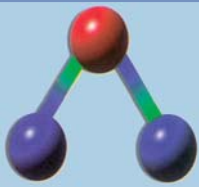


**IZASA LAB**

[www.izasa.es](http://www.izasa.es)



Células neuronales diferenciándose (actina, microtúbulos y ADN) (1.000x) Fluorescencia



## 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

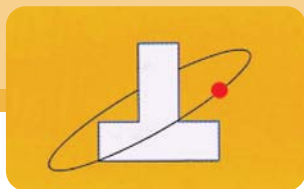
Tras las merecidas vacaciones ponemos en sus manos, un año más, este nuevo ejemplar de la revista **IZASA LAB** con información interesante sobre las últimas novedades de la instrumentación para laboratorios y de las compañías con las que colaboramos.

Desde el punto de vista de nuevos acuerdos, tenemos que destacar el firmado recientemente con la compañía japonesa **RIGAKU Corporation**, fundada en 1951 y que cuenta en la actualidad con más de mil empleados. Esta compañía está especializada y es líder en instrumentación utilizando rayos X, con una gran experiencia en Difracción de rayos X, así como en Fluorescencia y Espectroscopía de Absorción de rayos X.

Respecto a las novedades instrumentales destacamos el Sistema de Imagen y Monitorización Celular que ha introducido recientemente la Firma **Nikon**. Se trata de un sistema integrado de monitorización celular, incubación y observación con imagen en cámara rápida. Este sistema permite a un usuario (sin demasiada experiencia en Microscopía) llevar a cabo, de forma sencilla y cómoda, cultivos celulares y su observación, tanto en el laboratorio como de forma remota a través de una red informática. Además, **Nikon** ha introducido también, para trabajos con célula viva, un sistema CLEM (Microscopía de Exposición Lumínica Controlada) para su Microscopio Confocal C1. Este sistema permite alargar la supervivencia celular, de modo que el investigador dispone de más tiempo para observar y registrar sus experimentos.

## Sumario

CBO, la gran revolución en XRD.	3
¿Apoptosis Tardía o Necrosis? ... un ensayo por Citometría de Flujo.	4
Medida del contenido de aceite y humedad en semillas por resonancia magnética.	6
Medida de Potencial Z con el nuevo Delsa Nano de Beckman Coulter.	8
Análisis Térmico.	9
La Espectroscopía FTIR: Un buen indicador de calidad del vino a través del contenido en mosto.	10
Nuevo Ultrascan Vis (USVIS) espectrofotómetro de altas prestaciones de Hunterlab, para la medida de color.	11
Nuevo sistema de destilación Vapodest 50s de Gerhardt con control por ordenador y programa de aplicación en Windows.	12
Nuevo Sistema de Extracción de Fibra Automático Fibretherm.	13
BioSpec mini de Shimadzu.	14
Análisis de viabilidad de células de insecto con el Vi-Cell XR de Beckman Coulter.	15
El sistema CLEM de Nikon (Controlled Light Exposure Microscopy) alarga el tiempo útil de barrido en el microscopio confocal Eclipse C1.	16
Sistema de Imagen y Monitorización celular Nikon Biostation IM.	18
Análisis de Catequinas por UFLC.	20
Determinación de THC en saliba con el GCMS QP2010 de Shimadzu.	23
Nuevo FlowCAM III. Combinación de la citometría de flujo y la microscopía.	24
Sistemas de almacenamiento de ADN y sangre a temperatura ambiente.	26
Skyscan Microtomografía de Rayos X.	27
2 + 2 = 4 ¿la fórmula sigue funcionando?...	28
Tekcel: El almacenamiento de muestras automatizado.	30



## CBO, la gran revolución en XRD

**¿Geometría de haz paralelo o geometría de focalización? Esa es una pregunta que alguna vez ha estado en la cabeza del usuario de difractómetros de rayos X. Con las nuevas tecnologías que ha desarrollado Rigaku, esta pregunta tendrá una respuesta muy sencilla: ¡Las dos!**

Existen dos geometrías principales de configuración de los equipos de difracción de rayos X: la geometría de focalización (Focussing Beam, Para-focussing o Bragg-Brentano) y la geometría de haz paralelo (Parallel Beam). Recordaré en pocas palabras en qué consiste cada una de ellas.

La geometría de focalización, referencia en difracción durante los últimos 50 años, toma su nombre del hecho de que la muestra focaliza el haz de rayos X sobre la apertura del detector. Las ventajas que proporciona esta geometría en la mayoría de las muestras policristalinas es la gran intensidad de la señal y su alta resolución. Esto es especialmente importante para aquellas muestras que dan señales muy débiles.

La parte negativa de esta configuración está en la imprecisión en la localización de los picos debido a los errores inducidos por la propia morfología de la muestra.

La segunda geometría es la de haz paralelo. Esta ha sido la preferida para análisis de películas delgadas durante los últimos 15 años. La idea en esta configuración es incidir con el haz de rayos X en un espejo multicapa que canalice los rayos divergentes para formar un haz paralelo con el que iluminar la muestra. De esta forma, como no se focaliza el haz, se evitan los errores debidos asociados a ello.

Al contrario que con la geometría de focalización, la precisión en la

localización de los picos es mucho más alta, pero pierde en intensidad, ya que incide en un área más pequeña de muestra, y en resolución.

Está muy claro que tanto una como otra geometría tienen una serie de características muy útiles para el análisis, por lo que sería muy conveniente tener las dos.

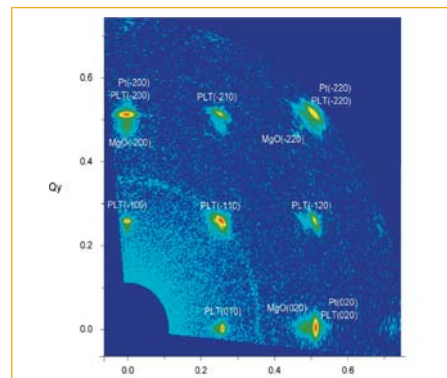
La mejor solución para tener los dos sería disponer de dos difractómetros, uno configurado para geometría de focalización y otro para geometría de haz paralelo, pero esta solución no parece al alcance de muchos, por lo que habrá que buscar un difractómetro que permita cambiar de una a otra geometría de la forma más fácil posible.

Cualquier persona que haya utilizado un difractómetro sabrá que cambiar entre configuraciones en un difractómetro puede ser de todo menos fácil; desmontar uno o varios módulos, montar otros, realinear todas las rendijas, monocromadores, espejos, etc. Además, tras cambiar la configuración del difractómetro varias veces, aparecen las incertidumbres en cuanto a la optimización del sistema.

Todo esto hace que en la práctica, el difractómetro funcione casi todo el tiempo en una de las configuraciones, quedando los otros módulos como un adorno en la vitrina del difractómetro, un caro adorno.

Pero, ¿y si en lugar de cambiar de configuración, lo que hiciésemos fuese seleccionar en el momento la configuración que queremos utilizar?.

Rigaku ha desarrollado (y patentado) la tecnología CBO (Cross Beam Optics) que proporciona las dos geometrías en un solo instrumento de manera que ambas estén permanentemente montadas, permanente alineadas y permitan al usuario seleccionar una u otra en cualquier momento. Esto es especialmente importante para aquellos centros que realizan análisis de muestras de una gran variedad.



Además es un gran avance para aquellos usuarios menos experimentados, para los estudiantes, por no mencionar a aquellos a quienes les gusta jugar con el instrumento para sacar la mayor cantidad de información a su muestra.

El sistema Ultima IV de difracción de rayos X de uso general, incorpora esta tecnología CBO de selección de la geometría.

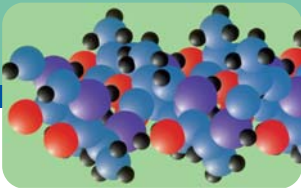
Además presenta un sistema de alineamiento automático único controlado por ordenador, de tal forma que con un solo clic el sistema alinea la altura de la fuente, la dirección del haz incidente, el espejo, la rendija automática de divergencia, la superficie de la muestra, la óptica de recepción, el punto cero de 2theta y el detector.

Otra de las características de este difractómetro es su flexibilidad, que le permite aumentar sus posibilidades con opciones como el cargador automático de muestras y los portamuestras giratorio y para capilares.

Todo ello le permite, además de las aplicaciones de análisis cualitativo y cuantitativo, realizar medidas en SAXS, difracción en el plano, microáreas, estrés, texturas, películas delgadas, tamaños de grano, reflectometría, etc...

Ultima IV es el nuevo difractómetro de rayos X de Rigaku que se une a los últimos lanzamientos; Miniflex II, único difractómetro de sobremesa con monocromador, y Smartlab, el difractómetro de alta gama especialmente diseñado para películas delgadas.





## ¿Apoptosis Tardía o Necrosis? ... un ensayo por Citometría de flujo

El estudio de muerte celular programada, o APOPTOSIS, concentra en los últimos años una intensa actividad en investigación. Conocer los mecanismos por los cuales una célula desarrolla una compleja serie de mecanismos bioquímicos que conducen a su muerte, ha despertado interés en campos tan dispares como la biología de desarrollo, la oncología, la inmunología, el estudio del envejecimiento o la virología.

Durante el desarrollo de un programa de muerte celular por apoptosis, se pueden observar una serie de procesos característicos, que resultan indicativos del mismo, y que pueden evidenciarse o medirse mediante diferentes técnicas experimentales, que abarcan desde estudios bioquímicos, como la actividad de ciertas proteasas de la familia de las caspasas, o ciertos estados mitocondriales, hasta cambios morfológicos en la célula como son la formación de cuerpos apoptóticos, la condensación y fragmentación nuclear o las alteraciones de la membrana que se pueden observar en distintos estadios del proceso.

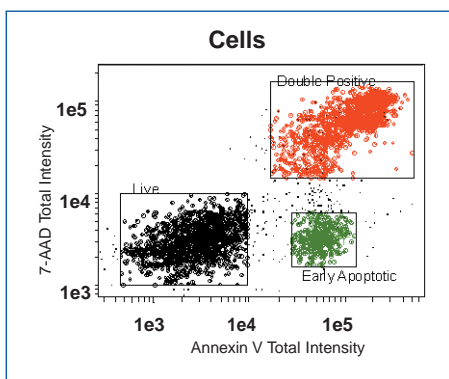


Figura 1  
Datos clásicos de Citometría de flujo (obtenidos con un ImageStream de Amnis). El marcaje clásico de Annexina V frente a 2-AAD identifica claramente las poblaciones de células vivas y apoptóticas tempranas. Sin embargo, no permite discriminar, dentro de la población doble positiva las necróticas y las apoptóticas tardías. La muestra se compone de una mezcla de células en las que se provocó Necrosis con Peroxido de Hidrogeno y un cultivo paralelo en el que se indujo apoptosis con Campotectina.

De entre las diferentes técnicas empleadas para el estudio y seguimiento de procesos apoptóticos, destacan fundamentalmente la microscopía de fluorescencia y muy especialmente la Citometría de flujo. Esta última tiene la gran ventaja de poder procesar de forma rápida y fácil un gran número de células y permite la cuantificación del proceso incluso en condiciones en las que el número de células apoptóticas representa un porcentaje muy bajo del total de la población.

De entre los cambios morfológicos y funcionales detectables por Citometría de Flujo, se pueden destacar los que hacen referencia al tamaño y la granularidad celular, no obstante, aunque sean mesurables, no representan una característica específica, por sí mismos, del proceso apoptótico, si bien combinados con otros fenómenos, como los cambios en la permeabilidad de la membrana celular a algunos colorantes fluorescentes, nos dan una indicación de la cinética del mismo. El empleo de estos colorantes (normalmente se unen a ácidos nucleicos) si es indicativo de los distintos momentos del proceso. El empleo de marcadores vitales, como la 7-AAD o el IP nos permite identificar estadios tardíos del proceso. Otros marcadores, como el HO342 identifican cambios más tempranos en la permeabilidad de la membrana de las células

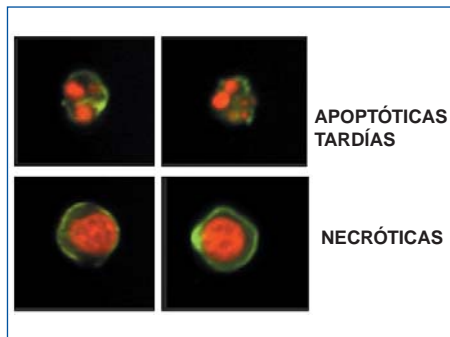
apoptóticas y finalmente colorantes como AO pueden utilizarse para medir los cambios en el estado de condensación de la cromatina, que tienen lugar durante el proceso apoptótico. Englobado dentro de los cambios que afectan a la membrana de las células apoptóticas, está la externalización de Fosfatidilserina, que puede medirse mediante el ensayo de Annexina V (la cual puede acoplarse a marcadores fluorescentes como FITC, PE o Alexas). Este popular ensayo resulta muy útil en la identificación de estadios tempranos del proceso apoptótico, en los que la membrana celular, a pesar de estar afectada, aún no es permeable a marcadores comúnmente PI o 7-AAD. De hecho, combinando ambos marcajes, se realizan un número elevado de ensayos para intentar diferenciar las tres poblaciones de vivas, apoptóticas y necróticas. El principal problema de este ensayo es la tremenda dificultad (sino imposibilidad) de diferenciar las células necróticas de los estadios tardíos de la apoptosis.

El proceso que mejor define el fenómeno de apoptosis es la fragmentación del ADN que tiene lugar desde estadios tempranos. Una vez que la célula queda comprometida en un proceso apoptótico, comienza a degradar su ADN en fragmentos nucleosómicos, siendo, a partir de este punto irreversible. Esta fragmentación se puede medir por Citometría

de flujo mediante un par de técnicas, como la aparición del pico de Sub-G0, en un ensayo convencional de ciclo celular con PI, o la elongación del ADN a partir de los extremos de los fragmentos generados en el ensayo de TUNEL. Ambos ensayos comparten como característica la necesidad de fijar las células, con la consecuente pérdida de información sobre los porcentajes de células viables o necróticas. Además la "agresividad" de los protocolos de marcaje en ensayos como el de TUNEL, conducen a la aparición de numerosos artefactos, que pueden identificarse como falsos positivos.

