



# Libra S32 User Manual

English

Deutsch

Français

Español

Italiano

## **CONTENIDO**

<b>DESEMBALAJE, UBICACION E INSTALACION</b>	<b>3</b>
Notas Esenciales de Seguridad	5
<b>FUNCIONAMIENTO</b>	<b>6</b>
Introducción	6
Bloque de teclas y display	7
Modos Básicos	9
Métodos	11
Wavescan (Escanograma de ondas)	12
Multiwave (Multionda)	14
Kinetics (Cinética)	17
Standard Curve (Curva Estándar)	19
Substrate (Sustrato)	21
Facilidades del instrumento	23
Salida a Impresora	26
Envío a hoja electrónica de cálculos	27
Mensajes	27
<b>ACCESORIOS</b>	<b>29</b>
Accesorios Portacubeta de cubetas múltiples	29
Accesorios Portamonocubeta	30
Otros Accesorios, fungibles, etc	31
Software de Aplicaciones Acquire	32
<b>MANTENIMIENTO</b>	<b>33</b>
Soporte de posventa	33
Reemplaze de lámparas	34
Garantía de la Lámpara de Deuterio	36
Reemplaze de fusibles	36
Limpieza y Cuidado General	37
<b>APÉNDICE</b>	<b>38</b>
Farmacopeas	38
Buenas Costumbres de Laboratorio	39
Introducción de ecuaciones usando MultiOnda	42
Kinetics (Cinética)	44
Análisis de regresión de mínimos cuadrados y linealidad	46
<b>ESPECIFICACIONES Y GARANTÍA</b>	<b>47</b>

## Desembalaje, Ubicación e Instalación

- Inpeccione que el instrumento no muestre señas de daño ocasionado durante el transporte. De observarse algún daño, informe a su proveedor de inmediato.
- Cerciórese de que el lugar de instalación propuesto cumpla con las condiciones ambientales para un funcionamiento seguro:
  - Sólo para uso en interiores
  - Temperatura 10°C a 40°C
  - Humedad relativa máxima 80% hasta 31°C disminuyendo linealmente a un 50% a 40°C
- El instrumento debe colocarse sobre una superficie plana dura, por ejemplo una mesa o un estante de laboratorio, que pueda aguantar el peso del instrumento (13 kg) y de modo que aire pueda circular libremente alrededor del instrumento.
- Cerciórese de que no se encuentren obstruídas las entradas ni las salidas del ventilador de enfriamiento; coloque el instrumento por lo menos a 2 pulgadas de la pared.
- Este equipo debe conectarse al suministro de la alimentación con el cable de suministro de alimentación provisto y debe tener toma de tierra (conectado a masa). Puede usarse en suministros de 90 - 240 V.
- Encender el instrumento y comprobar que el display funciona (véase Funcionamiento). Puede configurarse para presentar el display y las copias impresas en inglés (0), alemán (1), francés (2), español (3), italiano (4) o ruso (5) pulsando el número entre paréntesis durante el encendido (opción predeterminada: inglés)
- El instrumento se despacha con una línea base almacenada. Se precisa de ésta para corregir por el perfil de longitud de onda / energía de las fuentes de luz. Debe almacenarse una línea base nueva al cambiarse una lámpara o si el instrumento no se usa durante un período largo de tiempo (varias semanas); para más detalles consulte la sección de Mantenimiento.
- Para introducir el nombre del laboratorio, el nombre del operario, el número de serie del instrumento, la fecha/hora actual y para configurar el instrumento para un tipo de impresora en particular, consulte las Facilidades del instrumento.

En este instrumento las lámparas solo se encienden si se está utilizando el equipo, mientras otras lámparas de deuterio / tungsteno miden continuamente. Las lámparas se apagarán automáticamente si el instrumento no se utiliza en 15 minutos. El mensaje "Encendiendo lámpara " aparecerá en pocos segundos cuando el equipo vuelva a ser utilizado.

Si se emplea este equipo de una manera no especificada o bajo condiciones ambientales no apropiadas para su funcionamiento seguro, es posible que se

deteriore la protección suministrada por el equipo y se invalide la garantía del instrumento.

## Notas Esenciales de Seguridad

Su instrumento lleva incorporado varias etiquetas y símbolos de aviso. Su propósito es informarle donde existe peligro potencial o se requiere de precaución especial. Antes de comenzar la instalación, tome tiempo para familiarizarse con estos símbolos y su significado:



Precaución (consulte los documentos acompañantes).  
Fondo de color amarillo, símbolo y contornos negros.



**AVISO**



**AVISO**

### **RADIACIÓN UV CALIENTE**

LA RADIACIÓN UV ES PERJUDICIAL PARA LOS OJOS  
Si se restaura la alimentación con la cubierta superior desmontada, debe llevarse puesta protección para los ojos

### **Accesorios**

- Debe tenerse cuidado al manipular todos los accesorios calentados.
- Cerciórese de que la tapa del compartimiento de cubetas esté cerrada al usar los permutadores de cubetas y el sipper (muestreador).
- Es imprescindible que se instale el tapón de la placa base que se facilita con los accesorios de cubeta individual para optimizar el flujo de aire e impedir el ingreso de la luz.

# FUNCIONAMIENTO

## Introducción

Su espectrofotómetro de UV y Visible es un instrumento independiente, fácil de usar, con un display de cristal líquido de alta resolución (LCD), y que le facilita una amplia variedad de mediciones espectrofotométricas. Cumple con los requisitos de la Farmacopea (Apéndice).

La operación se basa en la orientación, mediante un espejo fijo, de un haz de luz procedente de una de dos lámparas, hacia la ranura de entrada del monocromador. En donde éste pasa a través de uno de varios filtros (dependiendo de la longitud de onda seleccionada) montados en el cuadrante de filtros; una vez filtrada la luz, ésta es dirigida al retículo holográfico, el cual produce un haz de la longitud de onda seleccionada. El haz sale del monocromador por la ranura de salida, y los espejos lo concentran y dirigen hacia el compartimiento de la muestra. En donde pasa a través de la cubeta, que contiene la muestra de interés, y sale hacia una lente de desconcentración para llegar finalmente a la unidad de detección de estado sólido. La señal resultante entonces se filtra y aparece en el display.

Su espectrofotómetro:

- Mide absorbancia, concentración y % de transmisión convencionales.
- Facilita Modos de Aplicación para
  - Wavescan (Escaneo de longitudes de onda)
  - Enzyme Kinetics (Cinética de enzimas)
  - Multiple Wavelength (Multilongitudes de onda)-(Introducción de ecuaciones)
  - Standard Curve (Curva estándar)
  - Substrate Concentration (Concentración de sustrato)
- Puede almacenar hasta 50 métodos definidos por el usuario.
- Puede enviar resultados directamente por vía de interfaz serial para manipulación en Excel y para el almacenamiento y archivo de datos
- Facilita autodiagnóstico de GLP (Buenas costumbres de laboratorio)

Una gama de accesorios refina a un mayor grado el rendimiento funcional del instrumento.

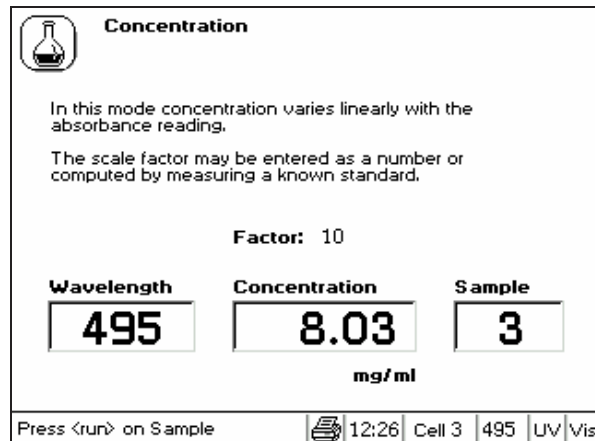
## Bloque de teclas y display

El desplazamiento por los displays, presentados en un formato de tarjeta de índice, y las opciones en ellos se hace mediante el uso de las teclas ◀ ▶ ▲ ▼ ; pulse **enter** o ▼ para seleccionar una opción. La introducción de números, letras y bases se volverá activa cuando sea apropiado.

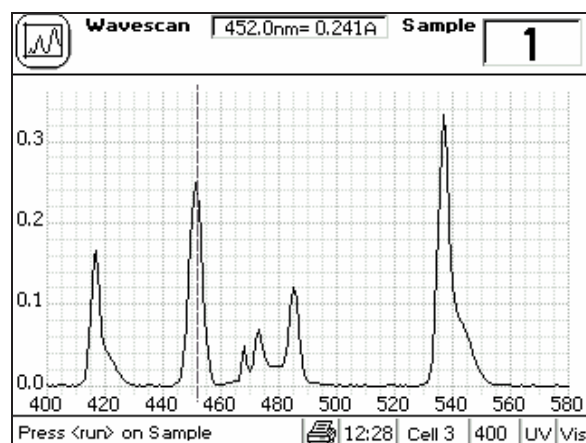
- pulse **mode** para seleccionar el modo de medición o para invocar páginas de ‘set-up’ (preparación), lo que permite la selección de rutinas de ‘post run’ (post ejecución), después de la obtención de los resultados.
- pulse **function** para acceder a las facilidades del instrumento
- pulse **set ref** para ajustar la referencia a todas las longitudes de onda en el modo seleccionado; esto se subtrae de todas las muestras subsiguientes en el experimento
- pulse **print** para enviar gráficos y resultados a una impresora en paralelo o a un PC; esto es automático si ‘Auto-print’ (Autoimpresión) está seleccionado (véanse Facilidades del instrumento)
- pulse **enter** para seleccionar una opción en el display
- pulse **C** para borrar una entrada numérica. Si en el modo de ‘Multi-Wavelength’, **C** permite ajustar la referencia para volver a iniciar otro experimento
- pulse **run** para iniciar las mediciones cuando se hace desde dentro de los modos de medición; esto puede ajustar la referencia automáticamente en los modos “no Básicos”. Se incrementan automáticamente el número de Muestra (y la posición de la cubeta).
- pulse **stop** para dar fin a la actividad presente; úsese como un “mecanismo de escape” para terminar de hacer mediciones o para volver al menú principal.

