

IZASA LAB

www.izasa.es

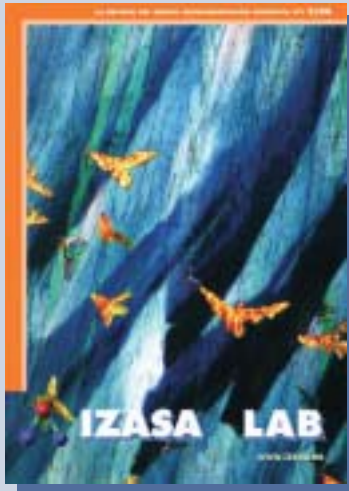


Foto portada: Glicina cristalizada ácido tartárico y resorcinol (40x). Luz polarizada.



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 pasado 1º de julio de 2006 ha entrado en vigor la Directiva Europea denominada RoHS (Restriction of Hazardous Substances in Electrical and Electronic Equipment) y que afecta a la utilización de equipamiento eléctrico y electrónico que contenga cualquiera de las seis sustancias de riesgo especificadas que son dos tipos de retardantes de llama bromados (bifenilo polibromado, PBB, y éter bifenilo polibromado, PBDE) y la prohibición de utilizar cadmio, plomo, mercurio y cromo (VI).

Los límites máximos admitidos para estas sustancias son de 100 ppm (mg/kg) para cadmio, y de 1000ppm (mg/kg) para plomo, mercurio, cromo (VI), PBB y PBDE.

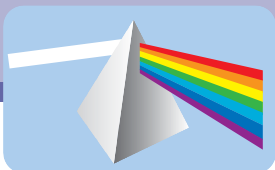
En lo que respecta a España, se publicó el Real Decreto 208/2005 de 25 de febrero sobre aparatos eléctricos y electrónicos y la gestión de sus residuos, en el BOE nº49 de 26 de febrero de 2006.

Están afectados todos los aparatos que empleen corriente eléctrica para funcionar (electrodomésticos, ordenadores, bombillas, teléfonos fijos y móviles...) y esto se aplica a cada componente individual de un aparato. Es decir, que si un teléfono móvil se compone de 500 partes distintas, cada una de ellas tiene que cumplir individualmente con los límites.

La necesidad de almacenar muestras biológicas ha crecido considerablemente y es un asunto muy actual. Por ello, es interesante destacar también que hemos llegado a un acuerdo de colaboración con la firma americana GenVault. GenVault está especializada en la gestión de muestras biológicas, aportando soluciones de archivo y recuperación de muestras para organizaciones que necesiten gestionar colecciones de muestras.

Sumario

Nuevo ICPE-9000 de Shimadzu	3
Análisis rápido de sustancias peligrosas para cumplimiento de RoHS / WEEE	4
Sonicadores. Parte II y última: Convertidor y Sonda	6
Nuevos analizadores de resonancia magnética de sobremesa MQC	8
Análisis rápido de metales pesados en suelos con el analizador EDXRF de mano X-MET3000TXS	10
Estructura de una tarjeta electrónica: observación de las diferentes capas hechas de NBR (Acrylonitrile-Butadiene Rubber) y celulosa a efectos de la normativa RoHS / WEEE	11
Espectrometría Molecular en el Análisis de Alimentos.	12
Novedades Gerhardt	13
Familia Companion de Teldyne Isco y sus últimas novedades	14
El Color del Producto: Indicador Clave de la Calidad	15
Nuevo software de análisis de imagen multidimensional Nikon NIS-ELEMENTS	16
Sistema completamente automatizado para el cultivo de células adherentes en el MICROLAB STAR de HAMILTON "CellHost"	18
Muestras con matrices complejas con el GCMS-QP2010 de Shimadzu	20
Nueva utilidad de la estación de trabajo HPLC LCsolution de Shimadzu	22
Metamorph-osis	24
Visualización de estructuras tridimensionales mediante técnicas no destructivas de microtomografía	26
¿De quién son estos tubos...?	28
GENVAULT. Sistemas de almacenamiento de ADN y sangre a temperatura ambiente	30



Nuevo ICPE-9000 de Shimadzu

El sistema óptico único, el software ICPEsolution, adecuado tanto para el experto como para el usuario menos experimentado, su atractivo precio y los bajos costes de operación son las características más sobresalientes del nuevo ICPE-9000 de Shimadzu.

Shimadzu, uno de los líderes mundiales en instrumentación analítica, añade a su rango de instrumentos el nuevo ICPE-9000, un nuevo espectrómetro de emisión por plasma de acoplamiento inductivo simultáneo (ICP-OES). El instrumento combina alto rendimiento y alta velocidad. El ICPE-9000 incorpora un sistema óptico único y establece nuevos estándares en su clase.

Los espectrómetros de ICP son una de las herramientas más importantes para el análisis elemental de rutina en multitud de aplicaciones. Se caracterizan por su alta sensibilidad, amplio rango dinámico y alta velocidad de análisis.

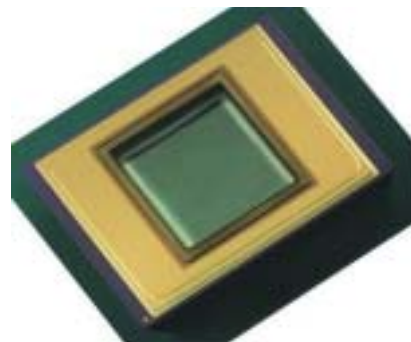
El nuevo ICPE-9000 incorpora el software inteligente ICPEsolution, que lleva a cabo de forma automática la optimización de la longitud de onda así como la corrección de interferencias. Incluso el análisis de muestras difíciles con matrices complejas puede ser realizado fácilmente por cualquier usuario sin necesidad

de ser un experto, con resultados fiables y reproducibles.

El ICPE-9000 trabaja de acuerdo al principio de espectrometría de emisión óptica, donde las muestras líquidas se vaporizan en el plasma y los átomos e iones excitados emiten luz, que es entonces procesada por el sistema óptico y medida por el detector CCD, de forma que se obtiene el espectro completo de emisión de forma simultánea, conteniendo todas las líneas correspondientes a todos los elementos presentes en la muestra. La intensidad de la luz emitida es proporcional a la concentración de cada elemento en la muestra. La alta sensibilidad del detector permite una alta resolución, incluso para líneas muy cercanas como cobre (213.60 nm) y fósforo (213.62 nm).

La cuantificación de elementos como fósforo (178 nm), azufre (180 nm), arsénico (189 nm) y boro (182 nm) se realiza en vacío con una excelente estabilidad.

El ICPE-9000 combina la más alta calidad y exactitud en la medida con un precio muy atractivo y costes de operación mínimos. En este sentido, por ejemplo, el uso de la mini antorcha reduce el consumo de argón hasta 12 L/min.



Detector CCD de gran formato (1 pulgada)

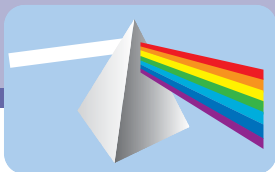
Es posible el análisis de muchos tipos diferentes de muestras gracias al amplio rango de accesorios disponibles. En combinación con el automuestreador ASC-6100, el ICPE-9000 realiza el análisis multielemental de forma completamente automática.

Características más importantes ICPE-9000:

- ICP **simultáneo**.
- Detector **CCD de gran formato**.
- Espectrómetro de **vacío**, altísima estabilidad de medida sin necesidad de emplear gas de purga.
- Adquisición del **espectro de emisión completo**, sin ninguna restricción en longitud de onda.
- **Selección automática** de la longitud de onda óptima.
- **Correcciones** automáticas.
- **Bajo consumo de argón** con el empleo de mini antorcha.
- **Plasma axial con disposición vertical** de la antorcha que facilita el análisis de muestras con matrices complejas.
- Opción de **visión radial**.



ICPE-9000, espectrómetro de emisión ICP simultáneo con detector CCD



Análisis rápido de sustancias peligrosas para cumplimiento de RoHS / WEEE

Shimadzu, uno de los líderes mundiales en instrumentación analítica, ha añadido un nuevo instrumento a su rango de analizadores por fluorescencia de rayos-X, el EDX-720, con sensibilidad mejorada para Pb y Cd, lo que le hace especialmente adecuado para análisis rápido de acuerdo a las nuevas normas RoHS / WEEE.

Las directivas europeas RoHS (Restriction of the use of certain Hazardous Substances in electrical and electronic equipment) y WEEE (Waste Electrical and Electronic Equipment), incorporadas a la legislación española en el año 2005, establecen una serie de limitaciones a la concentración máxima de ciertas sustancias en componentes de equipos y aparatos eléctricos y electrónicos. Se han establecido unos valores de umbral, que pueden ser determinados de forma rápida y no destructiva por fluorescencia de rayos X, para las siguientes sustancias:

Plomo: soldaduras en circuitos impresos y sus recubrimientos, materiales cerámicos, cristales.

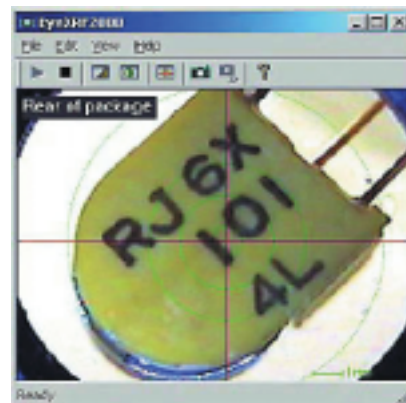
Cadmio: materiales sintéticos, contactos de arco eléctrico, sensores, galvanizados.

Cromo (VI): recubrimientos metálicos, base de recubrimientos metálicos, cromados, superficies metálicas sintéticas.

Mercurio: baterías, lámparas fluorescentes, interruptores, sensores, relés.

PBB y PBDE: retardantes de llama en materiales sintéticos.

De cara a la identificación de estas sustancias, Shimadzu ha desarrollado un instrumento de fluorescencia de rayos X por dispersión de energías. El EDX-720 presenta una sensibilidad mejorada para plomo (Pb) y cadmio (Cd). Además, el EDX-720 destaca por nuevas y atractivas funciones, tales como la función de auto selección de la curva de calibración (por ejemplo PE o PVC), o la función de auto reducción del tiempo de medida para optimizar el rendimiento del sistema.



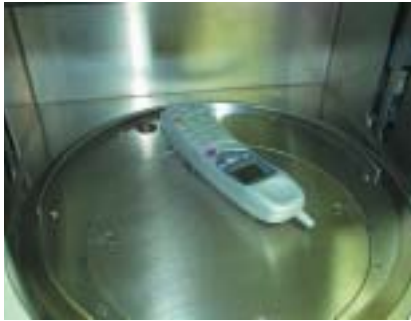
La cámara CCD permite observar la zona exacta de la muestra que se va a analizar. Junto con el cambiador de colimadores, permite analizar de forma exacta áreas muy pequeñas de la muestra.

El EDX-720: características más importantes

- Sensibilidad para plomo y cadmio mejorada por un factor de 2.
- La función de reducción del tiempo de medida adapta el mismo al nivel de precisión requerido por el usuario.



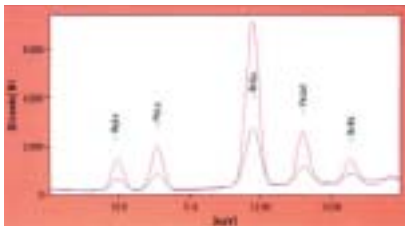
Nuevo analizador de fluorescencia de rayos X por dispersión de energías EDX-720 de Shimadzu.



La cámara de muestra de grandes dimensiones permite alojar objetos de hasta 300 mm de diámetro x 150 mm de altura.

- La función de selección automática de calibración selecciona la calibración más adecuada.

- Compartimento de muestra de gran tamaño, 300 mm de diámetro x 150 mm de altura, permite la medida directa en muestras grandes sin destruirlas.



Comparación de dos espectros de patrones de PVC conteniendo 54 ppm Pb, tiempo de medida 300s (azul: EDX-700HS, rojo: EDX-720)

- Posibilidad de incorporar cámara CCD para visualizar la muestra. Su uso en combinación con el cambiador automático de colimadores, permite el análisis preciso de áreas muy pequeñas de la muestra, tales como impurezas o partes pequeñas.

- El software incorpora multitud de métodos de medida por parámetros fundamentales (FP), que permiten realizar análisis cuantitativo en prácticamente cualquier tipo de muestra sin necesidad de emplear patrones de calibración.

Sensibilidad mejorada

Los nuevos filtros y la velocidad de recuento mejorada aumentan la sensibilidad en un factor de 2.

- Gracias a la nueva electrónica, la velocidad de recuento se incrementa, consiguiendo mayor intensidad y mejor resolución.

- Los nuevos filtros incorporados en el EDX-720 consiguen reducir la señal de fondo sin bajar apreciablemente la intensidad de los picos.

Ambos factores juntos contribuyen a un aumento de sensibilidad espectacular, especialmente para los elementos implicados en RoHS.

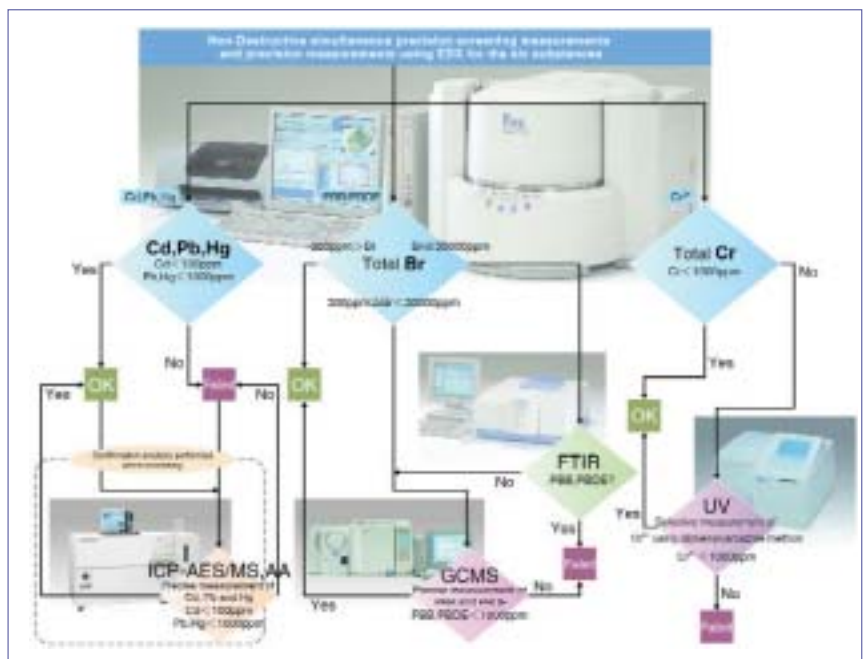
Además de esto, incorpora funciones muy atractivas como la función de reducción del tiempo de medida y la selección automática de la curva de calibración adecuada.