## Apoptosis Tardía o Necrosis. La solución de Amnis.

El proceso de Apoptosis es quizás una de las formas más interesantes de muerte celular, especialmente desde el punto de vista de la investigación biomédica. Sin embargo, no podemos olvidar que las células pueden morir por otros mecanismos que no tienen nada que ver con el fenómeno de muerte celular programada. Englobando estos otros procesos de muerte celular en el término NECROSIS, nos encontramos con la dificultad que presentan todos los métodos anteriormente descritos para diferenciar las células necróticas de las que se encuentran en estadios tardíos de apoptosis, dado que en este último caso, las membranas son permeables a colorantes como la 7-AAD o el PI, al tiempo las membranas dañadas permiten la unión de Annexina V por su cara interna. De todos los ensayos basados en Citometría de flujo que hemos comentado, el único que en pureza no confundiría una célula necrótica con una apoptótica tardía sería el ensayo de TUNEL, sin embargo como hemos visto presenta otro buen número de problemas, como la



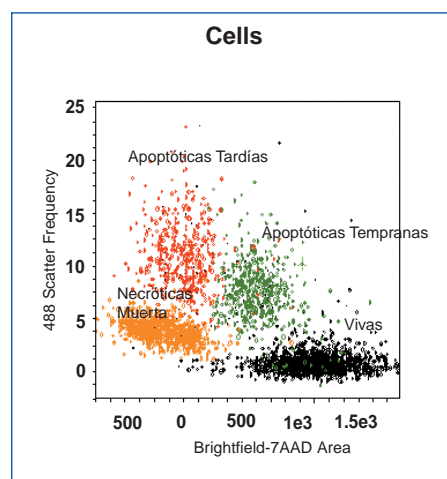
**Figura 2**  
Imágenes tomadas por un Citómetro ImageStream de la compañía Amnis representa alguno de los puntos individuales del gráfico representado en la Figura 1 ( en todos los casos en La región Dobles Positivas. Se distinguen claramente las apoptóticas tardías de las necróticas por su morfología nuclear.

dificultad técnica en su preparación, el elevado porcentaje de falsos positivos y su dificultad para diferenciar apoptóticas tempranas de tardías.

En este punto, es de una inestimable ayuda la observación microscópica de las células. Una característica que diferencia inequívocamente necróticas de apoptóticas tardías es el estado de condensación y fragmentación de los núcleos como se Muestra en las figuras 2 y 3. El problema es que, recurrir a microscopio significa renunciar a toda la flexibilidad de trabajo de la Citometría, amén de perder calidad estadística en los resultados. Esto solo es cierto a medias, para aquellos de ustedes que leyeron el anterior número de IZASA Lab, recordarán la presentación que hacíamos de un sistema muy especial, el ImageStream de Amnis, un revolucionario Citómetro de Flujo que toma imágenes de las células al tiempo que las analiza con los mismos principios de la Citometría de flujo. De hecho, las imágenes de las figuras 2 están tomadas con un ImageStream. Al igual que los gráficos de las figuras 1 y 3. La gran diferencia entre ambos gráficos estriba en que mientras el primero es un resultado convencional de Citometría

de flujo, midiendo intensidades de fluorescencia totales con el mismo ImageStream, el gráfico 3 corresponde a un análisis de parámetros morfológicos, tanto de la célula total en campo claro, el área de los núcleos en fluorescencia, y el análisis de la imagen en campo oscuro (equivalente al Side Scatter convencional de un Citómetro).

La capacidad para separar las cuatro poblaciones (apoptóticas tempranas y tardías, necróticas y vivas) que demuestra este experimento no tiene paralelo con ningún otro sistema existente en el mercado. Incluso criterios semejantes de análisis de imagen se pueden emplear para excluir los artefactos de un ensayo TUNEL por Citometría, y por supuesto un gran número de otras aplicaciones que iremos describiendo en futuros números de esta revista, (por favor, no dude en consultarnos acerca de ellas) en las que la imagen asociada a los ensayos de Citometría aportan un salto cualitativo, que tendrá una enorme repercusión en la investigación sobre biología celular de los próximos años.



**Figura 3**  
Misma muestra que en la Fig 1, pero en este caso se analiza el área total de la célula menos el área del núcleo, que se representa frente a la desviación estándar del brillo de los diferentes pixels en el canal de campo oscuro (SSC). Se distinguen perfectamente las cuatro poblaciones.



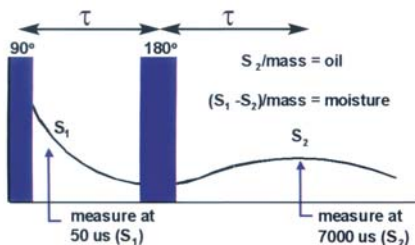
## Medida del contenido de aceite y humedad en semillas por resonancia magnética

La determinación rápida y exacta del contenido de aceite en semillas oleaginosas es importante para cultivadores y compradores en la determinación del valor comercial de diferentes semillas oleaginosas como colza, girasol, linaza, soja o cacahuete. La resonancia magnética ofrece una alternativa rápida, limpia y exacta respecto al método tradicional por vía húmeda, y es más fácil de calibrar que los equipos de infrarrojo cercano.

### Método

El método de medida de aceite en semillas se basa en la secuencia de pulsos FID (Free Induction Decay) / spin-eco, que se emplea para detectar tanto señales RMN con tiempos de relajación cortos (procedentes de sólidos) como señales con tiempos de relajación largos (procedentes de líquidos).

El parámetro más importante para ésta aplicación es el tiempo de retar-



Método FID (Free Induction Decay) / spin-eco para la medida de señal de aceite y humedad.

do entre el primer ( $90^\circ$ ) y el segundo ( $180^\circ$ ) pulsos de radiofrecuencia. El valor es de 3.5 ms de acuerdo con el método ISO 10565. Con este tiempo de retardo se consigue que la señal procedente de agua haya decaído antes de la adquisición del eco que proporciona señal únicamente del aceite. Por lo tanto, es aplicable a muestras que contengan menos del 10% de humedad. Las muestras con contenido de humedad mayor del 10%, tendrán que desecarse antes de su análisis.

Es posible medir contenidos de humedad mayores cambiando los parámetros de adquisición de la señal RMN, pero entonces no se cumpliría con la norma ISO 10565.

La señal de aceite más humedad se mide a partir de la señal FID,



mientras que del eco se obtiene la medida solo del aceite. La medida de humedad se obtiene por la diferencia entre ambos.

### Calibración y resultados

La técnica RMN es comparativa, de modo que se necesita un conjunto de patrones con contenidos conocidos de aceite y humedad para cali-



Analizador de resonancia magnética de sobremesa MQC de Oxford Instruments.

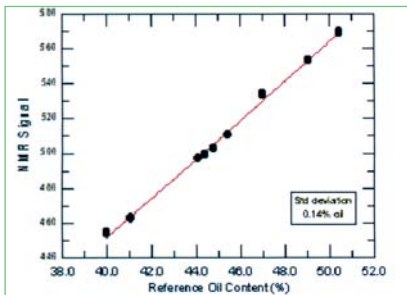


Figura 1. Calibración de aceite en colza.

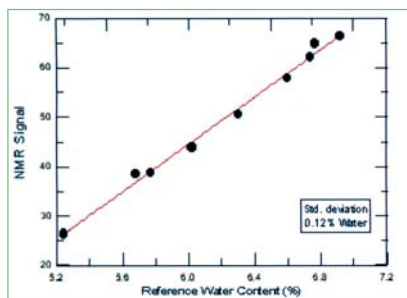


Figura 2. Calibración de humedad en colza.

brar el método. La exactitud de la calibración dependerá de la calidad de los datos de los patrones. Se recomienda emplear al menos 6 patrones con contenidos en aceite y humedad que cubran de manera uniforme el rango de interés. Dado que diferentes tipos de semillas producen señales RMN ligeramente diferentes, se consigue una mayor exactitud cuando todos los patrones son del mismo tipo de semilla. En caso de que se requiera medida en diferentes tipos de semilla, se recomienda realizar una calibración para cada una de ellas.

Se recibieron 9 muestras de colza, con contenidos de aceite desde 39% hasta 51%, y humedad desde 5.2% hasta 7.1%. Se realizaron las calibraciones para aceite y humedad de acuerdo al método ISO 10565 empleando el software MultiQuant, que permite la medida y calibración simultáneas de ambos parámetros, aceite y humedad. El tiempo de medida fue de 16 segundos por muestra. Las calibraciones resultantes se muestran en las figuras 1 y 2.

Value	Repeat Measurements										MEAN	SD		
	44.25	44.29	44.25	44.22	44.23	44.26	44.27	44.22	44.23	44.22			44.18	
Value	Portion Measurements										MEAN	SD		
39.5	39.7	39.2	39.4	39.5	39.8	39.5	0.214							

Tabla 1. Resultados de la medida de la repetibilidad de instrumento y muestra.

Se calculó entonces la repetibilidad del instrumento para la medida de aceite midiendo una muestra 10 veces. La repetibilidad de la muestra en relación al contenido de aceite se calculó midiendo 5 porciones diferentes de la misma muestra. Se encontró que la repetibilidad del instrumento fue de 0.03%, mientras que la del muestreo dio un valor de 0.21%. Los resultados de ambas pruebas se muestran en la tabla 1.

### Instrumento recomendado

El MQC-23 de Oxford Instruments, equipado con sonda de 26 mm (21 mL) es un instrumento adecuado para esta aplicación y cumple con el estándar ISO 10565:1998.

El paquete de aplicación para aceite y humedad en semillas comprende:

- Analizador MQC-23 con ordenador PC incorporado con la última versión de Microsoft® Windows® (no se requiere PC separado).
- Software MultiQuant, incluyendo módulo de calibración, módulo de análisis y método EasyCal para aceite y humedad en semillas.
- Tubos de vidrio de 26 mm de diámetro.
- Hojas de método.

El instrumento ofrece múltiples ventajas sobre otros instrumentos:

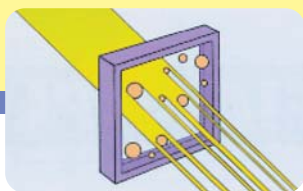
- Alta sensibilidad.
- Tamaño muy reducido.
- Bajo mantenimiento.
- Tubos de muestra reciclables, minimizando los costes de operación.
- Preparación de muestra mínima.



El MQC tiene un tamaño realmente reducido, y además puede instalarse de modo que el ahorro de espacio sea máximo.

### 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
- 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



## Medida de Potencial Z con el nuevo Delsa Nano de Beckman Coulter

El potencial Z es un parámetro fundamental para asegurar la estabilidad de productos alimenticios, farmacéuticos o pinturas, entre muchos otros. En otras aplicaciones se requiere que las suspensiones sean inestables, como en tratamiento de aguas. En cualquier caso, la medida del potencial Z es importantísima en muchos campos de aplicación.

### Potencial Z

La estabilidad de las partículas dispersadas en una suspensión se ve influenciada por su carga superficial. El potencial Z se emplea como un indicador de la carga superficial de las partículas.

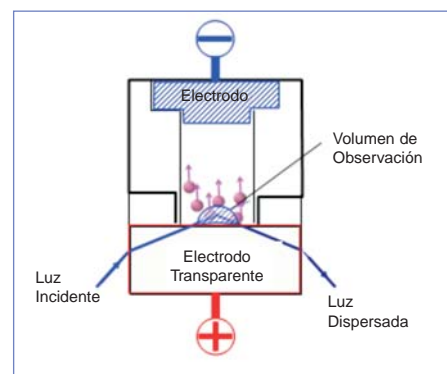
Cuando se aplica un campo eléctrico a partículas cargadas en suspensión, éstas se mueven hacia el electrodo de carga opuesta. Dado que la velocidad es proporcional a la carga de la partícula, el potencial Z se puede estimar midiendo la velocidad de las partículas bajo un determinado campo eléctrico, lo que es conocido como movilidad electroforética.

Para determinar la velocidad de las partículas, se iluminan con una

luz láser y se detecta la luz dispersada por éstas. Dado que la luz dispersada tiene una frecuencia ligeramente distinta a la luz incidente, debido a la velocidad de las partículas, es posible medir la movilidad electroforética a partir del cambio de frecuencia de la luz dispersada.

### El nuevo Delsa Nano

La serie Delsa Nano es una nueva generación de instrumentos que emplean Espectroscopía de Correlación Fotónica (PCS) para medida del tamaño de partícula en el rango nanométrico, así como Dispersión de Luz Electroforética (ELS) para determinación del potencial Z. La serie posee unas características excepcionales, incluyendo titración estática o automática tanto



Medida de potencial Z en soluciones concentradas mediante tecnología FST empleando un electrodo transparente.

para tamaño de partícula como para potencial Z de partículas en suspensión, en un amplio rango de tamaños y concentraciones.

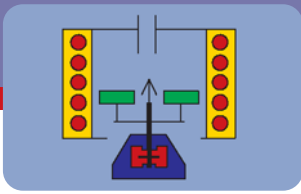
El Delsa Nano puede medir también el potencial Z de una superficie sólida o film, así como el potencial Z en soluciones concentradas mediante el empleo de tecnología FST (Forward Scattering through Transparent Electrode Technology).

### La serie incluye:

- Delsa Nano S, para análisis de tamaño de partículas en el rango 0.6 nm a 7  $\mu\text{m}$ .
- Delsa Nano Z, para determinación de potencial Z.
- Delsa Nano C, para medida de tamaño de partícula y potencial Z.
- Delsa Nano HS para medida de tamaño de partícula y potencial Z con una mayor sensibilidad.



Analizador Delsa Nano y auto-titrador

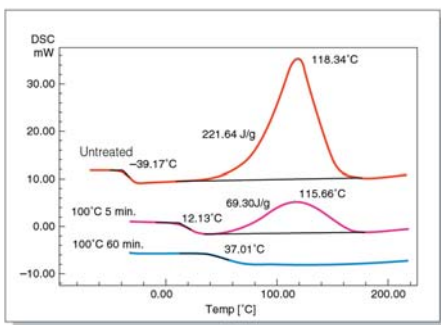


## Análisis Térmico

El Análisis Térmico es la técnica que mide los efectos que producen los cambios de temperatura en los materiales. Los métodos principales son Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC), Análisis Termogravimétrico (TGA) y Análisis Termo-Mecánico (TMA). Shimadzu, líder mundial en instrumentación científica, presenta su rango de analizadores térmicos para aplicaciones tanto en control de calidad como en investigación.

### Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

La calorimetría diferencial de barrido es una técnica esencial para la evaluación de materiales, y es ampliamente utilizada en las áreas de desarrollo de materiales, producción y control. El Shimadzu DSC-60 es uno de los equipos más versátiles disponibles actualmente. Es un calorímetro de barrido de tipo flujo de calor, capaz de analizar materiales en el rango de  $-140^{\circ}\text{C}$  a  $600^{\circ}\text{C}$ . El diseño único de la celda de medida, horno y sistema de refrigeración proporciona una gran flexibilidad de operación.



Caracterización de una resina epoxy empleando el DSC-60 de Shimadzu.



Calorímetro diferencial de barrido Shimadzu DSC-60.