Se tienen disponibles dos formatos estándares de display, dependiendo del modo de medición:

- a) Los modos Básicos (Absorbancia, % de Transmisión, Concentración) tienen una presentación sencilla, con información presentada en un recuadro en el LCD.



- b) Otros modos de medición tienen una presentación gráfica que aparece junto con información acerca del instrumento a lo largo de una barra de estado que muestra mensajes, si está conectada una impresora o no, hora, el accesorio instalado (número de cubeta para el portacubetas de cubetas múltiples) y longitud de onda. También aparecen mensajes que indican al usuario que necesita hacer para realizar una rutina y el estado del instrumento durante esta rutina; por ejemplo set-ref (ajustar referencia), setting-ref (ajustando referencia), load sample (cargar muestra), running sample (ejecutando muestra).



## Modos Básicos

En los modos básicos es posible cambiar la posición de la cubeta pulsando el número requerido en el bloque de teclas.

### *Absorbancia*

El modo de Absorbancia mide la cantidad de luz que ha pasado a través de una muestra en comparación con un blanco (éste puede ser aire). El procedimiento es el siguiente:

- Introduzca la longitud de onda apropiada y pulse **enter**
- Introduzca el número de muestra apropiado y pulse **enter**
- Inserte la referencia y pulse **set ref.** El permutador de cubetas, si está instalado, se mueve automáticamente a la posición 2 y muestra el resultado de la medición de referencia (0.000)
  - Los instrumentos cuya operación son del tipo “pulsar para leer”, mientras que los instrumentos de lámpara de deuterio/tungsteno son de medición continua. Por consiguiente para vigilar la estabilización de la muestra, debe usarse el modo de cinética simple
  - Este valor de referencia se usa para las muestras subsiguientes hasta que se cambie
- Inserte las muestras según se requiera y pulse **run** (repita según sea necesario)
- Para volver al principio y cambiar la longitud de onda pulse **mode**

### *% de Transmisión*

En el modo de Transmisión se mide la cantidad de luz que ha pasado a través de una muestra en comparación con un blanco (éste puede ser aire), pero presenta el resultado como un porcentaje. La relación entre la concentración de la muestra y su transmitancia a cualquier longitud de onda dada no es lineal, y por lo tanto el modo de transmitancia no se usa de manera habitual experimentalmente salvo para las muestras que presentan absorbancias muy altas (bajas transmitancias). El procedimiento es el siguiente:

- Introduzca la longitud de onda apropiada y pulse **enter**
- Introduzca el número de muestra apropiado y pulse **enter**
- Inserte la referencia y pulse **set ref.** El permutador de cubetas, si está instalado, se mueve automáticamente a la posición 2 y muestra el resultado de la medición de referencia (100%)
  - Este valor de referencia se usa para las muestras subsiguientes hasta que se cambie
- Inserte las muestras según se requiera y pulse **run** (repita según sea necesario)
- Para volver al principio y cambiar la longitud de onda pulse **mode**

## Concentración

Se dispone de dos modos de concentración, Factor y Estándar.

El modo de Concentración Factor se usa cuando se conoce un factor de conversión; éste se requiere para convertir la medición de absorbancia, para una muestra a una longitud de onda específica, en una concentración, mediante una simple multiplicación de absorbancia \* factor.

El modo de Concentración Estándar se usa cuando se dispone de una muestra de concentración conocida; midiendo la absorbancia de ésta a una longitud de onda específica, se calcula el factor de conversión (véase lo anterior), y éste puede aplicarse a otras muestras de concentración desconocida. Esto es equivalente a una calibración de un solo punto, y se basa en la suposición de que una muestra de concentración cero produce una absorbancia también de cero.

El procedimiento es el siguiente:

- Introduzca la longitud de onda apropiada y pulse **enter**
- Introduzca el número de muestra apropiado y pulse **enter**
- Seleccione el modo, Factor o Estándar usando **▶**
- Si Factor
  - $\text{Concentración de desconocido} = \text{Absorbancia} * \text{factor}$
- Introduzca el factor, margen 0.01 -99999
  - Seleccione las unidades usando **▶**
  - Seleccione las unidades usando **▶**
  - Inserte la referencia y pulse **set ref.**
- Inserte las muestras según se requiera y pulse **run** (repita según sea necesario)
- Si Estándar
  - $\text{Concentración de desconocido} = \text{Absorbancia de desconocido} * \frac{\text{Concentración del estándar}}{\text{Absorbancia del estándar}}$
- Introduzca la concentración del estándar
  - Seleccione las unidades usando **▶**
  - Seleccione las unidades usando **▶**
  - Inserte la referencia y pulse **set ref.**
  - Inserte el estándar y pulse **run** (calcula el factor)
- Inserte las muestras según se requiera y pulse **run** (repita según sea necesario)
  - Se muestra la concentración de la muestra en relación con la del estándar

## Métodos

### Recall

Para invocar un método almacenado de la memoria

1. Seleccione si éste está entre 1-10, 11-20, etc usando ▶
2. Seleccione el número del método

Se obtiene el modo apropiado, cargue la referencia y las muestras, y pulse **run**

### Clear

Para borrar un método almacenado de la memoria

1. Pulse **C**
2. Seleccione si éste está entre 1-10, 11-20, etc usando ▶
3. Seleccione el número del método
4. Confirme sí (**enter**) ó no ( ▶ **enter** ▶ )

### Save

Los métodos almacenados, hasta un máximo de 50, se guardan directamente desde dentro de una aplicación seleccionando la opción save. Para guardar un método en la memoria

1. Seleccione si éste está entre 1-10, 11-20, etc
2. Introduzca el número del método
3. Introduzca el título (consulte las Facilidades del Instrumento); pulse ▶ para hacer aparecer el teclado alfanumérico o introdúzcalo directamente con el bloque de teclas

### Print

Pulse **print** para obtener una lista de todos los nombres y números de los métodos.

## Wavescan (Escanograma de ondas)

Una gráfica de cambio de absorbancia en función de la longitud de onda se conoce como un espectro de absorción, y es una de las características físicas de mayor utilidad de un compuesto, tanto como un medio de identificación (análisis cualitativo) como de estimación (análisis cuantitativo). Resulta de las varias transiciones electrónicas que son posibles dentro de una molécula, y los picos son anchos (en solución). Una derivada de un espectro puede proveer información adicional; la derivada de 1<sup>er</sup> orden permite la identificación de picos múltiples que están cerca entre ellos, la de 2<sup>o</sup> orden permite la identificación de los resaltes de los picos (inflexiones) y la de 4<sup>o</sup> orden identifica tanto los picos múltiples como las inflexiones simultáneamente. El procedimiento es el siguiente:

### *Set up (Preparación)*

- Seleccione el modo de Absorbancia o de Transmisión
- Introduzca la longitud de onda de inicio (intervalo de 190 – 1090 nm)
- Introduzca la longitud de onda de fin (intervalo de 200 – 1100 nm)
- Seleccione la velocidad de escaneo según sea apropiado; lenta, media o rápida, usando ▶
- Seleccione el intervalo de datos, 2.0, 1.0, 0.5, 0.2 ó 0.1 nm, usando ▶
  - En la tabla de abajo se muestran las velocidades de escaneo nominales
- Seleccione si se requiere un escaneo de referencia usando ▶ ; si afirmativo ('yes'), el escaneo de referencia servirá de línea de base provisional
- Guarde el método, si se requiere, usando ▶
- Inserte la referencia y las muestras, y pulse **run**

Intervalo de datos, nm	2.0	1.0	0.5	0.2	0.1
Rápido, nm/min	7300	4600	2600	1100	600
Medio, nm/min	4600	2600	1400	600	300
Lento, nm/min	3300	1800	1000	400	200

- Cuanto más pequeño es el intervalo de datos, mejor es la resolución del pico
- Los intervalos de escaneo de las longitudes de onda mínima y máxima para los intervalos de datos 0.2 y 0.1 nm son 10 – 500 nm y 10 – 250 nm, respectivamente; el intervalo de escaneo completo a estos intervalos de datos requiere el uso del software Acquire.

### ***Graph (Gráfico)***

Use esta función para ampliar los datos después de la ejecución, con fines de presentación en el display o en una copia impresa.

- Introduzca la longitud de onda de inicio
- Introduzca la longitud de onda de fin
- Introduzca si se requiere autoescalamiento del eje de absorbancia usando ▶
- Introduzca la absorbancia máxima
- Introduzca la absorbancia mínima

Para **zoom** (acercamiento a primer plano), desplace el cursor al pico de interés usando ◀ ▶ y pulse ▲ repetidamente. Para volver, pulse ▼.

### ***Overlay (Superposición)***

Use esta función para seleccionar derivadas y superponerlas al espectro, suavizar u optimizar los datos espectrales, y convertir Abs a %T. Los datos superpuestos se pueden optimizar en el LCD para fines de inspección y de impresión, usando 'scale' (escala) y 'offset' (desplazamiento) para afectar al tipo de datos seleccionados. Conviene notar que los escaneos individuales no se pueden superponer.