La función de reducción del tiempo de medida controla de forma automática el tiempo de medida de acuerdo a los requerimientos de precisión del usuario, es decir, una vez que se ha alcanzado la precisión establecida se termina automáticamente la medida.

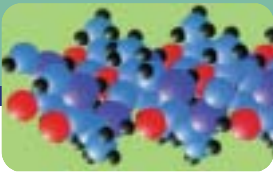


Mecanismo de apertura y cierre de la cámara totalmente automático.

La selección automática de la curva de calibración es capaz de distinguir si la muestra es, por ejemplo, de PE o de PVC, basándose en la presencia o no de cloro, y selecciona automáticamente la curva de calibración correspondiente.



El EDX-720 es una magnífica herramienta para análisis rápido (screening) de las sustancias peligrosas restringidas por RoHS / WEEE.



Sonicadores. Parte II y última: Convertidor y Sonda

Los Sonicadores están formados por tres importantes componentes:
Fuente de Alimentación de ultrasonidos (generador), Convertidor (transductor) y Sonda (horn).

(En el número anterior de IZASA-LAB N°1/06 hablábamos de la Fuente de Alimentación de ultrasonidos, en este número hablamos del Convertidor y Sonda)

Convertidor

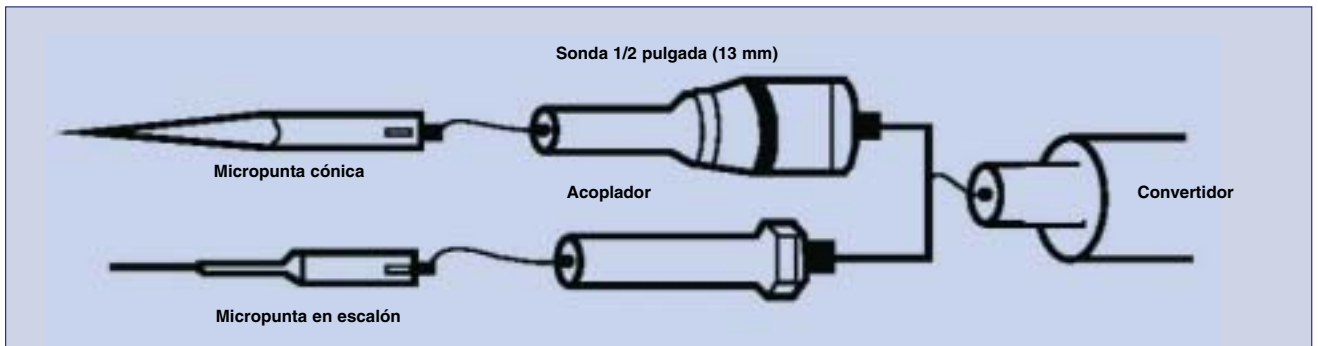
El convertidor cambia la energía eléctrica de alta frecuencia procedente de la fuente de alimentación, en vibraciones mecánicas. Los convertidores contienen discos cerámicos piezoeléctricos de sales de

diseñado para resonar a una frecuencia predeterminada y su longitud es típicamente igual a 1/2 longitud de onda de la frecuencia aplicada, aproximadamente 5 pulgadas (130mm) a 20kHz.

Sondas de ultrasonidos

Las sondas son también piezas de 1/2 longitud de onda de longitud y actúan como transformadores mecánicos para aumentar la amplitud de la vibración generada por el converti-

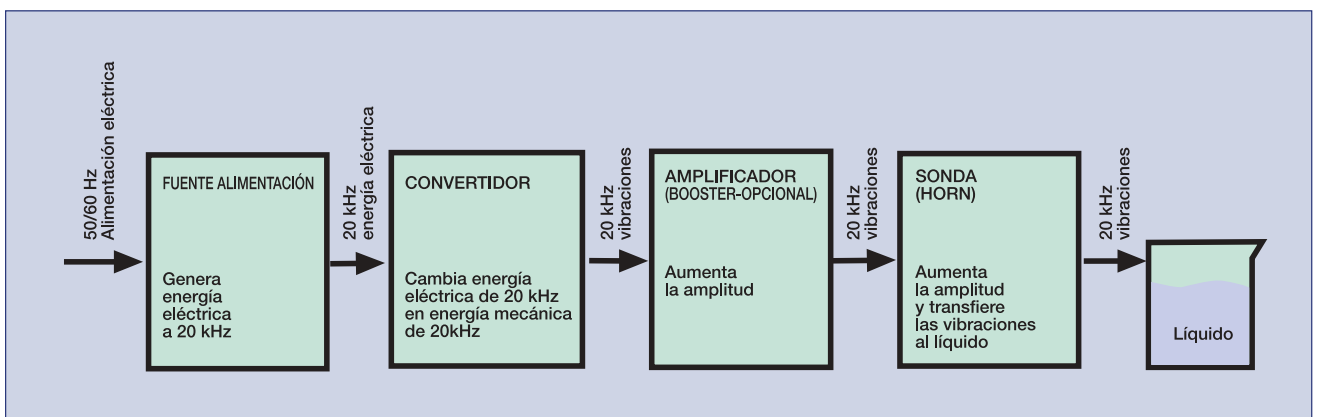
do y concentrado inmediatamente debajo de la punta. Por el contrario, sondas con diámetro de punta más grande producen menor intensidad pero la energía se entrega a un área mayor. A mayor diámetro de la punta corresponde un volumen mayor de muestra a procesar pero a menor intensidad. Las sondas de alta ganancia producen mayor intensidad que las sondas normales y son recomendadas para el procesamiento de grandes volúmenes o aplicaciones complejas. Las sondas están fabrica-



plomo (zirconatos y titanatos). Cuando se aplica una tensión alterna a las caras opuestas de los discos, estos se expanden y contraen con el cambio de polaridad. Si se aplica una tensión alterna de alta frecuencia a los discos, estos vibran a esa frecuencia. El conjunto completo está

dor. Cuanto mayor es la relación de masa de la parte superior y la inferior de la sonda (punta), mayor es el factor de amplificación. Las sondas con diámetro de punta más pequeño producen mayor intensidad de cavitación, pero la energía entregada está restringida a un campo más estrecho

das con aleación de titanio TI-6AL-4V de alta calidad debido a su alta relación resistencia/peso, buenas propiedades acústicas a frecuencias ultrasónicas, alta resistencia a la corrosión, baja toxicidad y excelente resistencia a la erosión por cavitación. Son autoclavables y pueden llevar



punta roscada para aceptar puntas reemplazables, micropuntas y extensores.

Todas las sondas, incluyendo las de punta reemplazable, están sintonizadas para resonar a 20kHz \pm 100Hz. Si se quita la punta reemplazable o se aísla del resto de la sonda, la sonda nunca más resonará a 20kHz y la fuente de alimentación se estropeará. Los líquidos de baja tensión superficial penetrarán el espacio entre la sonda y la punta reemplazable aislando la punta de la sonda. Cuando se trabaje con líquidos de baja tensión superficial, como disolventes, utilizar siempre una sonda sólida.

Las micropuntas pueden procesar muestras de pequeño volumen a muy alta intensidad. La micropunta cónica se enrosca en la sonda de 1/2 pulgada (13mm) de punta roscada en lugar de la punta reemplazable. El conjunto de micropunta en escalón consiste en dos partes (micropunta y acoplador) que se enroscan al convertidor en lugar de a la sonda. Estas pueden ser utilizadas en portamuestras más estrechos que con las micropuntas cónicas y pueden procesar volúmenes tan pequeños como 250 μ l. Las micropuntas están hechas de aleación de titanio TI-6AL-4V y son autoclavables.

Intensificadores (Boosters)

Cuando se trabaja con aplicaciones complejas, se recomienda el uso de un Intensificador. Se intercala entre el convertidor y la sonda y aumentará la amplitud de la vibración en la punta de la sonda. Estos Intensificadores no deben utilizarse con micropuntas o sondas de alta ganancia.

Aplicaciones

Química

Los ultrasonidos se usan en Química Analítica para muchas aplicaciones corrientes, como rotura de enlaces químicos, formación de radicales libres, polimerización y despolimerización de moléculas de cadena larga, catálisis de reacciones (reducción, alquilación, hidrólisis estérica y acilación o aromáticos), preparación de catalizadores y su activación. La ciencia de la Sonoquímica es bien conocida y empleada en el mundo.

Biología

Los ultrasonidos se usan normalmente para extracción de enzimas y proteínas de las células. Este método de extracción produce normalmente mejores resultados que otros métodos. La ruptura es más rápida y completa. En biotecnología, la fabricación de productos tales como enzimas, productos químicos y reactivos terapéuticos requieren de la fermentación de microorganismos.

La utilización de Sonicadores es muy común en el lisado de bacterias, virus, levaduras y tejidos celulares para la extracción de proteínas, ADN, ARN enzimas y otros componentes celulares.

Industria

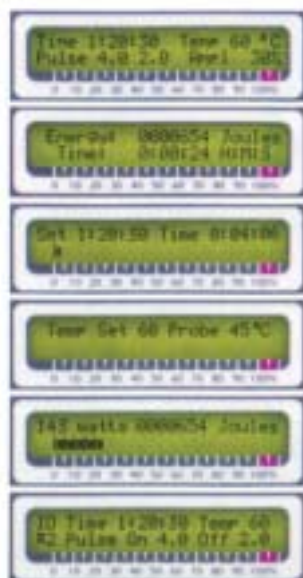
Muchas aplicaciones industriales requieren emulsionar, dispersar u homogeneizar grandes volúmenes de líquido. Esto puede hacerse por medio de Sonicadores en flujo continuo on-line.

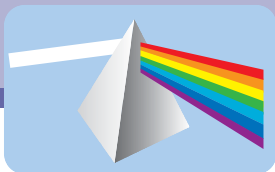
Industria Farmacéutica

La industria farmacéutica utiliza rutinariamente Sonicadores para procesos tales como premezclado, dispersión, suspensión, desgasificado y homogeneización de mezclas en producción. La celda de flujo continuo es un accesorio muy popular para procesar grandes volúmenes hasta 20L/hora.

Medio Ambiente

Los Laboratorios de Ensayo Medioambiental utilizan los Sonicadores para procesar muestras de suelo y sedimentos de acuerdo con métodos EPA (método EPA 3550). Esto se utiliza en lugar de la extracción Soxhlet debido al ahorro significativo de tiempo y materiales. La utilización de Sonicadores puede ahorrar horas de costosas extracciones.





Nuevos analizadores de resonancia magnética **MQC** de sobremesa

Con más de 30 años de experiencia en analizadores de resonancia magnética de sobremesa, Oxford Instruments sabe que los requerimientos más importantes para este tipo de analizadores son tamaño, fiabilidad y facilidad, tanto de uso como de mantenimiento. La Serie MQC se ha diseñado para cumplir con estos requisitos.



Nuevos analizadores de resonancia magnética MQC de Oxford Instruments

Tamaño

El espacio en el laboratorio es cada día más limitado. El MQC se ha diseñado para ocupar el mínimo espacio posible. Incorpora un nuevo imán compacto, más pequeño que cualquier otro que se pueda encontrar en instrumentos comparables. El



MQC no requiere un PC externo, todo el control y proceso de datos se realiza dentro del propio instrumento, incluyendo un disco duro para almacenamiento de resultados.

El imán y la electrónica se encuentran en unidades separadas, de modo que la electrónica se puede instalar en el suelo, debajo de la mesa o incluso en una estantería, ahorrando así valioso espacio. La pantalla plana LCD puede colocarse sobre su soporte o en la parte trasera del imán, para ocupar un espacio absolutamente mínimo.

Fiabilidad

El MQC se ha diseñado con el mínimo número posible de componentes, de forma que sea muy fácil de mantener. La electrónica está agrupada en bloques, que son muy fácilmente accesibles. La nueva electrónica avanzada permite actualizar

el firmware interno a través de un puerto USB, empleando un fichero que puede enviarse fácilmente por correo electrónico. Esto asegura que el usuario está al día con mejoras y avances en las capacidades del MQC.

El MQC además incorpora rutinas avanzadas de autodiagnóstico, de forma que cualquier problema puede ser localizado fácilmente. El instrumento incluso mantiene un registro de operación y rendimiento en su propia web interna, a la que se puede acceder desde Oxford vía internet.

Facilidad de uso

A pesar del reducido tamaño del imán del MQC, posee el mayor espacio para muestra disponible en su clase, lo que permite medir muestras grandes. Asimismo, posee el mayor campo magnético para conseguir la mejor sensibilidad. Todos los mode-

los MQC incorporan sondas intercambiables, de modo que es posible medir en el volumen óptimo de muestra para cada aplicación. El usuario puede cambiar la sonda en cuestión de minutos. Todas las sondas tienen el fondo abierto para una fácil limpieza en caso de derrames de muestra.



La limpieza del interior del tubo es sencilla.

Aunque el PC está alojado dentro del MQC para ahorrar espacio, la interface de usuario es Windows, junto con una pantalla plana LCD y un teclado estándar. Los puertos USB aseguran la posibilidad de hacer actualizaciones de software y el almacenamiento externo de datos. Además, es posible conectar el MQC en red para almacenamiento remoto de resultados.

El MQC viene completo, con los paquetes de software de reconocido prestigio MultiQuant, EasyCal y RI Analysis. Permiten realizar calibraciones de forma sencilla de hasta cuatro componentes en la muestra, dependiendo de la aplicación, junto con un modo de medida que guía al

operario paso a paso a través del proceso con mensajes claros en pantalla. Los mensajes pueden ser personalizados y escritos en cualquier idioma.

Paquetes de aplicación

Cada MQC se suministra completo con todo el software, hardware y accesorios necesarios para cada aplicación concreta. El software está preconfigurado con los parámetros necesarios, con instrucciones de operación específicas de cada aplicación, y con muestreas de reestandarización y accesorios de muestreo adecuados.

Ventajas de la Resonancia Magnética

La resonancia magnética ofrece una serie de ventajas claras sobre otras técnicas analíticas:

- **Mínima preparación de muestra.** En la mayoría de los casos solo es necesario pesar la muestra dentro del tubo de medida y medir directamente después de un corto periodo para estabilización de temperatura. La necesidad de moler la muestra se presenta muy rara vez, y en otras aplicaciones incluso no es necesario pesar.