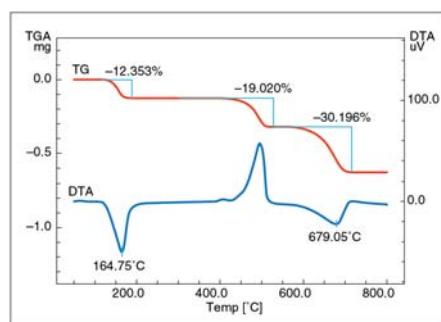
El modelo DSC-60A incorporará un automuestreador integrado. Asimismo existen diferentes opciones de refrigeración, desde el método manual empleando el depósito interno de nitrógeno líquido, hasta sistemas automáticos.



Analizador simultáneo termogravimétrico (TGA) y térmico diferencial (DTA) Shimadzu DTG-60.

### Análisis Simultáneo Termogravimétrico (TGA) y Térmico Diferencial (DTA)

El Shimadzu DTG-60 es un analizador simultáneo TG/DTA (termogravimétrico y térmico diferencial). El control de atmósfera es programable, así como las rampas de calefacción y enfriamiento entre temperatura ambiente y  $1500^{\circ}\text{C}$ .



Medida de  $\text{CaC}_2\text{O}_4$  en la DTG-60.

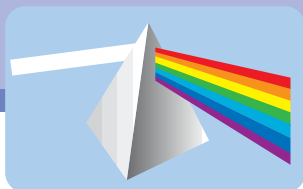


Analizador termo-mecánico Shimadzu TMA-60.

Al igual que el DSC-60, el DTG-60 pueden incorporar un automuestreador de 24 posiciones integrado en la unidad.

### Análisis Termo-Mecánico (TMA)

El Shimadzu TMA-60 incorpora la última tecnología en análisis termo-mecánico en un equipo flexible y modular. Trabaja en el rango de  $-140^{\circ}\text{C}$  a  $1500^{\circ}\text{C}$ , en modo tensión, compresión y elongación. El nuevo módulo de generación de carga permite la carga estática y dinámica de muestras hasta 5N en pasos de 0.1N. Se detectan cambios dimensionales dinámicos de hasta 10mm con una precisión de 10nm mediante un sistema de detección LVDT independiente de la temperatura.



## La Espectroscopía FTIR: Un buen indicador de calidad del vino a través del contenido en mosto.

Esta nota de aplicación describe la determinación del contenido de mosto en diferentes tipos de uva de la región del Trieste en Italia de acuerdo con el método Brix. Se presenta el FTIR como una técnica analítica capaz y rápida para dicha medida basada en los datos espectrales IR.

### Medida.

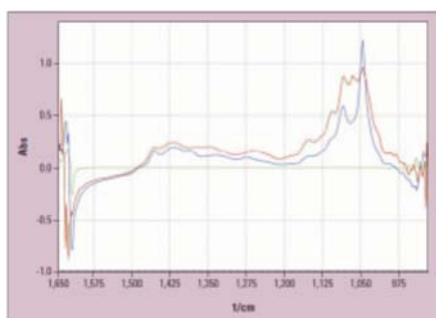
La medida se lleva a cabo utilizando un espectrómetro FTIR de Shimadzu modelo IRPrestige-21 midiendo en transmisión la muestra dentro de una celda de flujo con un paso óptico de 50 micras. La celda está hecha de  $\text{CaF}_2$  y es por tanto resistente a la humedad. Dado que la radiación infrarroja es también una forma de aportar calor, la celda se termostatiza para mantener a la muestra a temperatura constante ya que la variación de temperatura en el sistema analítico durante el proceso de medición puede llevar a errores de medida en la cuantificación llegando a ser del orden de 0,0125 Abs. por grado centígrado.

La exactitud del sistema FTIR con respecto a la línea de base se puede especificar dentro de las 0,005 Abs. al medir agua tanto como referencia como medida. El background que se utilizó fue la celda de flujo llena de agua.

Podemos decir que el contenido de mosto, determinado según Brix, se considera como un indicador de los pasos iniciales de la producción de vino. La llave nos la dará el uso de modelos matemáticos de cuantificación que correlacionen el parámetro Brix con la variación en el espectro de absorción IR de la muestra.

### Cuantificación.

A pesar de que si establecemos inicialmente una curva de calibración que enfrenta la concentración o contenido de mosto frente al número de onda o frecuencia no encontramos un modelo de calibración aceptable; si en vez de eso tenemos en cuenta un modelo de calibración multivarian-



Espectro IR de las muestras después de haber restado la referencia (el agua). La línea verde es la diferencia con el agua, la azul es vino y la roja mosto.

te en el que en vez de tomar frecuencias discretas para el cálculo, se tienen en cuenta tramos de espectro o inclusive el espectro completo, llegamos a sistemas cuantitativos más robustos. El espectro completo IR representa todos los ingredientes de la muestra y sus características correspondientes. El método PLS (Partial Least Square) entonces el método válido en este caso.

Para el modelo, en concreto, se utilizaron 5 muestras patrones con diferente contenido en mosto (Tabla 1) plegadas en 10 y utilizando un automuestreador. Se utilizaron 48 valores de medida para desarrollar la calibración (Tabla 2) y para comprobar la bondad de la misma se creó una muestra a partir de los patrones 1 y 2. Los resultados se muestran en la Tabla 3. La desviación del valor

promedio de Brix de las 5 medidas con un 0,0138% Bx descansa por debajo del de una falsa lectura en un refractómetro que es del orden de 0,2% Bx.

### Evaluación.

Este modelo estándar limitado, simplemente quiere mostrar la posibilidad de llevar a cabo esta analítica con la técnica FTIR. La calidad de los modelos de calibración (PL) dependen, por supuesto, de la calidad de los patrones y métodos de referencia que se utilicen para ello. Este modelo mostrado, se puede mejorar más aún utilizando más patrones que hagan el modelo más exacto. Es, como se ha dicho antes, muy importante la fiabilidad del método de referencia pero sin olvidar que para llevar a buen puerto los resultados un control correcto de la temperatura se hace imprescindible.

Standard	Spectrum	Must content (% Bx)
1	most_sample4	32.0
2	most_sample2	27.2
3	most_sample3F	16.9
4	most_sample2_1	26.0
5	most_sample1F	16.5

Tabla 1

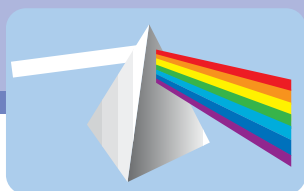
Report of PLS Calibration	
Algorithm	PLS I
Number of components	1
Number of references	48
Range (1)	2432.60-3000.60
Range (2)	1122.591558.41
Centered data	Yes
Components	Must content
Number of factors	3
Correlation coefficient	0.99905
MSEP	0.00186
SEP	0.04319

Tabla 2

No.	Sample	Must content (% Bx)
1	most_sampleF1and2__003	22.3893
2	most_sampleF1and2__002	22.4411
3	most_sampleF1and2__001	22.4413
4	most_sampleF1and2__004	22.3474
5	most_sampleF1and2__005	22.3119
	Mean value	22.3862
	Difference in terms of the mean value	0.0138

Tabla 3





## Nuevo UltraScan Vis (USVIS) espectrofotómetro de altas prestaciones de Hunterlab, para la medida de color

Con el UltraScan VIS (USVIS), queda completa la nueva gama de espectrofotómetros colorímetros de HunterLab que, junto con el UltraScan Pro (USPro) y el ColorQuest XE (CQXE), proporcionan la mejor oferta del mercado en prestaciones y con la flexibilidad de adaptarse a cada aplicación colorimétrica.

UltraScan® VIS es un espectrofotómetro de alta gama que mide el color en todo el intervalo completo en el que el ojo humano lo percibe y en cuestión de segundos. Se usa tanto en la zona de producción como en el laboratorio para inspeccionar materias primas, evaluar producto acabado o desarrollar métodos de análisis de color. Dado su excelente acuerdo Inter-Instrumentos y su gran estabilidad, se usa con la tranquilidad de saber que las diferencias entre las medidas de las muestras se deben sólo a cambios en el color del producto y no a cambios en el instru-

mento. Materiales al borde de los límites de aceptación no tendrán por qué ser rechazados. Mide tanto el color que transmite como el que pueda reflejar una muestra. Mide además la brumosis (HAZE) y cumple con normas CIE, ASTM. Utiliza la geometría difusa/8° con

inclusión / exclusión de la componente especular automática. Su sistema óptico es de doble haz con matriz de diodos y un paso de banda efectivo de 10nm. Sus cálculos de color tris-tímulo se toman desde 360nm hasta 780nm según recomendación de la CIE.



CARACTERÍSTICAS	ULTRASCAN PRO	ULTRASCAN VIS	COLORQUEST XE
Intervalo de barrido (nm)	350-1050	360-780	400-700
Policromador	2	1	1
Red de difracción holográfica	2	1	1
Matriz de diodos	2 de 512 elementos	2 de 256 elementos	1 de 256 elementos
Ancho de banda óptico	5nm	10nm	10nm
Resolución de long. de onda	<2nm	<2nm	<3nm
Simulación D65	La mejor	Mejor	Buena
Control UV	Estándar	Estándar	No disponible
Patrón de fluorescencia	Estándar	Opcional	No disponible
Aperturas de medida en reflectancia	25mm/13mm/7mm	25mm/9,5mm	25mm/9,5mm *
Acuerdo inter-instrumentos	?E* = 0,08	?E* = 0,15	?E* = 0,15
Interfase de comunicación	USB / RS-232C	USB / RS-232C	RS-232C
Valor comp. con competencia	El más alto	Muy Alto	Alto
Referencia	681USPRO-2	681USVIS-2	681CQXE-2
PVP + IVA (€)	26.033	19.824**	16.356
Software de trabajo obligado	EasyMatch QC	EasyMatch QC	EasyMatch QC
CAPACIDAD DE TRABAJO	ULTRASCAN PRO	ULTRASCAN VIS	COLORQUEST XE
Tarabajo en NIR para camuflaje, vidrio arquitectónico, tarjetas de seguridad, bloqueadores de IR, etc	X		
Medidas de gran resolución óptica y elevada exactitud y sensibilidad (5nm)	X		
Intervalo completo CIE (360-780nm) para cálculos de color tris-tímulo	X	X	
Bloqueadores de UV e inhibidores para lentes oftálmicos y vidrio	X	X	
Conformidad con USP para Ind. Farmacéutica	X	X	
Control UV para agentes blanqueadores, etc.	X	X	
Acuerdo inter instrumentos para acuerdo de medidas en múltiples plantas	Excepcional	Excelente	Excelente
Nº de áreas de medida en reflectancia	3 (Grande, media y pequeña)	2 (Grande y pequeña)	2 (Grande y pequeña)
Área de medida más pequeña en reflectancia	7 mm	9,5 mm	9,5 mm
* La medida a 9,5mm es opcional			
** Precio de lanzamiento			



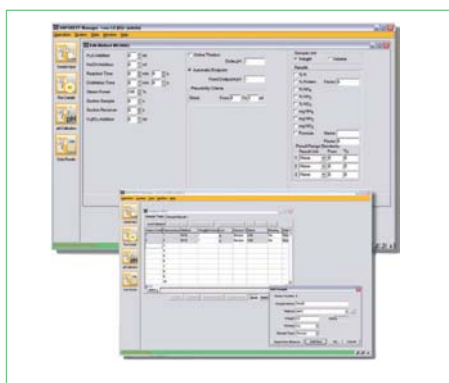
## Nuevo sistema de destilación Vapodest 50s de Gerhardt con control por ordenador y programa de aplicación en Windows.

El aparato, controlado por ordenador, valora por potenciometría y se le puede acoplar opcionalmente un módulo automuestreador neumático cuando hay necesidad de elevado número de muestras de análisis. Es un producto que nace fruto de la tecnología del Siglo XXI y de su experiencia más de 100 años fabricando y en contacto con usuarios Kjeldahl.

Control total (funciones, manejo y configuración) gracias al "Vapodest Manager", programa de PC en Windows. El VAPODEST 50s trabaja controlado por el programa Vapodest Manager, software que cumple con todos los requerimientos para la gestión del laboratorio moderno. Hace seguimiento y control de todo el proceso de destilación y valoración a la vez que proporciona grandes posibilidades en cuanto a la documentación y mantenimiento del log book o registro de actividad. Los parámetros de configuración y trabajo se definen en el menú de configuración lo que incluye el idioma, la conexión a balanza externa, importar/exportar datos en formato CSV así como los parámetros de valoración. En el de servicio se hacen los de calibración de bombas y valorador. Con el Vapodest Manager se puede trazar qué operador hizo el análisis, de qué muestra y en qué momento.

Todo está bajo control:

- Acceso a todas las funciones en cualquier momento.
- Funciones de diagnóstico para un proceso de destilación óptimo.



- Acceso rápido a todas las etapas de la destilación.
- Capacidad de crear bibliotecas de programas Kjeldahl o destilaciones especiales.
- Intercambio de datos con hojas de cálculo de diferentes programas.

### Destilación.

La estructura es de plástico libre de corrosión y en su parte frontal hay una pantalla desde la que se pueden seguir todos pasos del programa. Dispone de un generador de vapor que se puede configurar para trabajar desde el 40% hasta el 100% de rendimiento pudiendo suavizar las destilaciones y ahorrar energía. Su control automático así como el seguimiento del agua de enfriamiento, el

tubo de muestra, el generador de vapor y depósitos así como la puerta de protección y el interruptor del exceso de corriente son otras características que proporcionan seguridad y ahorro energético.

### Valoración.

La unidad de valoración está totalmente integrada para el análisis y uti-



liza un sistema potenciométrico con reconocimiento automático del punto final de valoración por medio de un electrodo de pH. La valoración se puede hacer además durante la destilación (valoración en línea) lo que hace, en tal caso, que se optimicen los tiempos de análisis considerablemente. La dosificación del valorador se hace por medio de una bomba de microdosificación de cerámica sin mantenimiento.

### Carrusel Automuestreador (opcional).

Se utiliza para alimentar de muestras al Vapodest y trabaja con un sistema neumático. Hay, según los tipos de tubos a utilizar, distintos carruseles: de 20 tubos de 250ml, de 16 tubos de 400ml y de 12 tubos de 800ml.





## Nuevo Sistema de Extracción de Fibra Automatico Fibretherm.

**Nuevo sistema desarrollado por Gerhardt para el análisis de fibra bruta, fibra ácido detergente y fibra neutro detergente de forma automática y sin atención basado en el aceptado método FibreBag.**

El nuevo 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). Tiene, además, muchas ventajas comparado con el método estándar. Doce muestras se digieren y filtran de forma simultánea haciéndose la adicción y dosificación de los reactivos en un sistema cerra-



do. Esto hace que se pueda ahorrar espacio de bancada y de reactivos químicos haciéndose significativo en aquellos laboratorios con gran demanda de muestras.