- Seleccione el tipo de datos según proceda; inactivado, 1ª ó 2ª ó 4ª derivada, suavice, optimice el % de transmisión, usando ▶ (niente intervalo de datos 2.0 nm)
- Introduzca un factor para multiplicar el tipo de datos seleccionado, para mejorar la claridad
- Introduzca un desplazamiento para mover el tipo de datos seleccionado en la abscisa del gráfico

### ***Peak Table (Tabla de picos)***

Use esta función para hacer aparecer en lista los valores de absorbancia y de longitud de onda de los picos de todo el espectro. El algoritmo está diseñado para identificar picos angostos; los máximos de absorbancia de los picos anchos con anchos de banda naturales de 15 nm o mayores están sujetos a un cierto grado de incertidumbre y éstos aparecen indicados entre paréntesis. En este caso, use ◀ ▶ para mover el cursor e identificarlos visualmente. Los resultados no pueden editarse.

- Seleccione 'Peak Table', si se requiere, usando ▶ (niente intervalo de datos 2.0 nm)

## Multiwave (Multionda)

La medición de valores de Absorbancia a longitudes de onda específicas y la combinación de éstos con factores apropiados es un medio de reducir los efectos de interferencia en varias aplicaciones.

### *Abs Ratio (Razón de Abs)*

Esta función permite la determinación de  $Abs \lambda_1 / Abs \lambda_2$  y del  $Abs \lambda_1 * factor$

- Introduzca la primera longitud de onda
- Introduzca la segunda longitud de onda
- Seleccione si se requiere la corrección de fondo (en ambas longitudes de onda) usando ▶
  - Si afirmativo, introduzca la longitud de onda
- Introduzca el factor a aplicarse a la primera longitud de onda
- Seleccione las unidades usando ▶
- Seleccione las unidades usando ▶
- Guarde el método, si se requiere, usando ▶
- Inserte la referencia y las muestras, y pulse **run**

### *Abs Diff (Diferencia de absorbancias)*

Esta función permite la determinación de las siguientes ecuaciones:

1.  $[(Abs \lambda_1 - Abs \lambda_2) * Factor 1]$ , para las mediciones bicromáticas, y
2.  $[(Abs \lambda_1 - Abs \lambda_B) * Factor 1] - [(Abs \lambda_2 - Abs \lambda_B) * Factor 2]$ , con compensación de la absorbancia de fondo. El uso de los factores aquí permite el estudio de mezclas de dos componentes.

Si no se requieren los factores, use 1.0.

- Introduzca la primera longitud de onda
- Introduzca la segunda longitud de onda
- Seleccione si se requiere la corrección de fondo (en ambas longitudes de onda) usando ▶
  - Si afirmativo, introduzca la longitud de onda
- Introduzca el factor a aplicarse a la primera longitud de onda
- Introduzca el factor a aplicarse a la segunda longitud de onda
- Seleccione las unidades usando ▶
- Seleccione las unidades usando ▶
- Guarde el método, si se requiere, usando ▶
- Inserte la referencia y las muestras, y pulse **run**

### ***3 point net (neta de 3 puntos)***

Esta función permite la determinación de la altura verdadera de un pico para muestras turbias que tienen una línea base en pendiente, por ejemplo la determinación de bilirrubina en el líquido amniótico.

- Introduzca la primera longitud de onda; ésta es la longitud de onda en el lado “UV” del pico
- Introduzca la segunda longitud de onda; ésta es la longitud de onda del pico, y tendrá un valor mayor que la primera longitud de onda
- Introduzca la tercera longitud de onda; ésta es la longitud de onda en el lado “visible” del pico
- Introduzca el factor a aplicarse a la altura del pico después de compensar por la línea de base en pendiente, si se requiere
- Seleccione las unidades usando ▶
- Seleccione las unidades usando ▶
- Guarde el método, si se requiere, usando ▶
- Inserte la referencia y las muestras, y pulse **run**

## *MultiWave (Multionda)*

Esta función permite la introducción de una o dos ecuaciones para que, después de la medición, puedan hacerse automáticamente los cálculos y presentarse el resultado final. Ésta es muy útil en los laboratorios industriales, de CC o medioambientales de gran actividad, pues se puede guardar el método. Se pueden medir hasta 9 absorbancias / transmisiones a diferentes longitudes de onda y aplicarse 9 factores a ellas; a la ecuación completa se puede aplicar un factor de dilución global. Antes de la introducción, escriba la ecuación y póngala enfrente, en el Apéndice se muestra un ejemplo desarrollado.

### *Set up (Preparación)*

- Seleccione el modo de Absorbancia o de Transmisión
- Introduzca la longitud de onda
- Introduzca la primera longitud de onda
- Introduzca las longitudes de onda subsiguientes
- Introduzca el tiempo de integración usando ▶
  - El valor predeterminado es de 0.1 segundo, otras opciones son 1, 2 y 5 segundos. Use tiempos de integración prolongados para las lecturas de absorbancia muy bajas o muy altas.

### *Factors (Factores)*

- Introduzca el factor de dilución global, C
- Introduzca el primer factor
  - 2 lugares decimales como máximo
  - Pulse C en el bloque de teclas para introducir un factor negativo
- Introduzca los factores subsiguientes

### *Equation 1, 2 and 3 (Ecuación 1, 2 y 3)*

Introduzca la(s) ecuación(es) a aplicarse a la medición de la muestra. Si solamente se requiere una ecuación, introdúzcala y después pase a la ecuación 3 para de este modo poder guardarla como un método.

- Introduzca el nombre / descripción de la ecuación usando el bloque de teclas alfanumérico
- Introduzca la ecuación propiamente dicha usando ◀ ▶
  - Defina la ecuación escrita de parámetro en parámetro, usando ▶ para seleccionar abrir y cerrar paréntesis, Abs a  $\lambda$ , valor del factor a  $\lambda$ ; después de la primera entrada se encuentran disponibles los operadores matemáticos (+, -, \*, /). Tenga presente que A1 representa la Abs a  $\lambda 1$ .
  - La ecuación se muestra a medida que se introduce; use C para eliminar una entrada de parámetro incorrecta.
- Seleccione las unidades usando ▶
- Seleccione las unidades usando ▶
- Active la ecuación, si se requiere, usando ▶
- Guarde el método, si se requiere, usando ▶ (esta función sólo aparece en la Ecuación 3)
- Inserte la referencia y las muestras, y pulse **run**

## Kinetics (Cinética)

Un gráfico de cambio de absorbancia en función del tiempo se conoce como un ensayo cinético, y proporciona información sobre la velocidad a la cual toma lugar una reacción; en el Apéndice se presenta más información. Nótese que se debe usar este método para comprobar la estabilización de la muestra, debido a que la lámpara no es una fuente luminosa continua.

### *Set up (Preparación)*

- Introduzca la longitud de onda
- Introduzca el factor que se requiera para convertir la pendiente en unidades apropiadas
- Seleccione las unidades usando ▶
- Seleccione si se requiere ajuste de referencia (set ref) automático en el tiempo de cero usando ▶

### *Timing (Sincronización)*

- Seleccione si se requiere modo en serie o en paralelo usando ▶
  - Use el modo en paralelo para medir varios ensayos simultáneamente. Si en paralelo:
    - Introduzca el número de muestras, 8 como máximo (o 7 si se selecciona referencia activa)
    - Seleccione si se requiere referencia activa usando ▶
      - Úsese si la referencia cambia con el tiempo y necesita substraerse
- Seleccione las unidades de tiempo, segundos o minutos, usando ▶
- Introduzca el tiempo de retraso durante el cual no deben hacerse mediciones (intervalo 0-1000)
- Introduzca la duración de la reacción
  - Nótese que si se usan kits de pruebas clínicas habrá que asignar el tiempo de reacción igual al intervalo de tiempo abajo
- Introduzca el intervalo de tiempo entre las mediciones. El número máximo de puntos de datos es 600. En el modo en paralelo se requiere un intervalo de tiempo mínimo de 8 segundos.
- Guarde el método, si se requiere, usando ▶
- Si en el modo en serie:
  - Inserte la referencia, si se requiere, y pulse **run**, a continuación inserte la muestra y pulse **run**
- Si en el modo en paralelo:
  - Inserte, según proceda, la referencia activa y las muestras, y pulse **run**
    - El tiempo y la absorbancia se actualizan en cada intervalo de tiempo, y se muestra en tiempo real la pendiente ( $\Delta A/\text{minuto}$ ). Al final del ensayo, aparece el resultado (pendiente \* Factor) en base a los últimos 5 puntos de datos. La pendiente se calcula en la parte más inclinada de la curva, y puede editarse después de la ejecución (post run).

### ***Graph (Gráfico)***

Esta función permite la escalación de los resultados, y define la manera como se presentan en el LCD y la copia impresa.

- Introduzca el máximo de absorbancia a mostrarse en el display durante el ensayo
- Introduzca el mínimo de absorbancia a mostrarse en el display durante el ensayo
- Seleccione si se requiere, después de la ejecución, la escalación automática de los resultados para que se ajusten al display
- Seleccione si los datos de los tiempos de absorbancia se imprimirán con los resultados
- Seleccione si deben indicarse los puntos de datos en cada ensayo
- Seleccione si el gráfico debe imprimirse con los resultados
- Seleccione si los gráficos serán impresos sobrepuestos (solo en modo paralelo)

### ***Post Run (Post ejecución)***

Esta función permite la selección de un ensayo (modo en serie o en paralelo) y la optimización de la pendiente, definiendo nuevamente los puntos de inicio y de fin de la pendiente.