- **No se emplean disolventes.** La medida se realiza directamente sobre la muestra en su estado origi-

nal, sin necesidad de emplear disolventes ni productos químicos de ninguna clase. De esta forma se eliminan costes de adquisición y eliminación de reactivos y la necesidad de emplear cabinas extractoras.

- **Gran exactitud** ya que la medida se realiza en toda la masa de muestra, no solo en la superficie.

- **Calibración sencilla y robusta.** Las medidas por resonancia son generalmente independientes del color, tamaño de partícula y otras propiedades físicas de la muestra, por lo que las calibraciones son fáciles de realizar. Una vez establecida la calibración, ésta es robusta y es infrecuente tener que repetirla.

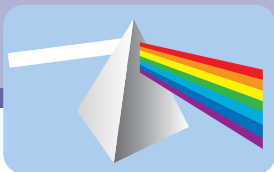
- **Medida rápida.** La mayoría de las medidas en el MQC tardan entre unos pocos segundos hasta unos pocos minutos.

- **Análisis no destructivo.** Las medidas por resonancia magnética no dañan la muestra en ningún sentido, por lo que ésta puede guardarse por si resultara necesaria una comprobación posterior.

Algunas aplicaciones típicas de analizadores de resonancia magnética de sobremesa:

- Aceite en snacks
- Aceite en piensos
- Aceite y humedad en semillas
- Contenido de grasa sólida
- Grasa en chocolate
- Flúor en pasta dentífrica
- Grasa en carne
- Aceite en aceitunas
- Plastificante en PVC
- Cristalinidad en polímeros
- Caucho en poliestireno
- Aceite en cera
- Aceite de avivaje en fibras
- Hidrógeno en fueles
- Aceite en azufre
- Flúor en alúmina





Análisis rápido de metales pesados en suelos con el analizador EDXRF de mano X-MET3000TXS

Oxford Instruments lanza el nuevo X-MET3000TXS, un analizador de fluorescencia de rayos X por dispersión de energías de mano, diseñado específicamente para la medida de metales pesados en suelos, que ofrece una identificación exacta y fiable de elementos contaminantes y un análisis rápido de sus concentraciones.

Existe una creciente preocupación en todo el mundo por el cuidado del medioambiente por razones de salud y seguridad. La legislación impone severas restricciones a la calidad del suelo, especialmente en



El X-MET3000TXS es fácil de usar, tan solo apuntar al suelo, apretar el gatillo y ¡leer el resultado!

terrenos situados cerca de ciudades que se vayan a destinar al cultivo. Problemas de polución, ignorados durante años, están saliendo ahora a la luz y el análisis de los metales pesados contenidos en el suelo está adquiriendo mayor importancia en muchos lugares.

El X-MET3000TXS es capaz de identificar rápidamente estos metales pesados contaminantes in-situ y permite definir los límites de "puntos calientes", de forma que se puede acelerar el proceso de eliminación

del suelo contaminado y los trabajos de remediación. Puede emplearse tanto para análisis rápido (screening) de elementos contaminantes y "puntos calientes", como para seguimiento durante el proceso de limpieza, o bien, si se requiere, para análisis de mayor nivel en el laboratorio.

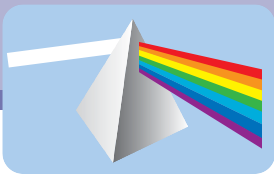
Todos los metales pesados requeridos se detectan de forma simultánea, tales como Pb, As, Cr, Cu, Zn, Ni, Cd, Co, Se, Mo, Hg, Sb, Ag y Ba, con bajos límites de detección.

La medida se realiza típicamente en 15 - 120 segundos, dependiendo de los elementos a analizar y del nivel de precisión requerido. Los resultados quedan disponibles inmediatamente, sin necesidad de esperar a los del laboratorio. Los datos se transfieren a un PC por vía inalámbrica, para inspección posterior y generación de informes.

El Oxford X-MET3000TXS cumple con el método US EPA 6200, que es el método estándar para análisis por fluorescencia de rayos X portátil en campo.



El X-MET3000TXS es muy ligero y fácil de transportar; ¡sólo pesa 1,8 kg!



Estructura de una tarjeta electrónica: observación de las diferentes capas hechas de NBR (Acrylonitrile-Butadiene Rubber) y celulosa a efectos de la normativa RoHS / WEEE

El requerimiento de la normativa RoHS (Restricción del Uso de Sustancias Peligrosas) y WEEE (Residuos de Equipos Electrónicos y Eléctricos) es la homogeneidad del material para el análisis de ciertas impurezas. Dependiendo del material, entramos en difícil discusión para confirmar si éste se encuentra de forma pura o no.

En siguiente caso, tenemos una tarjeta electrónica que presenta a la vista dos modos coloreados. Es importante y de gran interés, averiguar de qué tipo de material está hecha la tarjeta. La medida de este material por la técnica de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) nos da la oportunidad de conseguir de forma sencilla la identificación de los materiales de que se compone dicha tarjeta. Se hace sin necesidad de ningún tratamiento químico por vía húmeda como en otras técnicas analíticas. El beneficio del FTIR es que se trata de un análisis que apenas lleva tiempo. La obtención de resultados es cuestión de segundos. El tiempo total que se necesita incluyendo preparación de muestra, medida por FTIR, búsqueda espectral y obtención de resultado es de unos diez minutos.

Para el análisis se utiliza un accesorio de Reflectancia Total Atenuada (ATR) de un rebote con cristal de diamante. Este accesorio puede apretar la muestra fuertemente haciéndose la medida a través de la óptica del diamante. Así, la luz IR penetrará en la superficie de la tarjeta y en las partículas 2 µm aproximadamente. En la figura 1 se ve una pieza de la tarjeta por sus dos caras una de ellas de color verde y la otra de color crema.

La muestra se midió en cuatro pasos:

1. La superficie coloreada en verde.
2. La superficie coloreada en crema.
3. La superficie coloreada en crema quitando la capa superior.

4. Las partículas de de la superficie de color verde arañadas y obtenidas en forma de partículas molturadas.

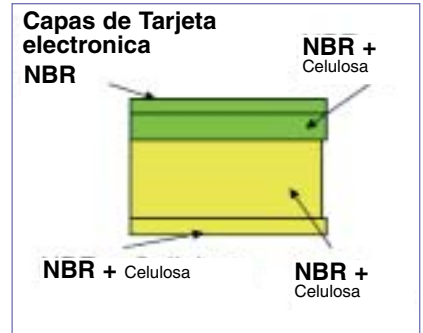
A continuación se ven los cuatro espectros de los distintos pasos. El componente principal es el mismo pero, dependiendo de la posición en la tarjeta cambian algunos detalles en el espectro.



Figura 1

Todo esto nos lleva a la conclusión de que el material del que está hecha la tarjeta es celulosa combinada con NBR (Acrylonitrile-Butadiene Rubber)

1. Capa superior que contiene prácticamente NBR puro que se



corresponde con el espectro de la figura 5.

2. Siguiete capa que contiene gran cantidad de NBR y algo de celulosa que se corresponde con el espectro de la figura 2.

3. Siguiete capa con bastante celulosa y buena cantidad de NBR que se corresponde con el espectro de la figura 3.

4. La capa más interior que es prácticamente celulosa con alguna impureza de NBR que es lo que se ve en el espectro de la figura 4.

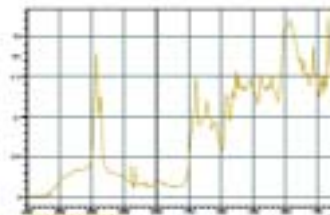


Fig. 2: Espectro IR de la Tarjeta electrónica de superficie coloreada en verde. El resultado de búsqueda en biblioteca muestra gran cantidad de NBR en combinación con celulosa.

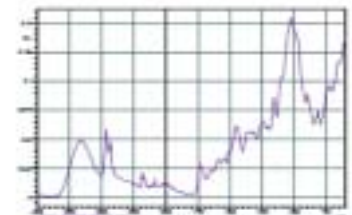


Fig. 4: Espectro IR de la Tarjeta electrónica de superficie coloreada en crema después de quitar la capa superficial. El resultado de búsqueda en biblioteca muestra que es celulosa con alguna impureza de NBR.

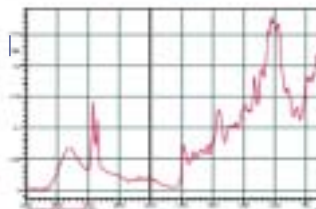


Fig. 3: Espectro IR de la Tarjeta electrónica de superficie coloreada en crema. El resultado de búsqueda en biblioteca muestra que es celulosa con una buena cantidad de NBR.

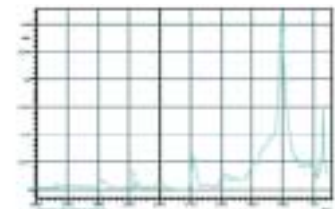
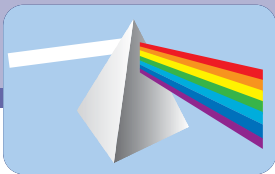


Fig. 5: Espectro IR de partículas tomadas de la superficie de la tarjeta coloreada en verde. El resultado de búsqueda en biblioteca muestra que es NBR.



Espectrometría Molecular en el Análisis de Alimentos

No nos es inusual y de hecho, muy a menudo, la prensa informa acerca de los excesos en los niveles de contaminación, de los escándalos que se producen por los residuos, la acumulación o, incluso, la aplicación ilegal de sustancias en los alimentos y bebidas.

Hay una gran variedad de métodos espectroscópicos para el análisis de residuos y el control de calidad. El método y tipo de instrumentación a utilizar se determina por la composición y la formulación de las muestras a medir.

La Espectrometría es el método de elección si se requiere una información sencilla y rápida acerca del material de la muestra tanto cualitativamente como cuantitativamente. El método espectroscópico óptimo se determina según las características de la muestra.

Espectrometría UV-VIS

El intervalo de aplicación más amplio lo cubren los espectrofotómetros UV-VIS tales como el UV-2401PC que se muestra en la figura. Son ideales para el análisis de muestras, independientemente de que el modo de medida sea por absorción, transmisión o reflectancia. Ello se debe gracias a la gran variedad de accesorios para el análisis del que se

dispone cosa que hace que no importe en que estado: sólido, líquido, opaco translúcido o transparente, se presente la muestra.

Asimismo, en caso de que las medidas sean sensibles a la temperatura, que ocurre muy a menudo en las medidas que se hacen en transmisión, hay además otros accesorios que proporcionan la característica de hacer la medida a temperatura constante bien por medio de una camisa con líquido circulante generado por un baño a temperatura constante como por elementos Peltier.

Espectrometría FTIR

Los espectrómetros FTIR cubren la región desde el infrarrojo cercano, vulgarmente llamado NIR, pasando por el infrarrojo medio o IR y llegando hasta el infrarrojo lejano o FIR.



Al igual que en el caso de la Espectrometría UV-VIS, se dispone de una gran variedad de accesorios que llegan inclusive a la utilización de un microscopio dándose entonces la micro-manipulación pero con iluminación IR como es el caso del análisis de los plásticos que se utilizan para envolver los alimentos. Cada accesorio se utiliza según la información a determinar de la muestra así como de sus características y propiedades. Hay accesorios para la medida de muestras por transmisión con/sin termostatación, para la medida por reflectancia tanto la total atenuada o ATR como la difusa. Asimismo, se puede ver la reflexión especular y analizar el recubrimiento que puedan tener ciertos materiales.

Los espectrofotómetros de fluorescencia, buenos para análisis cuantitativos de alta sensibilidad, completan la gama de métodos por espectrometría molecular disponibles para el análisis de alimentos.





Novedades Gerhardt

Dumatherm, Fibretherm, Unidad de Descomposición y Vapodest 10: Nueva gama de productos Gerhardt.

Dumatherm

Determinación rápida de nitrógeno según el método Dumas.

Método, en el que la muestra se quema en una atmósfera rica en oxígeno a altas temperaturas para analizar posteriormente los gases resultantes. Ahora, C. Gerhardt, ofrece un instrumento altamente eficiente que trabaja según el método Dumas: el Dumatherm. Con esta técnica, se proporciona una alternativa rápida y confortable al método clásico de determinación de nitrógeno.

Incorpora todas las ventajas del método Dumas: rapidez, precisión, ahorro así como economía de recursos. El diseño inteligente de la cámara del horno en combinación con el análisis directo de los gases resultantes, proporciona al usuario resultados en cuestión de 2-3 minutos.



Fibretherm

Determinación de fibra bruta de forma automática.

Basado en el aceptado método del FibreBag, el Fibretherm ofrece un análisis totalmente automático de los pasos de ebullición y filtración para la determinación de fibra bruta, fibra ácido detergente (FAD) y fibra neutro detergente (FND). Doce muestras se digieren y filtran de forma simultánea haciéndose la adicción y dosificación de los reactivos en un sistema cerrado. Características más importantes:

- Se pueden definir diferentes programas de digestión.
- Los vapores resultantes de la digestión se condensan.
- Todos los materiales que se usan en el sistema son resistentes a los reactivos y detergentes.



El acceso a todas las partes del sistema es sencillo pudiéndose limpiar con gran facilidad.

Unidad de Descomposición

Equipo para la descomposición y digestión con agitador automático.

Desarrollado especialmente para la descomposición de muestras de agua y suelos para la determinación de cianuros totales así como otras determinaciones similares.

El agitador magnético integrado permite la calefacción y agitación simultánea de hasta cuatro plazas de calefacción. Gerhardt ofrece dos modelos:



- Unidad de Descomposición Automática TT 4 equipada con un moderno controlador que le permite definir hasta 9 programas diferentes.
- Unidad de Descomposición Manual TT 4 CMR, con controlador de energía manual.

Vapodest 10

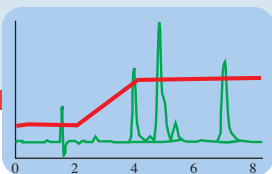
Unidad básica para Análisis Kjeldahl

Nuevo modelo básico para destilación automática y rápida diseñado especialmente para disoluciones procedentes de digestión Kjeldahl tanto en erlenmeyer como en tubos de digestión Kjeldahl. Ideal para laboratorios con poca cantidad de análisis pero con alta demanda de fiabilidad, seguridad y manejo sencillo. Características principales:

- Adición de sosa por bomba controlada por tiempo.
- Preselección del tiempo de destilación por medio de un temporizador.
- Generación de vapor con selección de su rendimiento desde el 10 al 100%.
- Cambio de tubos de muestras manual y sencillo.
- Puerta de protección con luminosidad y conmutador de seguridad.

Vapodest 10 le ofrece la mejor relación precio – prestaciones.





