eppendorf

Register your instrument! www.eppendorf.com/myeppendorf



Eppendorf BioSpectrometer[®] kinetic

Manual de instrucciones

Copyright © 2019 Eppendorf AG, Germany. All rights reserved, including graphics and images. No part of this publication may be reproduced without the prior permission of the copyright owner.

Trademarks

Cy[®] is a registered trademark of GE Healthcare UK Ltd., UK.

Hellma® is a registered trademark of Hellma GmbH & Co. KG, Germany.

Eppendorf[®] and the Eppendorf Brand Design are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany.

Eppendorf BioSpectrometer[®], Eppendorf SpectraZoom[®] and UVette[®] are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany.

Registered trademarks and protected trademarks are not marked in all cases with [®] or [™] in this manual.

Protected by U.S. Patent No. 8,464,171.

Notice

The software of the BioSpectrometer kinetic contains open source software. License information is available under *Functions* > *Info* > *Copyrights*.

6136 900.054-07/022019

Índice

1	Instru	ucciones de empleo	7
	1.1	Utilización de estas instrucciones	7
	1.2	Símbolos de peligro y niveles de peligro	7
		1.2.1 Símbolos de peligro	7
		1.2.2 Niveles de peligro	7
	1.3	Convención de representación	8
	1.4	Abreviaturas	. 9
			,
2	Instru	ucciones generales de seguridad	. 11
	2.1	Uso de acuerdo con lo previsto	. 11
	2.2	Requerimiento para el usuario	. 11
	2.3	Peligros durante el uso previsto	. 11
		2.3.1 Daños personales	. 11
		2.3.2 Daños en el equipo	. 13
	24	Información sobre la responsabilidad de producto	14
	2.1	Indicaciones de seguridad en el equino	15
	2.5		. 15
3	Desci	rinción del producto	. 17
Ū	3 1	Vista general del producto	17
	3.2	Alcance de suministro	17
	3.2	Características del producto	18
	5.5		18
		2.2.2 Manaia	. 10
		3.3.2 Malleju	. 10
		3.3.5 Emision de resultados	. 10
			. 18
٨	Insta	lación	10
4	1115ta	Bronarazión de la instalazión	10
	4.1		. 17
	4.Z		. 19
	4.3		. 19
	4.4	Conectar el equipo a una red	. 20
	4.5	Conexion de la impresora al puerto USB	. 20
		4.5.1 Impresora térmica DPU-S445	. 20
	4.6	Conexión de un ordenador o memoria USB para la exportación de datos	. 21
-	Mana		22
Э	Mane		. 23
	5.1		. 23
	F 0	5.I.I Introduccion de texto	. 25
	5.2		. 26
	5.3	Visión general de la secuencia de medición	. 27
		5.3.1 Preparación de la medición	. 27
		5.3.2 Secuencia de medición	. 27
		5.3.3 Indicaciones importantes para las mediciones	. 31
		5.3.4 Indicaciones para el trabajo con la termostatización de cubetas	. 32

6	Méto	dos		. 35
-	6.1	Selecció	n del método	35
	6.2	Descrip	ción de métodos fotometría	36
	0.2	621	Grupo de métodos Absorbance	36
		622	Grupo de métodos Routine	37
		4 2 2	Grupo de métodos Rodine	. J/ 20
		0.2.5	Grupo de métodos Advanced	. 37 20
	12	0.2.4 Denáment		. 37
	6.3	Paramet	tros de los metodos	. 40
	6.4	Pasos d	e metodos	. 46
		6.4.1	check parameters	. 47
		6.4.2	measure standards	. 48
		6.4.3	measure samples	. 49
		6.4.4	Muestras de medición: Visualización de resultados	. 51
		6.4.5	process results.	. 59
		6.4.6	Resultados de procesos: Opciones	. 61
		6.4.7	print & export	. 65
		6.4.8	Finalizar la serie de mediciones	. 68
7	Funci	iones		. 69
	7.1	Funcion	es del grupo principal User	. 69
		7.1.1	Results Memory	. 71
		7.1.2	General Method Parameters	. 72
		7.1.3	Absorbance Spectra Library	. 75
		7.1.4	Device Settings	. 75
		7.1.5	Device Calibration	. 78
		7.1.6	Info	. 78
8	Mant	enimient	0	. 79
	8.1	Limpiez	a	. 79
		8.1.1	Limpieza de la cubierta del compartimento de la cubeta	. 80
	8.2	Desinfe	cción/Descontaminación	. 81
	8.3	Compro	bación del equipo	. 81
		8.3.1	Comprobación de la unidad espectrométrica	. 81
		832	Comprobación de la unidad de calentamiento	85
		833	Autocomprobación del equipo	86
	84	Sustitui	r fusibles	87
	85	Descont	aminación antes del envío	88
	0.0	Descon		. 00
9	Soluc	ión de p	roblemas	. 89
	9.1	Frrores	generales	89
	9.2	Mensaie	generates	91
	93	Identific	raciones de resultados	95
	7.5	achund		. 75
10	Trans	porte. al	macenaje v eliminación	. 99
-	10.1	Transpo	rte	. 99
	10.2	Almace	namiento	99
	10.3	Flimina	rión	100
	10.5	a		.00