- Introduzca el número de muestra para optimización
- Introduzca el punto de inicio de la pendiente
- Introduzca el punto de fin de la pendiente
- Seleccione si estos puntos se deben definir automáticamente
  - Si negativo ('no'), la pendiente se calcula en base a los puntos de inicio / fin introducidos anteriormente
  - Los resultados que se muestran son Abs Inicial, Abs Final, Pendiente, Pendiente \* Factor (resultado), Linealidad

## Standard Curve (Curva Estándar)

La construcción de una curva de calibración de varios puntos a partir de estándares de concentración conocida para cuantificar muestras desconocidas constituye un uso fundamental de un espectrofotómetro. Entre los ejemplos se encuentra la determinación de proteínas usando los métodos descritos previamente, y el análisis de aguas residuales para la determinación de complejos metálicos, sales y desinfectantes. De modo alternativo, puede aplicarse un factor conocido a los valores medidos de absorbancia de la muestra.

Para los estándares se ofrece una selección de 3 métodos de ajuste de curva:

- Regresión lineal – la línea recta óptima a través de los puntos de datos, usando un ajuste de raíces mínimas (precisa un mínimo de 3 puntos de datos), y la linealidad (calidad del ajuste de la línea) (véase el Apéndice)
- Interpolación lineal – une puntos de datos consecutivos mediante una serie de líneas rectas
- Spline – calcula y ajusta la línea curva óptima a través de los puntos de datos usando un método de ajuste de piezas polinómicas cúbicas naturales (precisa como mínimo 4 puntos de datos).

### *Set up (Preparación)*

- Introduzca la longitud de onda
- Seleccione el tipo de curva de entre regresión lineal, interpolación lineal o spline, usando ▶
  - Si se selecciona factor, introduzca el factor
- Introduzca el número de estándares, 9 como máximo
- Introduzca el número de réplicas de cada estándar, 3 como máximo
- Introduzca el número de réplicas de las muestras, 3 como máximo
- Seleccione las unidades usando ▶

### *Concs (Concentraciones)*

- Introduzca las concentraciones de los estándares en orden ascendente
- Seleccione el tiempo de integración usando ▶
  - La opción predeterminada es de 0.1 segundos, otras opciones son 1, 2 y 5 segundos. Para las lecturas de absorbancia muy bajas o muy altas, use tiempos de integración prolongados.
- Guarde los parámetros del método, si se requiere, usando ▶
  - Para guardar el gráfico, propiamente dicho, de curva estándar de datos de concentración – absorbancia, vuelva a este modo pulsando **mode** después de que se haya procesado el conjunto de estándares y, a continuación, guarde los parámetros del método junto con los datos.

### ***Running Standards (Ejecución de estándares)***

- Inserte la referencia y los estándares, y pulse **run**
  - Siempre se requiere una referencia en la posición 1, y se supone que tiene una absorbancia de cero y una concentración de cero
- Para incluir un estándar de concentración de cero, inclúyase éste en el número de estándares que se introducen y póngase 0.00 como concentración, úsese otro blanco cuando se requiera introducir el estándar 1
  - Los estándares deben cargarse en orden de concentración ascendente
  - Las réplicas y las medias se muestran en el display como recuadros vacíos y rellenos, respectivamente

### ***Running Samples (Ejecución de muestras)***

- Cuando el instrumento presenta estándares en el display, espera que se han de ejecutar muestras
- Pulse **run** después de que se hayan procesado los estándares o se haya invocado un método
  - Si se cargan nuevos estándares, inserte la referencia y los estándares y seleccione 'yes' (sí)
  - Si se cargan muestras, inserte la referencia y las muestras y seleccione 'no' (no)
- Las muestras tienen que procesarse independiente e individualmente
- Si la absorbancia de una muestra está dentro del 10% de los extremos de la curva de calibración, se extrapolará linealmente la curva desde los puntos de los extremos para dar cabida a esto; de ser este el caso, esto se indica en el display y en la copia impresa

### ***Graph (Gráfico)***

Esta función permite la escalación de los resultados, y define la manera como se presentan en el LCD y la copia impresa.

- Introduzca el máximo de absorbancia a mostrarse en el display
- Introduzca el mínimo de absorbancia a mostrarse en el display
- Seleccione si se requiere, después de la ejecución, la escalación automática de los resultados para que se ajusten al display

### ***Standards (Estándares)***

Esta función permite la presentación en el display de las concentraciones y las absorbancias de los estándares, junto con la media de las absorbancias y el error estándar % (SE) caso de haber usado réplicas. Si se tiene seleccionado el ajuste de curva de regresión lineal, se muestran la pendiente, la intersección y la linealidad de la regresión.

## Substrate (Sustrato)

De rutina se usan kits de reactivos para las pruebas de determinación enzimática de compuestos en los laboratorios de análisis de alimentos, bebidas y clínicos, un ejemplo es la medición de la conversión de NAD / NADH a 340 nm. El cambio de absorbancia sobre un período de tiempo especificado se puede usar para proporcionar información útil cuando se aplica un factor apropiado; el protocolo del kit de reactivos define los tiempos de inicio y fin, así como el factor. El ajuste de curva que normalmente se usa es la regresión lineal.

Nótese que se pueden calcular la velocidad de reacción y la actividad enzimática si el factor usado toma en cuenta la diferencia de absorbancia por unidad de tiempo, en lugar de la diferencia de absorbancia propiamente dicha.

Si necesita aplicarse un factor a un cambio de absorbancia con el tiempo, use la aplicación cinética.

### *Set up (Preparación)*

- Introduzca la longitud de onda
- Seleccione el tipo de curva de entre regresión lineal, interpolación lineal o spline, usando ▶
- Introduzca el número de estándares, 9 como máximo
- Introduzca el número de réplicas de cada estándar, 3 como máximo
- Introduzca el número de réplicas de las muestras, 3 como máximo
- Seleccione las unidades usando ▶

### *Timing (Sincronización)*

- Seleccione las unidades de tiempo, segundos o minutos, usando ▶
- Introduzca el tiempo de retraso durante el cual no deben hacerse mediciones (intervalo 0-1000)
- Introduzca la duración de la reacción

### *Concs (Concentraciones)*

- Introduzca las concentraciones de los estándares en orden ascendente
- Seleccione el tiempo de integración usando ▶
  - La opción predeterminada es de 0.1 segundos, otras opciones son 1, 2 y 5 segundos. Para las lecturas de absorbancia muy bajas o muy altas, use tiempos de integración prolongados.
- Guarde los parámetros del método, si se requiere, usando ▶
  - Para guardar el gráfico, propiamente dicho, vuelva a este modo pulsando **mode** después de que se haya procesado el conjunto de estándares y, a continuación, guarde los parámetros del método junto con los datos.

### ***Running Standards (Ejecución de estándares)***

- Inserte la referencia y los estándares, y pulse **run**
  - Siempre se requiere una referencia en la posición 1, y se supone que tiene una absorbancia de cero y una concentración de cero
- Para incluir un estándar de concentración de cero, inclúyase éste en el número de estándares que se introducen y póngase 0.00 como concentración, úsese otro blanco cuando se requiera introducir el estándar 1
  - Los estándares deben cargarse en orden de concentración ascendente
  - Las réplicas y las medias se muestran en el display como recuadros vacíos y rellenos, respectivamente

### ***Running Samples (Ejecución de muestras)***

- Cuando el instrumento presenta estándares en el display, espera que se han de ejecutar muestras
- Pulse **run** después de que se hayan procesado los estándares o se haya invocado un método
  - Si se cargan nuevos estándares, inserte la referencia y los estándares y seleccione 'yes' (sí)
  - Si se cargan muestras, inserte la referencia y las muestras y seleccione 'no' (no)
- Las muestras tienen que procesarse independiente e individualmente
- Si la absorbancia de una muestra está dentro del 10% de los extremos de la curva de calibración, se extrapolará linealmente la curva desde los puntos de los extremos para dar cabida a esto; de ser este el caso, esto se indica en el display y en la copia impresa

### ***Graph (Gráfico)***

Esta función permite la escalación de los resultados, y define la manera como se presentan en el LCD y la copia impresa.

- Introduzca el máximo de absorbancia a mostrarse en el display
- Introduzca el mínimo de absorbancia a mostrarse en el display
- Seleccione si se requiere, después de la ejecución, la escalación automática de los resultados para que se ajusten al display

### ***Standards (Estándares)***

Esta función permite la presentación en el display de las concentraciones y las absorbancias de los estándares, junto con la media de las absorbancias y el error estándar % (SE) caso de haber usado réplicas. Si se tiene seleccionado el ajuste de curva de regresión lineal, se muestran la pendiente, la intersección y la linealidad de la regresión.

## Facilidades del instrumento


### *Accessory (Accesorio)*

- Esta función identifica el tipo de portacubeta / permutador de cubetas que se haya instalado
  - Si se requiere puede hacerse que un permutador de cubetas de posiciones múltiples sirva de portamonocubeta
- Consulte la sección de Accesorios para más información

### *Printer (Impresora)*

- Seleccione el tipo de controlador de impresora genérico requerido; la selección es Seiko DPU-414, Epson P40, Epson FX-80+ / Epson 9 pin (9 conectores), Epson 24 pin (ESC P) (24 conectores), Epson InkJet (ESC P2 raster), PCL HP DeskJet / HP LaserJet, PCL HP DeskJet / HP LaserJet (A4), Impresora de texto (no se producen gráficos)
  - Pulse **print** en este modo para comenzar en la parte superior de la página
- Consulte “Salida a impresora” para más información

### *Display*


- Seleccione el contraste requerido usando 
  - Use la opción de alto contraste para volver el fondo blanco

### *GLP*

Esta función sólo está disponible si está activada la opción GLP en **Set up**; para más información sobre GLP, consulte el Apéndice.

