPODEST 10 es el instrumento ideal para aquellos laboratorios con poca cadencia de muestras pero con alta demanda de fiabilidad, facilidad de trabajo y seguridad.

Es ideal para las destilaciones automáticas y rápidas de disoluciones de muestras procedentes de la digestión Kjeldahl y que pueden estar tanto en matraces de destilación de 250ml, 500ml y 750ml de boca ancha como en tubos de digestión de 250ml, 400ml y 800ml. El generador de vapor funciona de forma totalmente automática pudiendo ser graduado su incremento. Virtualmente es sin mantenimiento y con seguimiento de sobre-temperatura. Asimismo, la unidad dispone de bombeo de sosa cáustica en el tubo de digestión controlado por tiempo. La duración de la destilación la gobierna un contador de tiempo.

Resumen de los valores añadidos:

- Adición de sosa por bomba de control por tiempo o manualmente al presionar un botón.
- El tiempo de destilación se puede preseleccionar utilizando un contador de tiempo.

programa y reconocimiento de usuario.

Con la presentación de este software, Gerhardt ofrece un control por PC eficiente que satisface las demandas de gestión de los laboratorios modernos.

El paquete Soxtherm –Manager se compone del CD en inglés o alemán con el programa de instalación compatible con Windows 95, 98, 2000 y XP; breve manual de usuario para los primeros pasos y apoyo en línea así como autorización a la base de datos de aplicación Gerhardt.

Resumen de valores añadidos:

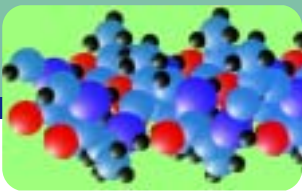
- El rendimiento del generador de vapor se puede graduar desde el 10 al 100%.
- Cambio de tubos manual.
- Puerta de protección con interruptor.
- Excelente relación calidad precio.

- Control y seguimiento de hasta 4 unidades de extracción básicas.
- Programación y almacenaje de programas de extracción.
- Documentación y acceso a toda la información relevante.
- Función de diagnóstico para un proceso de extracción ideal.
- Disposición concisa de todas las pantallas de estado en diferentes ventanas que favorecen la mejor de las supervisiones.

SOX THERM-MANAGER: extracción con disolvente, por fin, controlada por ordenador.

Gerhardt ahora le ofrece la posibilidad de controlar y seguir de forma individual hasta cuatro unidades de extracción Soxtherm por medio de ordenador. Todas las funciones, ya conocidas por el controlador MultiStat, se integran en este programa. Más aún, ofrece también documentación y accesos al software como nombre de muestra,





Características técnicas y evaluación de las cabinas de seguridad biológica

Las cabinas de seguridad biológica deben cumplir con la normativa europea EN12469. Sólo un certificado emitido por una entidad independiente de reconocido prestigio avala este cumplimiento

1. Certificaciones

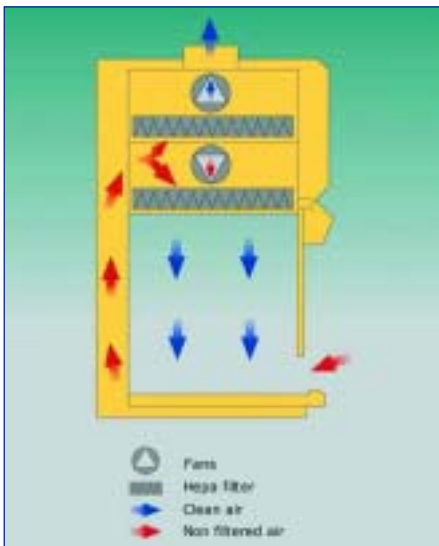
- La certificación EN12469 incluye:
 - Pruebas tipo "type testing" específicas para cabinas de seguridad biológica, así como pruebas de instalación y mantenimiento.
 - El cumplimiento de todas las demás normas relacionadas en la EN12469.

El cumplimiento de solo las pruebas "type testing" no es la certificación EN12469.

Todas las cabinas de seguridad biológica Telstar cumplen con la normativa europea EN12469.

2. Ventiladores: ¿Dos mejor que uno?

Para compensar la progresiva colmatación de los filtros (impulsión y extracción), se actúa sobre la velocidad del ventilador. Los equipos con un solo ventilador no permiten la regulación independiente del flujo de cada filtro.



Una cabina con un solo ventilador no permite mantener las condiciones de reparto de flujo originales para la que fue diseñada.

Todas las cabinas de seguridad biológica Telstar incluyen dos ventiladores: impulsión y extracción, que garantizan que cada zona reciba la regulación que precisa.

3. ¿Todos los sistemas de control son iguales?

Existen varios tipos de control:

- Cabinas con regulación manual (con o sin microprocesador):

- Con monitorización por microprocesador: incluyen un sistema que da lectura más o menos inteligible sobre los parámetros de la cabina. Si es cabina certificada debe incluir sistema de alarma.

La regulación para mantener los parámetros adecuados e ir compensando la progresiva colmatación de los filtros se efectúa manualmente.

- Monitorización sin microprocesador: Igual que en el caso anterior pero no proporcionan otra información que la referente a situación de alarma.

Ambos tipos de control precisan igualmente de frecuentes revisiones por parte del servicio técnico para evitar llegar a tal situación.

- Cabinas con regulación automática:

- Disponen de un sistema que va comparando los valores reales de los parámetros a controlar con los idóneos, proporcionando así un nivel de seguridad superior, minimizando la necesidad de revisiones del servicio técnico y proporcionando en todo momento los valores reales de los parámetros y la situación de las alarmas.

Las cabinas de seguridad biológica Telstar disponen de sistema de regulación automática para proporcionar un máximo nivel de seguridad y un mínimo mantenimiento.

4. Sensores de caudal/velocidad: ¿Dos mejor que uno?

- Una cabina de bioseguridad dispone de dos zonas físicamente diferenciadas así como de dos filtros HEPA: impulsión y extracción. Es lógico pues que disponga también de control independiente en

ambas zonas. Por tanto debe ir provista de dos sensores uno en la impulsión para controlar el flujo laminar y la protección del producto, y otro en la expulsión para controlar la protección a usuario y ambiente.

- Los equipos que disponen de un solo sensor (normalmente en la extracción) son de difícil regulación.
- Las cabinas de seguridad biológica de Telstar están dotadas de dos sensores termo anemométricos que en conjunción con el sistema de control activo por microprocesador permiten un control fiable e independiente de la cabina, así como la auto compensación de la progresiva colmatación de los filtros y la generación de señales de alarma distintas y de utilidad.

5. Construcción:

Frontal deslizante:

- Ventajas:

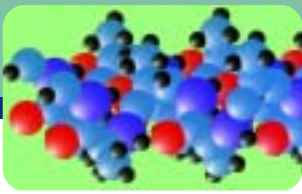
- Comodidad de manejo.
- Permite el cierre inmediato en caso de accidente.

- Desventajas:

- Pocos equipos disponen de un sistema estanco lo cual provoca contaminaciones de la muestra y resulta inútil como sistema de cierre en caso de accidente o de descontaminación.
- En la mayoría de los casos el cristal es de difícil limpieza: necesidad de desmontarlo para acceder a la limpieza interior o al cambio de filtros.



La cabina Biostar de Telstar dispone de todas las ventajas de un frontal deslizante y de ninguno de sus inconvenientes.



Lavador de microplacas ELx405 con Ultrasonic Advantage

El gran avance en el lavado de microplacas

El ELx405 de Biotek está considerado como un estándar en el lavado de microplacas. A pesar de un diseño robusto para evitar paradas y errores inesperados, el mantenimiento regular del ELx405 y del resto de los lavadores de este tipo es un proceso que consume tiempo y trabajo.

El atasco de los tubos de los lavadores debido a precipitaciones de proteínas y de sales es uno de los problemas más frecuentes que nos encontramos en el laboratorio. La solución patentada por Biotek, es el Ultrasonic Advantage que hace del ELx405 el único lavador del mercado con auto-mantenimiento, eliminando los fallos asociados a lavadores así como garantizando un lavado sin interrupciones.

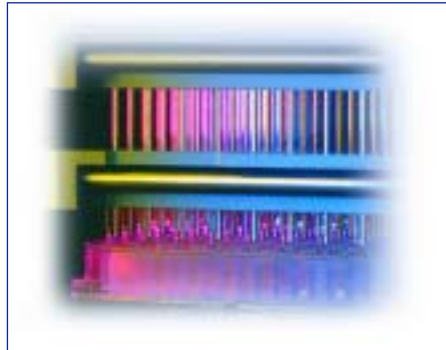


El nuevo ELx405 con cabezal de 96 puntas, puede incorporar opcionalmente un lavador ultrasónico interno para completar el mantenimiento rutinario del lavador.

Con solo apretar un botón, en el ELx405 con el Ultrasonic Advantage puede programarse un protocolo de limpieza personalizado basado en el uso del instrumento y del tipo de tampón de lavado. El ELx405 se purgará automáticamente con el líquido de limpieza, realizará el proceso de limpieza con ultrasonidos, para lavar y purgar el manifold con el tampón y prepararse para el siguiente ciclo de lavado.

Con características como el manifold patentado Dual-Action para un preciso lavado aún con el pocillo lleno y protección de sobrellenado, la adaptación para el lavado de células y ahora el Ultrasonic Advantage, el ELx405 reúne la mayoría de los requerimientos demandados por el laboratorio.

Dependiendo del modelo, debido a su cabezal es capaz de lavar microplacas completas (96/384 pocillos simultáneamente) siendo programable a medida por el usuario, incluso se puede realigar la unión de programas. Permite el



establecimiento de hasta 75 programas de lavado, controlando:

- Volumen de líquido dispensado
- Ciclos de lavado
- Tiempo de remojo
- Tiempo de agitación
- Retraso en la aspiración
- Frecuencia de agitación
- Nombre de programa (hasta 20 caracteres)

Su precisión y posibilidades de ajuste consiguen un menor coeficiente de

variación entre resultados en los distintos pocillos en inmunoensayo, menor background e incremento de la relación señal / ruido.

Programa de auto-lavado y mantenimiento incorporado

Ajuste de altura automático.

Seguro: Control electrónico y pantalla de seguridad anti aerosoles.

Diseñado para adaptarse a robótica.



Especificaciones

Tipos de Microplacas:

- ELx405 Auto Plate Washer: Todas las placas de 96 pocillos
- ELx405 Select: Placas de 96 y 384 pocillos
- ELx405 Magna: Placas de 96 para ensayos con bolas magnéticas

Velocidad de lavado: < 15 seg para 96 pocillos

Volumen de llenado: de 50 a 3.000 microlitros

Eficiencia de aspiración: < 5 microlitros de residuo máximo por pocillo

Seguridad:

- Detección nivel botella de residuos
- Chequeo de vacío
- Detección de fluido y flujo
- Cubierta para aerosoles
- Protección contra derrame
- Filtro en línea para protección de la bomba de vacío
- Protección contra fallo en la dispensación
- Chequeo de la posición de los pocillos

Funciones de operación permanentes:

- 75 programas de lavado programables, incluyendo lavado, dispensado, aspiración, agitación, aclarado
- 5 programas de mantenimiento
- Posibilidad de unir hasta 10 programas
- 1 a 10 ciclos de lavado
- Tiempo de remojo (permanencia de la solución) de 0 a 600 segundos

Nombres de programa de 15 caracteres

Protección de programa contra cambios accidentales y fallos de corriente

Profundidad de aspiración programable

Mantenimiento:

- Dispensador múltiple y portador de placas desmontable para lavado
- Programa de aclarado
- Programa de desinfección

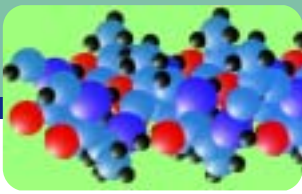
Agitación, programable en intensidad y tiempo

Volumen de botellas de aclarado: 2 litros

Potencia: de 100 a 240 VAC, 50-60 Hz

Dimensiones aparato: 43.2 x 35.6 x 22.9 cm

Peso: 12.5 Kg



PCR set-up con puntas fijas para genotipado de plantas en el MICROLAB STAR de HAMILTON

En el estudio genómico de plantas, se requiere procesar un gran número de muestras, que hace necesaria su automatización. Los protocolos de PCR set-up, especialmente en el campo del genotipado de plantas, son aplicaciones tediosas que requieren una gran cantidad de tiempo.

La preparación de reacciones de PCR en formatos de 96 y 384 pocillos ha sido totalmente automatizada en el robot manipulador de líquidos MICROLAB STAR de HAMILTON. Pueden prepararse hasta 24 placas de PCR sin intervención del usuario. Para ahorrar costes, la transferencia de muestras de DNA y el pipeteo de las mezclas de PCR son realizadas con puntas lavables de acero.

EQUIPO Y MATERIALES

Equipamiento

- MICROLAB STAR, 8 canales, carga manual.
- Estación de lavado con 1 módulo para puntas de acero de 300µl y 2 módulos para puntas de 10µl.
- Estación de autollenado.
- Bandejas para tubos Eppendorf de 1,5ml y para placas de PCR de 96 pocillos "ABgene AB-0800".
- Secuenciador automático de DNA Licor.
- Termociclador Tetrade MJResearch PTC-225.