11	Datos	técnicos	5	101
	11.1	Suminis	tro de corriente	101
	11.2	Condici	ones del entorno	101
	11.3	Peso/dir	nensiones	101
	11.4	Propied	ades fotométricas	102
	11.5	Atempe	rado	102
	11.6	Otros pa	Irámetros técnicos	103
	11.7	Parámet	ros de aplicación	104
12	Méto	do de eva	aluación	105
	12.1	Valores	de extinción	105
	12.1	12 1 1	Valor de blanco	105
		12.1.1	Corrección de fondo	105
		12.1.2	Corrección de cubeta	106
	12.2	Transmi	sión	106
	12.3	Evaluac	ión con factor o con solución patrón	
	12.4	Evaluac	ión con curva/línea recta de solución patrón	108
	12.5	Diluciór		109
	12.6	Procedi	nientos de evaluación especiales para ácidos nucleicos y proteína UV	109
		12.6.1	Corrección A ₂₆₀ v corrección A ₂₈₀	109
		12.6.2	Ratio A260/A280 y ratio A260/A230	110
		12.6.3	Conversión en concentraciones molares y cantidades de ácidos nucleicos	110
		12.6.4	Cálculo del factor para proteína en "General Method Parameter"	112
	12.7	Procedi	nientos de evaluación especiales para los métodos de tinción	112
		12.7.1	Cálculo del factor para el colorante a partir del coeficiente de extinción	112
		12.7.2	Cálculo de la FOI	113
		12.7.3	Conversión a cantidades de colorante	113
	12.8	Dual wa	velength	114
	12.9	Cinética	-	114
		12.9.1	Método de medición	114
		12.9.2	Blanco de reactivo	115
13	Inforr	nación p	ara pedidos	117
	Certif	icados		119

Índice Eppendorf BioSpectrometer® kinetic Español (ES)

1 Instrucciones de empleo

1.1 Utilización de estas instrucciones

- Lea este manual de instrucciones completamente antes de que ponga en funcionamiento el equipo por primera vez. Si fuera necesario, lea también las instrucciones de uso de los accesorios.
- Este manual de instrucciones es parte del producto. Consérvelo en un lugar accesible.
- Incluya siempre este manual de instrucciones cuando entregue el equipo a terceros.
- Encontrará la versión actual del manual de instrucciones en otros idiomas en nuestra página de Internet www.eppendorf.com/manuals.

1.2 Símbolos de peligro y niveles de peligro

1.2.1 Símbolos de peligro

Las indicaciones de seguridad en este manual tienen los siguientes símbolos de peligro y niveles de peligro:

Â	Descarga eléctrica	Sustancias con propiedades explosivas
	Sustancias tóxicas	Punto de peligro
*	Daños materiales	

1.2.2 Niveles de peligro

PELIGRO	Causará lesiones graves o incluso la muerte.		
ADVERTENCIA	Puede causar lesiones graves o incluso la muerte.		
PRECAUCIÓN	Puede producir lesiones ligeras o moderadas.		
ATENCIÓN	Puede causar daños materiales.		