- Con fines de referencia se muestran los Resultados de la Calibración de GLP

### *Introducción de caracteres alfanuméricos para copias impresas y nombres de método*

- Anule los caracteres predeterminados (resaltados), si es necesario, usando 
- Pulse la tecla apropiada del bloque de teclas para ciclar a través de las opciones de letras minúsculas, números y letras mayúsculas (por ejemplo, pulsando la tecla 2 hace ciclar por abc2ABC). Nótese que un espacio se introduce usando la tecla 1, que cicla entre 1\_1\_)
- Pulse otra tecla para pasar a la letra siguiente. Para introducir la misma letra dos veces seguidas (p.ej. AA) o número (p.ej. 00), pulse **print** y después la tecla apropiada de nuevo.
- Borre los caracteres incorrectos usando **C**
- Termine la introducción pulsando **stop**

De modo alternativo, pulsando **▶** hace aparecer un display alfanumérico que permite desplazarse en él usando **◀ ▶ ▲ ▼**; seleccione las letras usando **enter** y termine la introducción pulsando **stop**.

## ***Set up (Preparación)***

### *User (Usuario)*

Esta función permite la configuración de los parámetros del usuario en el instrumento.

- Introduzca el nombre del operario como se describió previamente
- Introduzca el nombre del laboratorio como se describió previamente
- Introduzca el número de serie o la descripción preferida del instrumento como se describió previamente
- Seleccione si se requiere sonido cuando se pulsan las teclas, el uso del sipper y los intervalos de tiempo durante las reacciones de cinética
- Seleccione si se requiere la opción de GLP activa. Si está seleccionada:
  - Pulsando ‘enter’ después de la calibración confirma que el estado del instrumento es aceptable
  - De imprimirse, aparece un encabezado con información conforme a GLP (nótese que si GLP está inactivo, no se ven afectadas las rutinas de calibración del instrumento)
  - Las lecturas y los resultados se imprimen cada vez que se pulsa **run**
- Seleccione entre ‘output to printer’ (salida a impresora) solamente, ‘output to computer’ (salida a PC) solamente, ‘output to printer and computer’ (salida a impresora y PC) usando ▶.
- Seleccione si se requiere la impresión automática de los parámetros y el gráfico (si en un modo ‘graphics’) una vez completado el proceso **run** (ejecución)
  - Cerciórese de que ‘Auto Print’ (Autoimpresión) está activo para ‘output to computer’ (salida a PC), sino pulse la tecla ‘print’. Consulte la sección de “Salida automática a PC”.

### *Baseline (Línea de base)*

Esta función permite la configuración de la línea de base del instrumento

- Seleccione ‘View’ (Ver), ‘New’ (Nueva), ‘Save’ (Guardar) o ‘Restore’ (Restaurar) usando ▶
  - ‘View’ es el modo predeterminado que se requiere para ver la información actual
  - Use ‘New’ para crear una línea de base provisional
  - Use ‘Save’ para hacer permanente una línea de base provisional
  - Use ‘Restore’ para volver a la línea de base guardada, si se creó una línea de base provisional

### *Clock (Reloj)*

Esta función permite poner la hora del reloj de tiempo real y la fecha

- Introduzca los valores pulsando ▼, y ponga los valores apropiados según se requiera

### *Service (Servicio)*

Esta función está protegida por contraseña y sólo tienen acceso a ella los ingenieros de servicio.

## Salida a Impresora

La funcionalidad de gráficos del instrumento significa que se deben satisfacer los siguientes requisitos de compatibilidad de impresora:

- La impresora no debe ser estilo USB solamente; se requiere paralelo Centronics
- La impresora no debe estar diseñada para usarse sólo con MS Windows (tipo GDI); estas impresoras son más económicas y sólo funcionan cuando se conectan a un PC que tenga instalado el controlador apropiado

En caso de alguna duda, consulte con el fabricante de la impresora

Nótese que la salida a impresora siempre es en blanco y negro, incluso en las impresoras de colores.

### *Seiko DPU-414*

Si se consigue en su país, ésta debe estar ya configurada debidamente.

De no se así, configure el software DIP SW2 al conjunto de caracteres americano.

### *Epson FX-80+ / Epson 9 pin*

Incluye la Epson FX 850 y similar.

### *Epson 24 pin (ESC P)*

Para uso con las impresoras de puntos, e impresoras Inkjet (de proyección de tinta) anteriores, de 24 conectores Epson, como la Stylus 400.

### *Epson InkJet (ESC P2 raster)*

Diseñado para uso con las impresoras Inkjet (de proyección de tinta) Epson más recientes, como la Epson Stylus Color 680.

### *PCL HP DeskJet / HP LaserJet*

Diseñado para impresoras como la HP LaserJet II/III/4, HP DeskJet 500, HP DeskJet 690C.

La impresora debe ser HP PCL nivel 3 o superior; las impresoras de las series HP DeskJet 700, 820 y 1000 no satisfacen este requisito y no pueden usarse.

Úsese con papel tamaño carta.

### *PCL HP DeskJet / HP LaserJet - (A4)*

Diseñado para impresoras como la HP LaserJet II/III/4, HP DeskJet 500, HP DeskJet 690C.

La impresora debe ser HP PCL nivel 3 o superior; las impresoras de las series HP DeskJet 700, 820 y 1000 no satisfacen este requisito y no pueden usarse.

Úsese con papel tamaño A4 (Europeo)

### *Text printer (Impresora de texto)(no se producen gráficos)*

Úsese con cualquier clase de impresora conectada en paralelo, no imprime gráficos ni caracteres acentuados.

Si se selecciona 'Auto Print' (Autoimpresión) se imprimen automáticamente los parámetros y gráficos (véase User). Si se pulsa **print** desde una página 'set up' (de preparación) de un modo se imprimirán los parámetros de ese modo, mientras que si se

pulsa **print** después de que se muestran los resultados experimentales se imprimirán tanto los parámetros como los gráficos.

## Envío a hoja electrónica de cálculos

Los resultados se pueden enviar directamente a Excel cuando el PC tiene instalado el Spreadsheet Interface Software (Software de Interfaz de Hoja Electrónica de Cálculos) (80-2110-73), y el instrumento y el PC están conectados entre sí con el cable serial (80-2105-97); el software viene acompañado de instrucciones detalladas. Por consiguiente, los datos de absorbancia / longitud de onda que comprenden un escanograma, se pueden seleccionar, por ejemplo, como columnas de números y convertirse en un gráfico más convencional usando la hoja de cálculos, ya en esta forma los datos se pueden formatear o manipular según proceda, en preparación a su inclusión en informes, o para archivarlos / guardarlos en el disco duro.

Los resultados procedentes de todos los modos de uso del instrumento se pueden enviar para su presentación de esta manera. El envío es automático cuando se pulsa la tecla **print**.

## Mensajes

La mayoría de los mensajes son muy claros y se relacionan con el uso del instrumento. Otros se relacionan con la calibración del instrumento al encenderse:

Resumen de mensajes	Causas posibles / remedio
<i>Calibration status: Fail (Estado de calibración: Fallo)</i>	Uno o más de los parámetros que se ensayan durante la calibración GLP están fuera de especificación (véase el Apéndice). Se puede aceptar este estado y, seguir usando el instrumento como siempre, o intentar de nuevo más tarde, pero se recomendaría que contacte con el ingeniero de servicio local.
<i>Calibration status: visible only (Estado de calibración: sólo visible)</i>	Sólo se calibra la región del visible; verifique las lámparas y cámbielas si es necesario
<i>Calibration status: UV only (Estado de calibración: sólo UV)</i>	Sólo se calibra la región de UV; verifique las lámparas y cámbielas si es necesario
<i>Failed to align visible lamp (Fallo al alinear la lámpara del visible)</i>	El detector no detecta suficiente energía durante la calibración; cambie la lámpara del visible
<i>Abs Non-Linear (Abs No lineal)</i>	Instrumento frío, filtros sucios o desalineamiento del cuadrante de filtros. Vuelva a calibrar un poco después. Póngase en contacto con el ingeniero de servicio local.
<i>Too much light (Demasiada luz)</i>	Cierre debidamente la tapa y cerciórese de que el tapón de la placa base está en su lugar.
<i>Beam blocked (Haz bloqueado)</i>	No llega suficiente luz al detector; compruebe que una cubeta no esté bloqueando el haz de luz
> 3.0	La muestra está demasiado concentrada o algo obstruye el paso de luz

<i>!C</i>	El accesorio no está inicializado correctamente
-----------	---

## ACCESORIOS

Si se cambia un accesorio, pulse 'Function' > 'Accessory' para inicializar el instrumento y pueda identificarse de esta manera el accesorio apropiado. Según el tipo de accesorio, se presenta una lista de opciones.

### Accesorios Portacubeta de cubetas múltiples

- Instálese desmontando el accesorio colocado, sustituyéndolo por el nuevo, girando el tornillo de montaje central hasta apriete manual e inicializando como se indicó anteriormente.
- Todos los accesorios de cubetas múltiples ofrecen la opción de usarse como portamonocubeta. Esto significa que no habrá rotación después de pulsar 'run' (ejecutar).

Descripción	Número de pieza	Comentarios
Permutador de cubetas de 4 posiciones	80-2106-01	Aloja cubetas de paso de luz de 10-50 mm
Permutador de cubetas calentado por agua, de 8 posiciones	80-2109-70	Requiere baño circulante de agua. Situar la extensión circular de la traba de tubo dentro de la parte superior del tornillo de apriete manual del permutador de cubetas. Fijar la guía de tubos a la base del instrumento usando los tornillos provistos. Sustituir el tapón de extinción frontal en la tapa del compartimiento de cubetas, por el nuevo, también provisto.
Permutador de cubetas calentado por efecto Peltier, de 6 posiciones	80-2106-04	Requiere Unidad de Control de Temperatura (80-2112-49). Insertar en el receptáculo 1.
Permutador de cubetas de 8 posiciones	80-2108-01	Repuesto, si se requiere

## Accesorios Portamonocubeta

- Instálase desmontando el accesorio existente, colocando, si es necesario, el tapón de la placa base suministrado y ubicando el portamonocubeta de forma que la flecha quede en la cara frontal y quede situado en posición. A continuación empújense las cerraduras manuales hacia atrás de tal modo que queden bloqueadas en posición. Inicializar como se describió anteriormente.