Al determinar el contenido de fibra

bruta, la parte no soluble en ácido sulfúrico y sosa permanece en el FibreBag o bolsa de extracción. Dicho residuo se seca y se pesa posteriormente una vez se ha incinerado. Cuando se están haciendo determinaciones de fibra ácido y neutro detergente, la muestra se trata con los detergentes respectivos y las sustancias remanentes de la estructura celulosa se especifican y determinan acorde a su método. Los cálculos se hacen de forma similar a los de la determinación de la fibra



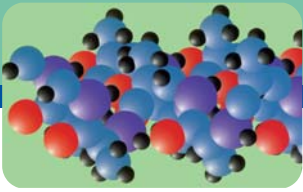
bruta. De entre sus características más importantes podemos destacar:

- 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 éste con gran facilidad.

### Ventajas:

- Tiempo de análisis:
  - Análisis de 12 muestras de forma simultánea.
  - Filtración rápida y segura.
  - Tiempo de calentamiento breve.
- Reducción de costes:
  - Procedimiento automatizado.
  - Ahorro en reactivos y desechos.
  - Seguimiento del agua de enfriamiento y de la energía.





## BioSpec mini de Shimadzu

**La combinación de trabajo que presenta el BioSpec mini de Shimadzu junto con la TrayCell de Hellma hace que nunca de forma tan fácil y económica se pudiera trabajar con una cantidad de muestra tan pequeña de forma recuperable y reproducible en medidas de DNA/RNA o proteína.**

La TrayCell de Hellma, cubeta de medida Ultra-Micro basada en fibra óptica, se diseñó para medidas de muestras de DNA/RNA o proteína y facilita análisis altamente exactos en muestras extremadamente pequeñas con una reproducibilidad digna de resaltar. Las dimensiones de la TrayCell son equivalentes a las de una cubeta estándar con el fin de trabajar en la mayoría de los espectrofotómetros y... a un precio de 6.800€ + IVA.

Utilizando las tapas de 1 mm o 0.2 mm se crea un camino óptico de luz definido de 1 mm y 0.2 mm respectivamente. Esto genera unos factores de dilución virtual de 1:10 o 1:50 en comparación con las medidas de una cubeta estándar de 10 mm. Esta característica ahorra tiempo y evita errores en la dilución. Si se desea, las muestras se pueden recuperar después de cada medida para un posterior proceso. El volumen de



muestra requerido para una tapa de 1 mm es de 3  $\mu$ l a 5  $\mu$ l y para una de 0.2 mm, de 0.7  $\mu$ l a 4  $\mu$ l.

Con la TrayCell de Hellma el intervalo dinámico para el dsDNA está entre 2 ng/ $\mu$ l y 5,000 ng/ $\mu$ l. Debido al desvío del haz integrado y al uso de cables de fibra óptica, es posible medir la muestra directamente sobre a superficie de la ventana óptica. La tapa con el espejo, proporciona un paso óptico de luz bien definido y previene a la muestra de posible evaporación o secado. Evitar esta evaporación, es lo que garantiza la reproducibilidad de la medida ya que la muestra no se concentra.

Durante los procesos de llenado y limpieza, la cubeta permanece en el espectrofotómetro y garantiza que la posición óptica sea continuamente idéntica respecto a la apertura del haz luz y sin variación con respecto a la medida de la referencia.

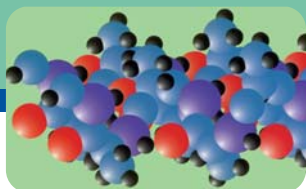
El BioSpec Mini es un espectrofotómetro de barrido de haz sencillo compacto que barre desde 190nm a 1100nm con un paso de banda de 5nm. Utiliza un monocromador con

red de difracción holográfica y un detector de silicio. Está específicamente diseñado para ofrecer medidas cuantitativas de DNA, RNA y proteína permitiendo la normalización de la concentración de la muestra antes de la electroforesis. Las muestras de proteína de concentración conocida se miden de forma automática para crear una curva de calibración, la ecuación y el valor de R<sup>2</sup>. Las muestras de concentración desconocida se miden de forma directa mostrando el BioSpec-mini en pantalla los datos de concentración de proteína así como la absorbancia.

### Características:

- Cuantificación sencilla de DNA/RNA y proteína utilizando software diseñado exclusivamente para tales aplicaciones mostrando los resultados por pantalla LCD.
- Cuantificación de proteína utilizando los métodos Lowry, BCA, Bradford y A280.
- Trabaja con cubetas de UV-VIS estándar y con TrayCell de medidas ultra-micro.
- Modo de cuantificación de ácidos nucleicos para ssDNA, RNA, oligo DNA, oligo RNA.
- Software de fácil uso para cálculos de peso molecular de ácidos nucleicos, coeficiente de absorción molar, y T<sub>m</sub> (temperatura de fisión de DNA y RNA de doble cadena).





## Análisis de viabilidad de células de insecto con el Vi-Cell XR de Beckman Coulter

El Vi-Cell de Beckman Coulter es capaz de realizar el ensayo de viabilidad de células de forma automática empleando el método de tinción con azul tripan.

### Método de tinción con azul tripan

El método es ampliamente aceptado y consiste en mezclar tinte azul tripan (0.4%) con un volumen igual de suspensión de células. Las células viables, dado que su membrana está intacta, no se verán afectadas por el tinte, mientras que las células no viables se teñirán de azul al penetrar el tinte a través de sus membranas permeables o deterioradas. El método manual requiere que un técnico realice el recuento, con la vista, de células viables y no viables empleando una cámara de Neubauer en un microscopio. Además de ser un trabajo arduo, esta técnica posee un grado de error elevado (hasta el 30%) debido a la naturaleza subjetiva del recuento manual.

### El Vi-Cell

El Vi-Cell de Beckman Coulter automatiza el método de tinción con azul tripan. El Vi-Cell combina la última tecnología en imagen, algoritmos de reconocimiento y manejo de flúidos. El sistema realiza la aspiración de la muestra, adición de reactivos y limpieza posterior de forma totalmente automática. Una vez que la suspensión celular es aspirada y mezclada con el azul tripan, se hace pasar a través de la celda de flujo



Figura 2. Analizador de viabilidad de células Vi-Cell de Beckman Coulter

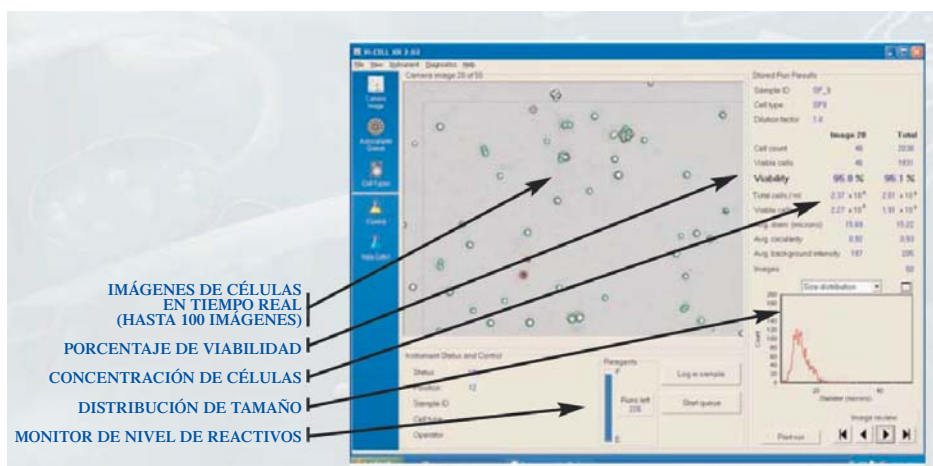


Figura 1. Las células viables se marcan en verde y las no viables en rojo.

para la toma de imágenes. El Vi-Cell puede analizar hasta 100 imágenes por muestra, aumentando el volumen entre 15 y 30 veces respecto al empleado en el método manual. El tiempo total de medida es menor de 2.5 minutos.

### Análisis de células de insecto célula

Las células de insecto se emplean en la producción de proteínas terapéuticas. El gen específico que codifica la proteína de interés se introduce en la cánula mediante un ADN vírico de la familia Baculoviridae. La producción de proteína mediante este mecanismo, la infección vírica de la célula de insecto, se conoce como el Sistema Vector Baculovirus. La célula de insecto más empleada es la especie SF9, o *Spodoptera frugiperda*.

### Ajustes del instrumento

Cuando se emplea el Vi-Cell, la mayoría de las células se pueden analizar empleando los ajustes por defecto del instrumento. El software del Vi-Cell permite una selección sencilla de los parámetros óptimos de medida, asegurando unos resultados exactos.

Los ajustes del Vi-Cell para células de insecto SF9 son los siguientes:

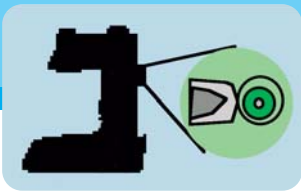
- Tamaño mínimo ( $\mu\text{m}$ ) = 9
- Tamaño máximo ( $\mu\text{m}$ ) = 50
- Número de imágenes = 50
- Ciclos de aspiración = 1
- Ciclos de mezcla azul tripan = 2
- Brillo de célula = 85
- Enfoque de célula = 100
- Brillo célula viable = 75
- Circularidad mínima = 0
- Grado de desagregación = bajo

### Resultados

Los resultados proporcionados por el Vi-Cell se muestran en la sección de resultados de la Figura 1. El porcentaje de viabilidad y concentración fue 95.1% y  $2.01 \times 10^6$  /mL. El Vi-Cell proporciona también concentración de células viables, diámetro celular medio y circularidad. Es posible expandir los gráficos fácilmente. Las imágenes de las células se pueden almacenar para poderlas reanalizar posteriormente.

### Conclusión

El Vi-Cell de Beckman Coulter automatiza el método estándar de determinación de viabilidad mediante el método de tinción con azul tripan, proporcionando resultados exactos y eliminando la componente subjetiva inherente al método manual.



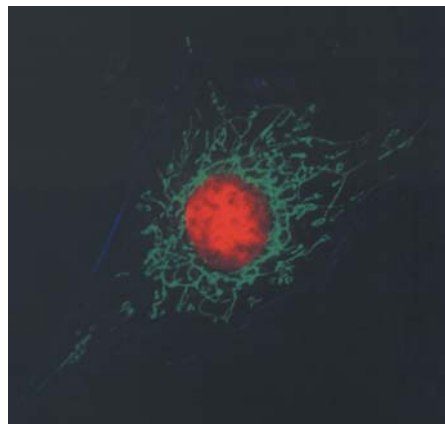
## **El sistema CLEM de Nikon (Controlled Light Exposure Microscopy) alarga el tiempo útil de barrido en el microscopio confocal Eclipse C1**

**Controla la excitación luminosa y reduce el daño a la muestra**

Nikon Instruments Europe, líder en el desarrollo de tecnología óptica avanzada, anuncia la aparición de una nueva opción exclusiva para el microscopio confocal Nikon C1, que permite la realización de CLEM (Microscopía de Exposición Lumínica Controlada). La unidad de control utiliza sistemas electrónicos ultrarrápidos para reducir el fotoapagamiento de la muestra y la fototoxicidad en células vivas, mientras que expande el rango dinámico de la señal de la unidad confocal.

El sistema CLEM de Nikon alarga la supervivencia celular, de modo

que el investigador dispone de más tiempo para observar y registrar el experimento. Combinado con el microscopio confocal C1, los usuarios disponen de un instrumento que



puede ser utilizado por sí solo en el más amplio rango posible de aplicaciones en imagen de células vivas.

Los elementos críticos para la filmación con éxito de células vivas son la obtención de alta resolución a alta sensibilidad. La unidad de control del sistema CLEM de Nikon utiliza dos métodos de nuevo desarrollo para la obtención de imagen confocal por barrido de láser, optimizando la excitación láser y el rango de sensibilidad del detector, ofreciendo así efectos menores, tanto de fotoapagamiento, como de saturación del detector. Cuando la unidad detecta una caren-



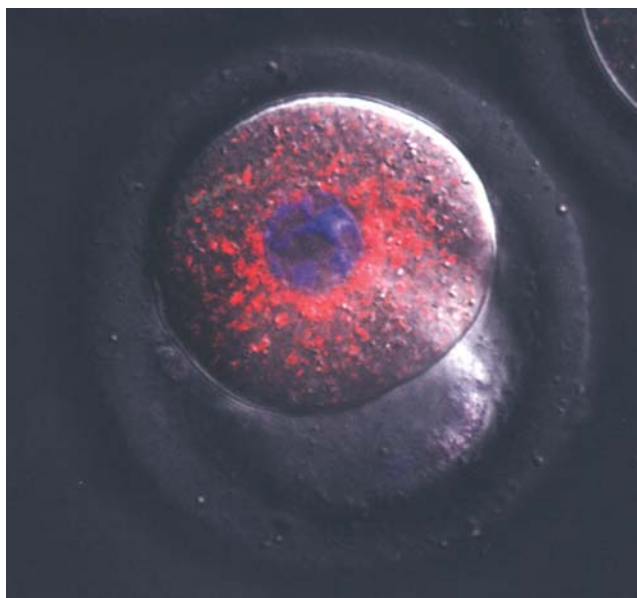
cia en la señal fluorescente de retorno, atenúa la iluminación y reduce así la excitación innecesaria de fluoróforos del fondo de imagen y de los planos de la muestra fuera de foco. Simultáneamente, un segundo procedimiento detecta los niveles óptimos de señal de retorno y puede entonces atenuar la fuente de excitación, reduciendo la deletérea sobreexposición de las moléculas fluorescentes de las zonas brillantes y de los objetos que se encuentran fuera de foco.

Controlando la excitación mediante sistemas electrónicos de ultra-alta velocidad que regulan el tiempo de exposición lumínica, la unidad CLEM bloquea la luz de excitación en aquellas áreas de la muestra que no presentan fluorocromos. Además, la unidad bloquea también la luz de excitación en áreas de la muestra donde haya más fluorescencia de la nece-

saria para una captura de imagen adecuada.

El sistema CLEM obtiene información de intensidades midiendo la tasa de incremento de respuesta del fotomultiplicador, en lugar del resultado final de la cantidad de fotones. Esto permite ampliar el rango dinámico, lo que significa que se pueden obtener imágenes adecuadas con irradiaciones luminosas de excitación inferiores a las usuales, sin reducir la calidad de imagen.