Reactivos

- DNA de semilla de colza (0.25ng/ml, 1ng/ml)
- Reactivos para la PCR set-up (Concentraciones Finales):
 - Taq Polimerasa EurobioTaq II 5U/µl (0.15U)
 - MgCl₂ 50mM Eurobio (2mM)
 - 10 x Buffer sin MgCl₂ Eurobio (1x)
 - dNTPs 25mM Promega (75 µM)
 - Primer_MF (1µM)U (0.04µM)
 - Primer_R (10µM)L (0.4µM)
 - Primer marcado M13 (10µM) (0.36µM)

- Reactivos para tampón de carga:

- Bromophenol Blue [0.08%(w/v)]
- EDTA pH 8.0 (20mM)
- Formamida [95%(v/v)]

PROTOCOLO

Plataforma de Trabajo

Las bandejas con las placas de reacciones de PCR, la placa con la fuente de DNA y las mezclas de PCR se cargan de forma manual en el equipo (Figura 1). El número de placas a procesar es flexible pudiéndose elegir desde 1 a 24 placas.

La correcta carga de las bandejas se controla con sensores magnéticos. La estación de lavado con un módulo para 8 puntas de 300µl y dos módulos para puntas de 10µl esta situada de forma permanente en la plataforma del robot. Las puntas de 300µl se usan para alíquotar las

mezclas de PCR y las de 10µl para pipetear las muestras de DNA.

Software de Aplicación

Para programar el método se ha usado el software STAR Vector.

Método

Las reacciones de PCR son preparadas en dos pasos usando dos tipos diferentes de puntas de acero. Primero, las mezclas master son alíquotadas en volúmenes 3µl con las puntas de 300µl por el modo de multi-dispensación. Posteriormente, las muestras de 2µl de DNA (0.25ng/µl o 1ng/µl) son pipeteadas con la agujas de 10µl por el modo de aspiración-dispensación única. Tanto las puntas de 300µl como las de 10µl son lavadas con agua destilada después de cada pipeteo con los siguientes parámetros: 5 segundos de tiempo de enjuague, 2 segundos



Figura 1.- Sistema automático de PCR set-up para el genotipado de plantas en el INRA en Rennes (Francia), basado en el MICROLAB STAR de HAMILTON.

de tiempo de remojo, flujo de 18ml/s y tiempo de drenado de 10 segundos. Los 2 módulos de la estación de lavado para las agujas de 10µl permiten el pipeteo continuo de DNA sin ningún tiempo de espera para que las agujas sean lavadas.

Después de preparar las reacciones de PCR con el MICROLAB STAR, la amplificación del DNA es realizada en el termociclador bajo las siguientes condiciones: 4 min. 94°C, 12 x (30 seg 94 °C, 60 seg desde 65°C a 54°C (-1°C/ciclo), 30 seg 72°C), 25 x (30 seg 94°C, 60 seg 53°C, 30 seg 72°C), 10 min. 72°C, 5 min. 20°C.

Finalmente, las muestras de PCR fueron cargadas en geles de acrilamida para su análisis en el secuenciador. Las muestras amplificadas con un marcador micro satélite Brass029, con una concentración de partida de 0.25ng/µl, se diluyeron 1:10 con tampón de carga. Las muestras amplificadas con el marcador O/12F02, con una concentración de 1.0ng/µl, se diluyeron 1:30. 0.6µl de las muestras de PCR diluidas se cargaron en geles de acrilamida (6.5%, 25cm de longitud). Los geles corrieron 1h 30min a 1.200V para el análisis de los microsatélites en el secuenciador Licor.

RESULTADOS

Eficiencia del lavado de las puntas

Con el fin de excluir cualquier posibilidad de contaminación cruzada, se testó la eficiencia del lavado de las puntas. Se colocaron dos filas con muestras de DNA seguidas de otras 2 con agua destilada como control negativo. Este patrón se siguió en todos los pocillos de la placa de DNA. La transferencia de las muestras a las placas de PCR se hizo con los dos juegos de puntas de bajo volumen, que se lavaron cada paso de pipeteo. Por lo tanto, todas las filas fueron pipeteadas con las mismas puntas. No se detectó ninguna contaminación cruzada en el análisis electroforético después de la PCR con el marcador microsatélite O/12F02 en los controles negativos (Figura 2). Se obtuvieron resultados similares con concentraciones de DNA hasta 10ng/µl.

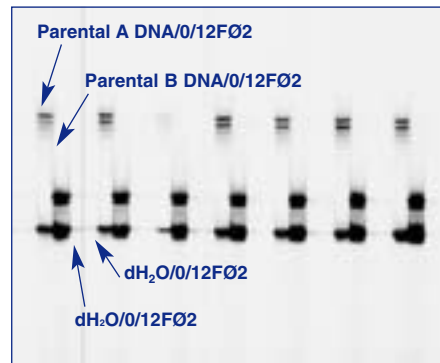


Figura 2.- No se detectó ninguna contaminación cruzada por análisis electroforético después de la PCR para el marcador microsatélite O/12F02. La eficiencia del proceso de lavado para las agujas de acero entre el pipeteo de muestras de DNA y el de agua destilada como control negativo durante la preparación de la placa de PCR, es lo suficientemente bueno como para prevenir cualquier contaminación cruzada.

Resultados genotipado

La PCR set-up automatizada se usó para investigar la progenie en cruzamientos de semilla de colza. El marcador microsatélite Brass029 se empleó para distinguir entre los dos homocigotos parentales A y B, ya que los tamaños de los fragmentos amplificados son diferentes. La mayoría de las plantas hijas contienen ambos fragmentos del marcador, lo que indica el éxito del cruzamiento (Figura 3).

Capacidad

El sistema permite el procesamiento de hasta 24 placas de PCR de 96 pocillos sin ninguna inter-

vención del usuario, en parte debido a que las botellas con los líquidos para la estación de lavado de las puntas son automáticamente rellenas por la “estación de autollenado”.

DISCURSIÓN

El sistema presentado permite la preparación de un gran número de muestras de PCR para el genotipado sin ninguna intervención por parte del usuario. La gran eficiencia de la estación de lavado proporciona una preparación de las muestras libre de contaminación cruzada y reduce al mínimo los costes al no usar puntas desechables.

Características y beneficios

- Buena reproducibilidad para bajos volúmenes de pipeteo (2 y 3µl) comparado con el pipeteo manual.
- Sistema eficiente para aplicaciones altamente repetitivas.
- Eliminación de errores de pipeteo.

Agradecimientos

Queremos agradecer a Mr. Cyril Falentin del UMR 118, INRA-Agrocampus Rennes, Amélioration des plantes et Biotechnologies Végétales, por la realización y cesión de todos los resultados experimentales.

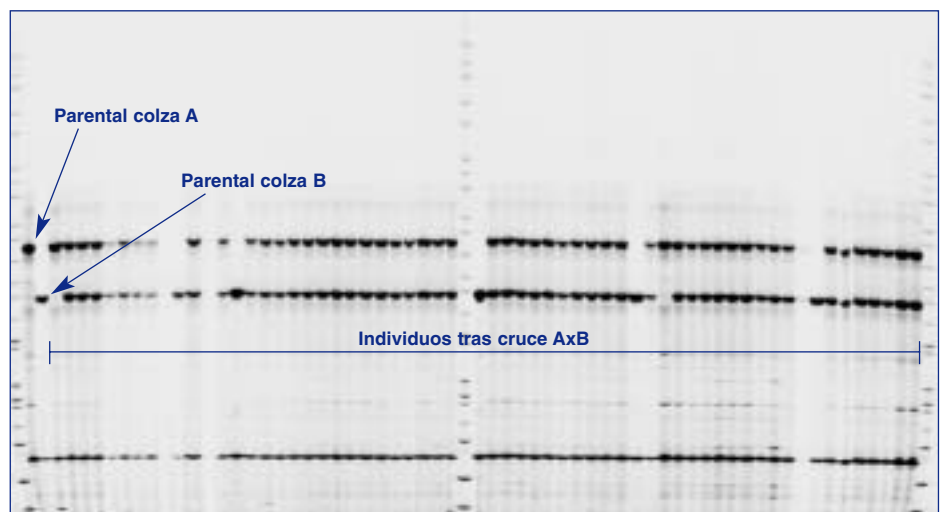
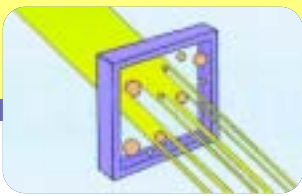


Figura 3.- El análisis de la progenie en cruzamientos de semilla de colza se investigó usando el marcador microsatélite Brass029. La mayoría de las plantas hijas contienen ambos fragmentos del marcador, lo que indica el éxito del cruzamiento.



Análisis de distribución de tamaño de partículas en pigmentos por difracción láser

Los pigmentos son una clase importante de materiales industriales, presentes en multitud de productos, como pinturas, cosméticos o tintas. La técnica de difracción láser multi-frecuencia se puede emplear con éxito en el análisis de la distribución de tamaño de partículas en estos materiales.

Las propiedades de un sistema pigmentado, como una pintura, vienen determinadas en gran parte por la distribución de tamaño de partículas del pigmento, que determina el poder de recubrimiento o la profundidad del color. También es un parámetro importante en pigmentos usados en tintas, ya que el tamaño de partícula debe ser menor que el diámetro de la boquilla que dispensa la tinta.

La capacidad de un determinado pigmento para absorber luz aumenta al disminuir el tamaño de partícula y por lo tanto aumentar el área superficial, hasta que llega un punto en que se vuelve translúcido a la luz incidente. Solamente este hecho, hace que la medida del tamaño de partícula del pigmento sea crítica en multitud de productos pigmentados.

El LS 13 320 de Beckman Coulter (Figura 1) emplea la técnica de difracción láser para la determinación de la distribución de tamaño de partículas. Además incorpora una tecnología complementaria de dispersión de luz denominada PIDS (Polarization Intensity Differential Scattering) para el rango submicrométrico.

Análisis de pigmentos por difracción láser

Se han empleado muchas técnicas para el análisis de distribución de tamaño de pigmentos, pero la técnica de difracción láser es actualmente la más empleada, dada su facilidad de uso y la versatilidad en cuanto a la presentación de muestra para el análisis.

En esencia, la muestra dispersada en un medio adecuado es iluminada por un haz de luz láser de una determinada longitud de onda. Las partículas dispersan la luz con un patrón de difracción frente al ángulo que depende de su tamaño (Figura 2). El patrón de difracción se mide mediante detectores de luz situados a diferentes ángulos, y a partir de él se infiere una distribución de tamaños de partícula en la muestra.

La facilidad de uso junto con unos tiempos de análisis cortos, típicamente menos de un minuto, han hecho que la difracción láser sea una técnica popular. Sin embargo, hay un inconveniente: la mayoría de pigmentos poseen tamaños de partícula por debajo de 1 micra, región en la cual los instrumentos de difracción láser estándar fallan a la hora de proporcionar datos con suficiente exactitud.

Para comprender esto es necesario profundizar algo más en la técnica de difracción láser. La dispersión de luz por una partícula "grande" en relación a la longitud de onda de la luz incidente, se produce mayoritariamente en la dirección frontal (Figura 3), con máximos y mínimos de difracción perfectamente detectables. Esto hace que la determinación de su tamaño sea relativamente sencilla. Sin embargo, cuando la partícula tiene un tamaño semejante o inferior a la longitud de onda de la luz incidente, la dispersión es más débil y se produce en todas direcciones, sin que aparezcan mínimos de difracción fácilmente detectables incluso a ángulos muy altos. Por lo tanto la determinación de tamaño de partículas submicrométricas presenta ciertos problemas.

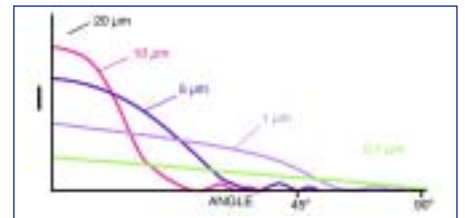


Figura 2. Patrón de difracción para diferentes tamaños de partícula. La gráfica representa la intensidad de luz difractada en función del ángulo.



Figura 1. LS 13 320 de Beckman Coulter, equipado con módulo acuoso ALM y estación de preparación de muestras / automuestreador AutoPrep.

Diferentes fabricantes han adoptado distintos sistemas para la medida de partículas submicrométricas con diferentes grados de éxito. Algunos han optado por la medida de "backscatter", esto es, la luz dispersada a ángulos altos con unos pocos detectores adicionales. La mejora de estos sistemas en el rango submicrométrico es escasa, ya que no solucionan el problema básico que consiste en que la dispersión de luz es muy parecida para todos los ángulos alrededor de la partícula, y por lo tanto es muy difícil diferenciar partículas de diferentes tamaños, ya que dispersan la luz de forma muy similar.