1.3 Convención de representación

Representación	Significado
1.	Acciones que deben realizarse en el orden preestablecido
2.	
•	Acciones sin un orden preestablecido
•	Lista
sample o sample	Pulse esta tecla para realizar la acción descrita.
Сору	Pulse esta tecla programable para realizar la acción descrita.
o [Copy]	
0	Información adicional

1.4 Abreviaturas

Α

Absorbance – Absorbancia

DNA

Deoxyribonucleic acid – Ácido desoxirribonucleico (ADN)

dsDNA

double stranded DNA – ADN bicatenario

Métodos de tinción

Métodos del grupo Dye labels para la medición de biomoléculas teñidas con colorante

FOI

Frecuencia de incorporación (según sus siglas en inglés): medida para la cantidad de moléculas de colorante en relación al número de nucleótidos en biomoléculas marcadas con colorante

М

mol/L (*molar*)

OD600

Densidad óptica con la longitud de onda 600 nm

RNA

Ribonucleic acid – ácido ribonucleico (ARN)

ssDNA

single stranded DNA – ADN monocatenario

т

Transmisión: La transmitancia (T) se calcula como el cociente de l (luz emitida desde la cubeta I_0 (de la luz que entra en la cubeta): T = I/I_0

UV Radiación ultravioleta

Vis Visible light – luz visible

CV

Coeficiente de variación (desviación estándar/valor medio), en tanto por ciento

Instrucciones de empleo Eppendorf BioSpectrometer® kinetic Español (ES)

2 Instrucciones generales de seguridad

2.1 Uso de acuerdo con lo previsto

El campo de aplicación del BioSpectrometer kinetic son los laboratorios de investigación especializados en biología molecular, bioquímica y biología celular. El BioSpectrometer kinetic está diseñado exclusivamente para el uso en interiores. Se tienen que respetar los requisitos de seguridad específicos de cada país para el uso de equipos eléctricos en laboratorios.

El BioSpectrometer kinetic sirve para la determinación fotométrica de la concentración de analitos en líquidos y para el registro de espectros de longitudes de onda de extinción en cubetas.

Utilice exclusivamente accesorios de Eppendorf o accesorios recomendados por Eppendorf.

2.2 Requerimiento para el usuario

El equipo y los accesorios sólo pueden ser manejados por personal cualificado.

Antes de la utilización, lea cuidadosamente el manual de instrucciones y las instrucciones de uso de los accesorios y familiarícese con el funcionamiento del equipo.

2.3 Peligros durante el uso previsto

2.3.1 Daños personales



¡PELIGRO! Electrocución debida a la penetración de líquidos.

- Apague el equipo y desenchúfelo de la red de distribución eléctrica antes de empezar con la limpieza o con la desinfección.
- No deje entrar ningún líquido al interior de la carcasa.
- No efectúe ninguna limpieza o desinfección por pulverización en la carcasa.
- Solo vuelva a conectar el equipo a la red de distribución eléctrica si está completamente seco por dentro y por fuera.



¡PELIGRO! Peligro de explosión.

- No utilice el equipo en salas donde se trabaje con sustancias explosivas.
- No procese con este dispositivo sustancias explosivas o que reaccionen bruscamente.
- No procese con este dispositivo sustancias que puedan crear una atmósfera explosiva.



¡ADVERTENCIA! Electrocución por daños en el equipo o en el cable de alimentación.

- Solo encienda el equipo si este y el cable de alimentación no presentan ningún daño.
- Ponga únicamente en funcionamiento equipos que hayan sido instalados o reparados correctamente.
- Desconecte el equipo de la tensión de la red eléctrica en caso de peligro. Extraiga el cable de red eléctrica del equipo o del enchufe con toma a tierra. Utilice el dispositivo de separación previsto (p. ej., interruptor de emergencia en el laboratorio).



¡ADVERTENCIA! Daño a causa de radiación ultravioleta.

Las cubetas de microlitros como, p. ej., Hellma® TrayCell (o cubetas de microlitros de construcción similar) desvían la radiación de la fuente de luz dentro de la cubeta de modo que la radiación de la fuente de luz también puede salir por arriba si la tapa no está cerrada.

 Cerciórese de que la tapa de la cubeta de microlitros esté cerrada antes de iniciar una medición.



¡ADVERTENCIA! Daños para la salud a causa de productos químicos tóxicos, radiactivos o agresivos, así como a causa de líquidos infecciosos y gérmenes patógenos.

- Observe las disposiciones nacionales sobre el manejo de estas sustancias, el nivel de contención biológica de su laboratorio, así como las fichas de datos de seguridad e indicaciones de uso de los fabricantes.
- Póngase su equipo de protección personal.
- Unas prescripciones amplias respecto al manejo de gérmenes o material biológico del grupo de riesgo II o superior se encuentran en el "Laboratory Biosafety Manual" (fuente: World Health Organization, Laboratory Biosafety Manual, en la versión actualmente vigente).