Familia Companion de Teldyne Isco y sus últimas novedades

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

Módulo de Gestión de Disolvente (Solvent Manager Module SMM)

- Duplica la capacidad de colección de fracciones gestionando más de un colector de fracciones.
- Selecciona hasta cuatro diferentes eluyentes (en gradiente binario)
- Es capaz de detectar el nivel de eluyente que queda en el depósito.
- Es compatible con el Companion estándar el 4X y el XL.

Apilador de Columnas (Column Stacker)

- Ideales en situaciones donde las separaciones son difíciles y se necesita una resolución alta.
- El apilador conecta las columnas en serie (la salida de la anterior a la entrada de la posterior y así sucesivamente) para aumentar la longitud de la columna combinada lo que resulta en una mayor separación entre los componentes a eluir.

Software PeakTrack actualizado.

Hay tres versiones diferentes del Software PeakTrak para trabajar con las distintas configuraciones de la Familia Companion.

Dado que el Companion tiene un detector UV de matriz de diodos (Photo Diode Array - PDA), es posible seleccionar dos longitudes de onda de forma simultánea en todas las versiones.

CombiFlash Companion.

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 rever-

sa 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.

CombiFlash Companion 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. Lo mismo que el Companion Estándar, puede trabajar con columnas desde 4gr. hasta 330gr. por canal. Por tanto, en cada canal, puedo usar tanto diferentes columnas como diferentes flujos y gradientes.

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 a una iPAQ o bien con una pantalla táctil incorporada.



Solvent Manager Module



Apilador de Columnas



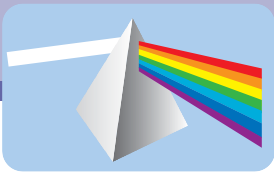
Companion Estándar



Companion XL



Companion 4X



El Color del Producto: Indicador Clave de la Calidad

La mayoría de los consumidores piensan que si la apariencia es buena, el producto es bueno, sin embargo, mantener el color idóneo en los alimentos es todo un reto.

Diferentes temporadas de cosecha, ingredientes, aditivos, variaciones en el proceso y métodos de almacenamiento pueden afectar al color del alimento. Resulta esencial que el color sea analizado en todas las fases del proceso. Los instrumentos de HunterLab ofrecen una medición de color objetiva, cuantitativa y precisa para Investigación y desarrollo, control de calidad, control de proceso y clasificación.



Hoy en día, la mayoría de las compañías alimenticias de primer nivel usan instrumentos HunterLab. Hay una buena razón para ello. Los alimentos ofrecen un desafío singular para la medición ya que cuentan con una amplia variedad de tamaños, formas, texturas y características ópticas. Los instrumentos



HunterLab están diseñados para responder a este reto.

Midiendo Semi-Sólidos Translúcidos.

ColorFlex® es el sistema de medición de color más popular de HunterLab para el mercado alimenticio. Su completa gama de accesorios



para el manejo de muestras y su práctica orientación con el puerto de medición hacia arriba, permite una medición sencilla de una amplia variedad de muestras, incluyendo materiales sólidos, polvos, pastas y líquidos translúcidos o transparentes.



- Económico, auto-suficiente.
- Múltiples accesorios para el manejo de muestras.
- Almacenamiento de datos y tolerancia pasa/falla.
- Compatible con el software EasyMatch® de HunterLab.

Asimismo, si con el ColorFlex® no se da solución completa a la demanda de sus análisis, hay una gran variedad en el catálogo de HunterLab, no sólo de instrumentos para la medida del color, sino también de accesorios para facilitar la presentación de muestra para su análisis. Podrá medir productos opacos, translúcidos y transparentes con facilidad y lo que es más importante, reproducibilidad.





Nuevo software de análisis de imagen multidimensional Nikon NIS-ELEMENTS

El nuevo software de análisis multidimensional NIS-ELEMENTS le permitirá solucionar sus necesidades de captura, archivo y análisis de imagen mediante una única plataforma en la que microscopio y cámara quedan perfectamente integrados.

Solución total para análisis de imagen

NIS-ELEMENTS le ofrece una "solución total en imagen" que permite el control mediante una única plataforma de los microscopios motorizados Nikon, de toda la línea de cámaras digitales Nikon, así como de otros dispositivos de diversos fabricantes tales como platinas motorizadas, obturadores, ruedas de filtros o divisores de emisión entre otros.

El software NIS-ELEMENTS se encuentra disponible en tres niveles diferentes, en función de las necesidades de cada usuario:

- **NIS-ELEMENTS AR** (Investigación Avanzada) permite la adquisición automatizada y el análisis de imágenes tomadas hasta con 6 dimensiones: X, Y, Z, tiempo, longitud de onda y multipunto (en combinación con platinas motorizadas).

- **NIS-ELEMENTS BR** (Investigación Básica) permite la adquisición y el análisis automatizado de imágenes

tomadas hasta con 4 dimensiones seleccionables entre X, Y, Z, tiempo, longitud o análisis multipunto.

- **NIS-ELEMENTS D** (Documentación) permite realizar tareas de documentación de imágenes de una forma sencilla e intuitiva.

Funciones avanzadas de adquisición de imágenes

NIS-ELEMENTS permite llevar a cabo análisis de imágenes automatizados hasta 6D configurando de una forma sencilla los siguientes parámetros de adquisición:

- Planos en Z: varias imágenes a diferentes distancias en el eje Z pueden adquirirse fácilmente configurando el control Z motorizado del microscopio.

- Imágenes de múltiple marcaje: pueden capturarse varias imágenes a diversas longitudes de onda mediante filtros predefinidos en el propio software o personalizando los mismos. El software permite combi-

nar, extraer o modificar el contraste de las diferentes imágenes obtenidas en fluorescencia así como combinarlas con una imagen de campo claro, contraste de fases, Hoffman o Nomarski DIC.

- Captura de Secuencias: la adquisición de imágenes en el tiempo se configura fácilmente definiendo el intervalo, duración y frecuencia de captura. Para la grabación de procesos muy rápidos, la función RAM CAPTURE permite altas velocidades de adquisición de imágenes enviando las mismas a la memoria RAM del ordenador.

- Experimentos multipunto: si el microscopio posee una platina motorizada es posible capturar imágenes automáticamente en varios puntos de la muestra en X, Y, (Z) durante el experimento.

Las diferentes imágenes obtenidas pueden guardarse en ficheros separados o en documentos nD (archivos multidimensionales con extensión ND2). El software permite guardar hasta 32 canales por imagen con una profundidad de color por canal de 16 bits.

Gran cantidad de herramientas de procesamiento de imágenes y funciones de medida.

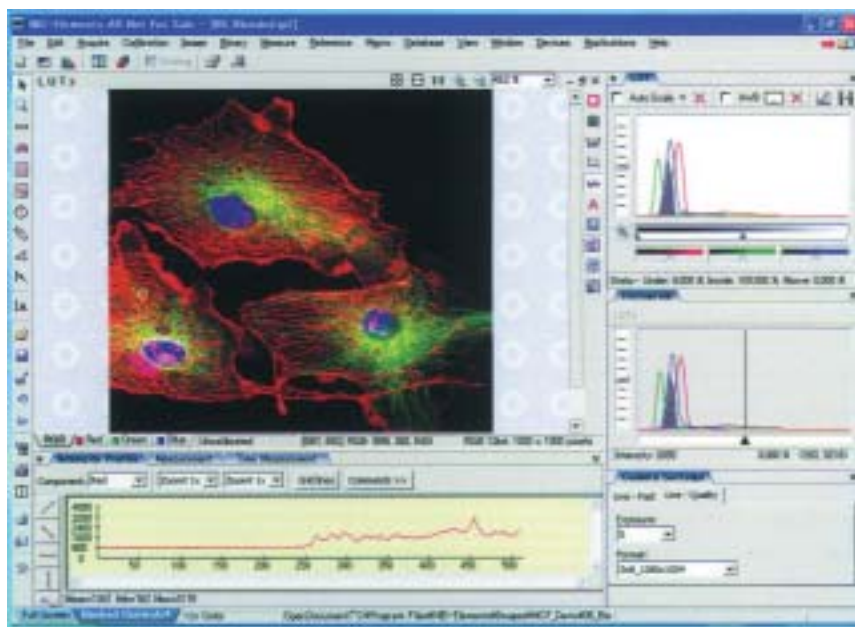
Entre las herramientas de procesamiento de imágenes encontramos:

- Ajuste del color: ajuste del contraste, substracción del fondo y mezcla de los componentes de la imagen entre otros.

- Filtros: filtros de suavización, perfilado, detección de bordes, etc.

- Filtros morfológicos: erosión, dilatación, funciones de separación morfológica, funciones de rellenado





(rellenar agujeros, etc.), funciones de esqueletonización y otras (bordes, zonas de influencia, etc.).

- Solapamiento de canales (“Merge Channels”): la función “Merge Channels” permite la creación de una imagen fusionada a partir de diferentes imágenes capturadas con diferentes filtros ópticos y bajo diferentes configuraciones de cámaras. Combina planos de color guardados en archivos separados para formar una imagen RGB.

- Aritmética de imágenes: suma, resta, máximo y mínimo en imágenes en color.

- El módulo Large Images (Teselado de múltiples imágenes) permite la combinación de múltiples imágenes adyacentes en una única imagen de gran tamaño.

Asimismo, el software posee potentes funciones de medida:

- Perfiles de intensidad interactivos, con cinco tipos de perfiles a elegir: línea libre, línea entre dos puntos, línea horizontal, línea vertical y poli-línea.

- Medidas de intensidad en el tiempo, tanto en imágenes fluorescencia como para campo claro, con-

traste de fases, Hoffman o Nomarski DIC. Estas medidas pueden realizarse en una o varias zonas de la muestra al mismo tiempo y pueden ser llevadas a cabo directamente en la imagen en vivo.

- Medidas interactivas: área, perímetro, distancias horizontales, verticales y arbitrarias, ángulos, conteo y clasificación de estructuras.

- Medidas automáticas. NIS-ELEMENTS permite medir automáticamente alrededor de 30 parámetros diferentes de la muestra incluyendo medidas de longitud, área, forma, uniformidad, densidad y parámetros colorimétricos.

Funciones de presentación de imágenes y captura:

La interfaz gráfica, la disposición de las diferentes ventanas y los menús de NIS-ELEMENTS pueden personalizarse por cada usuario para mayor facilidad de uso.

NIS-ELEMENTS posee un generador de informes que permite al usuario crear informes personalizados que contengan imágenes, descripciones de la base de datos, datos de medida, textos varios y gráficos. Permite la creación de ficheros en formato PDF.

NIS-ELEMENTS es compatible con todos los formatos de fichero más comunes como JPEG2000, TIF, JPG, BMP, AVI, ICS/ISD y ND2.

El formato JPEG2000 utiliza una avanzada estructura multicapa que permite incluir, sin dañar la imagen original, anotaciones (flechas, líneas y notas de texto), datos de medida, datos binarios para el guardado de umbrales e información sobre la configuración del hardware al adquirir la imagen. Permite la grabación de imágenes con una muy eficiente compresión sin pérdida de calidad.



El formato ND2, específico de NIS-ELEMENTS, permite archivar el conjunto de imágenes adquiridas durante los experimentos multidimensionales en un único fichero (documento nD), junto a las condiciones experimentales y configuraciones del hardware utilizadas (calibración, anotaciones, información, etc.).

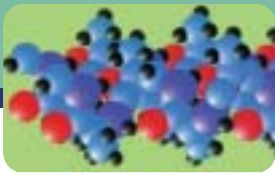
Expansión del software:

NIS-ELEMENTS puede ser expandido con varios módulos que permiten aumentar su funcionalidad.

- Módulos de deconvolución en 2D a tiempo real o en 3D.

- Módulo EDF (Extended Depth of Focus – Profundidad de enfoque extendida).

- Base de datos.



Sistema completamente automatizado para el cultivo de células adherentes en el MICROLAB STAR de HAMILTON “CellHost”

La demanda de las células de mamífero en la investigación farmacéutica y la biología celular está aumentando constantemente.

La evaluación de los candidatos de una droga se basa en su efecto biológico sobre los cultivos de células en Ensayos biológicos de alto rendimiento (HTS) mientras que el comportamiento y la toxicidad metabólicos de compuestos nuevos se prueban en ensayos ADME-T basados en células. La investigación básica confía numerosas líneas celulares y células primarias, que constituyen una herramienta para la aclaración de mecanismos básicos de la proliferación, diferenciación y funcionamiento de la célula. En este ámbito, las células madre embrionarias están ganando importancia como sistema modelo. Además de su enorme potencial de diferenciación, estas células, poseen la capacidad para la autorenovación ilimitada, que facilita su modificación genética de forma eficaz. Las limitaciones de los procedimientos actualmente usados en cultivos celulares, incluyen la carencia de la estandarización asociada a reproductibilidad pobre y a rendimiento de procesado escaso. Así, la

disponibilidad de células puede convertirse en un cuello de botella en la cadena lógica de experimentos. HAMILTON y Life&Brain han combinado su maestría en el desarrollo de un sistema para el cultivo automatizado de células primarias, líneas celulares y de células madre embrionarias que proporciona un gran número de células de alta calidad.

Equipo y Materiales

Equipamiento

- MICROLAB® STAR, 8 channels, 1000µl con manipulador de placas (iSWAP) y carga automática.
- Inclinator de placas HAMILTON para cambios de medio de cultivo.
- Incubador Kendro Cytomat 6000 para 153 SBS 6-well plates o 189 96-well plates (ampliable hasta 1000 placas), incluyendo regulación de CO₂, lector de código de barras y 400mm de pista lineal.
- Incubador Kendro Cytomat 2 C450 para 20 contenedores de medio, incluyendo regulación de CO₂, lector de código de barras y 400mm de pista lineal.
- Cabina de flujo laminar Bigneat con filtros HEPA y de carbón activo.
- Agitador termostático CAT SH 25/26 para placas, 20mm amplitud max., 50-200/min.
- 20 tubos de medio con tapón, autoclavables 300ml max., 200ml volumen de trabajo.

El núcleo del sistema es la estación de pipeteo MICRO-

LAB® STAR equipado con la tecnología de pipeteo por desplazamiento de aire positivo. Esto elimina el uso de tubos, de las bombas o de los líquidos en el sistema, reduciendo así perceptiblemente el riesgo de la contaminación por crecimiento bacteriano. Un brazo robotizado – iswap - manipula las placas de cultivo con el estándar SBS en la plataforma del robot. Uno ó dos incubadores de Kendro se integran completamente en el sistema (fig 1).

Los procesos manuales típicos como la agitación de la placa son imitados perfectamente por los movimientos robóticos análogos.