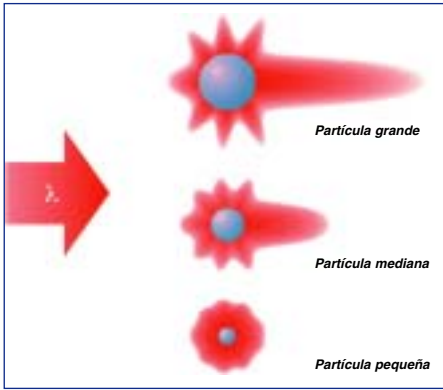


Figura 3. Las partículas grandes difractan luz mayoritariamente en la dirección frontal. Las partículas más pequeñas dispersan luz de forma más uniforme alrededor de la partícula, haciendo muy difícil la detección de máximos y mínimos de difracción.

PIDS

Para hacer frente a este problema, Beckman Coulter incorpora en sus bandadas LS 13 320 MW y LS230 el sistema PIDS (Figura 4), que proporciona una exactitud y resolución en el rango submicrométrico muy superior a cualquier otro sistema existente. El sistema PIDS se basa en la medida de la dispersión de luz polarizada vertical y horizontalmente a 3 longitudes de onda diferentes, 450 nm, 600 nm y 900 nm, con detección a 6 ángulos. La información importante procede de la diferencia de dispersión de luz polarizada verticalmente y horizontalmente, no del valor absoluto. A diferencia de la dispersión láser estándar, la señal obtenida por el sistema PIDS es muy distinta para diferentes tamaños de partícula en el rango submicrométrico.

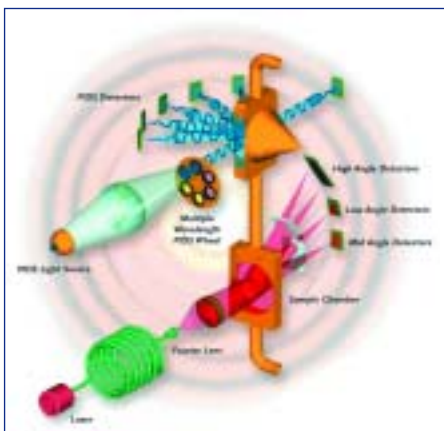


Figura 4. Esquema óptico del LS 13 320 multi – longitud de onda. Puede observarse la celda de difracción láser y el sistema complementario PIDS.

La información obtenida por el sistema PIDS responde a la misma teoría

de Mie en la que se basa la dispersión láser. Todos los datos de intensidad de luz dispersada frente al ángulo obtenidos tanto por el láser principal como por el sistema PIDS se incorporan juntos al algoritmo de cálculo, que proporciona una distribución de tamaño continua entre 0,04 y 2.000 μm . El sistema PIDS ha demostrado ser extremadamente exacto en la determinación de tamaño de partículas sub-micrométricas.

Modelo óptico

Los pigmentos presentan un problema, no encontrado en otros tipos de materiales, derivado de su color. Para poder calcular la distribución de tamaño de forma precisa es necesario conocer el índice de refracción del material, tanto su parte real como su parte imaginaria. Esto es más importante cuanto menor sea el tamaño de las partículas analizadas, ya que el tratamiento matemático necesario exige el empleo de la teoría de Mie. Mientras que la parte real del índice de refracción es bien comprendida por la mayoría de analistas, la parte imaginaria no lo es tanto. En realidad, consiste en el grado de absorberancia que presenta la muestra a una determinada longitud de onda. En materiales pigmentados, la parte imaginaria es diferente para cada longitud de onda empleada en el análisis. El valor correcto de esta parte imaginaria es muy fácil de calcular empleando un espectrofotómetro UV/VIS para cada una de las longitudes de onda empleadas.

Durante el análisis de pigmentos es útil emplear fuentes de información complementarias, tales como imágenes de microscopio óptico o electrónico, que pueden confirmar la información obtenida por el equipo de difracción láser, por ejemplo la detección de una población de mayor tamaño, como puede verse en la figura 5. En este ensayo, se ha realizado un seguimiento del proceso de molienda de un pigmento naranja durante un período de tiempo de 2 horas. El pigmento presenta una absorbancia máxima a 450 nm, según los resultados del espectro UV/VIS, lo cual se ha tenido en cuenta a la hora de diseñar el modelo óptico. La gráfica muestra como la población de partículas de mayor tamaño va disminuyendo con el tiempo de molienda, a la vez que el tamaño de partícula medio se va haciendo más pequeño.

La figura 6 muestra el resultado del análisis de la misma muestra emplean-

do un modelo óptico que contiene la parte imaginaria correspondiente a un pigmento azul, por lo tanto incorrecta para un pigmento de color naranja.

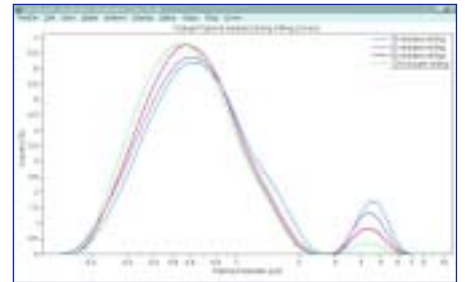


Figura 5. Seguimiento del proceso de molienda de un pigmento de color naranja.

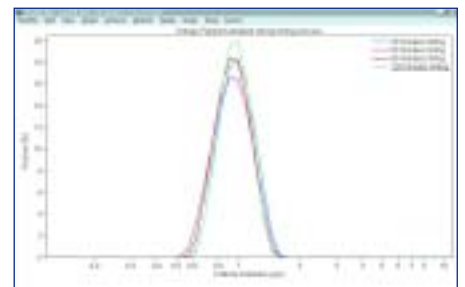


Figura 6. Misma muestra de la figura 4 analizada empleando un modelo óptico incorrecto.

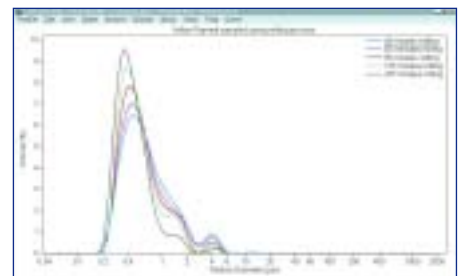
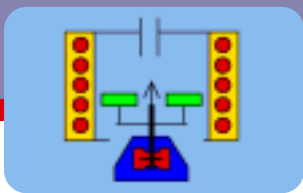


Figura 7. Seguimiento del proceso de molienda de un pigmento de color amarillo.

Queda en evidencia lo incorrecto del análisis, al estrecharse significativamente la población principal, además de no detectarse la población de partículas de mayor tamaño.

La figura 7 muestra el resultado del análisis de otro pigmento de color amarillo, empleando un modelo óptico con la parte imaginaria calculada a partir del espectro UV/VIS. En este caso se estudia el proceso de molienda durante un período de 4 horas. La gráfica muestra de manera clara la disminución con el tiempo de la población de partículas mayores así como la disminución del tamaño medio de la población principal. El resultado obtenido se corroboró empleando un microscopio.



Análisis Dinámico Mecánico (DMA)

El análisis dinámico mecánico (DMA) se ha convertido en una herramienta esencial para el estudio de propiedades mecánicas y térmicas en multitud de materiales. El Tritec 2000 de Triton Technology es el analizador DMA más versátil disponible actualmente.

El análisis dinámico mecánico es una técnica ampliamente utilizada para la caracterización de propiedades específicas de los materiales, tales como el módulo elástico y el factor de amortiguamiento. Los picos observados en el factor de amortiguamiento ($\tan \delta$) proporcionan información sobre los mecanismos de pérdida macroscópicos y microscópicos, como fallo interfacial o movimiento molecular interno respectivamente.

El análisis dinámico mecánico implica la aplicación de una carga periódica a una muestra y la medida de la deformación resultante. A partir de los datos obtenidos es posible calcular la rigidez dinámica compleja, que contiene dos parámetros, el componente en fase, o

rigidez real (S') y el componente fuera de fase, o rigidez imaginaria (S''). La relación entre ambos valores es el factor de amortiguamiento (damping factor) o $\tan \delta$. Las muestras elásticas, como los metales, exhiben valores bajos de $\tan \delta$, mientras que líquidos viscosos poseen un ángulo de fase δ cercano a 90° .

La mayoría de materiales poliméricos son viscoelásticos, presentando valores típicos de $\tan \delta < 0.01$ en la fase cristalina. Una vez sobrepasada la transición vítrea (T_g) o una relajación sub- T_g , el valor de $\tan \delta$ aumenta espectacularmente. La energía de activación del proceso se puede calcular a partir del cambio en los picos $\tan \delta$ en función de la frecuencia.

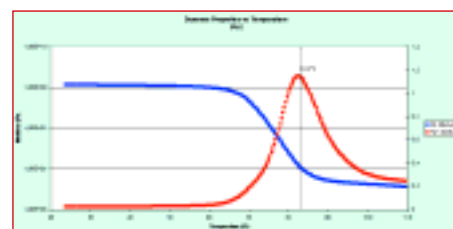


La geometría de medida permite configuraciones en modo flexión simple y doble (con hasta 18 longitudes libres diferentes), cizalla, flexión en tres puntos, tensión y compresión.

Un experimento DMA típico consiste en aplicar una o múltiples frecuencias a la muestra sometida a una rampa de temperatura. También es posible obtener datos cinéticos a partir de experimentos isoterms, lo cual es útil en estudios de curado y para verificar el equilibrio en muestras sometidas a diferentes condiciones de humedad.



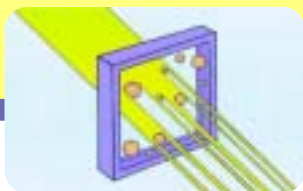
Analizador dinámico mecánico Tritec 2000 DMA de Triton Technology, con cabezal de medida orientable a cualquier ángulo.



Análisis de una lámina de PVC en modo flexión simple a 1 Hz con rampa de temperatura de $2^\circ\text{C}/\text{min}$ hasta 135°C .

El ambiente tiene un efecto significativo en las propiedades mecánicas de materiales higroscópicos. Con el controlador de humedad es posible realizar ensayos DMA a diferentes valores de humedad relativa de forma rutinaria.

Mediante la incorporación del baño de fluidos es posible estudiar el comportamiento de la muestra sumergida en un líquido o en presencia de un gas.



Medida de potencial Zeta en muestras difíciles

El ZetaPALS de Brookhaven Instruments Corporation es un analizador de potencial Z capaz de medir movilidades extremadamente bajas en muestras complicadas, por ejemplo en disolventes orgánicos, proporcionando una sensibilidad 1000 veces mayor que otras técnicas.

El ZetaPALS de Brookhaven Instruments (Figura 1) es un analizador de potencial Z que emplea la técnica **PALS** (**Phase Análisis Light Scattering**). La técnica es hasta 1.000 veces más sensible que los métodos tradicionales basados en la medida del desplazamiento de frecuencia de la luz dispersada.



Figura 1. Analizador ZetaPALS de Brookhaven Instruments Corporation.

La repulsión electrostática de las partículas coloidales es a menudo la clave para comprender la estabilidad de cualquier dispersión. La medida de la movilidad electroforética, incluso en disolventes no polares, proporciona una valiosa información. Las medidas en agua u otros disolventes polares son sencillas y pueden realizarse de forma rápida con analizadores como el ZetaPlus de Brookhaven. Estas medidas normalmente cubren el rango $\pm 6 - 100$ mV, correspondiente a movilidades de $\pm 0,5 - 8 \times 10^{-8}$ m²/Vs. El ZetaPALS, además de cubrir este rango, lo extiende por un factor de 1.000 en sensibilidad, hasta 10^{-11} m²/Vs.

Esta sensibilidad es necesaria cuando se mide en líquidos de baja

constante dieléctrica, en aceites de alta viscosidad o en presencia de altas concentraciones salinas, así como para medidas cerca del punto isoeléctrico. En la Tabla 1 pueden verse algunos ejemplos de medidas realizadas en el ZetaPALS.

A diferencia de la técnica tradicional, denominada velocimetría doppler de láser, la técnica PALS no requiere la aplicación de campos eléctricos altos, que pueden producir problemas de calentamiento. En la medida PALS por análisis de fase de luz dispersada, solo se requiere que las partículas se muevan una fracción de su propio diámetro para proporcionar buenos resultados. Por ejemplo, a una concentración salina 3 molar y con un campo eléctrico tan bajo como 1 ó 2 V/cm, se induce un movimiento suficiente como para conseguir excelentes resultados.

La Figura 2 muestra la pantalla con los resultados de un experimento, así como los parámetros importantes de la medida. La gráfica muestra el análisis de fase de las cinco repeticiones realizadas, así como la curva paramétrica, con excelente acuerdo entre todas ellas.

La medida en disolventes agresivos, tales como di-metil formami-

da, tetrahidrofurano o metil etil cetona es fácil empleando electrodos especiales resistentes a disolventes y celdas de vidrio. Asimismo es posible usar celdas desechables, eliminando cualquier posibilidad de contaminación cruzada.



Figura 2. Resultados de un experimento en pantalla.

El ZetaPALS es un instrumento extraordinariamente flexible que permite la medida de potencial Z tanto por la técnica de análisis de fase de luz dispersada (PALS), con una excelente sensibilidad, como por la técnica clásica de velocimetría doppler de láser, capaz de detectar distribuciones multimodales de potencial Z. Además, es posible opcionalmente medir la distribución de tamaño de partícula en el rango nanométrico por dispersión de luz dinámica (**DLS** - **Dinamic Light Scattering**).