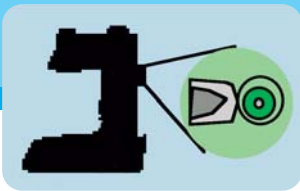
La unidad de control CLEM es un módulo adicional opcional para el microscopio confocal C1, integrado junto con el controlador C1, la unidad de modulación de láser AOM, y la tar-



jeta PC convertidora analógico-digital. La unidad CLEM calcula la integración de la señal fluorescente y el tiempo de exposición en cada píxel a tiempo real, ejecuta el control de obturación AOM y el procesamiento de datos a alta velocidad, basado en la cantidad de señal fluorescente adquirida y ganancia del PMT, y envía la señal fluorescente resultante al circuito electrónico de digitalización lineal del controlador C1.

Los resultados experimentales de obtención de imagen indican que, bajo las condiciones de uso estándar en los microscopios confocales de barrido puntual de láser, el sistema CLEM puede extender el tiempo útil de filmación de células vivas en un factor de 2.





## Sistema de Imagen y Monitorización Celular Nikon Biostation IM

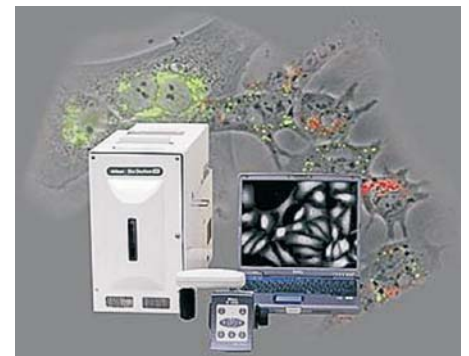
**Nikon presenta el primer sistema integrado de monitorización celular (incubación + observación) con imagen en cámara rápida.**

En los últimos años, el desarrollo de líneas celulares estables y su adecuada conservación durante el crecimiento del cultivo se han convertido en procesos fundamentales para multitud de áreas de investigación biomédica. En muchos de los casos, el desarrollo de líneas celulares es un proceso muy sensible a mínimas variaciones en las condiciones ambientales de las células, de forma que, pequeñas desviaciones en parámetros físico-químicos básicos del entorno celular, causan modificaciones irreversibles del objeto a cultivar, llegando incluso a provocar cambios genéticos en su cariotipo. Así, el minucioso mantenimiento de dichas condiciones resulta clave para el éxito en la creación de líneas celulares específicas.



Como respuesta al creciente interés en la mejora de las técnicas de cultivo celular e histológico, Nikon presenta la Biostation IM, el primer sistema integrado para el cultivo y la observación microscópica de células vivas. Se trata de un sistema de monitorización completo, que combina el control preciso de las condiciones ambientales del cultivo mediante una cámara de incubación de CO<sub>2</sub> con un sistema de observación y captura de imagen consistente en un microscopio invertido y una cámara termostatzada, haciéndolo ideal para el seguimiento del crecimiento celular en secuencias de imagen digital a intervalos durante varios días.

El principal avance que aporta la Biostation reside en su concepto de estación integral de trabajo. A partir de ahora, deja de ser necesario el traslado de los cultivos desde el incubador al microscopio para su observación, ya que la Biostation posibilita la observación de la muestra dentro de la cámara de incubación. Ésta dispone de cuatro sensores de



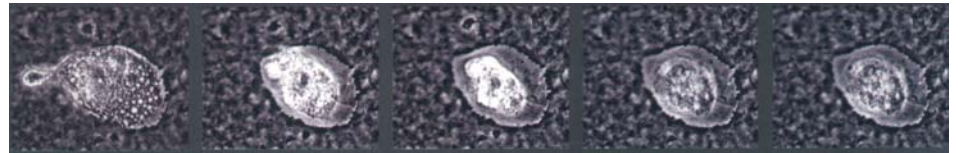
temperatura, un humidificador para el mantenimiento de la humedad a saturación y un sistema de inyección con regulación de flujo para el suministro estable de CO<sub>2</sub> u otras mezclas de gases, de forma que los tres parámetros ambientales fundamentales puedan ser determinados y controlados por el usuario.

El ajuste de foco durante largos períodos de tiempo, otra de las limitaciones presentes en los equipos convencionales, queda eliminado en la Biostation IM. Su diseño anti-deriva de foco permite obtener secuencias de imágenes perfectamente enfocadas incluso durante varios días. La inestabilidad mecánica desaparece aquí gracias a la motorización integral de la Biostation, que desplaza el objetivo en las tres dimensiones sin necesidad de mover la cámara de incubación. La deriva térmica del foco queda, igualmente, eliminada, gracias a un sistema de control de temperatura, consistente en ventiladores y calentadores, que eliminan la expansión térmica de los materiales y mantiene la temperatura del sistema óptico constante.

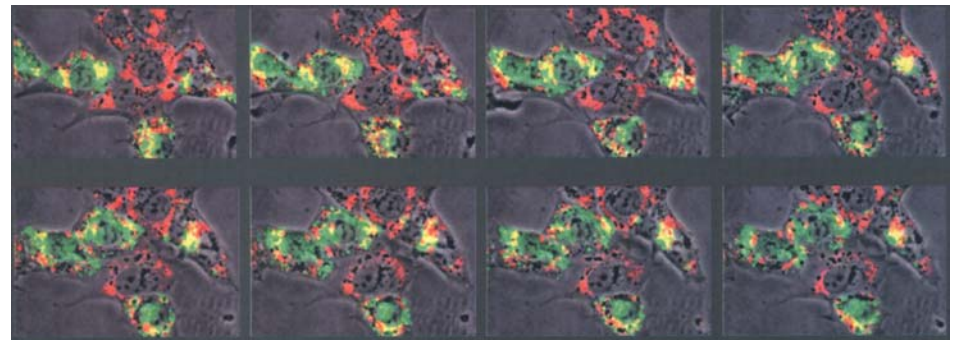
También el sistema de iluminación de la Biostation constituye una mejo-

ra reseñable. El equipo permite llevar a cabo observaciones tanto en contraste de fases como en fluorescencia. En ambos casos, se han integrado sistemas de iluminación poco agresivos. Así, para el contraste de fases se emplea luz roja LED, inocua para células vivas, mientras que el fotoapagamiento de la muestra en técnicas de fluorescencia se ha minimizado extraordinariamente con la inclusión de un obturador.

Existen dos modelos con ópticas diferentes, en función del soporte en el que dispongamos la muestra. Para soportes de fondo cubreobjetos, el equipo emplea un objetivo 40x con A.N. de 0,8. Para soportes de plástico, donde a menudo se hace necesaria gran distancia de trabajo, el equipo dispone de un objetivo 20x y



Multiplicación celular, división y muerte



Expresión de proteínas con técnicas de Fluorescencia

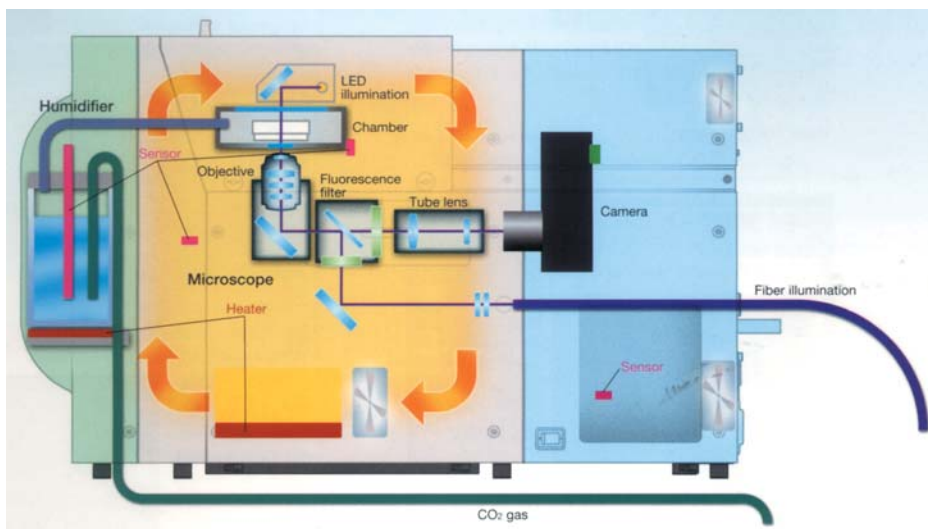
0,5 A.N. Ambos modelos incorporan lentes de tubo intercambiables de 0,5x, 1x y 2x.

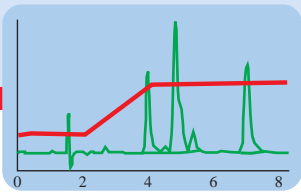
Las imágenes son captadas por una cámara refrigerada para minimizar el ruido térmico sobre la imagen obtenida. Se trata de una cámara de 2,0 Mp de alta sensibilidad, que permite tiempos de exposición muy cortos, reduciendo notablemente la fototoxicidad inducida a la muestra.

La tecnología de la Biostation permite a un usuario sin demasiada experiencia en microscopía llevar a cabo de forma sencilla y cómoda cultivos celulares y su observación, tanto en el propio laboratorio como

de forma remota a través de una red informática, pues tanto incubación como observación y captura de imágenes es dirigido desde un PC de forma autónoma. Su diseño compacto permite una fácil instalación y manejo. Los únicos accesorios externos necesarios son el iluminador de fluorescencia por fibra óptica, el mezclador de gas para la regulación de la concentración de CO<sub>2</sub> en el incubador (o bombona de gas premezclado, en su caso) y el controlador ergonómico para el manejo del sistema óptico. Por supuesto, el sistema se puede completar con la instalación de aplicaciones informáticas de análisis de imagen, habitualmente utilizadas en sistemas autónomos de observación microscópica Nikon.

El cultivo de células pluripotenciales para su aplicación en medicina regenerativa es, sin duda, un buen ejemplo de la importancia que estas técnicas han adquirido últimamente. Adicionalmente, la Biostation IM encuentra aplicación en otras áreas tales como Toxicología, Farmacología, Neurobiología, Genómica y Proteómica. En definitiva, todos aquellos campos en los que el diseño, el control y monitorización de cultivos celulares sea parte relevante de la investigación.





## Análisis de Catequinas por UFLC

Las catequinas son conocidas por sus propiedades antioxidantes así como inhibidores del cáncer y por esas razones se incorporan en bebidas comerciales como elementos comerciales.

Un ejemplo de análisis de Fast LC en Té Verde se muestra en el cromatograma 3. Después de hacer pasar la bebida por un filtro de 0.45µm, se inyectan 5µl en el equipo de Shimadzu Prominence UFLC.

### Análisis de Acido Clorogénico por UFLC:

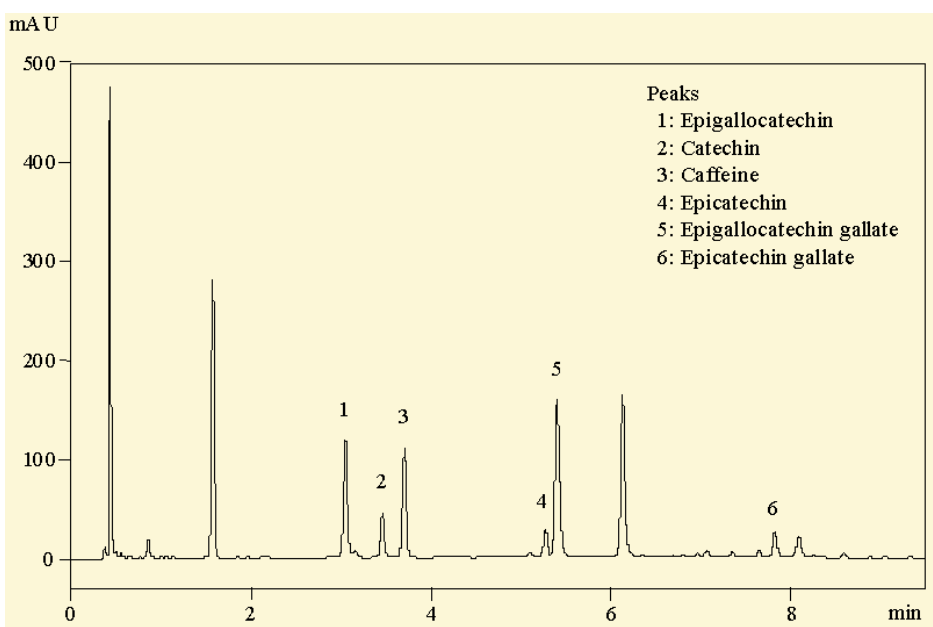
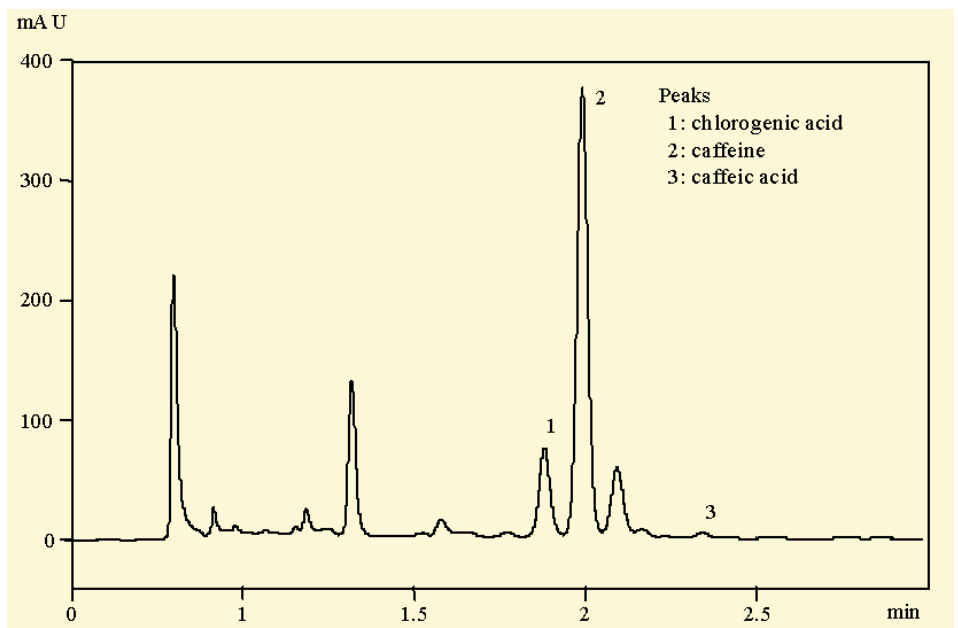
Las catequinas en Té se dividen en 8 grupos, de las cuales, 6 importantes se detectan en la muestra analizada. El ácido clorogénico se trata de un polyfenol presente de forma muy abundante en plantas superiores. Este compuesto está presente en cantidades grandes en café,