<b>Descripción</b>	<b>Número de pieza</b>	<b>Comentarios</b>
Portacubeta, paso de luz 10mm	80-2106-05	
Portacubeta, para agitación de la muestra	80-2108-10	Requiere seguidor magnético y controlador
Portacubeta, paso de luz 50mm	80-2106-07	
Portacubeta, paso de luz 100 mm	80-2107-14	
Portacubeta cilíndrico	80-2106-10	Cubetas cilíndricas de paso de luz de hasta 100 mm
Portacubeta calentado por agua	80-2106-08	Paso de luz de 10-40 mm Requiere baño circulante de agua. Sustituir el tapón de extinción frontal en la tapa del compartimiento de cubetas, por el nuevo, también provisto.
Portacubeta HPLC	80-2106-11	El volumen de la cubeta de flujo es de 8 µl, el paso de luz es de 2,5 mm Pasar los hilos a través de un orificio de la guía de tubos y fijar ésta a la base del instrumento usando los tornillos provistos. Sustituir el tapón de extinción frontal en la tapa del compartimiento de cubetas, por el nuevo, también provisto.
Portacubeta Peltier	80-2106-13	Asignar la temp. requerida en el intervalo de 20-49 °C. Insertar en el receptáculo 2.
Portacubeta eléctrico	80-2106-12	Asignar la temperatura requerida: apagado, 25, 30, 37 °C. Insertar en el receptáculo 2.

## Otros Accesorios, fungibles, etc

Descripción	Número de pieza	Comentarios
Sipper (Muestreador)	80-2112-25	Úsese si se requieren efectuar lecturas individuales en un gran número de muestras. Requiere un portamonocubeta (80-2106-05 o 80-2106-13). Se suministra una cubeta de flujo de 10 mm y tubo, junto con las instrucciones de usuario correspondientes.
Unidad de control de temperatura	80-2112-49	Se requiere para suministrar la corriente adicional necesaria para el permutador de cubetas calentado por efecto Peltier, de 6 posiciones (80-2106-04).
Base de impresora	80-2112-18	Para la impresora térmica
Cubierta para el polvo	80-2106-19	Repuesto

## Fungibles y otros aditamentos

Tubos (6) del cabezal de la bomba para el Sipper	80-2080-74
Tubos de PTFE con conectores para la cubeta de flujo	80-2055-13
Cubeta de flujo de repuesto (completa con tubos)	80-2080-60
Kit de interfaz del automuestreador	80-2104-96
Cable de interfaz serial para conexión a PC (D9 macho, del instrumento a D9 PC)	80-2105-97
Software de Interfaz de Hoja de Cálculo	80-2112-23
Cable de interfaz de impresora, paralelo, Centronics	80-2071-87

Si se requiere, el Ingeniero de Servicio de su proveedor local con el que debe ponerse en contacto para mayores detalles, puede poner a su disposición información por separado que proporcione detalles sobre las conexiones de interfaz en serie y paralelo.

## Software de Aplicaciones Acquire

Acquire consta de módulos de aplicación para el escaneo de longitudes de onda, cinética de reacciones, cuantificación, multilongitudes de onda y impulsión por tiempo, y puede utilizarse para optimizar el software que ya se encuentra incluido en el espectrofotómetro.

80-2115-31	<b>Acquire</b> Escaneo de longitudes de onda, Cinética de reacciones, Cuantificación, Impulsión por tiempo, Multilongitudes de onda
------------	---

### Especificación recomendada del PC para un mejor funcionamiento

Para un rendimiento funcional óptimo, se requiere un PC 486, o más reciente, compatible con IBM, instalado con Microsoft Windows 95, 98 o NT. El PC debe ofrecer por lo mínimo 8 MB RAM, disco duro de 200 MB, una unidad de disquete de 3.5 pulg. de 1.44 MB, CD-ROM, un ratón instalado con conexión serial y un acceso COMMS libre también con conexión serial, y el adaptador gráfico VGA. Puede utilizarse cualquier impresora que sea admitida por Microsoft Windows 95. Para más información póngase en contacto con su proveedor.

# MANTENIMIENTO

## Soporte de posventa

Suministramos contratos de servicio que le ayudan a cumplir con las exigencias de las directrices reglamentarias en materia de GLP (Buenas Costumbres de Laboratorio)/GMP (Buenas Prácticas de Fabricación).

- Calibración, certificación usando filtros correlacionables con normas internacionales
- Ingenieros autorizados y equipo de prueba calibrado
- Aprobado a la norma ISO 9001

La gama de contratos aparte del de protección contra avería puede incluir

- Mantenimiento preventivo
- Certificación

Al usar los filtros estándares de calibración, introducirlos de manera que la superficie plana esté orientada en dirección opuesta al extremo de muelle del portacubetas.

El mantenimiento por parte del usuario se limita a cambiar las lámparas y el fusible del suministro de la alimentación principal del instrumento. Para efectuar cualquier otra operación de mantenimiento o rectificación contacte con su proveedor local.

## Reemplaze de lámparas

Las lámparas de repuesto se encuentran disponibles de su proveedor usando los números de pieza siguientes:

Lámpara de deuterio	80-2106-17 (incluye también la lámpara de tungsteno)
Lámpara de tungsteno	80-2106-16

La lámpara de deuterio se suministra instalada en una placa de montaje y de preajuste; también se incluye una nueva lámpara de tungsteno.

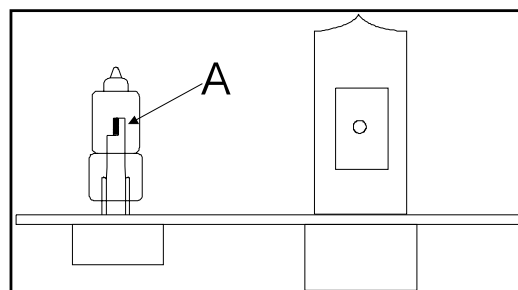
### NOTA:

- Aunque las lámparas de deuterio están cubiertas por su propia garantía, el coste de la visita de un ingeniero no lo está, y se aconseja a los usuarios que cambien sus propias lámparas. El reemplazo de lámparas es muy fácil, y el proceso se ha diseñado de modo que el usuario pueda llevarlo a cabo sin necesidad de llamar al ingeniero de servicio local. No se requiere de ningún alineamiento de la lámpara debido a que el espejo selector de lámpara se alinea automáticamente para obtener el máximo rendimiento de energía de la lámpara durante el procedimiento de calibración del instrumento.
- Las lámparas llegan a calentarse considerablemente durante su empleo. Cerciórese de que se hayan enfriado antes de proceder a cambiarlas.
- No toque las superficies ópticas de ninguna de las lámparas con los dedos (use pañuelos de papel); de tocarlas, deberá limpiarse el área con isopropanol.

Para reemplazar una lámpara siga las instrucciones siguientes:

1. Apague el instrumento, retire la muestra del portacubetas y desconecte el cable del suministro de la alimentación. Deje que las lámparas se enfríen.
2. Localice la cubierta de acceso de la lámpara en la parte izquierda del instrumento, empuje hacia abajo en la parte rebajada y desmonte la cubierta.
3. Suelte con los dedos el tornillo estriado negro en la placa de cubierta de la lámpara y desmonte la placa.
4. Deslice hacia fuera la placa de la lámpara y desconecte el conector del cable.
  - Si ha fallado la lámpara de tungsteno, la de repuesto debe insertarse sobre la placa, empujándola todo a lo largo hasta su portalámpara \*.
  - Si ha fallado la lámpara de deuterio, inserte la lámpara de tungsteno en la placa como se acaba de indicar y, a continuación, cambie la unidad completa por la nueva.
5. Reconecte el conector del cable y deslice la placa de la lámpara hacia dentro hasta que se acople en posición.
6. Vuelva a colocar la placa de cubierta de la lámpara volviendo a apretar el tornillo estriado negro.
7. Vuelva a colocar la cubierta de acceso de la lámpara.
8. Vuelva a conectar el cable de suministro de la alimentación y encienda el instrumento.
9. Una vez que se haya dejado calentar la lámpara un tiempo suficiente (30 minutos), procese una nueva línea de base.

\* Para alineación de lámpara de tungsteno fiable encajada la lámpara del tungsteno tal y como se muestra en el diagrama debajo, con la longitud correcta de alambre UN más estrecho a la lámpara del deuterium.



## **Garantía de la Lámpara de Deuterio**

Los criterios para el reemplazo de la lámpara son que debe:

- tener menos de 15 meses de nueva

## **Reemplazo de fusibles**

- 1) Apague el instrumento y desconecte el cable del suministro de la alimentación. El portafusibles sólo puede abrirse si se ha desconectado el enchufe del suministro de la alimentación, y está ubicado entre el enchufe de suministro de la alimentación y el conmutador de encendido/apagado en el panel posterior del instrumento.
- 2) Jalando de la muesca deslice para abrir el portafusible.
- 3) Coloque los fusibles (1.6A, 5mm x 20mm, FST) dentro del portafusibles y deslícelo de nuevo en posición.
- 4) Vuelva a conectar el cable del suministro de la alimentación y encienda el instrumento.

Por lo general los fusibles no se consumen durante la vida de servicio del instrumento. Si se funden repetidamente póngase en contacto con su proveedor.

# Limpeza y Cuidado General

## Limpeza externa

- Apague el instrumento y desconecte el cable del suministro de la alimentación.
- Use un paño húmedo suave.
- Limpe todas las superficies externas
- Para limpiar marcas difíciles de quitar puede usarse un detergente líquido débil.
  