Muestra	Resultado PALS	Valor literatura	Comentarios
NIST 1980	2.51 ± 0.11	2.53 ± 0.12	Patrón de movilidad electroforética
Células sanguíneas	-1.081 ± 0.015	-1.08 ± 0.02	Dispersión en suero fisiológico
Fe ₂ O ₃	0.013 ± 0.0015	No disponible	Dispersión en dodecano
TiO ₂	0.255 ± 0.010	No disponible	Dispersión en tolueno – no seco
TiO ₂	0.155 ± 0.011	No disponible	Dispersión en tolueno – seco
TiO ₂	-0.503 ± 0.0015	No disponible	Dispersión en etanol
Caseína	-0.025 ± 0.002	No disponible	Dispersión en PEG – viscoso
SiO ₂	-0.73 ± 0.04	No disponible	Dispersión en KCl 2.0M – alta conc. salina

Tabla 1. Movilidades electroforéticas determinadas con el ZetaPALS (unidades 10^8 m²/Vs)



Microscopio Confocal Espectral NIKON mod. C1si

El sistema de Imagen Confocal Espectral Nikon C1si captura datos espectrales absolutos en un solo barrido, para minimizar significativamente la fototoxicidad celular y el apagamiento de la señal fluorescente.

Con el lanzamiento del nuevo sistema de Microscopía Confocal Espectral Nikon Digital Eclipse C1si, se mejora dramáticamente la calidad de imágenes obtenidas mediante múltiples sondas fluorescentes dentro de una misma muestra, especialmente en el terreno de la biología de células vivas. Esto es debido a que la nueva tecnología confocal de Nikon adquiere datos a alta resolución a lo largo de un rango espectral de 400 a 750 nm, en una única pasada.

El sistema C1si es el único que puede capturar de modo simultáneo datos de imagen sobre un amplio rango espectral de 320 nm con resolución de 10 nm, o sobre rangos menores con 5 ó 2,5 nm de resolución, en menos de 1 segundo en formato 512 X 256 píxeles. Esta capacidad es debida al empleo de un sistema detector de 32 canales fotomultiplicadores PMT, e independiente del tamaño del pinhole

confocal. Adicionalmente, el microscopio Digital Eclipse C1si emplea un mecanismo único para evitar el cegado de canales detectores coincidentes con la longitud de onda de excitación utilizada. La emisión de las sondas de la muestra puede ser fácilmente conmutada entre campo claro, contraste interferencial DIC, detección de fluorescencia confocal estándar en tres canales, y detección espectral de alta resolución, haciendo que un único instrumento permita su utilización en el más amplio rango posible de aplicaciones de microscopía.

- **Adquisición más rápida:**

Escanea 32 canales simultáneamente en menos de un segundo.

- **Imágenes más luminosas:**

La sensibilidad incrementada mediante un nuevo sistema de alta eficiencia óptica y el procesamiento de señal a alta velocidad permi-

ten atrapar perfectamente los fotones de la señal fluorescente.

- **Imágenes más precisas:**

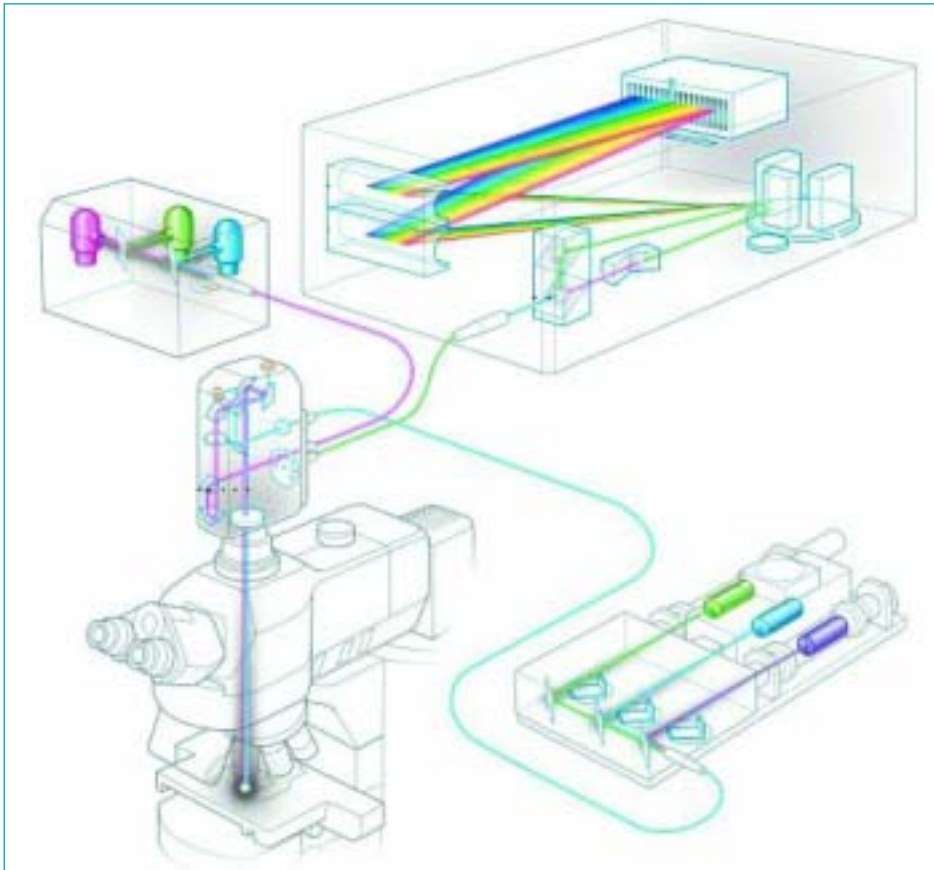
Repetitibilidad de longitud de onda mejor que 1 nm, mediante calibraciones múltiples.

- **Sistema más flexible:**

Amplia selección de láseres, desde 405 nm a 633 nm. Amplio rango espectral desde 400 nm hasta 750 nm. Elección de tres resoluciones espectrales diferentes.

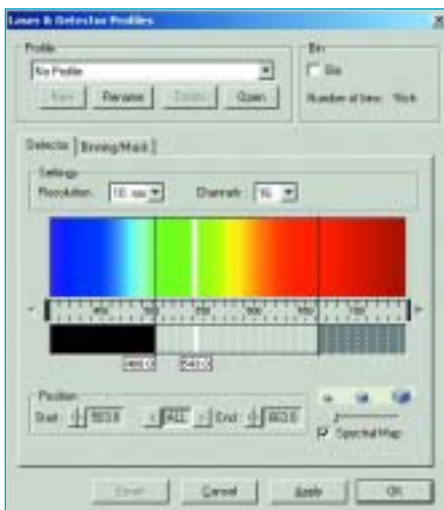
La extremada facilidad de empleo del software confocal EZ-C1 ha sido extendida para gestionar además el sistema de imagen espectral C1si. Han sido requeridas importantes mejoras, dado que se extrae mucha más información de cada píxel, debido fundamentalmente al sistema patentado de compensación de polarización (DEES), que reduce la pérdida de fotones de la señal de emisión. Se utiliza adicionalmente tecnología DISP de



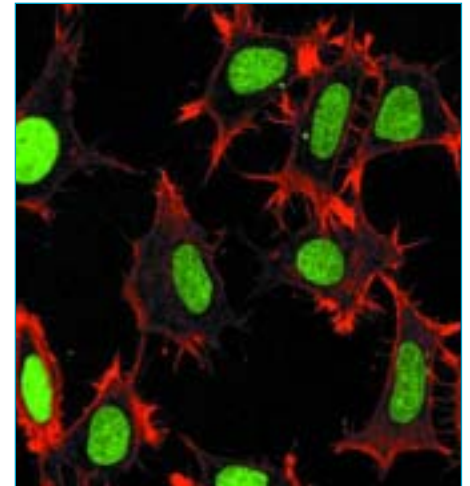
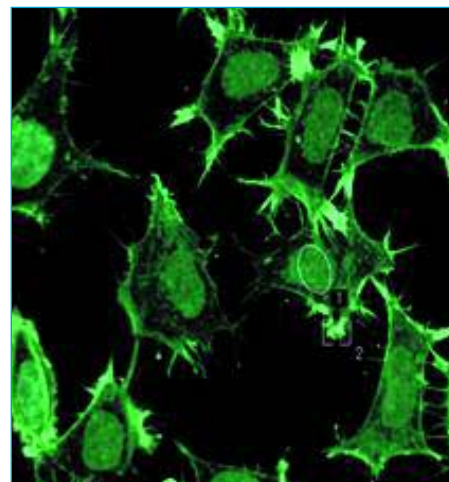


nuevo desarrollo (procesamiento de señal por doble integración) en el circuito de procesamiento de señal analógica, para obtener imágenes espectrales más luminosas. Finalmente, el software EZ-C1 es capaz de manejar toda esta fuente masiva de datos de un modo organizado y rápido.

incluida en el software EZ-C1 permite al investigador separar curvas espectrales solapadas de los fluorocromos de la muestra, a una resolución no alcanzada hasta ahora, incluso con el empleo de las máximas calidades en filtros y espejos dicróicos modernos. Un ejemplo característico consiste en discriminar en la imagen los marcajes de Alexa 488 (Emisión máxima 513 nm) frente a los de GFP (519 nm). El

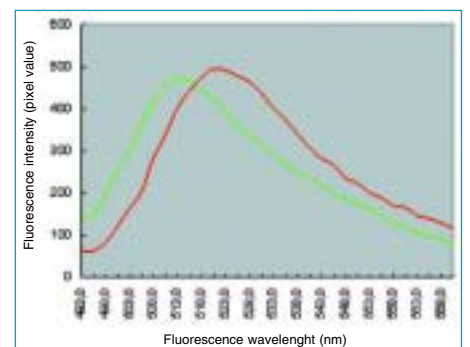


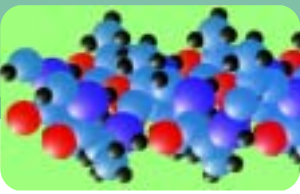
La aplicación de discriminación de espectros ("spectral unmixing")



sistema Nikon Digital Eclipse C1si es altamente sensible y rápido, ofreciendo "barridos espectrales" (512 X 512 píxeles) usando un rango de 350 nm **en menos de dos segundos**.

- Presentación en color real (no tan sólo en falso color)
- Separación de fluorocromos mediante 3 clicks de ratón.
- Presentación de datos 5D (lambda-x-y-z-tiempo)
- Generación de espectros a partir de ROI sobre la imagen.
- Segmentación de objetos por color espectral (hasta 16 segmentos)
- Configuración avanzada del detector espectral mediante menú visual intuitivo.



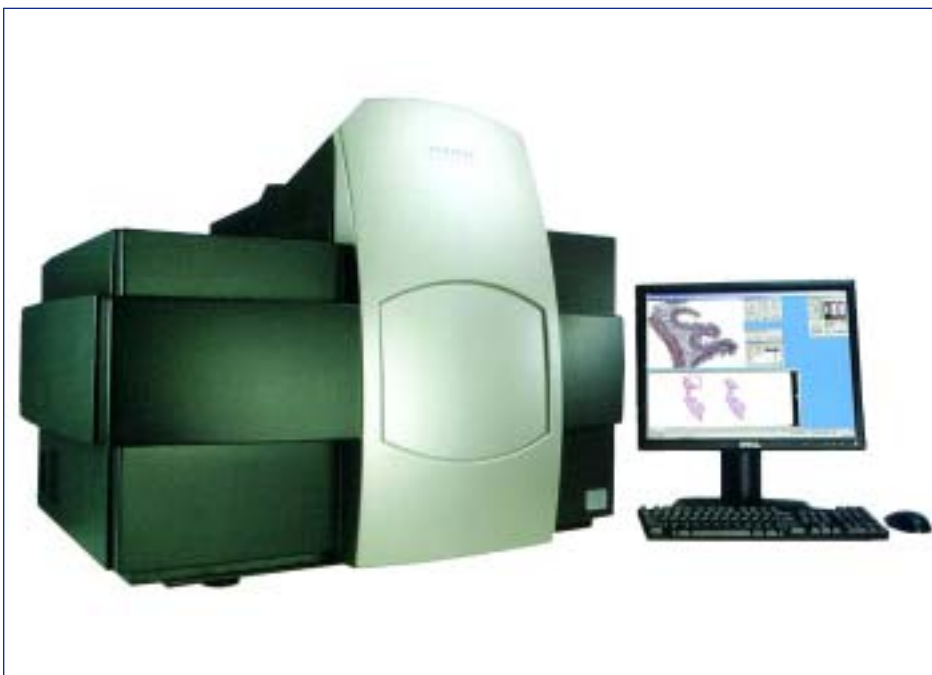


Sistema Veritas de microdissección láser: Flexibilidad y rapidez en Microdissección

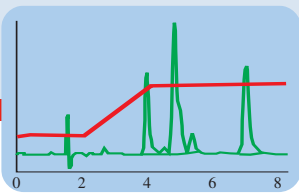
La microdissección es una técnica utilizada por miles de investigadores de todo el mundo. El equipo de microdissección Veritas de la firma Arcturus permite una gran flexibilidad en la elección del método de microdissección, todo ello en un único equipo: captura por láser de IR, corte por láser UV o ablación mediante láser UV.