Software

El sistema es controlado por un PC estándar y el software abierto y flexible Microlab Vector de Hamilton para el control de proceso y la integración de componentes de otros fabricantes.

Optimización del seguimiento de datos y programador de tareas

Cada operación en cada una de las placas es supervisada y seguida a través de la base de datos Celltrack, permitiendo el manejo de complejos procesos, y bajo regulaciones CRF21/11. Celltask permite programar los procesos, haciendo tareas repetitivas más fáciles.

Método

Procesos típicos

Los procesos típicos para los que está pensado el sistema son:

- Cambio de medios en placas de cultivo celular durante funcionamiento pre-programados.
- Cosecha de cultivos celulares después de la trypsinización.



Figura 1: Sistema de cultivo celular completamente automatizado basado en la plataforma MICROLAB STAR. El sistema se encuentra dentro de una cabina de flujo laminar y se sirve de dos incubadores Kendro externos (4°C/37°C)

- Dispensación en placas de células para establecer crecimiento homogéneo en los pocillos.

- Adición de los factores del crecimiento o de sustancias farmacológicamente activas a los cultivos celulares.

Un cambio típico del medio se realiza durante un funcionamiento nocturno de la siguiente manera:

- Las placas del interés son seleccionadas por una lista de trabajo.

- La cantidad apropiada de medio en los contenedores es calculada y requerida al incubador en frío; el contenedor con el medio entonces se transfiere a una posición en caliente.

- La primera placa se transfiere de la incubadora caliente a la estación de pipeteo y se elimina el medio residual (Fig 2).

- Se cambia el medio usando puntas desechable o de acero lavables.

- La placa se transfiere de nuevo a la incubadora.

El sistema es capaz de cambiar 2ml de medio en una placa de 6 pocillos en menos de 340 segundos.

Resultados

El sistema CellHost ha sido validado usando células madre embrionarias, uno de los paradigmas más sensibles en el cultivo celular.

Viabilidad de las células después del pipeteo (dispensación en placas, recolección).

La dispensación en placas con Cellhost conduce a la distribución homogénea de la capa de células

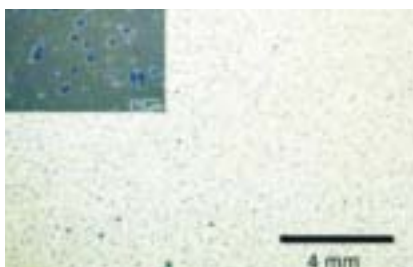


Figura 2: Observación microscópica de las células madre embrionarias de murina plaqueadas e incubadas en el sistema CellHost. La inserción muestra un detalle ampliado. Las células fueron marcadas para la actividad de la fosfatasa alcalina, un marcador de la pluripotencia.

madre de murina (Fig 2). Una distribución uniforme de células es particularmente importante en el caso de las células madre embrionarias, puesto que la formación de los grupos celulares conduce a la diferenciación incontrolada. Para alcanzar este resultado, los movimientos manuales típicos para distribuir las células a través de la placa son simulados por el brazo robótico (iswap).

Capa intacta de células después de cambiar el medio.

Uno de los procesos más frecuentes que ocurren en el cultivo celular es el cambio de los medios. Para



Figura 3: Inclinador de placas HAMILTON manipulando placas de cultivo para facilitar la eliminación completa del viejo medio.

reducir al mínimo el volumen residual, las placas de la cultura de células se levantan de un lado (Fig 3), y el medio se aspira cuidadosamente en el punto más bajo del pocillo. El nuevo medio se dispensa lentamente en el borde del pocillo, evitando así cambios en la capa de células. La investigación microscópica demuestra la integridad de la capa de células (Fig. 4a) - en contraste marcado a un experimento manual menos cauteloso (Fig. 4b).

Crecimiento celular

Las células madre embrionarias cultivadas con el CellHost conservan su morfología típica después de la dispensación de placas y del cambio de medios (Fig 2, inserción). El grado de diferenciación espontánea no excede el grado observado en cultivos tratados manualmente. El mantenimiento del estado pluripotente es verificado por la detección histoquí-

mica de la actividad de la fosfatasa alcalina. La viabilidad celular tras un cultivo de 48 horas es comparable a la obtenida en un experimento controlado manualmente. No hay contaminación perceptible usando puntas de acero lavables.

Discusión

Los resultados de este estudio demuestran la viabilidad de automatizar el cultivo de células madre embrionarias. El sistema usado aquí tiene la ventaja de estar basado en métodos manuales y en estar libre de componentes llenadores de líquidos y tubos. Las células sobreviven fácilmente a varios procesos de pipeteo tales como la dispensación de placas y repetidos cambios de medios. La observación microscópica demuestra que la morfología típica de las células madre embrionarias se conserva. Además, no se puede observar ningún aumento en la diferenciación espontánea comparada al control manual. El sistema funciona libre de contaminación. Cabe esperar que los procesos desarrollados para el cultivo delicado de las células madre embrionarias se pueden trasladar a otros tipos de célula menos sensibles, de uso general en pruebas toxicológicas y en investigación farmacéutica. La vía está abierta ahora a la automatización adicional de variedades de células como CaCO_2 de aplicaciones downstream tales como los ensayos con genes trazadores. Con la automatización de los cultivos celulares la reducción de la carga de trabajo manual para las industrias farmacéuticas y de biotecnología es una realidad a su alcance.

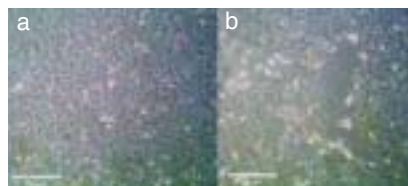
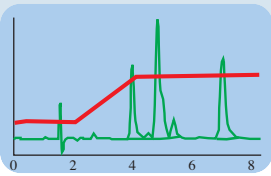


Figura 4: Observación microscópica de una capa de fibroblastos inmediatamente después del cambio de medio con el MICROLAB@STAR en el sistema de Cellhost (a) y después de un cambio manual menos cuidadoso de los medios (b). El proceso robótico deja la capa de células intacta.



Muestras con matrices complejas con el Shimadzu

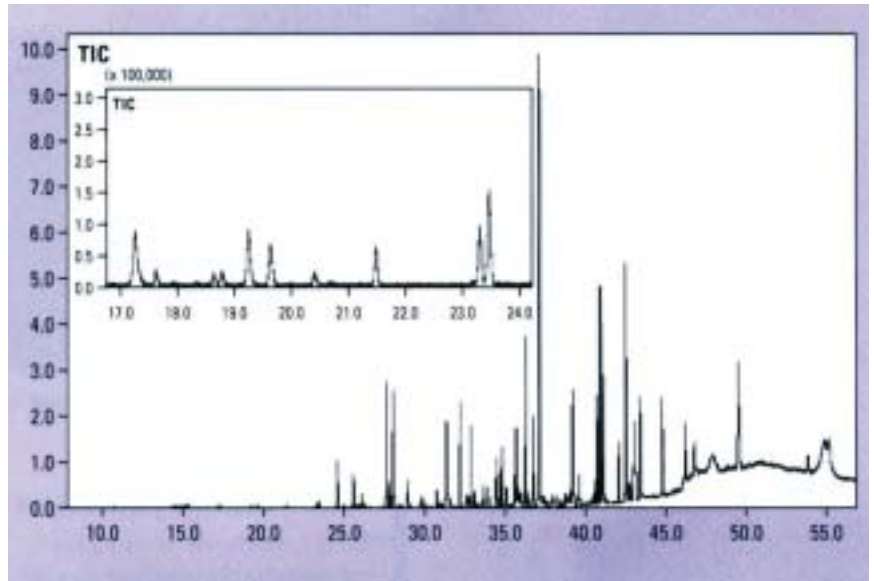
GCMS-QP2010 de

DMI (Difícil Matrix Introduction) en cosmética.

Las matrices complejas son muy frecuentes en numerosos campos de aplicación de la cromatografía de gases. Por ejemplo, las encontramos en muestras de medioambiente, alimentación o en el sector de la cosmética. Para estas matrices difíciles, la técnica DMI es una herramienta muy potente.

En este artículo se presenta la contribución de esta técnica para el análisis de productos de cosmética como barra de labios, jabón, champú, lociones,...El estudio de la huella, identificación de compuestos desconocidos y cuantificación de compuestos conocidos se puede hacer sin ninguna preparación de muestra.

Si la identificación de fragancias en cosméticos perfumados es necesaria, esta se puede hacer en un único análisis simultáneo al scree-



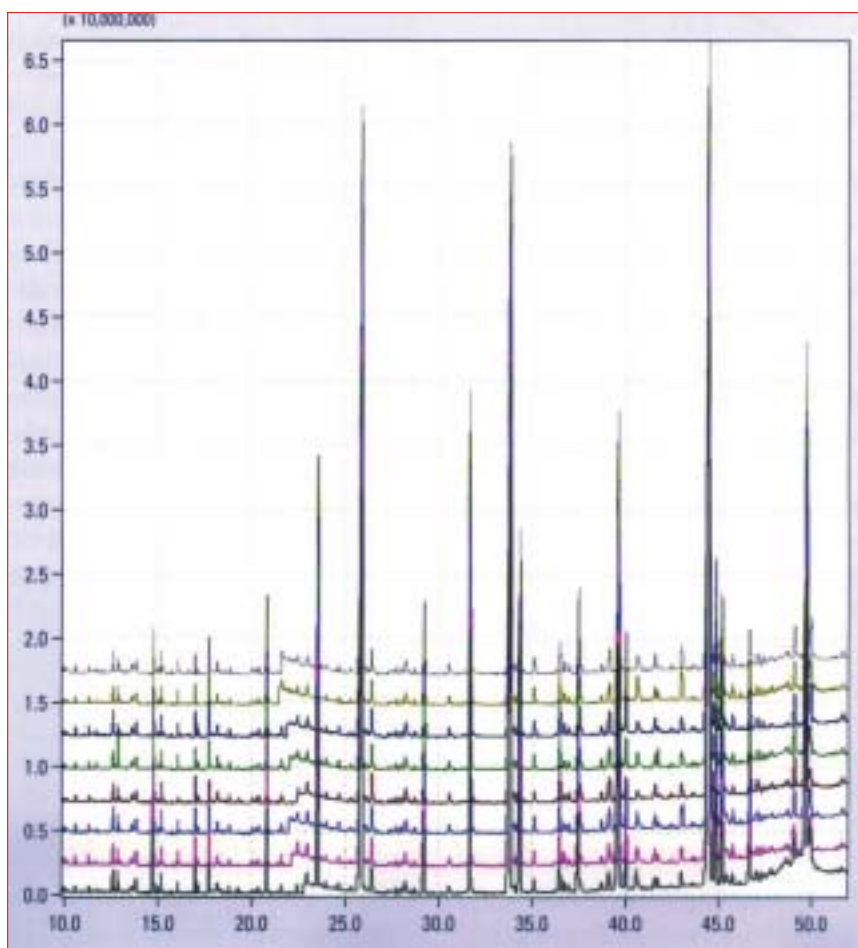
ning por DMI-GCMS, ya que este equipo puede llevar acoplado un puerto olfativo (PHASER). Al final de la columna la corriente de helio se divide en dos, una directamente conectada al espectrómetro de masas y la otra al PHASER. El tiem-

po de retención para ambas líneas es prácticamente el mismo.

El análisis de productos de cosmética es difícil debido a que se trata de matrices complejas de emulsiones de agua y aceites, y los compuestos buscados habitualmente se encuentran en concentraciones muy bajas. La transferencia de agua o aceites al GC tiene unas repercusiones muy malas para los resultados de los análisis, de forma que las muestras se someten a procesos laboriosos de extracción y Clean-up para aislar en la medida de lo posible los compuestos buscados.

Una alternativa a ese laborioso proceso de eliminación de la matriz es el llamado DMI (Difícil Matrix Introduction). En esta técnica se utiliza una pequeña cantidad de muestra depositada en un vial que se introduce automáticamente en el inyector





del cromatógrafo. El inyector, con la muestra en su interior, se calienta hasta la temperatura adecuada para transferir todos los compuestos de interés a la columna. Solo los compuestos vaporizados a esa temperatura son extraídos de la muestra y concentrados en cabeza de columna, por estar ésta a una temperatura inferior a la del inyector. Gracias a que ningún compuesto no volatilizado se transfiere a la columna, no se produce la contaminación de ningún módulo del cromatógrafo.

Instrumentación

El inyector utilizado en este estudio fue un OPTIC3 (ATAS GC Int'l, Holanda). Se instaló en un GCMS-QP2010 (Shimadzu Corp, Japón). La

corriente de helio se dividió en dos corrientes, una al espectrómetro de masas y la otra al PHASER (puerto olfativo).

Con el fin de automatizar al máximo los análisis se utilizó un intercambiador de liner automático (LINEX, ATAS Int'l, Holanda) (fig 1). Las cantidades de muestra tomadas para el análisis por DMI están entre los 8mg para jabón en polvo, hasta los 12 mg para el caso de champú.

Reproducibilidad

Una de las ventajas del DMI es que requiere cantidades de muestra muy pequeñas. Por el contrario esta ventaja puede ser un inconveniente en el caso de muestras poco homo-

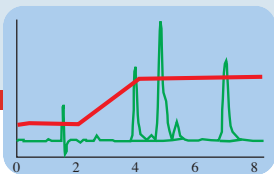
géneas. Para determinar la reproducibilidad del análisis por DMI se procedió al análisis consecutivo de varias muestras de detergente en polvo, utilizando la máxima cantidad posible en los microviales. El calentamiento se realizó en modo split (1:40). La desorción se hizo con una rampa de 5°C/s hasta 250°C. La reproducibilidad, con 10 ensayos, para el tiempo de retención fue del 4% y para las áreas de alrededor del 10%.

Screening de Champú

Los perfumes en los productos de cosmética suelen ser la causa de gran parte de las dermatitis por contacto de agentes alergénicos. Por esta razón la cuantificación de estos compuestos es uno de los aspectos más importantes en el control de calidad. Con el DMI es posible la identificación y cuantificación de estos compuestos alergénicos en niveles de concentración muy bajos sin ninguna preparación de muestra.

Esto reduce los costes de análisis y a su vez elimina la posibilidad de pérdida de compuestos alergénicos volátiles en el pretratamiento. Adicionalmente, se pueden identificar y cuantificar otros compuestos de interés dada la reproducibilidad de los análisis.