Column:	Shim-pack XR-ODS (3.0 nm id x 75 mm)
Mobile Phase:	A) 10 mmol/L (Sodium) Phosphate Buffer (pH 2.6) B) 10 mmol/L (Sodium) Phosphate Buffer (pH 2.6) / Acetonitrile (1/1)
A/B):	90/10 to 80/20 in 4 min 80/20 to 60/40 in 5 min 0/100 for 1 min 90/10 for 3 min and end
Flow Rate:	1.0 ml/min
Temperature:	37°C
Detection:	Absorbance at 230 nm
Sample Volume:	5 µL

patatas, etc. Es uno de los compuestos más importantes presentes en el café que afecta al sabor del mismo, y recientemente se han descubierto sus propiedades antioxidantes, por lo que se están desarrollando numerosos proyectos de investigación para

estudiar los efectos del Ácido clorogénico. En el ensayo que se presen-

Column:	Shim-pack XR-ODS (3.0 nm id x 75 mm)
Mobile Phase:	0.1 % Phosphoric Acid aqueous solution/ Acetonitrile (9/1, v/v)
Flow Rate:	1.0 ml/min
Temperature:	40°C
Detection:	Absorbance at 210 nm
Sample Volume:	5 µL



ta se han detectado tres compuestos: Ácido clorogénico, cafeína y ácido cafeínico. La muestra se diluyó un

Chromatographic Conditions	
Column:	Shim-pack XR-ODS (3.0 nm id x 75 mm)
Mobile Phase:	0.1 % Phosphoric Acid aqueous solution/ Acetonitrile (9/1, v/v)
Flow Rate:	1.0 ml/min
Temperature:	40°C
Detection:	Absorbance at 210 nm
Sample Volume:	5 µL

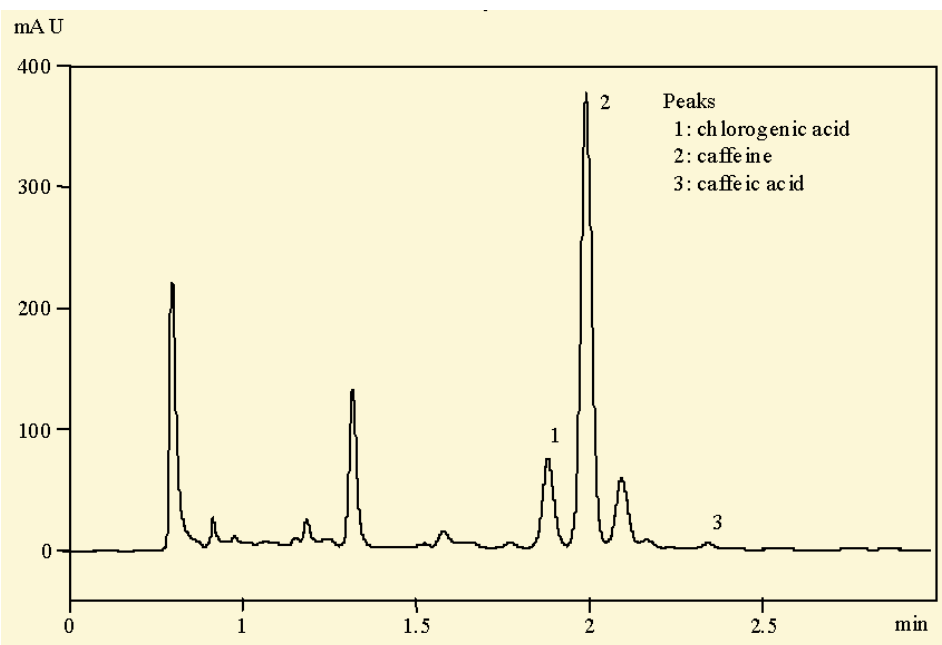
que normalmente supone una versión de tiempos de 30 minutos con el uso de columnas convencionales de 5µm de tamaño de partícula, se acorta 5 veces hasta un tiempo de menos de 8 minutos, usando las columnas Shim-Pack XR-ODS. Por otro lado la



## Análisis de Amino ácidos por UFLC:

El análisis de aminoácidos se realiza mediante la derivatización de los mismos por distintos agentes. En este caso la derivatización se realiza precolumna con PTC. Desde el punto de vista de análisis rápidos, la derivatización pre-columna es mucho más efectiva. La reducción de tiempo de análisis se consigue gracias al uso de las columnas de Shimadzu XR-ODS junto con el sistema Prominence de UFLC.

La figura 6 muestra el resultado del análisis Ultra Fast de aminoáci-



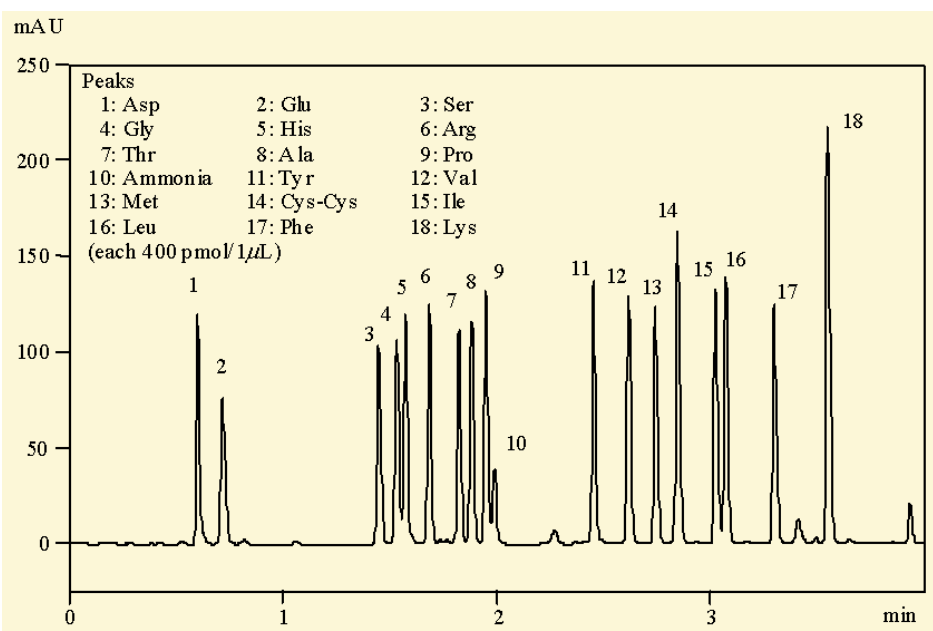
factor de cinco, se filtró en membrana de 0.45µm y se analizó.

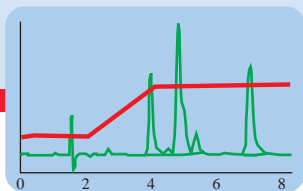
## Análisis de Vitaminas solubles en agua por UFLC:

El análisis de vitaminas hidrosolubles presente en suplementos vitamínicos y bebidas se suele llevar a cabo mediante el uso cromatografía de par iónico. Por esta vía el uso de gradientes está limitado y el análisis requiere bastante tiempo. Este tipo de análisis hace de esta separación un candidato muy adecuado para su optimización por Ultra Fast LC (UFLC) utilizando las columnas XR-ODS. La figura 5 muestra el cromatograma obtenido por la inyección de 5µl de bebida que fue filtrada en membrana de 0.45µm. El análisis,

estabilización de las columnas de par iónico requieren mucho tiempo mientras que las XR-ODS reducen este tiempo de forma drástica.

Column:	Shim-pack XR-ODS (3.0 nm id x 75 mm)
Mobile Phase:	A) 10 mmol/L (Potassium) Phosphate Buffer (pH 7.0) B) Acetonitrile
A/B):	95/5 for 0.3 min 95/5 to 60/40 in 3.4 min 40/60 for 1 min 95/5 for 2.3 min and end
Flow Rate:	1.2 ml/min
Temperature:	40°C
Detection:	Absorbance at 254 nm
Sample Volume:	2 µL



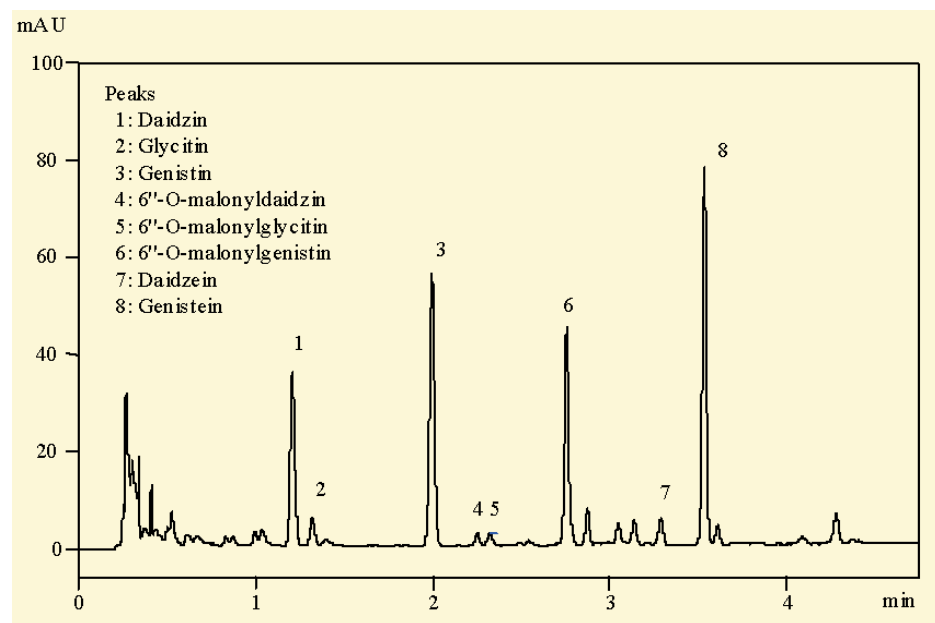


**Column:** Shim-pack XR-ODS (3.0 nm id x 75 mm)  
**Mobile Phase:**  
 A) 0.1% Formic Acid in Water  
 B) 0.1% Formic Acid in Acetonitrile  
 A/B) 85/15 to 80/20 in 1.5 min  
 80/20 to 60/40 in 3.5 min  
 5/95 for 1 min  
 85/15 for 2 min and end  
**Flow Rate:** 1.2 mL/min  
**Temperature:** 40°C  
**Detection:** Absorbance at 275 nm  
**Sample Volume:** 5 µL

mona femenina, el estrógeno. La figura 7 muestra el resultado del análisis de una muestra de harina de soja. De las 15 tipos de isoflavonas confirmados que existen en la soja,

## Análisis de trazas de impurezas en Cefazolina por UFLC:

El análisis de impurezas normalmente requiere largos análisis de separación de compuestos con estructuras muy similares. Además requieren de detectores con unos niveles de sensibilidad muy elevados para poder determinar las impurezas a nivel de trazas. El cromatograma de la figura 8 muestra el amplio rango dinámico del detector de absorbancia ultravioleta-visible Prominence SPD-20A combinado con las columnas XR-ODS, para el estudio de impurezas de la Cefazolina, primera generación de antibióticos de cefalosporina, en Alta Velocidad con un tiempo de análisis de menos de 4 minutos.



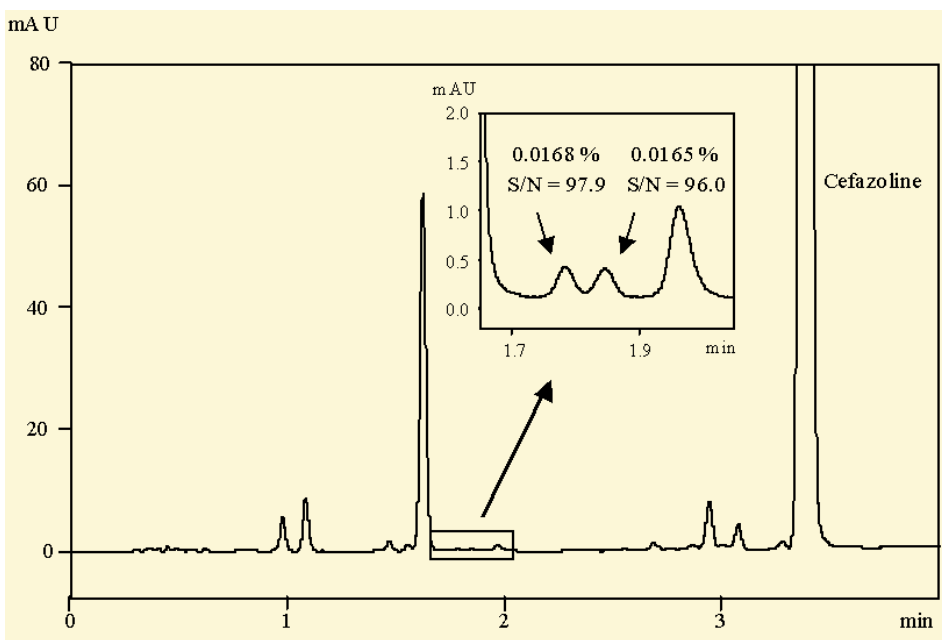
dos derivatizados con Phenil-isotiocianato. Donde el análisis con derivatización post-columna dura alrededor de 1 hora, y 25 minutos con derivatización pre-columna, el análisis con UFLC se reduce a tan solo 7 minutos.

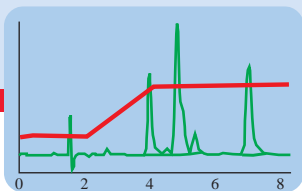
incluidos Daidzina y genisteina, se detectaron 8 de ellas. El análisis dura alrededor de 45 minutos utilizando la cromatografía convencional, mientras que con UFLC el mismo análisis consume menos de 5 minutos.

## Análisis de Isoflavonas por UFLC:

Las isoflavonas se encuentran en numerosos productos de consumo de forma natural, y en ocasiones son utilizados de forma comercial como valor añadido de tales productos. Estos productos se están investigando por su percida actividad a la hor-

**Column:** Shim-pack XR-ODS (3.0 nm id x 75 mm)  
**Mobile Phase:**  
 A) 20 mmol/L (Sodium) Phosphate Buffer (pH 2.5)  
 B) Acetonitrile  
 A/B) 92/8 to 80/20 in 4 min  
 50/50 for 3 min  
 92/8 for 2.5 min and end  
**Flow Rate:** 1.2 mL/min  
**Temperature:** 40°C  
**Detection:** Absorbance at 272 nm  
**Sample Volume:** 2 µL

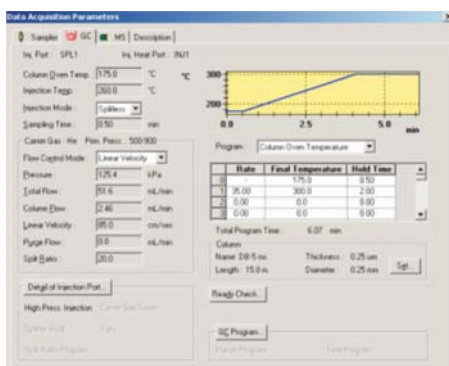




## Determinación de THC en saliva con el GCMS QP2010 de Shimadzu.

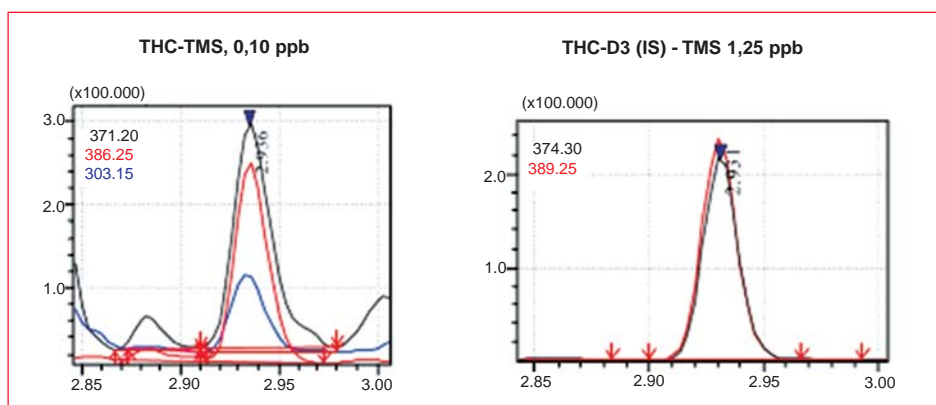
El instituto nacional de drogas de abuso [NIDA] determina los niveles de la detección para la confirmación por GCMS.