Características del equipo Veritas:

- Anchura de corte inferior a 1 micra.
- Velocidad de corte hasta 20 veces más rápida que otros sistemas alternativos.
- Corte por láser muy preciso lo que minimiza la exposición del tejido adyacente.
- Platina motorizada X-Y de alta precisión y alta velocidad con capacidad para tres portas.
- Revólver motorizado con objetivos Nikon 2x, 10x, 20x y 40x. Opcionalmente puede adquirirse un objetivo 60x.



- Opcionalmente puede adquirirse con un sistema de epi-fluorescencia incorporado (con 3 bloques de filtros).
- Permite ver al mismo tiempo una presentación panorámica de la muestra y la zona de interés, todo ello a tiempo real.
- Herramientas de manejo del equipo de fácil uso, incluyendo autofocus de las muestras.
- Permite la captura en todo tipo de muestras.



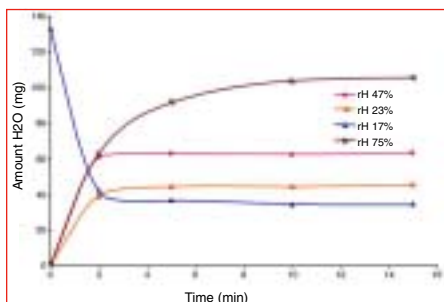
Novedades en cromatografía en capa fina: nueva cámara de desarrollo automática ADC2

Camag introduce la nueva cámara de desarrollo totalmente automática ADC2, capaz de producir separaciones cromatográficas en capa fina reproducibles día tras día, independientemente de factores cambiantes tales como las condiciones ambientales o la diferente habilidad de cada operador.

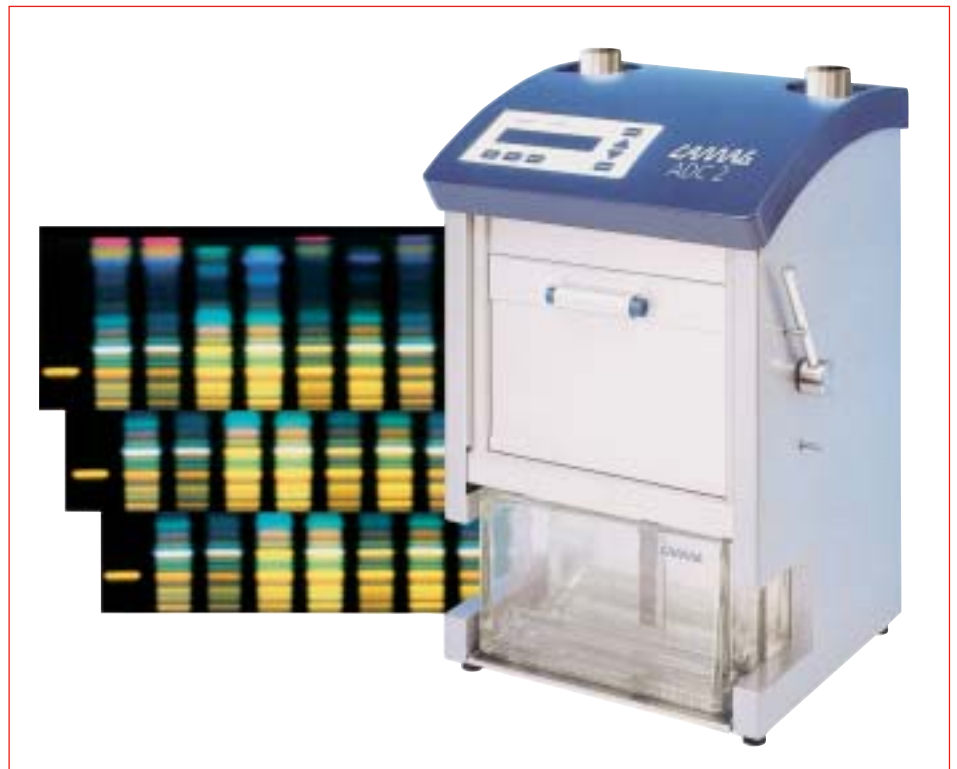
La nueva ADC2 es de aplicación universal y proporciona resultados con una reproducibilidad inmejorable. Está diseñada para automatizar todas las operaciones manuales necesarias para el desarrollo de cromatogramas en capa fina. Uno de los puntos fuertes de la ADC2 reside en el hecho de que emplea la cubeta de vidrio estándar Camag de 20 x 10 cm con fondo doble, y por lo tanto, los protocolos basados en el empleo de esta cubeta se pueden usar en la ADC2 sin ningún cambio.

La automatización del proceso completo de desarrollo en la ADC2 incluye los siguientes pasos:

- 1.- Es posible ajustar la actividad de la placa previamente a la cromatografía mediante la opción de control de humedad.
- 2.- Se controla la saturación de la cámara.
- 3.- La placa se introduce entonces en la cubeta sin hacer contacto con el disolvente de desarrollo, por lo que se realiza un precondicionamiento de la placa con la fase vapor del disolvente en un tiempo controlado.
- 4.- Comienza la cromatografía bajando la placa hasta que entra en contacto con el disolvente.



El control de humedad opcional permite alcanzar la humedad relativa deseada en minutos.



Nueva cámara de desarrollo automática ADC2 de Camag

- 5.- Durante la cromatografía se monitoriza la posición del frente del disolvente.
- 6.- En el momento en el que el frente del disolvente alcanza la posición prefijada, es decir, la distancia de desarrollo especificada en el método, la placa se extrae del disolvente y se seca rápidamente bajo unas condiciones de flujo de aire óptimas.
- 7.- Cuando la ADC2 se opera desde el software winCATS, todos los parámetros del desarrollo quedan registrados de acuerdo a GMP/GLP, como parte del análisis.

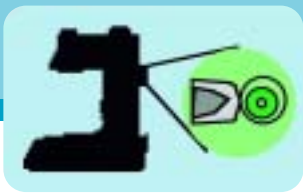
La ADC2, por lo tanto, elimina factores ambientales y humanos que afectan al desarrollo del cromatograma en la placa, consi-

guiendo resultados reproducibles.

Control de humedad

La separación cromatográfica en gel de sílice se puede ver afectada por la actividad de la fase estacionaria, que a su vez depende de la humedad relativa que exista en el laboratorio. La humedad relativa del aire varía mucho de un lugar a otro, o en diferentes épocas del año, causando diferencias en el resultado de la cromatografía.

Con la opción de control de humedad, la actividad de la fase estacionaria se ajusta mediante aire con humedad relativa definida, lo que permite estandarizar el desarrollo de la placa a una humedad relativa fija, o seleccionar una humedad relativa específica.



Microscopía electrónica de barrido en muestras húmedas

Ya es posible la observación de muestras en su estado natural de hidratación, mediante el nuevo sistema de encapsulado, patentado por QUANTOMIX.

Este sistema nos permite aislar la muestra contenida en un medio líquido, del sistema de vacío del microscopio, obteniendo la información a través de una membrana capaz de soportar 1 atm. y ser transparente a los electrones.



Este diseño permite obtener imágenes de las muestras utilizando cualquier microscopio del mercado dotado de detector de electrones retrodispersados.

La cápsula combina la función de portamuestras, celda de cultivo o porta tejidos con una ventana transparente a los electrones.



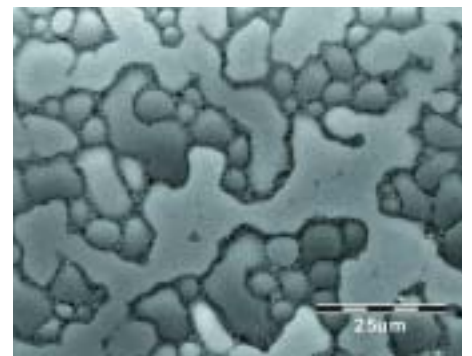
La muestra permanece en agua o cualquier otro líquido y a presión atmosférica.

Ventajas:

- Observación directa de muestras húmedas (alimentos, cosméticos, tintas, células, tejidos).
- Determinación de la composición química mediante EDS.
- Amplio espectro de posibilidades para marcadores y teñidos.
- Posibilidad de observación de muestras sin teñir o fijar.
- Alta resolución en Histopatología.
- Excelente preservación y obtención de imágenes de lípidos.

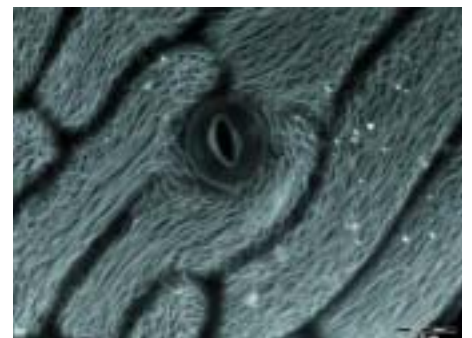
El encapsulado se puede utilizar en modo alto y bajo vacío. No se deseca la muestra durante la observación o el almacenaje.

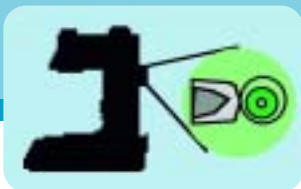
La interferencia de la membrana con el haz principal y con los electrones emitidos por la muestra, es mínima. La membrana produce un ruido de fondo en la emisión de rayos-x que es fácilmente sustraible.



IZASA, acaba de firmar un acuerdo de distribución en exclusiva con QUANTOMIX, para la promoción y venta de esta tecnología en España.

De esta forma la observación de células, tejidos, alimentos, etc. se produce en su ambiente original, a la temperatura ambiente y a la presión atmosférica, sin ningún coste adicional de preparación, con el ahorro añadido en tiempo y recursos.





Tecnología de Plasma, de Gala Instruments, para preparación y limpieza de superficies

La técnica de plasma de bajo vacío esta muy extendida en la industria y permite que las superficies de las muestra tratadas sean desengrasadas, limpiadas, activadas, decapadas o recubiertas.



Los efectos que produce el plasma son:

- Decapado de la superficie, erosionada por el bombardeo de iones.
- Reacción química de los iones del plasma con la superficie.
- La radiación ultravioleta rompe las moléculas de los compuestos de carbono.

APLICACIONES:

Limpieza de superficies.

El bombardeo iónico transforma las impurezas en su fase gaseosa (efecto físico y químico en función del gas utilizado) y son expulsadas por el sistema de vacío.

Activación de superficies de plástico.

La superficie tratado con plasma, por ejemplo oxígeno, crea lugares con radicales libres que aumentan la adhesión.

Decapado de superficies.

La superficie es decapada por el plasma. Parte del material es transformado en su fase gaseosa y lo elimina por el sistema de vacío. Aumenta el área de la superficie.

Aplicaciones a la microscopía electrónica.

La microscopía TEM de alta resolución implica que las muestra a observar estén libres de contaminación, que produce modificaciones y artefactos en las imágenes y análisis.

La firma Gala Instruments produce sistemas de plasma adecuados para la limpieza de cualquier portamuestras de microscopía electrónica.

PLASMA PREP™2

1. Cámara de reacción cilíndrica Ø 9,5 cm. x 27 cm. (2 litros)

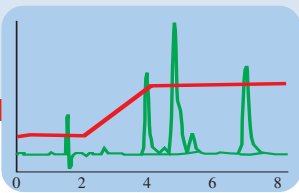


2. Construido en acero inoxidable con puerta en aluminio y vidrio.
3. Generador de 40 KHz.
4. Medidor de flujo de gas con válvula de aguja.
5. Control manual del proceso.
6. Potencia de 10 a 200 W.
7. Válvula electromagnética antiretorno de vapor de aceite.
8. Ajuste automático de la impedancia.
9. Sistemas de seguridad.

PLASMA PREP™5

1. Cámara de reacción de Ø 15 cm. x 31,5 cm. (5 litros).
2. Construido en acero inoxidable con puerta de aluminio y vidrio.
3. Generador de 40KHz.
4. Ciclo de proceso semiautomático con reloj digital.
5. Medidor Pirani.
6. Potencia de 10 a 200 W. (cámara de acero), max. 100 W. (cámara de vidrio).
7. Ajuste automático de la impedancia.
8. Válvula electromagnética antiretorno de vapor de aceite.
9. Reloj digital de control de proceso con parada automática.
10. Medidor de flujo de gas con válvula de aguja.

Un completo juego de accesorios permite a ambos sistemas cubrir todas las necesidades de preparación.



Nueva generación de HPLC de Shimadzu LC-20A PROMINENCE

El primer HPLC que puede controlarse desde el PC sin software



El nuevo sistema de HPLC LC-20 Prominence es atractivo no solo por sus especificaciones técnicas, también por la nueva filosofía sobre la que se ha basado su diseño.