Compound	Área RSD %
Diethylene glycol	12.9
Triethylene glycol	10.9
1.2-Ethanediol, Monoacetate	5.0
Pentaethylene glycol	9.5
Heptaethylene glycol	12.4
Ethylene glycol monodoceyl ether	5.7



Nueva utilidad de la estación de trabajo HPLC

La cromatografía de permeación de gel, más conocida como cromatografía de exclusión (SEC), es una técnica muy extendida para el trabajo con polímeros naturales o sintéticos, con el fin de determinar pesos moleculares.

Durante el proceso de separación se obtiene una distribución de masas moleculares de todos los componentes de la muestra. Además, el software para GPC proporciona no solo un valor numérico sino que permite la caracterización de una muestra de polímero.



Figura 1

Aún así, para estos tipos de cálculos, como distribuciones másicas de polímeros, el software estándar no es suficiente. El análisis por GPC requiere de aplicaciones de software más complejas, lo cual supone que los usuarios deben enfrentarse a soluciones complejas, de diferentes firmas comerciales, complejas y con conversiones de datos con un consumo alto de tiempo.

La estación de trabajo LCsolution de Shimadzu ofrece la opción de un

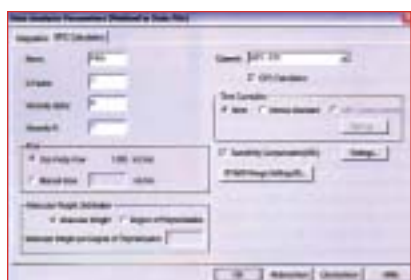


Figura 2

paquete de software para el tratamiento de datos por GPC. Esta opción de GPC se encuentra integrada completamente en la plataforma LCsolution y se activa con una licencia específica.

Características específicas de "GPC Postrun"

Los datos adquiridos por el LCsolution se pueden reprocesar sin la necesidad de conversiones adicionales en la opción GPC Postrun. Los parámetros característicos de GPC se pueden especificar en cualquier momento. En este sentido, todas las señales de cualquier detector de HPLC (incluso las 4 longitudes de onda obtenidas desde un detector de Array de Diodos). El método de GPC puede ser generado basándose en



Figura 3

un método de HPLC, incorporando los parámetros necesarios para el tratamiento de datos (fig.2).

Para las calibraciones se pueden usar hasta 64 puntos. Se pueden utilizar varios tipos de ajustes, dependiendo de las características y comportamiento de los polímeros, como son: punto a punto, lineal ó regresiones polinómicas de orden alto.

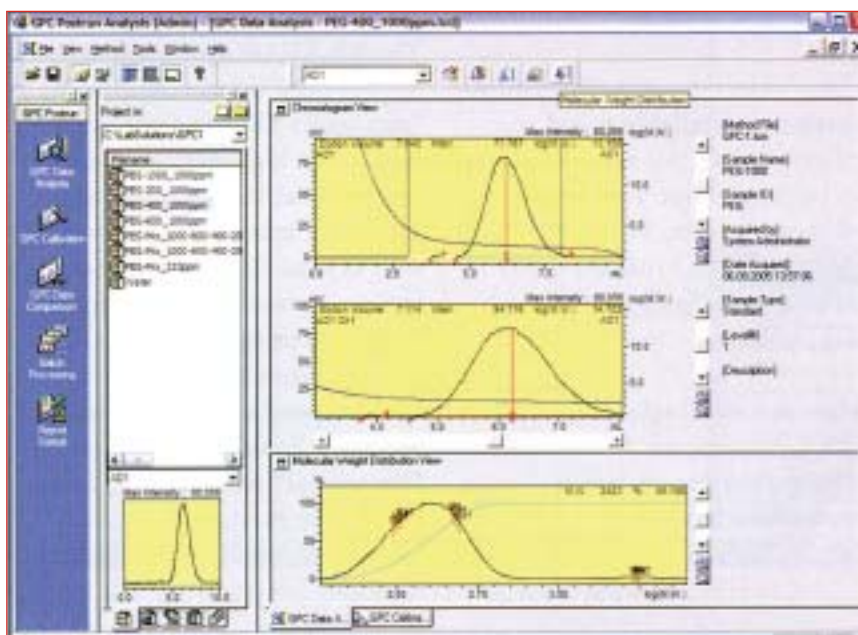


Figura 4

Una vez establecido el método GPC con la correspondiente información, y la curva de calibración se ha definido, la muestra desconocida puede procesarse mediante secuencias en "Batch Reprocessing", o abriendo los archivos de datos y recalculándolos individualmente. Al terminar el reprocesado aparecen instantáneamente los valores de masas moleculares (fig 4).

Después de los cálculos utilizando los parámetros de GPC, tanto las tablas de picos como los datos de las divisiones parciales (fig 6), quedan disponibles para poder visualizarlos en los informes, aparte de visualizarlos en la pantalla de "Postrun".

Para un rápido vistazo de toda la información importante en GPC, existe una función en LCsolution denominada "Data Comparison". Esta función permite visualizar hasta 10 cromatogramas con los datos de distribución másica y acumulativa (fig 7).

El software LCsolution proporciona plantillas predefinidas para la impresión de informes. Estas plantillas pueden editarse sin problemas con las herramientas proporcionadas por el LCsolution, y a su vez guardarse como plantillas definidas por el usuario. En la figura 8 se muestra un ejemplo de informe para GPC.

Todas las funciones del LCsolution así como el almacenamiento de datos y el cumplimiento con la FDA 21 Parte11 están disponibles, también para el módulo de GPC.

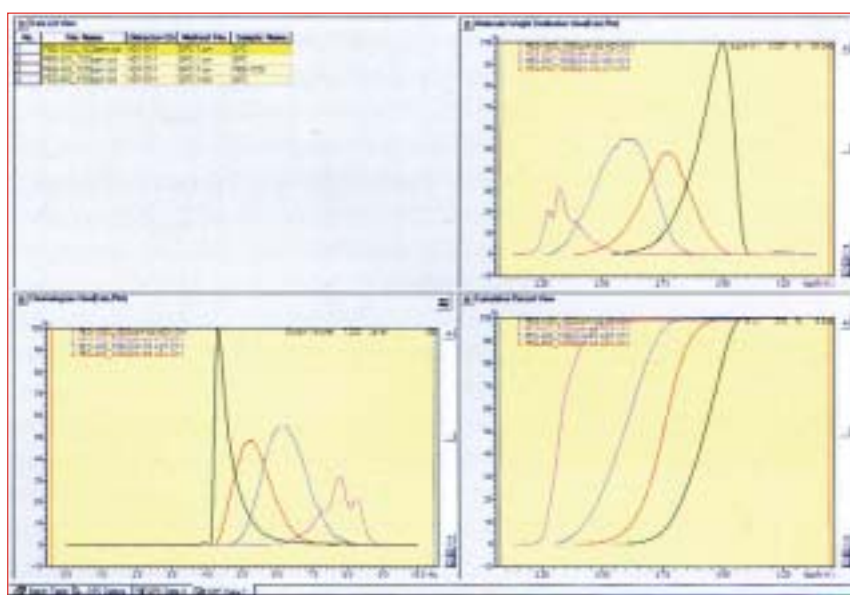


Figura 7

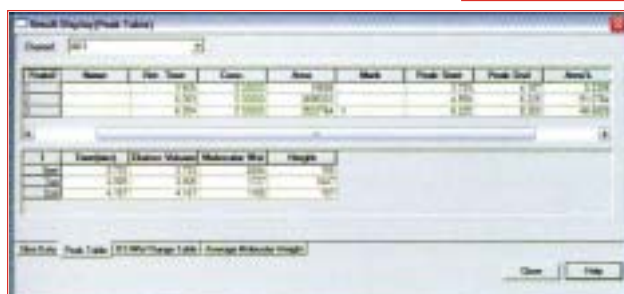
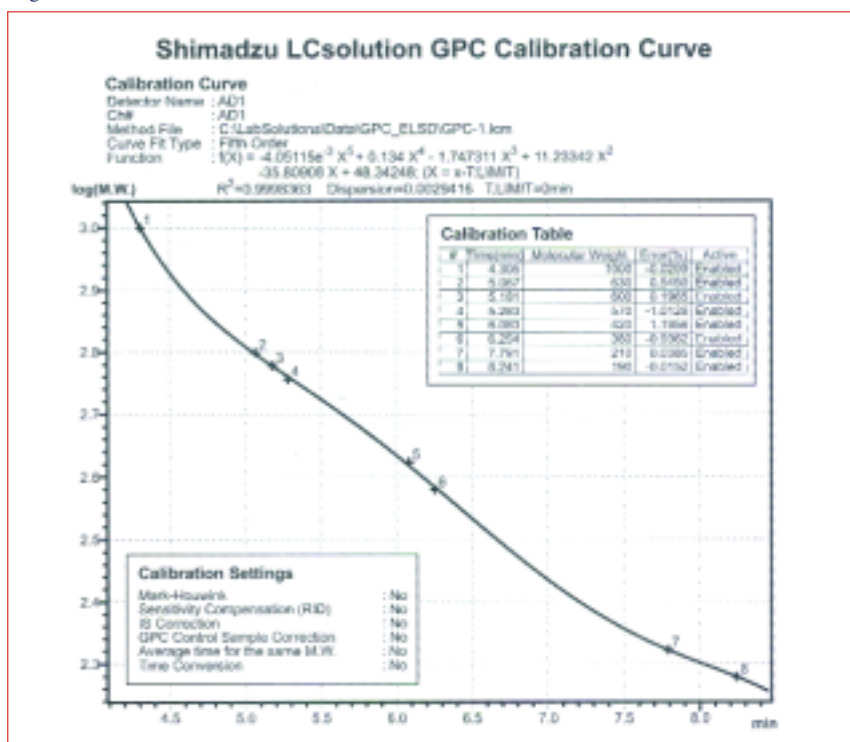


Figura 5

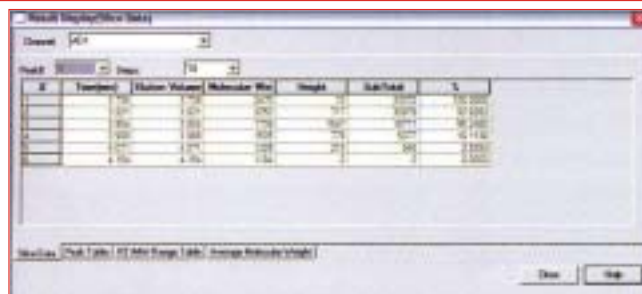


Figura 6



Metamorph-osis

MetaMorph 7.0, el software de análisis de imagen de Molecular Devices, combina las herramientas más flexibles y potentes para adquisición, procesamiento y análisis de imagen de aplicación general.

MetaMorph 7.0 ofrece ahora además, una serie de aplicaciones completas y específicas para las necesidades más exigentes de imagen en células vivas.

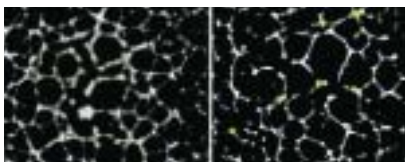
Nuevas Características de MetaMorph 7.0

Nuevos Módulos de Aplicaciones de Análisis

Ofrecen una alta productividad de resultados en análisis de imagen de aplicación biológica específica, ejecutando automáticamente los procesos de segmentación y cuantificación, mediante protocolos concretos:

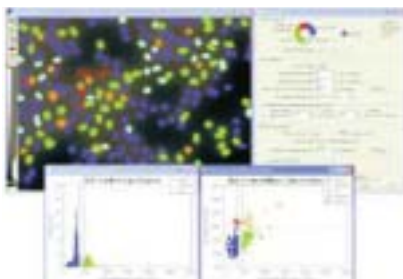
Angiogénesis:

Medida y caracterización de la formación de tubos endoteliales de vasos sanguíneos. Adquiere sets de imágenes en Z para obtener imágenes de los tubos en crecimiento en el interior de un soporte MatrigelTM.



Ciclo Celular:

De aplicación en investigación contra el cáncer. Obtención de gráficos codificados por colores asociados a 5 clasificaciones de las etapas del ciclo celular, dependiendo del proceso de tinción efectuado, y una sexta clasificación para tinciones de apoptosis.



Viabilidad Celular:

Mediante triple marcaje (nuclear, apoptosis, células muertas), permite clasificar las células en cuatro grupos: células viables, apoptosis temprana, apoptosis avanzada, y células necróticas. Validado para kits rutinarios: Vybrant #7 de Molecular Probes; Annexin V; JC-1 con Hoechst de BioMol Intl,...

En la imagen 1, imágenes de pocillos sucesivos: células control, 0,1 μ M Staurosporina, y 3 μ M Staurosporina. En la imagen 2, en verde células viables, en azul apoptosis temprana, en púrpura apoptosis avanzada, y en rojo necróticas.

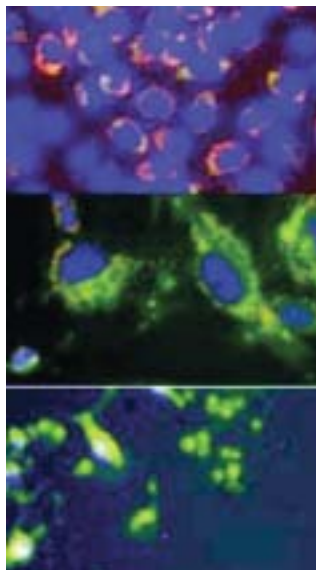


Imagen 1

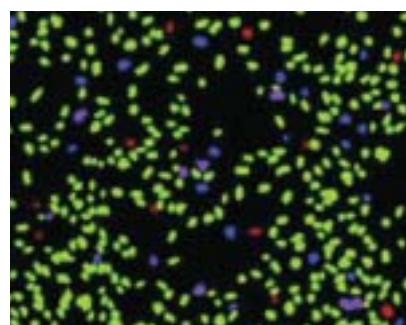


Imagen 2

Clasificador Celular:

En medida de eficiencias de transfección, adipogénesis,... De uso general, identifica subpoblaciones de células marcadas con una segunda sonda fluorescente, teniendo los núcleos también marcados con, p. ej. DAPI.

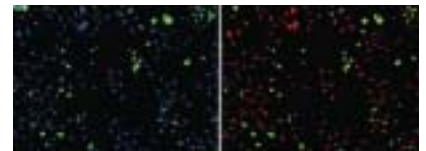


Imagen 3

Imagen 4

	A	B	C	D
1	Image Name	Cell: Classification	Cell: Nuclear Area	Cell: Cell Area
2	Dapi	Positive	57.8125	176.563
3	Dapi	Positive	57.8125	110.938
4	Dapi	Negative	104.688	104.688
5	Dapi	Negative	56.25	56.25
6	Dapi	Negative	123.436	123.436
7	Dapi	Negative	118.75	118.75
8	Dapi	Positive	45.875	56.25
9	Dapi	Negative	81.25	81.25
10	Dapi	Negative	104.688	104.688
11	Dapi	Negative	142.188	142.188
12	Dapi	Negative	121.875	121.875

Imagen 5

Imagen 3, doble marcaje; imagen 4, identificación de las dos sondas; imagen 5, datos de áreas citoplásmicas y nucleares para cada subpoblación clasificada.