Los niveles varían dependiendo de matriz y de blanco de la muestra. Uno de los usos del GCMS más problemáticos es la determinación de THC en saliva. La detección para THC en niveles bajos, de ppb [ng/ml], es



requerida debido a varios factores, incluyendo: 1) eliminación rápida de THC de la saliva desde la exposición y 2) volúmenes de muestra pequeños. En esta aplicación se demuestra cómo el Shimadzu GCMS QP-2010Plus puede ser el instrumento necesario para realizar este análisis.

Este análisis fue realizado usando el Shimadzu QP- GC-2010Plus, cromatógrafo con control de flujo avanzado y usa una técnica de alta presión de la inyección, la bandeja auto del inyector AOC-20i/20s. Usando el



Cuadro 1: Cromatograma del estándar de la calibración 0.10ppb.

puerto split/splitless estándar (SPL-2010) de inyección en el GC-2010 como inyector de alta presión. Estos resultados fueron obtenidos usando una columna 15m x 0.25mm x .25 um de fase 1MS.

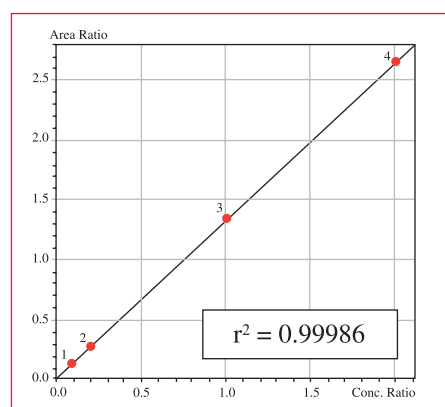
Los estándares fueron preparados de la saliva matriz, extraída y secada. El extracto después fue reconstituido y derivatizado con 40µl BSTFA para formar el derivado del trimethylsilane [TMS] de THC. Las concentraciones usadas para los volúmenes de muestra extraídos eran 0.100ppb - 2.50ppb. El THC-d3 se añadió en 1.25ppb en todas las muestras como estándar interno usado para la cuantificación.

Los análisis se realizaron en modo SIM con las masas 371, 386 y 303 para el THC y las masas 374 y 389 para detectar el estándar interno THC-D3.

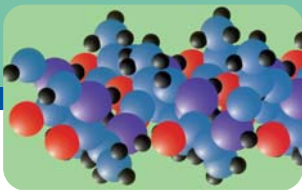
CROMATOGRAFÍA GASEOSA  
El GC-2010 fue programado para utilizar velocidad lineal constante des-

pues de la inyección de alta presión programada y del splitless.

Con un 1µL inyectado en el GCMS, el límite de detección previsto para este compuesto es 0.01ppb usando el mismo método demostrado. La detección a este nivel es caracterizada por 3/1 s/n para el ion de la cuantificación con los cocientes isotópicos constantes con cantidades calibradas. Cuando está utilizado para niveles más altos, el sistema necesita ser vuelto a calibrar para los nuevos niveles de detección.



Cuadro 2: Resultado de la calibración para el método de la THC-Saliva.



## Nuevo FlowCAM III. Combinación de la citometría de flujo y la microscopía

### Análisis de Materia Orgánica Particulada.

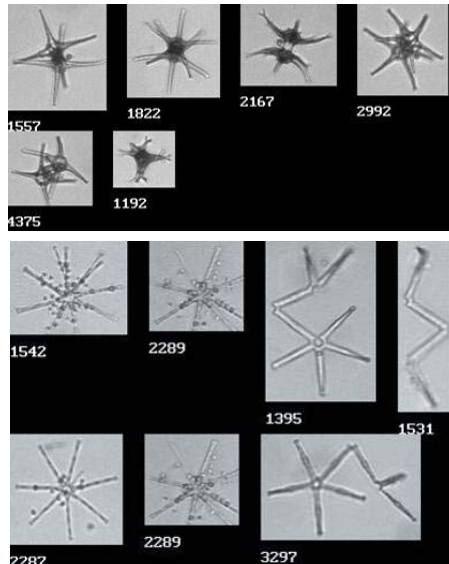
FlowCAM es el nuevo sistema dirigido a todos aquellos usuarios que habitualmente requieren de la última tecnología en monitorización rápida de partículas en fluidos de diferente naturaleza.

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

El sistema de procesamiento del FlowCAM, captura imágenes digitales de cada célula y presenta los datos en un formato general de fácil interpretación o bien a través de nuestro patentado Escatergrama.

#### Características

El nuevo procesador digital de señales permite que el FlowCAM sea más rápido y más fiable cuando se trabaja tanto en fluorescencia como en Scatter. El tiempo de captura de la imagen ahora es de 25 milisegundos, lo que equivale a 40 frames/sg. Esto nos permite ahora manejar hasta 20 acontecimientos fluorescentes por segundo.



Podremos medir la anchura del pulso del acontecimiento fluorescente.

El rango de detección se amplía con lo que se pueden captar partículas más pequeñas que despidan luz fluorescente (por tanto una mejor separación señal/ruido).

Procesamiento de imágenes capturada más rápido

Es posible modificar la frecuencia de eventos permitiendo que el usuario determine el caudal y/o la concentración óptimos

Control mejorado de la intensidad de luz y de la duración del flash, juntado con una fuente de alimentación más estable, proporciona más luz uniforme y por lo tanto mejor calidad de la imagen.

Posibilidad de ajustar la

adquisición de la imagen en el modo de Autolmage (de 1/sec hasta 15/sec) y posibilidad de contar el número de partículas por ml introduciendo un volumen conocido en los modos de triggering scatter y triggering fluorescencia.

#### Aplicaciones

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

#### Química

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

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

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

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



## Oceanografía

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

FlowCAM® puede incluso ser usado en combinación con estaciones de medición submarinas para la monitorización continua de las aguas y estudiar así cambios en el fitoplancton y en otras partículas, así como en las condiciones de temperatura y salinidad.

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

## Farmacéuticas

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

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

## Calidad en Aguas

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

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

Con la técnica de Spot-checking, FlowCAM® es capaz de encontrar donde se producen cambios en el entorno acuático y mostrar visualmente los microorganismos causantes de los disturbios. Esta información tan útil, obtenida en tiempo real, ayuda al control de la calidad de las aguas on-line, así como a determinar si las modificaciones o alteraciones puntuales en el entorno acuático son fruto de eventos accidentales o introducidos.

## Características Técnicas:

El nuevo FlowCAM® viene equipado con una serie de mejoras que permiten una mayor versatilidad a la hora de trabajar con diferentes aplicaciones.

- Nuevo procesador digital de señales (DSP) Hasta 30 veces más rápido que el anterior procesador
- Cámara a color de alta resolución
- Hasta tres canales de fluorescencia y un canal de Scatter con detector por diodo
- Puertos USB 2.0
- Procesador Intel Pentium 1.7 GHz, 2 GB RAM, 60 GB HD

## Nuevo Software Visual Spreadsheet

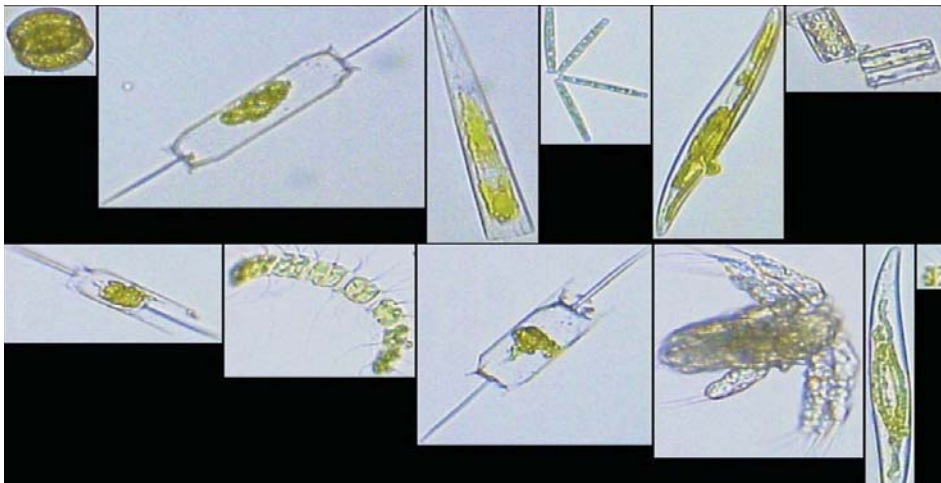
El nuevo software de Fluid Imaging, Visual Spreadsheet, permite al usuario trabajar en profundidad en multitud de aplicaciones diferentes. Entre las nuevas opciones de este software podemos destacar:

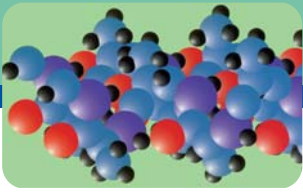
- Posibilidad de ajuste interactivo de todos los parámetros de la cámara

ra en color para una mayor eliminación de ruido electrónico y mejor captura de imágenes.

- Control por software para la elección de 1,2 ó 3 canales de fluorescencia y 1 de scattering.
- Creación de diferentes perfiles según el usuario. Almacenables y recuperables para nuevos Run.
- Captura de datos RAW para reprocesar muestras. Permite reanализar cualquier Run con settings diferentes sin necesidad de volver a pasar la muestra.
- Software con capacidad de clasificación taxonómica en Tiempo Real.
- Creación de librerías para diferentes grupos de imágenes que pueden ser utilizadas posteriormente en otros runs como filtro de referencia para seleccionar sólo las imágenes que se ajustan a unos determinados parámetros.
- 15 tipos de gráficos configurables por el usuario para comparar fluorescencias entre sí, fluorescencia con tamaños, tamaños con frecuencias, etc...
- Control de la ganancia de la cámara y el umbral de captura de la imagen a Tiempo Real o predefinido.
- Actualizaciones gratuitas durante el primer año.

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





## Sistemas de almacenamiento de ADN y sangre a temperatura ambiente

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.

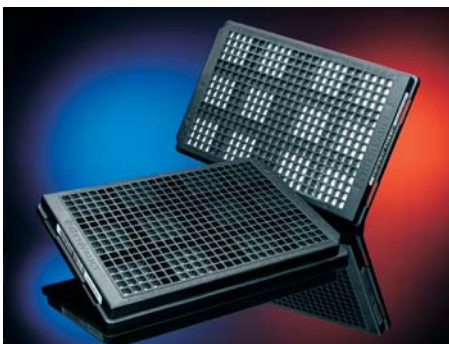
### Diseño de las placas

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.
- Placas para 24 muestras de 4 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 cuál 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 reacti-



vos 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. 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.....

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 downstream realizada.

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

### Recuperación del DNA

La calidad del DNA recuperado de las placas fue evaluado mediante amplificación por PCR de un fragmento mitocondrial de 2,5Kb y otro fragmento del activador del plasminógeno (tPA) de 9,5 Kb.

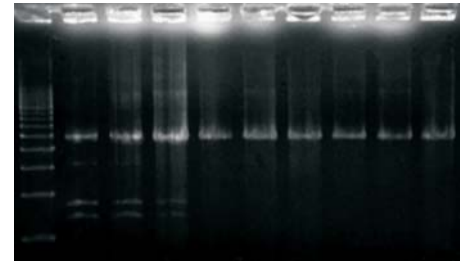


Figura A.

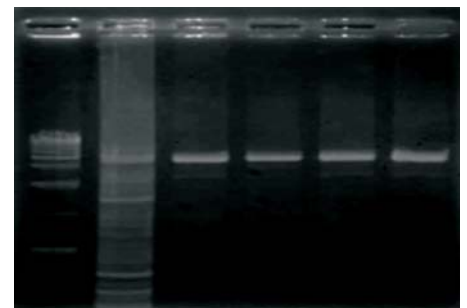


Figura B.

En la Fig. A, se observa la amplificación del producto de PCR de 2,5 Kb. En la calle 1 el marcador, en las calles 2, 3 y 4 se corrieron los controles positivos con 0,5ng, 5ng y 50ng de DNA respectivamente. En las calles 5 a 7, se observa el resultado obtenido con 0,5ng, 5ng y 50ng extraídos de sangre total almacenada en placas Genvault. En las calles 8-10 tenemos los mismos resultados para una segunda muestra de sangre en la que el DNA se extrajo por otros métodos diferentes (Qiagen QIAamp® DNA Mini Kit and QIAamp.DNA Blood Mini Kit Handbook.)

En la Fig. B, se observa la amplificación del fragmento de 9,5Kb. En la calle 1 el marcador de 2,5 Kb. En la calle 2 el control positivo y en las calles 3-6, los resultados de la amplificación del fragmento (tPA) a partir de 4 muestras de sangre diferentes conservadas en placas Genvault.

En las muestras testadas la calidad e integridad del DNA obtenido es comparable a la de cualquier otro método tradicional de extracción.

# La belleza está en el interior...



¿Has visto alguna vez imágenes de un escáner CT médico? ¡Ahora, la misma técnica puede aplicarse a sus muestras! Los sistemas de SkyScan le permiten cortar secciones o incluso volar a través de sus muestras de forma no destructiva.

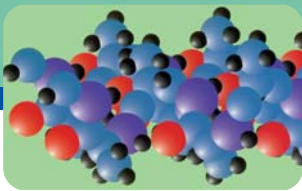


## SKYSCAN MICROTOMOGRAFÍA DE RAYOS X

El SkyScan 1172 representa una nueva generación de sistemas de micro-CT por rayos X de sobremesa. Una novedosa construcción en la que tanto el soporte de muestra como la cámara de rayos X son móviles, permitiendo una combinación de resolución de imagen, ajuste a tamaño de muestra, velocidad de barrido y rendimiento sin precedentes.