Buenas noticias para los usuarios no expertos. El sistema ha simplificado su uso en muchos aspectos:

- El controlador del sistema ha pasado a la historia de manera que el nuevo LC-20 A Prominente dispone de un módulo de comunicaciones CBM (Communication Bus Module).
- El formador de gradientes cuaternario y el sistema de lavado de pistones de las bombas se disponen dentro de la propia bomba.
- La nueva bomba binaria de alta presión LC-20AB proporciona gradientes binarios, sustituyendo de este modo la necesidad de disponer de dos bombas, con la consiguiente reducción del volumen muerto del sistema.
- Las comunicaciones entre el HPLC y el PC o con el Detector de Array de Diodos (PDA) se realizan mediante protocolos estándares gracias a la posibilidad de

control mediante exploradores de Internet. (figura 1)

Mayor facilidad en las comunicaciones

Imagine arrancar su sistema de HPLC y crear secuencias de análisis, simplemente abriendo su Explorador

de Internet. En este aspecto la nueva generación de módulos de comunicación ha mejorado con la incorporación de funciones de servidor de Internet capaz de generar páginas HTML para el control del sistema a través de una red.

Una vez que se ha accedido al sistema, mediante clave personal, a través del explorador de Internet todas las funciones de control son accesibles. Los métodos y las secuencias de análisis se pueden crear y almacenar en formato XML. También es posible monitorizar la línea de base del detector con el fin de verificar el estado del HPLC. Nos muestra información del estado de los consumibles con el fin de verificar la necesidad de cambio de los mismos.

En laboratorios con sistemas de red (Internet o Intranet) es posible conectar el HPLC de SHIMADZU LC-20 A incluso con la presencia de otros software. La CBM-20 A proporciona control del sistema incluso sin la instalación de ningún software adi-

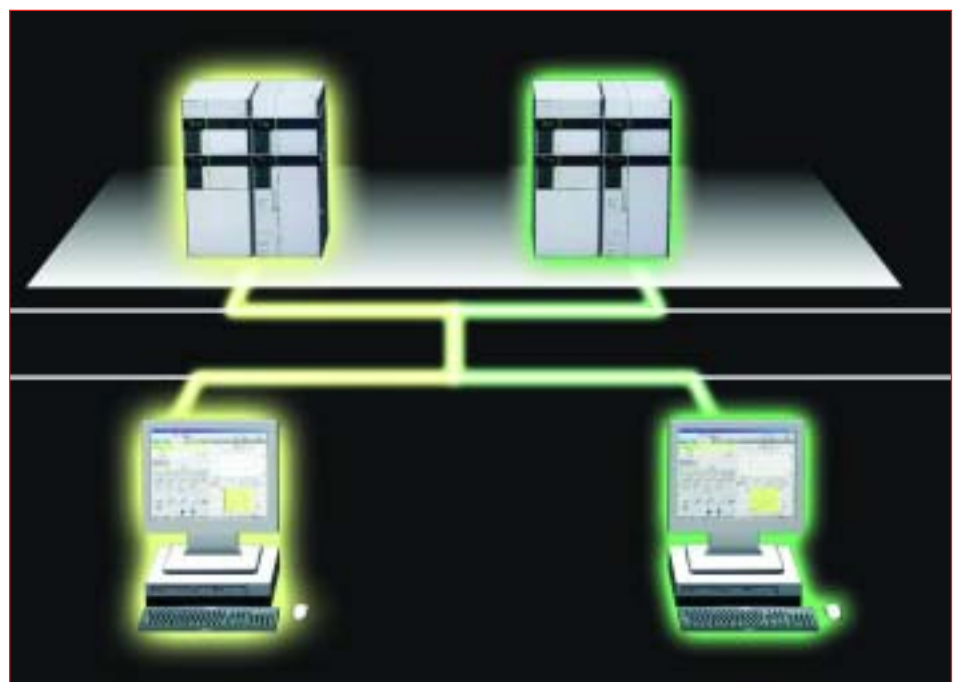


Figura 1.- Control por red de cualquier equipo de HPLC LC-20 desde cualquier ordenador conectado a la red.

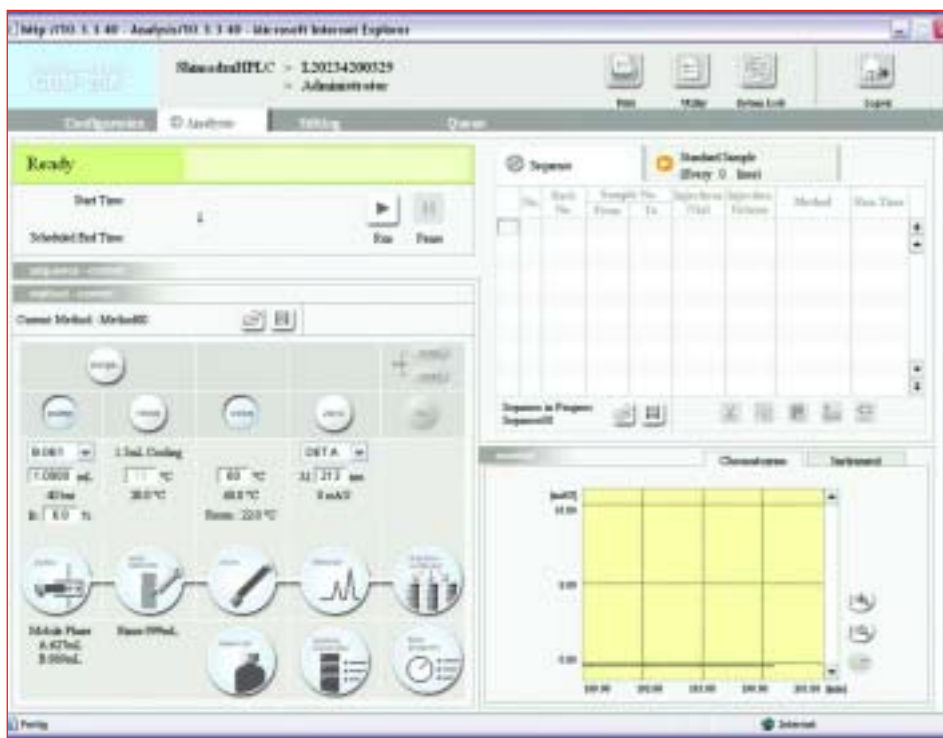


Figura 2.- Ventana de control del sistema desde Internet Explorer.

cional, de manera que la señal analógica de los detectores se puede adquirir en cualquier otro software (figura 2).

Los avances tecnológicos no se reducen a la nueva CBM-20 A, la cual dispone de una memoria interna capaz de almacenar los datos de forma segura en el caso de que se produzca un error en la red.



Figura 3.- Detalle del formador de gradientes cuaternarios, integrado en la bomba LC-20AT.

Avances tecnológicos en las bombas

Basadas en las bombas previas por su resistencia y larga vida operativa, la nueva generación ha dado lugar a tres modelos: bomba de pistones en paralelo, bomba de pistones en serie y bomba de pistones en paralelo binaria. El

rango de flujos se ha mejorado significativamente (0.0001 – 10 ml/min) y la colocación de una cámara de mezcla (bomba LC-20AB) que proporciona un volumen muerto mucho más reducido. Se puede incorporar a las bombas el gradiente cuaternario de concentraciones (figura 3) y el sistema de lavado de pistones. El nuevo sistema de desgasificación por vacío de pequeño volumen ayuda a la formación de gradientes con mayor precisión.

Avances tecnológicos en los detectores

Los detectores de la nueva serie LC-20 A son los detectores de UV y de array de diodos (PDA). En ambos casos se dispone de celdas de flujo termostalizadas con el fin de obtener una mejor relación señal/ruido y una deriva mucho menor (figura 4). En el caso del PDA se ha incorporado una rendija variable con el fin de obtener resultados con el máximo de resolución espectral y/o la mayor sensibilidad de detección. El PDA dispone de 4 salidas analógicas para una mayor capacidad de análisis.

Avances tecnológicos en los inyectores

Los nuevos inyectores SIL-20 A combinan la velocidad de inyección

más rápida del mercado (10 segundos para una inyección de 10microl) y el menor efecto memoria (carry-over). La incorporación del módulo Rack Changer proporciona la capacidad de gestionar e inyectar hasta 12 MTP. En paralelo con las placas de viales dispone un rack de 10 muestras para patrones, de manera que no es necesario intercalar los viales de control en el rack. Cuando se trabaje con muestras especialmente problemáticas por su capacidad de adherirse a las superficies del inyector, se puede incorporar una segunda bomba de lavado en el SIL-20 A.

Avances tecnológicos en los hornos de columnas

Los hornos de la serie LC-20 A pueden generar programas de temperatura con el fin de facilitar las separaciones cuando se utilice agua 100% como fase móvil (para obtener más información sobre el trabajo con fases móviles no agresivas con el medioambiente GREEN LC solicite información mediante la referencia del artículo). Se dispone de un módulo de control de columnas CMD. Dentro de los hornos es posible incorporar válvulas para el cambio de columnas o de líneas de flujo.

La nueva serie de HPLC LC-20 A Prominence es compatible con las series de HPLC previas de Shimadzu LC-10 A y LC-10AVP. Se mantienen las comunicaciones por fibra óptica con el fin de minimizar las interferencias en la señal producidas por campos magnéticos y otros factores.

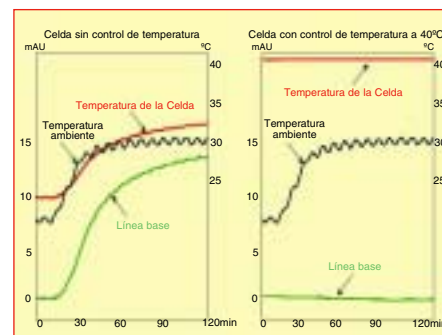
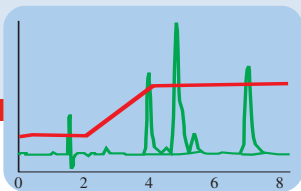


Figura 4.- Respuesta de la línea de base en los detectores ultravioleta-visible frente a los cambios de temperatura ambiente, sin termostatación de la celda y con termostatación de la celda en la serie LC-20 de SHIMADZU.



THAR: Cromatografía supercrítica (SFC)

**La solución en separaciones a nivel preparativo.
Eficacia, bajo coste de producción, fácil de usar...**

En laboratorios con necesidad de separaciones quirales actualmente se trabaja con sistemas de HPLC preparativos o semipreparativos. Los niveles de separación con estos equipos son aceptables pero los inconvenientes aparecen al observar los costes de estos sistemas. Los consumos de disolventes y adicionalmente los costes en tiempo y mano de obra, requeridos para la evaporación de los disolventes de las fracciones recogidas.

Como alternativa existe la C R O M A T O G R A F Í A SUPERCRÍTICA cuya forma de trabajo es la misma que si se tratara de HPLC convencional, pero con las ventajas de trabajar con una fase móvil barata, no tóxica y que no necesita ningún proceso expreso de evaporación de las fracciones recogidas.

El eluyente principal es CO_2 el cual permite trabajar en unas condiciones mucho más favorables que los disolventes habituales de HPLC (hexano, heptano,...). Este eluyente reduce drásticamente el costo en



Sistema preparativo Superpure200

el consumo de disolvente frente a cantidad de analito recuperado. El proceso de evaporación de disolvente, que en HPLC supone inversión de tiempo, instrumentación y espacio, en SFC (Supercritical Fluid Chromatography) implica la ausencia parcial o total de todos estos procesos, con el consiguiente ahorro económico.

Como beneficio añadido se encuentra el aumento dramático de la productividad, debido a la reducción de tiempo de los ciclos de análisis por el aumento de los flujos de trabajo gracias a la baja viscosidad del CO_2 . En otras palabras, el flujo de CO_2 se puede aumentar entre 3 y 5 veces para una misma columna si lo comparamos a un sistema convencional de

Mientras un enantiomero puede ser muy beneficioso, el enantiomero opuesto óptimamente puede ser absolutamente nocivo y debe retirarse con absoluta certeza de la fracción recuperada.

La cromatografía supercrítica (SFC) proporciona una herramienta directa y muy eficaz de separación de tales enantiomeros, más eficaz que cromatografía HPLC convencional. Las ventajas de SFC sobre HPLC incluyen la reducción de los tiempos de análisis, altos flujos de trabajo (gran productividad) y menor consumo/costo de disolvente que lleva parejo la reducción de tiempo en la evaporación y la minimización de residuos susceptibles de ser gestionados.

Uno de los aspectos que explica esta superioridad del SFC radica en la mayor eficiencia de la transferencia de masa y la menor viscosidad del CO_2 que los disolventes utilizados en HPLC.

Thar dispone de 4 equipos de distintos tamaños para adecuarse a las necesidades de cada usuario, desde sistemas analíticos hasta sistemas preparativos que dependen de la producción que se requiera: Discovery (sist. analítico), gama Superpure: 70, 200 y 350 (3 sist. preparativos). En los sistemas preparativos se puede disponer de una válvula de recircu-

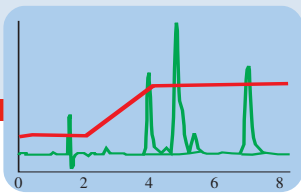


Esquema de trabajo del sistema con recirculación de CO_2

HPLC.

La obtención de compuestos óptimamente puros se está convirtiendo en una necesidad cada vez más importante en la industria farmacéutica, debido a las estrictas directrices marcadas por la FDA.