¡ADVERTENCIA! Peligro para la salud debido a equipo y accesorios contaminados.

• Descontamine el equipo y los accesorios antes de almacenarlos o enviarlos.



¡ATENCIÓN! Riesgos de seguridad debido a accesorios y piezas de recambio equivocados. Los accesorios y piezas de recambio no recomendados por Eppendorf merman la seguridad, el funcionamiento y la precisión del equipo. Por daños producidos por accesorios y piezas de recambio no recomendados por Eppendorf o por un uso incorrecto, Eppendorf queda eximido de cualquier responsabilidad o garantía.

 Utilice exclusivamente accesorios y piezas de recambio originales recomendados por Eppendorf.

2.3.2 Daños en el equipo

₩

¡AVISO! Daños a causa de productos químicos agresivos.

- De ninguna manera utilice productos químicos agresivos como, por ejemplo, bases fuertes o débiles, ácidos fuertes, acetona, formaldehídos, hidrógeno halogenado o fenol con el equipo y sus accesorios.
- Limpie el dispositivo inmediatamente con un producto de limpieza suave en caso de una contaminación con un producto químico agresivo.



¡AVISO! Daños en el equipo por gaseado con productos químicos agresivos.

• No realice ninguna desinfección en el equipo por medio de gaseado.



¡AVISO! Corrosión producida por productos de limpieza y desinfectantes agresivos.

- No utilice productos de limpieza corrosivos ni disolventes agresivos o abrillantadores.
- No incube los accesorios durante un tiempo prolongado en productos de limpieza o desinfectantes agresivos.

₩

¡AVISO! Daños y mediciones erróneas a causa de agua condensada.

En caso de una alta humedad del aire, se puede producir agua condensada en una cubeta que tenga una temperatura claramente inferior a la temperatura ambiente. El agua condensada puede ocasionar daños en el sistema óptico y provocar resultados de medición equivocados.

- No inserte ninguna cubeta en el compartimento, cuya temperatura sea claramente inferior a la temperatura ambiente.
- No ajuste la temperatura de la cubeta de manera duradera a una temperatura claramente inferior a la temperatura ambiente.
- Observe el punto de rocío existente, dado el caso.



¡AVISO! Daños en los componentes electrónicos debido a la formación de condensación. Después de transportar el equipo de un entorno frío a un ambiente más caliente se puede formar líquido de condensación en el equipo.

 Después de emplazar el equipo, debe esperar por lo menos 3 h. Una vez transcurrido este tiempo, puede conectar el equipo a la red de distribución eléctrica.



¡AVISO! Perjuicio del funcionamiento a causa de daños mecánicos.

 Realice una comprobación del equipo tras un daño mecánico para asegurarse de que las funciones de medición y evaluación del equipo funcionan correctamente.



¡AVISO! Daños por sobrecalentamiento.

- No coloque el equipo cerca de fuentes de calor (p. ej., calefacción, armario de secado).
- No exponga el equipo a la radiación solar directa.
- Asegúrese de que la circulación del aire no se obstaculice. Mantenga una distancia mínima de 5 cm de todas las rendijas de ventilación.



¡AVISO! Daños materiales debido a una aplicación equivocada.

- Utilice el producto únicamente para el uso previsto que está descrito en el manual de instrucciones.
- > Preste atención a una suficiente resistencia del material al aplicar sustancias químicas.
- En caso de dudas, consulte al fabricante de este producto.



¡AVISO! Daños causados por un embalaje incorrecto.

La empresa Eppendorf AG no asume ninguna responsabilidad por daños resultantes de un embalaje inapropiado.

• Solo almacene y transporte el equipo dentro de su embalaje original.



¡AVISO! Daños a causa de una limpieza inadecuada del compartimento de la cubeta.

- Limpie el compartimento de la cubeta únicamente con un bastoncillo de algodón húmedo (ver *Limpieza en pág. 79*).
- No deje que ningún líquido entre en el compartimento de la cubeta.
- No toque el interior del compartimento de la cubeta con los dedos.

2.4 Información sobre la responsabilidad de producto

En los siguientes casos, la protección prevista del equipo puede verse mermada. La responsabilidad por daños materiales y personales resultantes pasan a mano del operario:

- El equipo no es utilizado según lo especificado en el manual de instrucciones.
- El equipo no es utilizado de acuerdo con el uso previsto.
- El equipo es utilizado con accesorios o consumibles no recomendados por Eppendorf AG.
- El equipo es revisado o mantenido por personas no autorizadas por Eppendorf AG.
- El usuario realiza modificaciones en el equipo sin ninguna autorización.