Contador de Núcleos:

De aplicación en proliferación celular, migración,... El módulo identifica los núcleos basándose en su tamaño, tomando en consideración la luz del fondo, variable en cada zona, y separando los objetos que aparecen en contacto entre ellos.



Granularidad:

Identificación de tinciones punteadas, permite la detección consistente de gránulos incluso en condiciones de imágenes con mucho ruido y background no homogéneo.

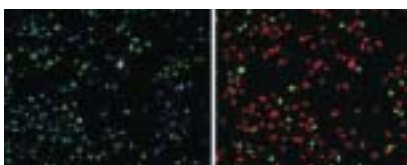
Admite adicionalmente un marcador nuclear, para efectuar contejes normalizados.

De utilidad en incorporación de GPCR y en ensayos de agrupamiento de moléculas diana.



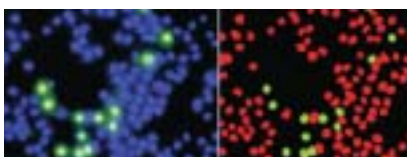
Células Vivas/Muertas:

Módulo concebido para proliferación y muerte celular, discrimina entre los dos marcajes de los diversos kits del mercado, con o sin contratinción nuclear. En la imagen, células CHO en placa de 96 pocillos, con apoptosis inducida mediante incubación con Staurosporina. Kit utilizado, Vybrant #7, de Molecular Probes.



Índice Mitótico:

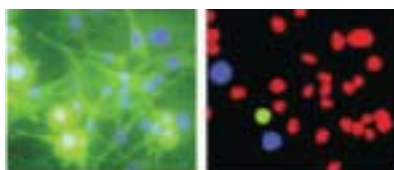
Identifica las células que han sido marcadas específicamente para fase M del ciclo celular, es decir, las de mitosis activa, y presenta resultados de proporción de células mitóticas respecto de no mitóticas.



Detección de Monopolos en Mitosis:

De utilidad en investigación contra el cáncer donde se pretenda estudiar la anomalía en la separación de

centrosomas y disrupción de la formación bipolar características del uso mitótico. Caracteriza las células teñidas en tres clases: interfásicas, bipolares y monopolares.



Proyecciones Neuríticas:

Medida y caracterización automática de la longitud y ramificación de las proyecciones axonales o dendríticas de neuroblastos en cultivo. En la imagen 6, adquisición de imagen a lo largo del tiempo. En la imagen 7, cada filamento es asignado a un soma determinado para poder obtener datos de los filamentos y cuerpos celulares individualizados.

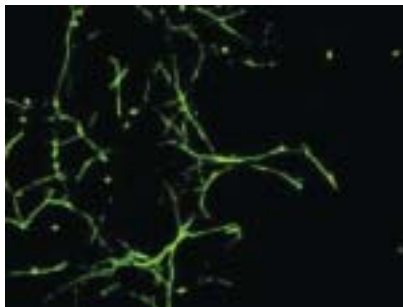


Imagen 6

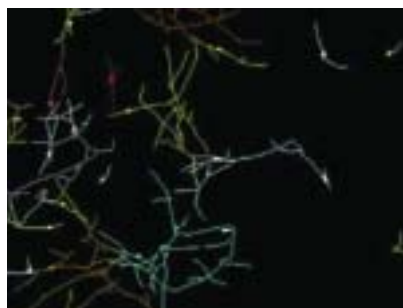


Imagen 7

Otras mejoras:

Visor 4D / Morfometría 3D

Programa visor de imagen especialmente diseñado para presentar conjuntos de datos multidimensionales (múltiple marcaje, planos consecutivos en Z, secuencias temporales,...) en forma de objetos 3D inter-

activos, y ofrecer medidas de su volumen.

Barrido de Portaobjetos

Adquisición, teselado y solapamiento automático de imágenes adyacentes en un porta, para obtener imágenes de ultra-alta resolución a partir de un área mayor que el campo visual de la cámara.

“Replay” en Vivo

Captura de eventos completos a medida que suceden en vivo, incluyendo datos previos y posteriores al evento propiamente dicho.

Otras aplicaciones de MetaMorph incluyen: Gestión de Imagen Multidimensional, Análisis de Motilidad, Fluorescencia Multicanal, FRET, FRAP, FISH, Visualización 3D, Morfometría, Segmentación Celular y Cuantificación, Colocalización, Medición de Intensidad y Luminosidad,...

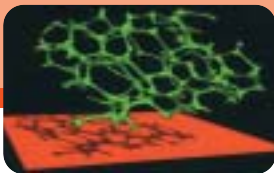
Nuevas Características de MetaFluor 7.0

Lanzador integrado para el software pCLAMP 10, de Axon, para realizar adquisiciones simultáneas de secuencias de imágenes y registros electrofisiológicos.

Otras aplicaciones de MetaFluor incluyen: Gestión de Imagen Ratio y Calcio, FRET, medición de pH, concentración iónica, intensidad a lo largo del tiempo, canales mediados por ligandos o voltaje,...

Además del desarrollo del software Metamorph, liderando la industria de análisis de imagen, Molecular Devices ofrece también la integración de todos los componentes de la estación de captura de imagen, para satisfacer un amplísimo rango de necesidades de captura.

Permítanos configurar el microscopio y sus componentes de imagen para Vd, implementando los dispositivos de máximo nivel entre un amplio rango de posibilidades de cámaras CCD enfriadas, ruedas de filtros, obturadores, enfoques motorizados, actuadores piezoeléctricos, platinas motorizadas XY, monocromadores, y otros dispositivos.



Visualización de estructuras tridimensionales mediante técnicas no destructivas de microtomografía

Hoy día existen numerosos equipos y técnicas a disposición de los investigadores, cada uno de ellos con grandes posibilidades pero también con limitaciones. Vamos a intentar describir cómo sería el microscopio ideal desde el punto de vista del usuario. Las características técnicas tales como la resolución espacial, el tamaño de muestra, etc. son importantísimas pero hay otros aspectos que están tomando una importancia cada vez mayor.

En los últimos años se ha observado una fuerte reorientación de los métodos microscópicos hacia el estudio de los objetos sin recurrir a métodos de preparación de muestra. Por esta razón ha habido un gran auge de los microscopios electrónicos de barrido de presión controlada. La visualización en el microscopio a bajo vacío y sin recubrimiento permite mantener la estructura natural de la muestra y examinar su comportamiento ante influencias externas (aplicación de presión, reacciones químicas, interacciones con otros sólidos, líquidos o gases, etc.)

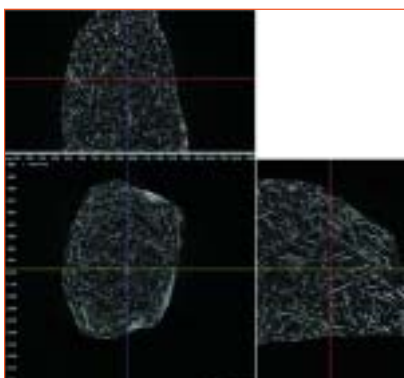
Otro asunto importante para la microscopía moderna es la información tridimensional. La mayoría de usuarios intentan reconocer la estructura interna tridimensional de un objeto a partir de micrografías en dos dimensiones. En la mayoría de los microscopios existentes puede visualizarse bien la superficie del objeto o bien una imagen de transmisión a través de una sección delgada.

da. Eso significa que la estructura interna tridimensional del objeto tan solo puede estudiarse de forma destructiva. Para obtener conclusiones debemos estudiar imágenes de su superficie o combinaciones de varias secciones delgadas. De cualquiera

en términos de microestructura del objeto. Aunque la mayoría de los microscopios incluyen o pueden combinarse con sistemas muy potentes de tratamiento de imágenes, la interpretación del contraste sigue siendo el principal problema. Por



Nanotomógrafo de rayos X - Skyscan 2011



de las formas, la información obtenida no es demasiado fiable. Incluso con los métodos de preparación de muestra y corte más delicados la estructura de la muestra puede cambiar de forma ostensible. Para seres vivos u objetos únicos ni siquiera es posible realizar secciones.

Otro aspecto significativo de la microscopía moderna es la interpretación cuantitativa de las imágenes

ejemplo, una micrografía bidimensional de la superficie de un objeto no permite deducir de forma precisa las características morfológicas ya que esto requeriría información de la tercera dimensión. Más aún, el contraste de la imagen no lo genera la morfología del objeto sino que viene determinado por otros factores como la composición. La interpretación puede mejorarse si se detectan varias señales de la misma zona del

objeto de forma independiente. Un ejemplo de eso en la microscopía electrónica de barrido sería la combinación de la imagen de electrones secundarios con el microanálisis de rayos X. Pero incluso en ese caso la interpretación es aún muy compleja. Por otro lado, puede obtenerse información micromorfológica fiable a partir de un conjunto de secciones delgadas que revelen únicamente información referida a la densidad, a partir de la cual se puedan calcular parámetros numéricos bidimensionales y tridimensionales de la microestructura tridimensional.

A este respecto, un “microscopio tridimensional ideal” desde el punto de vista del usuario debería satisfacer los siguientes requisitos:

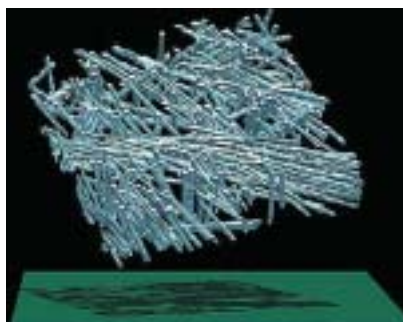
- El objeto debería poder examinarse en condiciones naturales o con la posibilidad de seleccionar el medio (químico, mecánico,...).

- Cualquier área del interior del objeto tridimensional debería poder visualizarse de forma no destructiva en 3D con el suficiente aumento.

- Las características numéricas de la estructura interna (morfología y composición) deberían poder deducirse en cualquier sección bidimensional o área tridimensional completa.

Considerando las técnicas microscópicas existentes, puede obtenerse información no destructiva de la estructura interna de un objeto en condiciones naturales por microscopía de rayos X de transmisión. La combinación de la técnica de rayos X de transmisión con la reconstrucción tomográfica permite la obtención de información tridimensional de la microestructura interna. En este caso cualquier área puede reconstruirse

como un conjunto de secciones planas que pueden utilizarse para analizar los parámetros morfológicos tanto en dos como en tres dimensiones. En los métodos de rayos X el contraste de las imágenes es una mezcla entre la información referente a la densidad y a la composición. En algunos casos la contribución de estas dos componentes puede separarse. Recientemente ha habido una mejora significativa en el desarrollo de los microscopios de rayos X usando fuentes sincrotrón. Sin embargo estas instalaciones son bastante complicadas y caras por lo que no son accesibles a la mayoría de los investigadores. Por otra parte, en los



últimos años se ha podido observar una constante mejora en la tecnología de las fuentes de emisión de rayos X de forma que se fabrican tubos sellados compactos de rayos X con microfoco con un tiempo de vida muy largo. Como estas fuentes emiten radiación policromática, no se puede recurrir a lentes de rayos X para obtener aumentos ópticos. Sin embargo, el pequeño tamaño de la sección del haz permite proyectar la imagen del objeto a un detector situado a gran distancia de modo que se obtiene un aumento geométrico. En este caso la resolución espacial está limitada por el tamaño de la sección del haz (Spot size). Actualmente, el spot size alcanzable está en varias micras pero el continuo desarrollo tecnológico permite

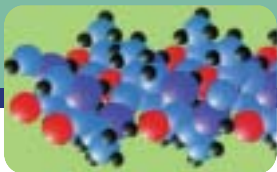
esperar fuentes de rayos X en el rango submicrométrico en los próximos años.

Nanotomógrafo de rayos X - SkyScan 2011

El nanoescáner de rayos X de sobremesa “SkyScan 2011” consta de una fuente de rayos X de tipo abierto con un cátodo de LaB6 20-80kV/100-200 μ A, un sistema de alto vacío compuesto por una bomba turbomolecular y una bomba previa de tipo rotatorio, una cámara CCD y un rápido ordenador externo con procesador Dual Intel Xeon. Para la reconstrucción microtomográfica se toman imágenes de transmisión de rayos X a 200 – 3600 vistas rotacionales a lo largo de una rotación de 180 o 360 grados. Tanto la fuente de rayos X como la cámara están controlados por el ordenador. El sistema está adecuadamente protegido contra la fuga de rayos X.

En su forma estándar el detector de rayos X consta de una cámara CCD digital de 12 bits con 1280x1024 píxeles.

Para la reconstrucción microtomográfica se ha desarrollado un paquete de software especial. El algoritmo de reconstrucción está basado en la reconstrucción de haz cónico Feldkamp para la adquisición circular y en espiral con correcciones específicas para la reducción de ruido. La reconstrucción de una sección de 1024 x 1024 píxeles de punto flotante a partir de 200 proyecciones toma menos de 1 segundo. El paquete de software incluye también procesamiento de imágenes y análisis, estereo-visualización, visualización tridimensional con posibilidad de rotar y cortar el objeto tridimensional de la pantalla por software.



¿De quién son estos tubos...?

Cualquier persona que haya trabajado en investigación, seguramente ha oído esta frase, u otras semejantes, en infinidad de ocasiones.

La historia se repite diariamente en un buen número de pasillos atestados de -80, a lo largo de los diferentes Centros de Investigación y Universidades de nuestro país. El mismo patrón se sucede día tras día: M.L.G. marchó del laboratorio hace 3 años para hacer su Postdoc en USA, tras una brillante Tesis Doctoral, que generó un número indeterminado de muestras, las cuales rotuladas a mano se distribuyen por un número desconocido de refrigeradores y congeladores, depositadas en contenedores de todo tipo (crioviales, tubos de tapón rojo mal cerrados, de esos que no se pueden meter en el congelador porque se abren, eppendorf sin rotular en cajas de cartón (aplastadas), bolsas, viales de distintos tamaños, y algún que otro vaso de plástico tapado con un gurrúño de papel.) De hecho, en el momento de marcharse, dijo que dejaría una lista de las muestras que había preparado para esa colaboración tan importante y de la que finalmente ha llegado el

momento. M.L.G. insiste en que dejó la lista a J.L. , pero este dejó el laboratorio hace dos años, y no se ha vuelto a saber más de él... "es igual, me acuerdo donde estaban... En mi balda, en el segundo congelador del pasillo, al fondo a la derecha, detrás de unos chasis, hay una caja de cartón blanco con cinta roja. Debajo en una bolsa de auto-cierre sin marcar, están los sueros metidos en criotubos de los grandes..... ¿En qué congelador dices? ... En el segundo, en el que está al lado de la Ultra...Ah, ese debe ser el que se quemó hace dos años. Por cierto, todo lo que había dentro se descongeló, pero finalmente lo pudimos meter a mogollón en uno que nos dejaron los de la cuarta, que por cierto, cada vez que me los encuentro me recuerdan que tengo que sacarlo de allí.