Análisis de ácidos grasos en plasma humano por FASTGC

Shimadzu GC-2010 / GCMS QP-2010

Máxima resolución con FastGC

El objetivo principal de cualquier método es la separación de los componentes de las muestras en el menor tiempo posible. Este hecho cobra más importancia en laboratorios cuya cantidad de muestras a analizar implica la optimización de métodos y aquellos en los que es necesario dar resultados en el menor tiempo posible para dar salida a descargas de materias primas, o como control de calidad de productos obtenidos. En esta aplicación vamos a ver la utilización de la cromatografía de alta velocidad en el campo del diagnóstico médico.

Como consecuencia existe un interés constante en la comunidad de usuarios de cromatografía en la introducción de técnicas cada vez más veloces. El primer aspecto, en el terreno de cualquier método de FastGC, es mantener un nivel de resolución igual o mejor que el obtenido por métodos de cromatografía tradicional.

El uso de columnas de diámetro interno reducido es el modo más eficaz para el aumento de la velocidad de análisis. El descenso del diámetro interno de la columna reduce la resistencia a la transferencia de masa en la fase gaseosa. Aún cuando la efectividad de este tipo de columnas se conoce desde hace muchos años, su uso en análisis de rutina es muy reciente. La razón de este desfase hay que buscarla únicamente en la ausencia de equipos sufi-

cientemente desarrollados para poder aplicarla. Los nuevos equipos de GC cubren los requerimientos técnicos para el uso de estas columnas:

- Altas presiones en cabeza de columna.
- Grandes flujos y ratios de split de gran precisión.
- Hornos de gran potencia de calentamiento y gran capacidad de enfriamiento.
- Detectores de gran velocidad de adquisición de datos.

Inyección de muestra en FastGC

Otro aspecto crítico es la introducción de muestra en el desarrollo de un método de FastGC. El uso de inyector automáticos es necesario en estas metodías por su precisión, y por la capacidad de inyectar las muestras en inyectores con altas presiones (difícilmente realizable manualmente) y permite obtener índices de reproducibilidad en los tiempos de retención muy altos.

Las columnas de FastGC

Actualmente las aplicaciones en FastGC se obtienen mediante las columnas de 10 metros con diámetros internos de 0.1mm y espesores de capa de 0.1 micras. Estas columnas tienen una capacidad de separación similar a las columnas de 25m x 0.25mmID x 0.25 µm (alrededor de 100,000 platos teóricos). Hay dos factores que mejoran significativamente: la menor longitud de las columnas y la utilización de valores superiores al óptimo, de la velocidad del gas portador en la columna.

Equipos para FastGC

Los análisis se realizaron con un GC-2010 y un GCMSQP-2010 de Shimadzu, ambos con inyectores Split/Splitless, Inyector automático AOC-20i y automuestreador para 150 muestras AOC-20s. La columna utilizada en ambos casos fue SupelcoWax10 (10m x 0.1mmID x 0.1µm). El control de los equipos y la gestión de los datos

se hizo con el programa GCsolution/GCMSsolution

Análisis de ácidos grasos en plasma humano por Fast GC

El análisis cualitativo/cuantitativo de estos ácidos grasos en plasma se puede dividir en dos fases principales: preparación de muestra y análisis por cromatografía de gases.

La preparación de muestra consiste, básicamente, en la esterificación metílica. Este proceso no se va a detallar en este artículo.

El análisis por FastGC de los metil esterios de los ácidos grasos, contenidos en plasma, se ha realizado con los equipos mencionados anteriormente en un análisis de 63 segundos, como muestra la figura 1.



Detectores de GC para el análisis de ácidos grasos en plasma humano

El trabajo en FastGC se caracteriza por la minimización de la anchura de banda de los analitos introducidos en el cromatógrafo, provocando la aparición de picos de rápida elusión y muy estrechos. De este modo para una misma cantidad de analito analizado en GC convencional se observa que la altura del pico en FastGC es mucho mayor debido a que la misma cantidad de analito pasa por el detector en menos tiempo. Como consecuencia de este hecho la capacidad de los detectores para un muestreo más veloz se hace imprescindible. Los detectores actuales de los equipos de GC de Shimadzu tienen una velocidad de adquisición de hasta 250Hz (250 puntos por segundo). La frecuencia de 50Hz utilizada habitualmente en cromatografía convencional no es suficiente para trabajar con las columnas de 0.1mm de diámetro interno por la baja reproducibilidad en la cuantificación de los picos.

Por ejemplo, el primer pico tiene una anchura de pico a media altura de 180ms y es uno de los más rápidos del cromatograma. Para una cuantificación precisa es necesario trabajar a una frecuencia de muestreo de no menos de 125Hz, que corresponde a unos 22 puntos en ese pico, que es justo la mitad de las posibilidades de los detectores.

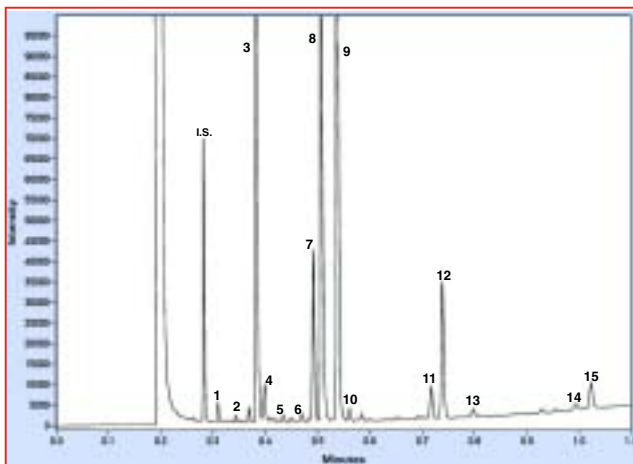
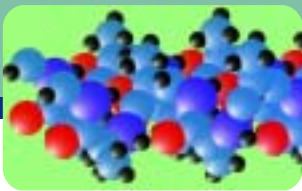


Figura 1. Cromatograma de FAME en plasma humano. Identificación de picos: LS.: C_{13:0}; 1) C_{14:0}; 2) C_{15:0}; 3) C_{16:0}; 4) C_{16:1,7}; 5) C_{17:0}; 6) C_{16:3,4}; 7) C_{18:0}; 8) C_{18:1,9}; 9) C_{18:2,6}; 10) C_{18:3,3}; 11) C_{20:3,6}; 12) C_{20:4,6}; 13) C_{20:5,3}; 14) C_{22:5,3}; 15) C_{22:6,3}.



Nuevas tendencias en Citometría de Flujo II

En números anteriores de nuestra revista hablábamos de las diferentes tendencias en el desarrollo de citómetros de flujo y repasamos las dos vías principales de evolución de esta técnica. Por una parte, teníamos la línea clásica basada en el desarrollo de equipos dotados de un número creciente de detectores, de otra está la de diseñar sistemas híbridos entre los citómetros clásicos y otras técnicas afines, como analizadores de imagen, o contadores celulares clásicos.

En este número nos centraremos en la última tendencia, y presentaremos en España dos equipos nuevos, diseñados con filosofía híbrida, pensados para resolver problemas concretos del análisis celular. En primer lugar, veremos el nuevo desarrollo de un clásico en el mundo de la Citometría de Flujo, como es Beckman Coulter, que presenta el Cell Lab Quanta, finalmente un sistema que reúne las características de los citómetros clásicos, y los contadores celulares del efecto Coulter. En la segunda parte del artículo, hablaremos de otro desarrollo novedoso, el de la empresa Fluid Imaging (que Izasa presenta en España), que presenta un sistema que combina las características de un citómetro clásico, con un sistema de análisis de imagen en flujo continuo, pensado para

su empleo en ecología, tanto marina como de aguas dulces.

Citometría y medida de volumen por efecto Coulter en un solo equipo, Cell Lab Quanta de Beckman Coulter.

El Cell Lab Quanta ha transformado la cámara de flujo convencional de los citómetros de flujo en una cámara de recuento de efecto Coulter. La cámara pasa a ser una pieza tallada en cuarzo, de excelentes propiedades ópticas, tanto en visible como en Ultra Violeta, con un poro de sección triangular de 125 mm (en versión estándar), a través del cuál se establece un campo eléctrico característico de un contador de efecto Coulter. El propio flui-

do envolvente del citómetro actúa como electrolito de tal modo que, cada vez que una partícula atraviesa la cámara de flujo, provoca una distorsión medible del campo eléctrico, que es proporcional al volumen real de la partícula (Efecto Coulter). Por primera vez, un Citómetro de flujo permite medir volúmenes absolutos de partícula, y por tanto hacer estudios y valoraciones reales sobre el estado fisiológico en base a los cambios de los volúmenes celulares, como las que se producen como consecuencia de variaciones del volumen nuclear en función de estados de condensación de cromatina, fases de división o muerte etc. Cambios en el volumen celular como respuesta a inducción de apoptosis o en respuesta a la disponibilidad de nutrientes etc.



Figura 1.- Cell Lab Quanta de Beckman-Coulter

El Cell Lab Quanta dispone además de un sistema de inyección de muestra mediante jeringa de precisión, con volúmenes y velocidades de muestra controlables vía software, que permiten la realización de recuentos absolutos sin necesidad de recurrir a la utilización de costosos sistemas de partículas de referencia con concentración conocida.

Desde el punto de vista del equipo como citómetro analiza-

dor de poblaciones, se trata de un sistema con múltiples longitudes de onda de excitación, y dos longitudes de onda de análisis. En ambos casos, el sistema es totalmente flexible y configurable. En la configuración que se oferta, el equipo viene dotado de una lámpara de mercurio que permite trabajar a diferentes lon-

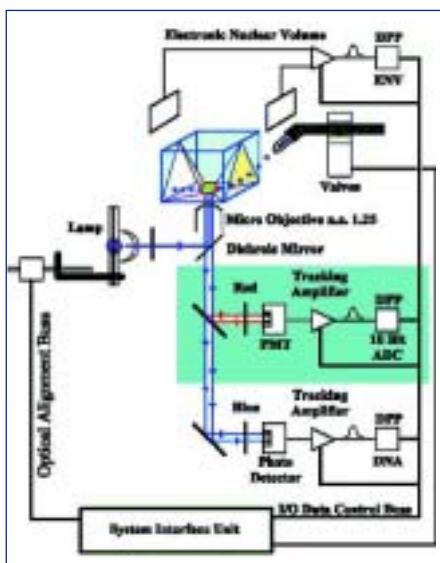


Figura 2.- Esquema Óptico del Cell Lab Quanta

gitudes de onda (366, 405, 435, 546 nm) seleccionables mediante dicroicos fácilmente intercambiables por el usuario y láser de estado sólido de 488 nm, tal y como se muestra en el ejemplo de la figura. Los láseres de estado sólido tienen la ventaja de su duración y coste, muy favorables. Todas las configuraciones de filtros se pueden personalizar en función de las aplicaciones específicas de cada usuario. Además, el sistema permite el intercambio fácil por parte de usuario de los distintos juegos de filtros, para hacer diferentes combinaciones de dos longitudes de onda de emisión, y hasta dos de excitación.

Análisis de Imagen y Citometría para aguas. FlowCam de Fluid Imaging.

El empleo de sistemas de Citometría de flujo para el estudio de plancton es ya un clásico desde hace años. Su éxito se ha basado en la posibilidad que ofrece la Citometría para identificar los distintos componentes de sistemas ecológicos complejos, como los acuícolas, en función de la capacidad para discriminar los mismos en función de parámetros como el tamaño, la complejidad celular, y las emisiones de fluorescencia debida a pigmentos intrínsecos.

Desgraciadamente, la complejidad y riqueza de estos ecosistemas hace que no sea suficiente la citometría de flujo, y que los datos que esta ofrece deban ser complementados por observaciones microscópicas, a fin de verificar o completar los datos procedentes del citómetro.

En la actualidad la tecnología de cámaras CCD ha alcanzado un desarrollo tal, que ha permitido a la compañía Fluid Imaging diseñar un equipo basado en tecnología de Citometría de Flujo, que junto con los parámetros clásicos de Scatter y fluorescencia es capaz de registrar la imagen de cada uno de los organismos que pasan a través de la cámara de flujo, permitiendo al investigador la comprobación visual (o informática, basada en parámetros morfométricos obtenidos a partir de la imagen).

Como ventajas más destacables, incorpora además un sistema de cámara de flujo y una óptica intercambiable, que permite trabajar en un rango mucho mayor que el de los citómetros clásicos, lo que permite seleccionar poblaciones objeto de estudio tan pequeñas como las bacterianas, o tan grande como las larvas de moluscos. Además, la obtención de parámetros derivados de la imagen, como el “volumen esférico equivalente” y la posibilidad de realizar recuentos absolutos, nos permite hacer estimaciones de la cantidad de biomasa, como parámetro sumamente importante.

Finalmente, es remarcable que, dado el entorno en el que se mueve este tipo de equipos, Fluid Imaging ha diseñado equipos, tanto de laboratorio, como portátiles y que además se pueden instalar en continuo, a fin de hacer seguimiento de las variaciones naturales de las poblaciones.