# SKYSCAN



## 2 + 2 = 4 ¿la fórmula sigue funcionando?...

De como la amplitud de opciones nos permite adaptarnos más y mejor a cada necesidad.....

### Antecedentes

Actualmente, dentro del mercado de equipos para la detección de diferentes tipos de señales, el lector de microplacas Synergy 2 - un sistema con capacidad para trabajar en cinco modos "LFPTA" (L= Luminescencia; F = Intensidad de Fluorescencia; P=Fluorescencia Polarizada; T= Fluorescencia "Time-Resolved"; A = Absorbancia UV-Visible basada en monocromador) se ha situado como uno de los equipos de uso más ampliamente extendido en laboratorios que trabajan en el ámbito de la investigación de las Ciencias de la Vida; éste - en su momento - nuevo sistema de detección, ha dado la posibilidad a los investigadores de con un equipo compacto y modular, obtener un alto nivel de resolución en el análisis de microplacas a bajo coste.

Basado en su antecesor, el Synergy HT, Synergy 2 utiliza una única combinación de monocromador, filtros y espejos dicróicos que dan la posibilidad de actuar al mejor nivel en los diferentes modos. (Fig.1)

La capacidad para adaptarse a las diferentes y nuevas necesidades experimentales han hecho que BioTek desarrolle ahora un nuevo sistema aún más completo: el nuevo SYNERGYTM 4.

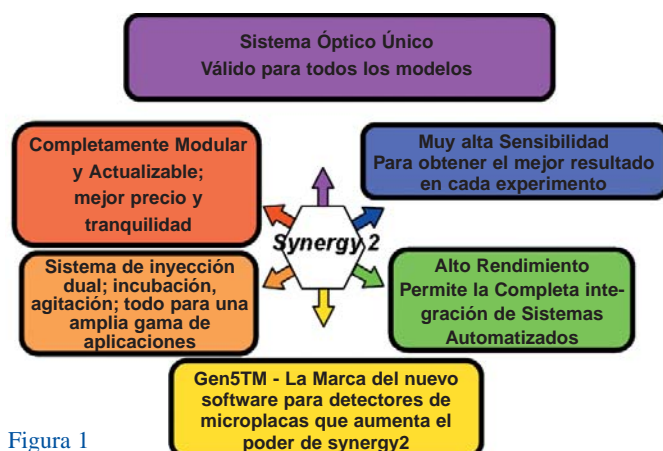


Figura 1

	Filter-based	Monochromator-based	Hybrid Technology
Spectral Scanning	☐	✓	✓
Flexible wavelength selection	☐	✓	✓
Convenience	☐	✓	✓
Fluorescence Polarization performance	++	+	++
TRF / TR-FRET performance	++	+	++
Best performance across spectrum	✓	☐	✓
Ratiometric ion channel assays	✓	☐	✓
Filtered luminescence (e.g. BRET)	✓	☐	✓
Fast wavelength switching	✓	☐	✓
Best read speed / throughput	✓	☐	✓

Figura 2.

### Tecnología Híbrida (elegir sí, pero no prescindir)

A diario estamos obligados a elegir una opción concreta en los más diversos ámbitos de nuestra vida : ¿de naranja o de limón ?, ¿mar o montaña?, ¿estudias o trabajas?, ¿en efectivo o con tarjeta?.....ustedes mismos.

¿Y si en lugar de elegir y, por tanto, renunciar a la otra opción, jugáramos a adaptarnos a la situación?. Como en el resto de los campos, los usuarios de este tipo de sistemas, hasta ahora, debían elegir entre las ventajas e inconvenientes de un lector de microplacas que utiliza

un sistema de detección basado en filtros u otro con detección por monocromador...pero, si en lugar de perder las ventajas de uno o de otro se pudiera SELECCIONAR que sistema utilizar según lo que se adapte mejor al tipo de experimento que queremos realizar el éxito estaría prácticamente asegurado.

do... La falta de opciones es la que en muchas ocasiones nos empuja a elegir, sin embargo, con el Sistema Híbrido que incorpora el nuevo Synergy 4 la capacidad de elección está servida.

Si bien es cierto que un sistema de detección basado en un monocromador de red de difracción no tiene la sensibilidad necesaria y suficiente para realizar con el mejor éxito experimentos de tipo BRET o Chroma-Glo, o que el cambio de una longitud de onda a otra en este sistema es demasiado lento para el análisis "ratio-métrico" de canales iónicos (fluorescencia), por el contrario, en la parte positiva, este sistema no transmite la luz sino que la refleja, lo que evita que las radiaciones UV interfieran con la señal de nuestra muestra; además tiene la capacidad de adaptarse a cambios en las condiciones de la medición y es fácil y cómodo de utilizar.

En el otro lado del ring los sistemas basados en filtros, con mejor sensibilidad que una red de difracción, son, por un lado, "más baratos". Además, en la mayoría de los casos, son más sensibles y conceden un mayor control de los parámetros ópticos - mucho más específicos según el tipo de marcaje - y permiten trabajar cómodamente en dos longitudes

de onda diferentes; pero como en el anterior caso a estas virtudes se contraponen la falta de flexibilidad (para cada nueva aplicación son necesarios nuevos filtros, lo que supone su elección, compra, instalación,...), no son sistemas válidos para realizar un escaneo espectral y en el caso de necesitarlos para trabajar en el UV (no visible) aún disminuye más su sensibilidad, añadiendo a este problema que no soportan bien este tipo de radiaciones.

Con todo esto, y en resumen, tanto un sistema como el otro tienen sus pros y sus contras y lo más importante, no son, en ningún caso, excluyentes, sino que, dependiendo del tipo de experimento que necesitemos realizar nos convendrá optimizar uno u otro parámetro y por tanto, elegir un sistema o el contrario. A esto se le llama **FLEXIBILIDAD**, característica que ya nos ofrecía el Synergy 2. (Fig 3)

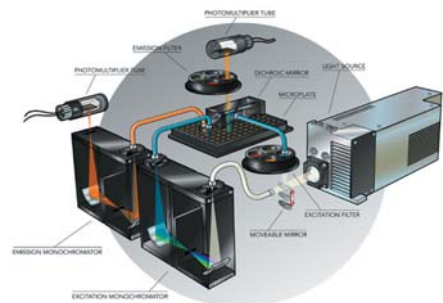


Figura 3

### Diseño de doble rejilla (o como aumentar la sensibilidad)

Puede ser que al aumentar la flexibilidad de un sistema haga que este sea menos "exacto" en su medida... puede ser, pero no en el caso del Synergy 4; además de combinar los dos sistemas de detección que hemos visto y ser flexible, el nuevo Synergy 4 utiliza un método de filtrado de la luz basado en una doble rejilla ("Double Grating Design").

Y esto ... ¿para qué sirve? ¿cuales son sus ventajas?:

De entrada, este sistema reduce considerablemente el ruido de fondo, lo que hace que el sistema sea más sensible; es más cómodo porque no

es necesario probar cada filtro, ya que por sí mismo selecciona las condiciones óptimas para el experimento y no muestra los saltos en la medida que se producen al cambiar de un filtro a otro.... como puede verse, en general, nos permite trabajar en continuo a pesar de los cambios que podamos ir introduciendo en el diseño experimental. Todo esto confiere a nuestro sistema además de flexibilidad una alta sensibilidad. (Fig 4)

### Seamos versátiles señores

Ya lo dijo Groucho Marx.: "Estos son mis principios. Si a usted no le gustan, tengo otros".

Como en la vida misma lo mejor es adaptarse a las condiciones necesarias para ser útiles que nos impone la realidad, no luchar contra ellas; la teoría de la selección natural funciona incluso a nivel de espectrofotómetros, y esa es la principal característica del nuevo Synergy 4. Synergy™ 4 ofrece un diseño óptico único creado con el objeto de dar el mejor resultado posible en cualquiera de los modos en los que se utilice, así como un nivel de flexibilidad experimental sin precedentes. En definitiva se trata de evolucionar para conseguir cada vez mejores resultados. (Fig 5)

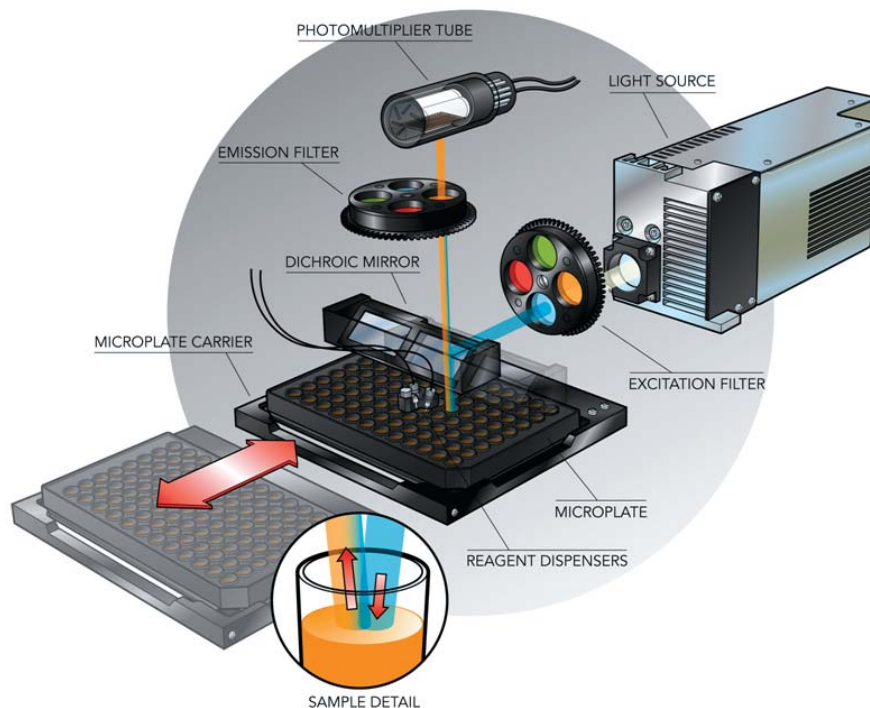


Figura 4



Figura 5

### Fórmula final

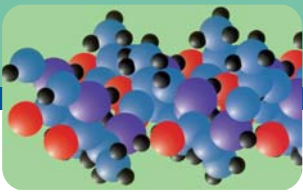
Si sumamos las características que ya tenía el Synergy 2 las mejoras que introduce su heredero, el nuevo Synergy 4 y traducimos todo esto a la más sencilla de las ecuaciones matemáticas el resultado es:

$$\text{FLEXIBILIDAD} + \text{SENSIBILIDAD} = \text{VERSATILIDAD}$$

$$\text{Synergy 2} + (1)\text{SENSIBILIDAD} + (1)\text{FLEXIBILIDAD} = \text{Synergy 4}$$

$$\text{SYNERGY (2)} + 2 = \text{SYNERGY(4)}$$

... y el resultado final nos devuelve al comienzo.



## Tekcel: El almacenamiento de muestras automatizado

**El mercado de la automatización en los laboratorios ha experimentado un importante crecimiento en los últimos 10 años. Hasta ahora, uno de los puntos más críticos y menos desarrollados era la automatización del almacenamiento de muestras en frío.**

Con el incremento en la productividad gracias a la robotización de procesos y protocolos, el número de muestras generadas se ha multiplicado. El problema aparece cuando el número de muestras a manejar es tal, que se hace imposible su control (localización en el congelador, fecha, contenido, procedencia...) de forma convencional.



FIG.1 TEKCEL ASM (Active Simple Manager)

Hace unos meses la prestigiosa Hamilton, líder mundial en fabricación de robots para manipulación de líquidos, adquirió la empresa Tekcel, actualmente una de las empresas con mayor reconocimiento y recorrido en el mundo de la automatización de almacenamiento de muestras. La experiencia de Tekcel en la optimización de estos sistemas de almacenamiento en frío, asegura una total integridad de las muestras a lo largo de todo el proceso así como la máxima facilidad de uso, tanto para la inser-

ción de muestras como la recuperación, mediante un sencillo pero potente software de control y base de datos.

El ASM de Tekcel (Active Simple Manager) permite almacenar las muestras desde temperatura ambiente hasta  $-20^{\circ}\text{C}$ , con un ambiente de gas inerte para reducir la humedad ambiental. El ASM incluye además un lector de código de barras 1D y 2D, compatible con prácticamente todos los standards del mercado, y una unidad de descongelación integrada para minimizar la intervención del usuario.

La modularidad del sistema, permite configurarlo a la medida del laboratorio, con el coste justo para nuestras necesidades, pero con la opción de aumentar su capacidad en un futuro. Cada módulo puede albergar hasta 200.000 tubos ó 2.200 microplacas y se pueden montar



FIG 2. El sistema de Tekcel permite la carga manual o automática (integrada con otros equipos).

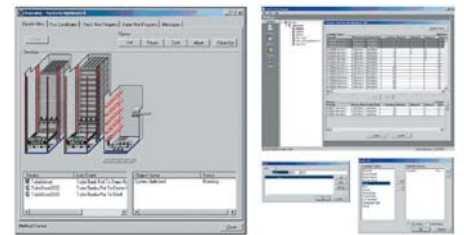


FIG. 3 . Software de control del ASM

hasta 5 módulos en paralelo (¡¡1 millón de tubos!!) interconectados.

Las muestras pueden ser cargadas en el equipo tanto de forma manual a través de una puerta frontal, como mediante una pasarela integrada con cualquier dispositivo (p.ej. cargar las placas directamente desde un robot de pipeteo)

Un sistema de autocontrol permite verificar al instante las posiciones de todas nuestras muestras dentro del equipo, teniendo un control total en todo momento, pudiendo archivar/recuperar hasta 1.000 tubos en una hora, permitiendo una productividad hasta ahora inimaginable.



# MICROLAB<sup>®</sup> STAR

## La Revolución en Manipulación Automática de Líquidos

Automatización de cultivos celulares

Cristalización de proteínas

Preparación muestras MALDI

Digestión en Gel

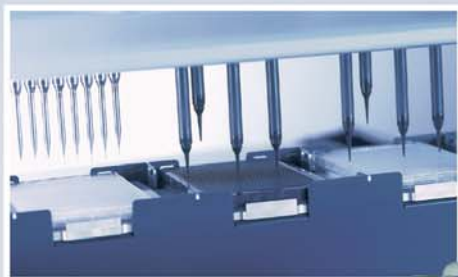
Preparación de ELISA

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



## Veá 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 apagamiento 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 < 1 nm, mediante múltiples calibraciones

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