- **Derrames en el compartimiento de la muestra**
- Apague el instrumento y desconecte el cable del suministro de la alimentación.
- Los portacubetas, la placa base y el compartimiento de la muestra, todos están revestidos con un acabado resistente a los productos químicos. Sin embargo, las muestras fuertemente concentradas pueden afectar a la superficie, y los derrames se deben subsanar de inmediato.
- Cumpla con todas las precauciones necesarias si está usando muestras o disolventes peligrosos.
- Un pequeño orificio de vaciado en el compartimiento de la muestra permite que se escurra hacia fuera el exceso de líquido. Los líquidos se escurrirán sobre el estante o la mesa debajo del espectrofotómetro o, si se prefiere, este orificio de vaciado puede conectarse al desagüe usando un tubo apropiado.
- Retire el portacubetas y límpielo por separado.
- Use un paño seco suave para secar el compartimiento de la muestra. Vuelva a colocar el portacubetas.
- Vuelva a conectar el cable del suministro de la alimentación y encienda el instrumento.

# APÉNDICE

## Farmacopeas

Por lo general, han estado aumentando los requisitos de laboratorio que se necesitan para cumplir con las técnicas de las Buenas Costumbres de Laboratorio; esto es especialmente notorio en el caso de las compañías farmacéuticas y en los centros biotecnológicos, donde el interés para encontrar soluciones a las oportunidades de terapia genética es mayor. Por lo general, los científicos que trabajan en la investigación farmacéutica y biofarmacéutica, sea en los centros universitarios o la industria, necesitan de un instrumento de alta especificación que cuente con la capacidad para el desarrollo de métodos.

La Farmacopea Británica (A88 Apéndice II B) indica con referencia a la resolución:

- para verificar la resolución del instrumento, debe registrarse el espectro de una solución al 0,02% (v/v) de tolueno en hexano; la razón de la absorbancia en el máximo (269 nm) y el mínimo (266 nm) debe ser por lo menos de 1,5, y puede demostrarse que esto requiere un instrumento con un ancho de banda de 1,8 nm o menos.

La Farmacopea Europea (1984, V.6.19, 2a Edición) indica con referencia a la luz difusa:

- para verificar la luz difusa del instrumento, la absorbancia de una solución al 1,2% p/v de cloruro de potasio con un paso de luz de 1 cm debe ser superior a 2,000 respecto al agua como líquido de referencia.

Este instrumento cumple los requisitos de las Farmacopeas y, para demostrar esto, se despacha con el certificado de prueba final de fábrica. También se incluye un “Cuaderno de registro de Verificación de Calidad y Rendimiento Funcional del Instrumento”, en el que se describen las diferentes pruebas que tienen que realizarse a fin de ratificar el cumplimiento con las Farmacopeas y posibilita el gráfico de los resultados en función del tiempo.

## Buenas Costumbres de Laboratorio

Las Buenas Costumbres de Laboratorio (GLP) tienen que ver con la posibilidad de poder correlacionar los resultados experimentales con un instrumento, un operario y el momento en el que se obtuvo el resultado de modo que un laboratorio pueda demostrar que estaba, o no, funcionando correctamente el instrumento. Pueden introducirse en el espectrofotómetro el nombre del laboratorio, el operario y el de la referencia interna del instrumento.

Si la opción GLP está activada, durante la calibración o recalibración el instrumento autoverifica su integridad para fines de GLP. La prueba de GLP de este instrumento es, fundamentalmente, una “prueba de confianza” de que éste está funcionando como cuando fue fabricado y sometido a pruebas. Para la realización de mediciones absolutas, se recomienda establecer con su proveedor un contrato de servicio de certificación anual. La integridad del instrumento para fines de GLP se cuantifica a partir de:

- el estado de calibración del instrumento
- de la edad de las lámparas
- el ancho de banda (éste se evalúa durante la calibración midiendo el ancho de haz de orden cero)
- la exactitud de la longitud de onda comparándola con la línea de deuterio a 656nm
- los valores de los filtros de absorbancia integrados en comparación con los de cuando se fabricó el instrumento (o se le dió servicio la última vez por un ingeniero acreditado)
- el ancho de banda a 656nm
- la luz difusa instrumental

Los valores previstos se presentan en paréntesis en el impreso de GLP después de la calibración, y los límites de aceptación están definidos por la especificación técnica del instrumento.

En la situación improbable de que el instrumento falle la calibración o salga fuera de especificación, aparecerá un mensaje en el display. En este caso, debe comprobarse lo siguiente:-

- está debidamente cerrada la tapa del compartimiento de las cubetas
- está una muestra en el haz de luz, si lo está, retírela
- está en su lugar el tapón de la placa base (accesorio de cubeta individual)
- está el panel de llenado en la parte frontal del compartimiento de las cubetas en su lugar

Si pulsa **OK** después de que aparece el mensaje "GLP Calibration Fail" ("Fallo de calibración GLP" confirma que ha aceptado el estado del instrumento. Si trabaja en un ambiente regulado, como un laboratorio de investigación de drogas, que genera datos

para actividades o reportes relacionados con GLP/GMP, no use este instrumento y contacte a su ingeniero de servicio local.

## *Impreso de GLP en la calibración del instrumento (GLP activo)*

### **Espectrofotómetro Libra S32 UV/Vis**

Nombre del Lab. ....

Instrumento .....

Nº de serie : 81012

Software : 6094 V1.0, Subordinado 6094 V1.0

Último servicio : 14/03/02 13:36

#### **Estado del instrumento en la calibración**

Calibrado a GLP 14/03/02 a 12:56

Calibración UV/Visible completo

Ancho de banda (1,3- 1,8 nm): 1,7 nm PASA

Longitud de onda (656,1nm) : 656,0 nm PASA

Absorbancia a

220 nm (1,763-1,781A) : 1,772 A PASA

340 nm (1,633-1,665A) : 1,649 A PASA

500 nm (1,477-1,491A) : 1,484 A PASA

Luz difusa a

220 nm (<0,025%T) : 0,013%T PASA

#### **Estado actual del instrumento**

Accesorio: Permutador de cubetas de 8 posiciones

Lámpara de UV :

instalada 14/03/02 13:35, uso 5 horas

línea de base en uso: 14/03/02 13:38

línea de base almacenada: 14/03/02 13:38

Lámpara de Vis :

instalada 14/03/02 13:35, uso 5 horas

línea de base en uso : 14/03/02 13:38

línea de base almacenada: 14/03/02 13:38

GLP activo, hace que los resultados impresos incluyan el estado de calibración. Los resultados de GLP también pueden enviarse a un PC para la creación de archivos electrónicos (Se requiere el 'Spreadsheet Interface Software' (Software de Interfaz de Hoja electrónica)).

## Introducción de ecuaciones usando MultiOnda

Siempre tenga la(s) ecuación(es) escrita(s) enfrente de Vd. antes de usar este modo.  
En el ejemplo a continuación se muestra la introducción paso a paso de la(s) ecuación(es) siguiente(s):

$$\text{Cobalto (g/l)} = ((12.26 * A511) - (0.30 * A720)) * 100$$

$$\text{Níquel (g/l)} = ((-0.40 * A511) - (27.41 * A720)) * 100$$

Introduzca los números utilizando el teclado; pulse enter o ▼ después de cada entrada.

### Setup (Configuración)

Nº de  $\lambda$ s                    2

$\lambda_1$                             511

$\lambda_2$                             720

Tiempo de integración Valor predeterminado

### Factores

c                                100

K1                              12.26

K2                              0.30

K3                              -0.40

K4                              27.41

pulse primero C para poner el signo negativo  
oprime repetidamente 'enter' para llegar al final de la

página

### Ecuación 1

Pulse 'enter' ó 'V' después de introducir cada parámetro; utilice C para eliminar una entrada de parámetro incorrecta.

Descripción	Cobalto	>	para	el teclado alfanumérico; pulse 'stop' después de
			poner	la introducción del nombre
Ecuación	pulse	<>	(	
		<>	(	
		<>	K1	ya definido como 12.26
		<>	*	
		<>	A1	ya definida como absorbancia a 511 nm
		<>	)	
		<>	-	
		<>	(	
		<>	K2	ya definido como 0.30
		<>	*	
		<>	A2	ya definida como absorbancia a 720 nm
		<>	)	
		<>	)	
		<>	*	
		<>	C	ya definido como 100
Unidades		<>	g	gramos (la unidad aparecerá en la copia impresa, no en el título)
		<>	l	litros (la unidad aparecerá en la copia impresa, no en el título)
Activar ecuación		>	✓	¡Verifique la ecuación!

## Ecuación 2

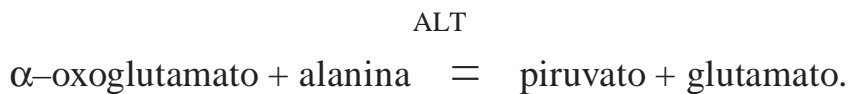
Si no hay ecuación 2, pase directamente a guardar método.

Pulse 'enter' ó 'V' después de introducir cada parámetro; utilice C para eliminar una entrada de parámetro incorrecta.