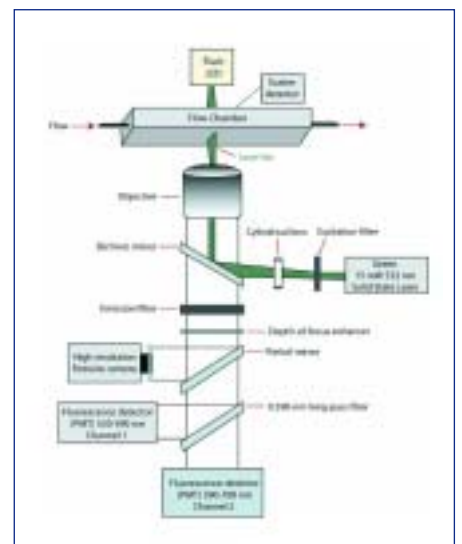
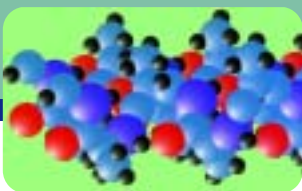


Figura 3.- Esquema Óptico del Sistema Flow Cam



Combinación de citometría de flujo y microscopía: Análisis de Materia Orgánica Particulada

FlowCAM es el nuevo sistema dirigido a todos aquellos usuarios que habitualmente requieren de la última tecnología en monitorización rápida de partículas en fluidos de diferente naturaleza.

FlowCAM combina las posibilidades de la citometría de flujo y de la microscopía, ambas mejoradas en este sistema, en un orden de magnitud. FlowCAM es un equipo que es capaz de contar, captar imágenes y analizar las células de una muestra en flujo continuo con resultados significativamente precisos de forma instantánea.

El sistema de procesamiento del FlowCAM, captura imágenes digita-

les de cada célula y presenta los datos en un formato general de fácil interpretación o bien a través de nuestro patentado Escatergrama.

APLICACIONES

Las aplicaciones de esta técnica son muy variadas, debido a la gran diversidad de partículas en cuanto a tipos y tamaños así como a los diferentes fluidos con los que el sistema puede trabajar. Entre las más importantes, caben destacar las siguientes.

Química

FlowCAM® representa un avance exponencial en cuanto a la determinación y precisión de la calidad de las mezclas químicas de baja viscosidad. Además del conteo, distribución y datos sobre el diámetro esférico equivalente, es capaz de determinar la forma exacta de la partícula, lo que supone una mejora excepcional del ESD (diámetro esférico equivalente).

Estudios recientes han demostrado que el conocimiento de la anchura y la longitud de las partículas en las formulaciones químicas, es de vital importancia la hora de evaluar la efectividad del producto. El FlowCAM® te da esta información de inmediato y además de la precisión en la distribución de las partículas, es también posible adquirir imágenes de cada una de ellas.

FlowCAM® puede utilizarse para mantener el control de calidad y para procesos en línea, en los que es necesario medir el tamaño y la frecuencia de distribución de éstas.

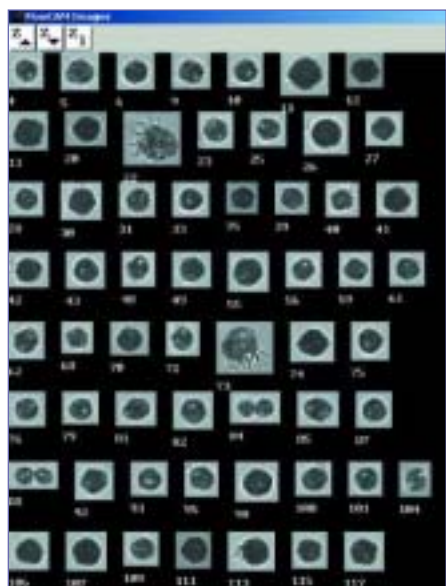
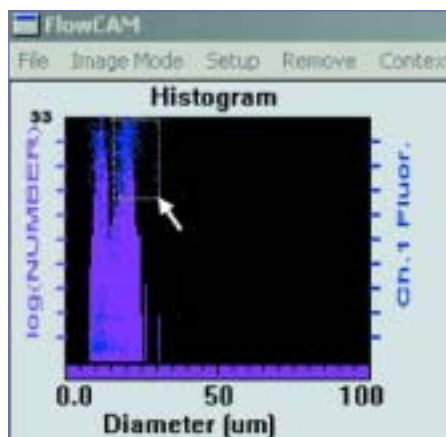
Dentro de las aplicaciones químicas de baja viscosidad caben destacar dispersiones, impresiones térmicas, emulsiones y mezclas.



Oceanografía

FlowCAM® ofrece diferentes posibilidades y aplicaciones en Oceanografía, tanto en muestreos puntuales como en ensayos continuos o in-situ. Con este equipo, es posible recoger información de partículas y células de 1mm a 3 mm en determinadas fracciones de tiempo, además de poder integrar otro tipo de instrumentación como fluorómetros o monitores de temperatura y salinidad.

FlowCAM® puede incluso ser usado en combinación con estaciones de medición submarinas para la monitorización continua de las aguas y estudiar así cambios



en el fitoplancton y en otras partículas, así como en las condiciones de temperatura y salinidad.

FlowCAM® es el instrumento ideal, tanto en laboratorio como en campo, para la monitorización de aguas costeras, fitoplancton, acuicultura, etc...

Farmacéuticas

FlowCAM® puede desempeñar un papel fundamental en la industria farmacéutica dentro de la investigación y desarrollo en drogas. El objetivo prioritario en este campo es el de conseguir sacar al mercado en el menor tiempo posible, la mayor cantidad de fármacos efectivos contra determinadas enfermedades.

En la fase de test, FlowCAM® puede funcionar como un sistema de feed-back para la determinación del tamaño y forma exactos de los materiales y componentes biológicos.

Calidad en Aguas

En el laboratorio o en campo, FlowCAM® es el equipo de elección ya que puede aportar información imprescindible en cuanto a la calidad de las aguas que se desean testar.

FlowCAM® genera información cuantitativa y cualitativa que puede ser usada para la creación de valores referenciales que se pueden comparar con los niveles de algas en disolución o masas extensas de las mismas en el agua de estudio.

Con la técnica de Spot-checking, FlowCAM® es capaz de encontrar donde se producen cam-

bios en el entorno acuático y mostrar visualmente los microorganismos causantes de los disturbios. Esta información tan útil, obtenida en tiempo real, ayuda al control de la calidad de las aguas on-line, así como a determinar si las modificaciones o alteraciones puntuales en el entorno acuático son fruto de eventos accidentales o introducidos.

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS:

Equipo de laboratorio (benchtop)

Modos de trabajo: Imagen constante, Light Scatter, y Fluorescencia

Tasas de flujo: 0 a 2.5 mililitros por minuto (modo lento), 2 a 12 mililitros por minuto (modo medio)

Luz de excitación: Láser azul de estado sólido (488 nm). Opcionalmente podría configurarse con un láser verde de 532nm

Nivel de magnificación: 20X.

Rango de tamaños detectables: de 1 a 3×10^4 m en función de las ópticas seleccionables.

Software FlowCam IMS.

Paquete de 6 células de flujo de repuesto.

Ordenador: Incorporado.

Parámetros medidos:

- Tamaño de partícula.
- Fluorescencia de la partícula.
- Tiempo de vuelo.
- Longitud de cada partícula.

- Anchura de cada partícula.
- Diámetro esférico equivalente.

Formato de gráficos: TIFF escala de grises.

Formato datos: Hoja de cálculo o escatergrama.

Canales de Fluorescencia: Clorofila y Ficoeritrina. Opcionalmente pueden configurarse otros filtros, como demanda de cliente.



Ambas partículas tienen el mismo diámetro esférico equivalente, pero no son iguales. Es necesario capturar imágenes de ambas para diferenciarlas.

Estamos pues ante un sistema de múltiples aplicaciones que combina la precisión de la citometría de flujo con la versatilidad de la captura de imágenes de hasta 3 mm, lo que le convierte en el elemento idóneo no sólo para el estudio de partículas en fluidos sino incluso para la identificación de especies vegetales y animales como algas y larvas marinas.



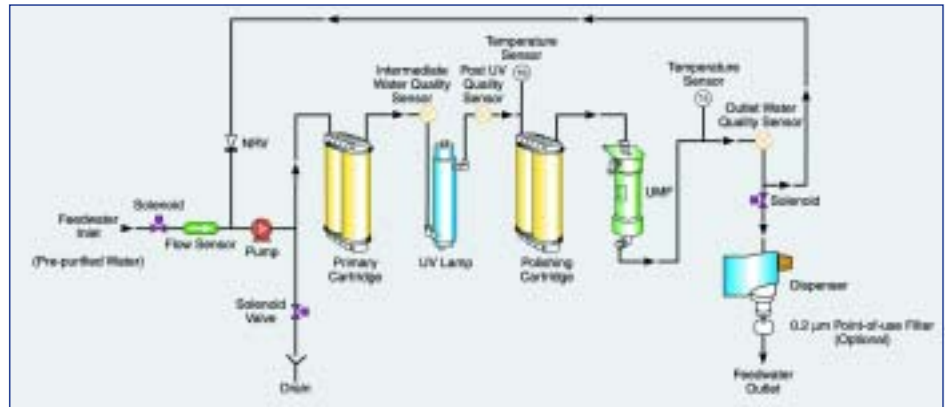


Calidad del agua de laboratorio para técnicas analíticas de alta resolución

A la hora de realizar un análisis empleando una técnica analítica de alta resolución, bien sea mediante espectroscopía UV-Vis, espectroscopía de absorción atómica, ICP, HPLC, IC,... el agua con la cual se van a realizar los blancos y las diluciones de muestras y patrones ha de ser de la más alta calidad en cuanto a su pureza.

Se debería tener un agua de tipo I, ultrapura con presencia de las menores trazas posibles en disolución, o en el caso de técnicas de ciencias de la vida, las menores interferencias como pueden ser RNA-sas, endotoxinas,... posibles.

Para conseguir un agua de esta calidad, lo ideal es partir desde una primera calidad de agua, que idealmente sea agua osmotizada (tipo III) o agua osmotizada y desionizada (tipo II), una vez conseguida una calidad de este tipo, en función de la calidad de agua pretratada necesaria en el laboratorio, esta pasa a un sistema de ultrapurificación. En el caso de técnicas de alta resolución se emplean los equipos de altas especificaciones de la gama Purelab ULTRA de ELGA Labwater.



En el caso de técnicas analíticas de alta resolución resulta ideal el equipo Purelab ULTRA Analytic, que combina, junto con las resinas de ultrapurificación, un sistema de emisión ultravioleta de amplio espectro. La longitud de

onda de 254 nm tiene un efecto germicida, manteniendo el bacteriano del agua por debajo de 1 CFU/ml, mientras que la longitud de onda de 185 nm tiene un efecto foto oxidante, destruyendo la materia orgánica, quedando esta a niveles inferiores a 2 ppb. Para mantener el nivel de partículas cuenta con un ultra microfiltro de 0.05 µm. Aunque todos estos procedimientos de purifica-

ción de agua son comunes a otros equipos, los ULTRA cuentan con un sistema de doble cartucho de resinas que permite confiar en la calidad del agua.

El motivo del uso de este módulo de pulido es que con el tiempo los iones de gran tamaño y carga van saturando las resinas, haciendo desplazarse a los iones de menor tamaño y carga, que en el momento en que el módulo principal comienza a saturarse, difunden al exterior contaminando el agua. El segundo módulo de pulido atrapa estos iones evitando la contaminación del agua y aumentando de esta manera la vida útil del módulo principal.

Al terminar la vida del módulo principal, el módulo de pulido se coloca en la posición principal, y un nuevo módulo de resinas pasa a la posición de pulido.

El equipo Purelab ULTRA Analytic es capaz de dar un caudal de agua ultrapura de hasta 2 litros por minuto y cuenta con un sistema de monitorización multipunto de la calidad del agua, en el cual hay un medidor de TOC mediante UV en continuo, con lo cual se tiene la medida de este parámetro de todo el agua purificada que se obtiene.

De manera que el equipo ELGA Purelab ULTRA Analytic es la alternativa más eficaz para obtener agua ultrapura para su uso en técnicas analíticas de alta resolución.



MICROLAB[®] STAR

La Revolución en Manipulación Automática de Líquidos



Automatización de cultivos celulares

Cristalización de proteínas

Preparación muestras MALDI

Digestión en Gel

Preparación de ELISA

Reordenamiento de pocillos

Screening de compuestos secundarios

Validación de moléculas diana

¿Que le gustaría automatizar?

Aislamiento de plásmidas

Preparación de reacciones de PCR

Extracción de DNA

Purificación de productos de PCR



Nikon

DIGITAL ECLIPSE DXM1200F

Cámara Digital de ultra-alta calidad para fotomicrografía

Captura imágenes en fluorescencia de alto contraste

Con imágenes de hasta 12 millones de píxeles de resolución la nueva cámara digital Nikon DXM1200F consigue resultados inmejorables.

Gracias al diseño original Nikon de bajo ruido electrónico así como a su nuevo CCD de sensibilidad más del doble que la de su predecesor, la cámara DXM1200F captura imágenes en fluorescencia de una claridad superior y sorprendente contraste.

Sus magníficas prestaciones y su fácil manejo hacen que la DXM1200F sea la mejor elección para los profesionales.



IZASA

Nikon