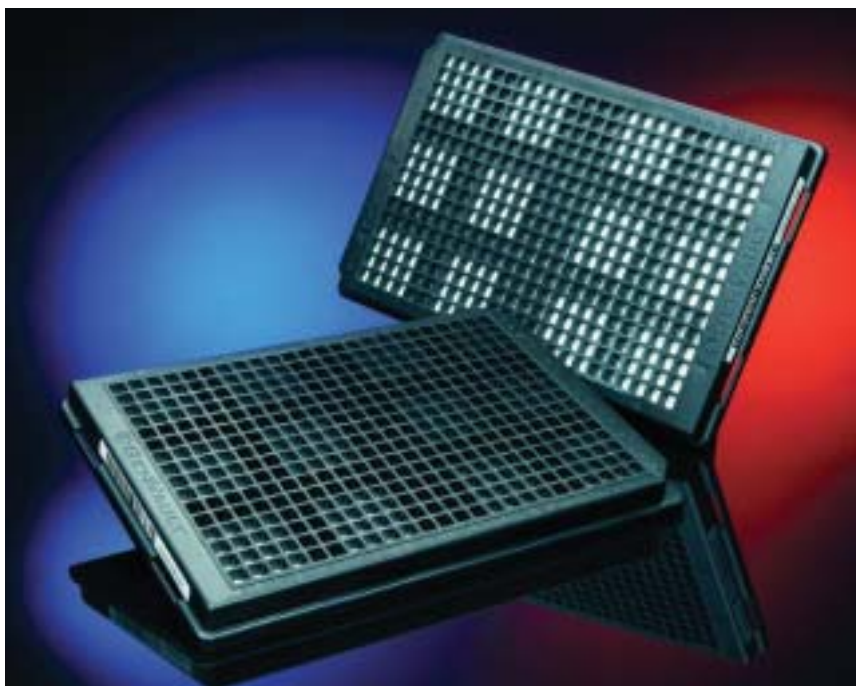
Mientras tanto, en la cuarta, alguien desesperado de preguntar por el propietario de esos tubos abiertos rotos y sin rotular, decide

que ya está bien y que los tira a la basura. Alguien acaba de perder la publicación de su vida, esa que le garantizaría el currículum necesario para obtener la plaza y acaba finalmente trabajando en una inmobiliaria, *con todo mi respeto al gremio*, mientras la curación de una importante enfermedad se ve retrasada tres años por la pérdida de unas muestras irrepetibles...

A diferencia de lo que dicen los Telefilmes americanos, esta historia no es mera ficción, y el parecido con la realidad, lejos de ser mera coincidencia, es deliberado. En la investigación pública española, y esto no pasa en la empresa privada, hay un descontrol generalizado de los millones de muestras que se generan anualmente. Historias como la anterior abren el debate de un cierto número de problemas, algunos de ellos tan serios como el de si merece la pena la inversión pública de grandes cantidades de dinero que acabará desperdiciado en el Babel de congeladores. Pero dado que este no es el foro para asuntos de tanto calado político, podemos concentrarnos en los aspectos meramente técnicos.

Tú que entiendes esta letra... ¿Aquí pone CB4 ó CR4?

Historias como la anterior, dejarán de producirse el día que los centros de investigación decidan normalizar el manejo y archivo de las muestras. La utilización de contenedores normalizados es algo relativamente sencillo de imponer, dado que habitualmente se trata de compras centralizadas, no costaría mucho esfuerzo convencer a los investigadores que utilicen siempre el mismo tipo de tubo para el mismo tipo de muestra, y el mismo tipo de caja para todos los congeladores. Hasta aquí ha sido fácil, pero la cosa se complica en el momento de rotular el vial. Por cierto: ¿Las dos primeras letras son las iniciales del becario o del donante? ,



Genplates

¿El número es el de la serie de experimento o corresponde a la posición en la placa original empezando a contar por el A1?. Finalmente, ¡qué mala letra tiene este chico!, no se sabe si es una B ó una R. Hace falta un mes de trabajo, y unos cuantos miles de euros en reactivos, para llegar a la conclusión de que "o hemos hecho algo mal, o debía de ser la muestra CB4 no la CR4.....Habrá que repetirlo".

Esta situación es mucho más complicada de manejar, y tiene su origen en dos asunciones falsas :

- 1.- Mis muestras son mías y las marco como me da la gana.
- 2.- Yo ya me entiendo...

¿Quién ha metido la mano aquí?

Desde luego, el ejemplo anterior puede estar bien como sistema de protección de la propiedad intelectual, en tanto que esto hace que las muestras sean perfectamente inútiles para cualquiera que no sea su propietario. Esto tiene su mérito, especialmente si pensamos que en los congeladores de los pasillos "mete mano" el que le da la gana, y nadie respeta nada. "Por cierto, a ver si nos acostumbramos a no estar buscando cosas con la puerta abierta, que luego la temperatura cae mucho, y los compresores se acaban quemando..." "es que alguien lo ha reordenado todo, y me a cambiado la caja de mis enzimas de sitio, y las ha dejado al fondo del todo, y he tenido que sacarlo todo y volverlo a meter..." "Pues ten cuidado con esas muestras, que como se descongelen ya las puedes ir tirando..." Definitivamente tenemos un problema de espacio. Este congelador esta completamente lleno, en buena medida de hielo, habrá que comprar otro con el dinero del proyecto que acabamos de conseguir. El problema es donde lo colocamos. Pues ahí, junto al ascensor, aunque haga un poco de calor, pero es que no hay más sitio (por cierto, a los dos años se quemará el motor por el sobreesfuerzo). De hecho, el congelador debería pagarlo el Centro, pero casi

es mejor no decir nada, o no lo dejaran ponerlo en este pasillo. Al final, hasta nos acabaran pasando un cargo por el consumo eléctrico.

El problema del almacenamiento y manejo de muestras.

Podríamos seguir poniendo ejemplos como los anteriores, que a todos nos resultarían familiares, pero por ir resumiendo, el problema finalmente se centra en dos puntos. La primera discusión que se abre es la referente a la propiedad de las muestras. El sentido común dice que el propietario de las mismas debiese ser el Organismo que financia el estudio. Esto, que es una realidad obvia en la empresa privada, no lo es tanto en el entorno de la investigación pública, al menos, la percepción del investiga-



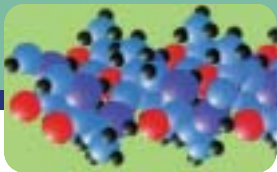
dor es que las muestras "son suyas". Sin entrar en consideraciones legales, esto tiene como efecto secundario el rechazo que muchos investigadores presentan a la idea de perder el control directo y personal de sus muestras al cederlas a un sistema de archivo y manejo centralizado de las mismas. Esto prima incluso sobre la evidencia de que las muestras distribuidas por los miles de congeladores de los pasillos están mucho más expuestas a accidentes, manipulaciones incontroladas, pérdidas de trazabilidad e incluso sabotajes. Además, el empleo de sistemas centralizados, implica necesariamente un mayor esfuerzo en la documentación de las mismas. La necesidad de rellenar formularios, de emplear cosas tan poco familiares como códigos de barras y referencias, y lo que es peor, dejar en un sistema informá-

tico ajeno un montón de "información confidencial" sobre el origen, composición, utilización, interés, etc.

Por otra parte, un sistema totalmente automático que centralice el archivo y manejo de muestras. "debe de ser carísimo..." Y de hecho, lo es. Esto abre el otro debate, ¿quién paga estos sistemas? La respuesta debería ser obvia: El propietario de las muestras. En este punto tenemos la pescadilla que se muerde la cola. No resulta fácil hoy en día convencer a Rectores y Directores de centro que hagan inversiones del orden de *Millones de Euros* en algo que luce tan poco como un almacén, por muy automático que sea. En una conversación de hace pocos días con un responsable de unos servicios centrales de cierta Universidad española, me decía que tardarían muchos años en calar estos conceptos en la Investigación Pública Española. En el fondo no es de extrañar, si pensamos que este debate esta comenzando ahora mismo a abrirse en el resto del mundo, pero también puede ser un buen momento para desembarazarnos del histórico retraso que hemos acumulado en otros aspectos, con respecto al resto de los países de nuestro entorno.

Dejo aquí abierta la siguiente reflexión, sobre que resulta a la larga más caro: la generalización de sistemas de archivo y reposición de muestras, incluso un gran centro nacional, o los millones de muestras valiosas, obtenidas durante años con un gasto importante de mano de obra y procesamiento, y que, en la actualidad, resultan absolutamente inútiles, bien sea porque se han deteriorado, porque no se sabe qué paso con ellas, ni quién las altero, o simplemente ya nadie recuerda qué son o dónde estaban. Y lo peor es que, algunas de ellas, hubiesen sido de gran importancia en la resolución de algunos problemas científicos, si alguien hubiese sabido de su existencia.

Haga quien corresponda unos números sencillos, y se asustará de lo tremendamente caro que ha resultado todo este caos.



GENVAULT. Sistemas de almacenamiento de ADN a temperatura ambiente

y sangre a

Un nuevo sistema de conservación, almacenamiento, gestión y recuperación de muestras a temperatura ambiente, es la propuesta de la empresa norteamericana GENVAULT. Basado en el ya conocido papel FTA de Whatman, esta empresa nos ofrece este moderno método en formato de placas de 384 pocillos.

Estas placas, constan de 384 elementos incluidos en sus pocillos de forma que lo único que ha de hacer el usuario es dispensar su muestra (sangre, Buffy Coat, suspensiones celulares, frotis bucales o DNA ya purificado) en estos pocillos y guardar la placa a temperatura ambiente hasta su posterior procesamiento.

Diseño de las placas

Estas placas se comercializan en cuatro diferentes configuraciones:

- Placas para un solo tipo de muestra con 384 réplicas.
- Placas para 3 muestras de 96 réplicas cada una.
- Placas para 6 muestras de 40 réplicas cada una.
- Placas para 12 muestras de 16 réplicas cada una.

En cualquiera de los casos, cada una de las regiones está formada por esos elementos, cada uno de los cuales, a su vez, contienen una serie de reactivos químicos que tras la adición de la muestra, producen la lisis celular y la liberación del DNA de doble cadena, el cual queda firmemente adherido a la matriz de celulosa. Tras ello, la placa se sella y se almacena a temperatura ambiente.

Además de los reactivos de lisis celular, en cada elemento hay reactivos que inactivan Virus y Bacterias por lo que el transporte de estas placas puede realizarse por correo ordinario sin necesidad de recurrir a containers especiales con hielo seco, nieve carbónica o nitrógeno líquido.



Fig. 1: Archivo desktop

ADN de hasta 14 años de antigüedad ha sido recuperado en suficiente cantidad y calidad para aplicaciones como PCR, STR, Microarrays, etc.

GEN CODE

Si hay algo característico de este sistema de conservación que lo diferencia de cualquier otro, es sin duda, la incorporación en cada región dentro de una placa, de un GEN CODE único. Consiste en la incorporación de varias secuencias de oligonucleótidos no existentes en el genoma humano, de manera que la combinación de éstas conforman un código único para cada región y para cada placa, lo cual permite identificar la muestra en cualquiera de las aplicaciones posteriores al almacenamiento, PCR, STR, secuenciación, etc.

Estas secuencias oligonucleotídicas eluyen con el DNA almacenado al hacer la extracción y migran con él con la posibilidad así de poder conocer la trazabilidad de la muestra eluida en cualquier momento de la aplicación down stream realizada.

Dispone asimismo de placas Genvault con las mismas características pero sin GEN CODE en sus pocillos, por ejemplo para el caso de DNA en plantas.

Almacenamiento de las placas

Existen diferentes tipos de archivadores, desde los más sencillos con capacidad para 100 placas hasta sistemas de almacenaje completamente automatizados controlados por robots capaces de guardar y recuperar las muestras deseadas a través del software de gestión GEN CONNECT. Este software permite la gestión de todas las placas de todos los diferentes archivos interconectados. El sistema de código de barras que figura en cada placa Genvault en combinación con el código interno genético de cada pocillo, permite la localización de una determinada muestra en cualquier momento y desde cualquier lugar ya que los softwares pueden ser conectados en red.



Fig. 2: Archivo personal

Archivo desktop: (Fig. 1)

Este armario permite el almacenamiento de hasta 100 placas. Hasta 38400 muestras.

Archivo personal: (Fig. 2)

Hasta 990 placas. Filtro 0,3 µm HEPA. Hasta 380.000 muestras.

Archivo dinámico: (Fig. 3)

Diseño modular. Cada módulo almacena hasta 25 millones de muestras. Completamente robotizable.

La empresa GENVAULT está en continua expansión y desarrollo de subproductos, dedicados a la mejor conservación y gestión de muestras de DNA. El siguiente paso es ya casi un hecho con la creación de placas de almacenamiento a temperatura ambiente para serotecas y proteínas. El CDC y el NIH son algunos de los colaboradores con este proyecto, que en breve saldrá al mercado y significará, sin duda, otro paso adelante en la investigación científica.



Fig. 3: Archivo dinámico

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



DIGITAL ECLIPSE

C1si
Spectral Imaging



Vea más que hasta ahora

El sistema de imagen confocal espectral Nikon C1si captura datos espectrales reales en un solo barrido minimizando significativamente la fototoxicidad celular y el atrapamiento de la señal fluorescente

Adquisición más rápida. Escanea 32 canales simultáneamente en menos de un segundo

Imágenes más brillantes. Una sensibilidad mejorada mediante un sistema óptico de alta eficiencia y el procesamiento de señales a alta velocidad permiten atrapar perfectamente los fotones de la señal fluorescente

Imágenes precisas. Repetibilidad de la longitud de onda < 1nm. mediante múltiples calibraciones

Sistema Flexible. Amplia selección de láseres, desde 405 a 638 nm. Amplio rango espectral desde 400 nm. hasta 750nm. Elección de tres resoluciones espectrales diferentes (2,5, 5 ó 10 nm.)

IZASA

Nikon