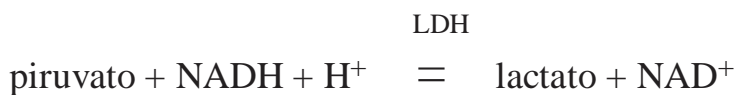
Descripción	Níquel	>	para	el teclado alfanumérico; pulse 'stop' después de la
			poner	introducción del nombre
Ecuación	pulse	<>	(	
		<>	(	
		<>	K3	ya definido como -0.40
		<>	*	
		<>	A1	ya definida como absorbancia a 511 nm
		<>	)	
		<>	-	
		<>	(	
		<>	K4	ya definido como 27.41
		<>	*	
		<>	A2	ya definida como absorbancia a 720 nm
		<>	)	
		<>	)	
		<>	*	
		<>	C	ya definido como 100
Unidades		<>	g	gramos (la unidad aparecerá en la copia impresa, no en el título)
		<>	l	litros (la unidad aparecerá en la copia impresa, no en el título)
Activar ecuación		>	✓	¡Verifique la ecuación!
Guardar método		>	✓	Consulte 'Methods' (Métodos)

## Kinetics (Cinética)

La manera normal de medir la velocidad de una reacción enzimática es supervisar el cambio en concentración de uno de los sustratos que intervienen en la reacción, o la de uno de los productos producidos por la misma. Tomemos por ejemplo la reacción de la enzima alanintransaminasa (ALT): -

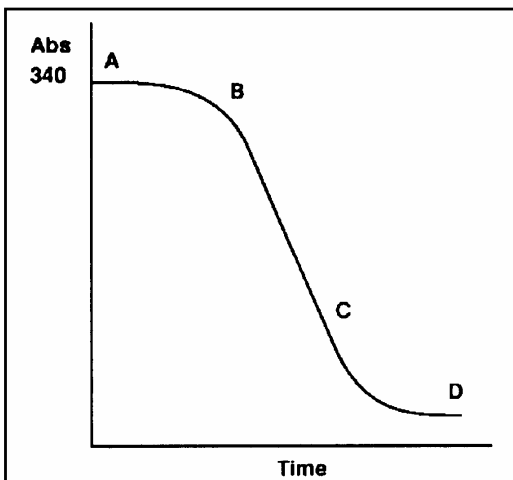


Si deseamos medir la velocidad de producción del piruvato, entonces como esto no puede realizarse directamente podemos vincularla con otra reacción enzimática en que participa la NADH y la enzima lactatodeshidrogenasa (LDH). Por lo tanto: -



Podemos supervisar la velocidad a la cual se usa la NADH midiendo la absorbancia de la mezcla de reacción a 340 nm. Debido a que el LDH está en exceso, esta velocidad es directamente proporcional a la velocidad a la que se produce el piruvato en la primera reacción (alrededor de un 80% de todas las mediciones enzimáticas se detectan de esta manera).

Si se grafica una curva de la absorbancia de la mezcla de reacción a 340 nm en función del tiempo, se obtendrá una gráfica parecida a la que se ilustra.



La curva puede dividirse en tres fases:-

Fase 1, A-B; mezcla de reactantes, equilibrio térmico y alcance de la fase lineal,

Fase 2, B-C; la fase lineal,

Fase 3, C-D; descenso y prolongamiento en horizontal a medida que uno de los reactantes se torna limitante de la velocidad, reduciendo así la velocidad neta de la reacción a cero.

La velocidad de la reacción está definida por la pendiente de la porción lineal de la gráfica y por lo tanto, de la Ley de Beer, el cambio en absorbancia por tiempo unitario,  $dA/dt$ , está dado por:

$$dC/dt = (dA/dt) \times (1/EL)$$

donde  $dC/dt$  = velocidad de cambio en concentración (mol/litro),  $L$  = paso de luz de la cubeta (normalmente 1 cm) y  $E$  = absorptividad molar (coeficiente de extinción molar) del compuesto que se está midiendo (para NADH,  $E = 6300$  litros/mol/cm).

La velocidad de cambio de la concentración entonces se puede usar para calcular la actividad enzimática, que se define como:

$$\text{Actividad enzimática} = (dC/dt) \times (V_t/V_s)$$

donde  $V_t$  = volumen total de la mezcla de reacción y  $V_s$  = volumen de la muestra.

Existen dos unidades aceptadas internacionalmente para la actividad enzimática:

- 1) Unidad Internacional de Actividad Enzimática, U ó UI, definida como la cantidad de actividad enzimática que convertirá 1 micromol de sustrato por minuto a 25°C.
- 2) Katal, kat, definida como la cantidad de enzima que convertirá 1 mol de sustrato por segundo:

$$1 \text{ IU} = 1.67 \times 10^{-6} \text{ kat} \quad 1 \text{ kat} = 6 \times 10^7 \text{ IU}$$

El katal no se usa con frecuencia aunque es una unidad SI reconocida.

Debido a que hemos definido nuestros cálculos como la velocidad de cambio de concentración (mol/litro), los resultados se dan, por lo tanto, como actividad por volumen unitario, UI/litro ó kat/litro.

Con el fin de simplificar el cálculo de la actividad enzimática, las variables como la absorptividad molar y el volumen de la muestra pueden combinarse para producir un factor de conversión, ya que considerando las ecuaciones anteriores la actividad enzimática es proporcional a  $dA/dt$ . Las variables, en las unidades correctas cuando se usan UI/litro, se dan en la siguiente ecuación:

$$\text{Factor} = V_t \cdot 10^6 / E \cdot L \cdot V_s$$

donde  $V_t$  = volumen de reacción total (ml),  $V_s$  = volumen de la muestra (ml),  $E$  = absorptividad molar (L/mol/cm),  $L$  = paso de luz (normalmente 1 cm).

El factor tiene las unidades de  $\mu\text{mol/L}$

Por ejemplo, en la citada reacción enzimática de la alaninatransaminasa, si tenemos 0,2 ml de muestra de prueba en un volumen de reacción total 2,20 ml, el factor de conversión se calcula como sigue:

$$\text{Factor} = 2.20 \times 10^6 / 6300 \times 1 \times 0.2 = 1746 \mu\text{mol/litro}$$

La velocidad de cambio de la absorbancia,  $dA/dt$ , se calcula realizando un análisis de regresión lineal de los puntos de datos de la porción lineal del gráfico de la absorbancia en función del tiempo para dar un valor para la pendiente en términos del cambio en absorbancia por minuto. Esto es conveniente cuando se usan las unidades de UI, pero para el cálculo en microkatal el factor de conversión debe dividirse por 60.

Para calcular la actividad enzimática, multiplique la velocidad de cambio en absorbancia por el factor de conversión:

Actividad enzimática (IU/litro) =  $dA/dt$  x Factor.

### **Análisis de regresión de mínimos cuadrados y linealidad**

La pendiente (o la mejor línea recta) y la intersección en un ensayo de cinética o en la determinación de la curva estándar se calculan aplicando a los datos una regresión lineal de mínimos cuadrados. Se usan las siguientes ecuaciones, donde  $n$  es el número de puntos de datos:

$$Pendiente = \frac{\sum x \sum y - n \sum xy}{\sum x \sum x - n \sum x^2}$$

$$Intersección = (\sum y - \sum x * pendiente) / n$$

La linealidad es una estimación de la “calidad del ajuste” del análisis de regresión lineal de mínimos cuadrados, un ajuste perfecto siendo el 100%. Se usa tanto en el modo de Kinetics como en el de Standard Curve, y se expresa mediante un coeficiente de determinación ( $r^2$ ), que se calcula usando la siguiente ecuación:

$$Calidad = 100 * \frac{\sum x \sum y - n \sum xy}{\sqrt{((\sum x)^2 - n \sum x^2)((\sum y)^2 - n \sum y^2)}}$$

## ESPECIFICACIONES Y GARANTÍA

Gama de longitudes de onda	190 -1100 nm en intervalos de datos de 0.1 nm
Monocromador	Retículo cóncavo corregido por aberración, 1200 líneas/mm
Velocidad máxima de escaneo	7300 nm/minuto a intervalos de 2 nm
Ancho de banda espectral	< 1,8 nm
Exactitud de la longitud de onda	± 0,7 nm
Reproducibilidad de la longitud de onda	± 0,2 nm
Fuente de luz	Lámparas de tungsteno halógeno y de deuterio
Detectores	Fotodiodo de silicio
Gama fotométrica	- 3,000 a 3,000 A, -99999 a 99999 unidades de concentración, 0,1 a 200% T
Exactitud fotométrica	± 0,5% ó ± 0,003 A a 3,000 A a 546 nm, la que sea mayor
Reproducibilidad fotométrica	dentro del 0,5% del valor de absorbancia a 3.000 A a 546 nm
Estabilidad	± 0,001 A por hora a 340 nm a 0 A
Luz difusa	<0,025 % T a 220 nm usando NaI y <0,025 % T a 340 nm usando NaNO <sub>2</sub>
Salida digital	9 conectores seriales y Centronics paralelo
Tamaño del compartimiento de la muestra	210 x 140 x 80 mm
Dimensiones	520 x 370 x 230mm
Peso	13 kg
Especificaciones eléctricas	90 - 265V AC, 50/60Hz, 150VA
Norma de Seguridad	EN61010-1
Emisiones EMC	EN 61326-2.3 Emisiones genéricas
Inmunidad a EMC	EN 61000-4-6 Inmunidad genérica parte 1
Armónicas de la red de alimentación	EN 61000-3-2
Sistema de calidad	Diseñado y fabricado conforme a un sistema de calidad aprobado ISO9001

Las especificaciones se miden a una temperatura ambiente constante y son típicas de una unidad de producción. Como parte de nuestra política de desarrollo constante nos reservamos el derecho de alterar las especificaciones sin aviso.

### Garantía

Su proveedor garantiza que el producto que se suministra ha sido objeto de pruebas completas para asegurar que cumple con su especificación publicada. La garantía que se incluye en las condiciones de suministro es válida durante 12 meses, siempre y cuando se haya empleado el producto de conformidad a las instrucciones que se suministran. No pueden aceptar ninguna responsabilidad por pérdida o daño, independientemente de la forma ocasionado, que surja del uso equivocado o

incorrecto de este producto. Este producto se ha diseñado y fabricado por Biochrom Ltd, 22  
Cambridge Science Park, Milton Road, Cambridge CB4 0FJ, RU.