14

Representación	Significado	Lugar
	Lugar peligrosoTenga en cuenta el manual de instrucciones.	Parte trasera del equipo
Gerät nach dem Öffnen justieren! Adjust device after opening!	Si se abre el equipo, tiene que ser calibrado nuevamente.No abrir el equipo.	Lado inferior del equipo

2.5 Indicaciones de seguridad en el equipo

Instrucciones generales de seguridad Eppendorf BioSpectrometer® kinetic Español (ES)

16

3 Descripción del producto

3.1 Vista general del producto



Imag. 3-1: Vista frontal y posterior

- 1 Indicador
- 2 Compartimento de la cubeta
- 3 Tapa del compartimento de la cubeta
- 4 Puerto USB para memoria USB e impresora
- 5 Interruptor de red
- 6 Portafusibles

- 7 Conexión a la red
- 8 Puerto USB para conexión de un ordenador (PC)
- 9 Conexión RS-232 para impresora
- 10 Conector hembra de Ethernet
- 11 Elementos de control

La placa de características se encuentra atrás a la izquierda en el lado inferior del equipo.

3.2 Alcance de suministro

Número	Descripción
1	BioSpectrometer kinetic
1	Cable de alimentación
4	4 UVette Cubeta de plástico original de Eppendorf, embalada individualmente, PCR clean, Protein-free
1	Instrucciones de uso en varios idiomas

3.3 Características del producto

El BioSpectrometer kinetic es un espectrofotómetro UV-Vis para la medición de líquidos en cubetas en el rango de longitudes de onda de 200 nm a 830 nm. Está previsto para el uso en la investigación y el desarrollo en los campos de la biología molecular, biotecnología, bioquímica y biología celular. Puede utilizar cubetas de vidrio y de plástico en la cantidad de volumen de 1 µL a 3.000 µL.

3.3.1 Métodos

Se han programado previamente múltiples métodos para la detección de la concentración de ácidos nucleicos, proteínas y ácidos nucleicos y proteínas marcados con colorante así como el método **OD 600** para la detección de la densidad de las bacterias mediante turbidimetría. Además, también se han programado plantillas de métodos para diferentes procesos de medición y evaluación (mediciones de una o varias longitudes de onda, registro de espectros, procesos cinéticos, evaluaciones con factor, estándar y curva estándar). Basándose en los métodos *Absorbance* puede medir rápidamente extinciones o espectros sin evaluaciones adicionales. En el grupo de métodos *Absorbance* también encontrará un método con el que puede determinar el grado de transmisión de una muestra.

3.3.2 Manejo

Los métodos y plantillas preprogramados están resumidos en grupos claros, de los cuales puede seleccionar rápidamente su método deseado. Después de llamar el método, será guiado paso a paso a través de la secuencia de medición. Un cuadro de ayuda en el indicador le proporciona indicaciones en caso necesario. Los 3 botones de medición circulares (**standard**, **blank**, **sample**) permiten el inicio directo y rápido de una medición.

3.3.3 Emisión de resultados

El BioSpectrometer kinetic proporciona los resultados a través de la pantalla del equipo, así como a través de una impresora que se puede adquirir a través de Eppendorf. Los resultados se pueden transferir a una memoria USB, a una impresora o directamente a un ordenador. Si el equipo se encuentra conectado a una red, los resultados pueden imprimirse en una impresora de red o enviarse por correo electrónico. No se pueden guardar los resultados en una unidad de red.

3.3.4 Autocomprobación del equipo

Directamente después del encendido, el equipo comprueba automáticamente el funcionamiento correcto de la unidad espectrométrica y del módulo térmico. Para comprobar el equipo de una manera más amplia, active la función **Device calibration** (ver *Autocomprobación del equipo en pág. 86*).

4 Instalación

4.1 Preparación de la instalación

- Guarde la caja de cartón y el material de embalaje para un eventual almacenaje o para un posterior transporte seguro.
- Compruebe la integridad del suministro en base a los datos referentes al alcance de suministro. (ver *Alcance de suministro en pág. 17*)
- Compruebe que ninguna pieza presente daños de transporte.

4.2 Seleccionar ubicación

Seleccione el lugar de emplazamiento del BioSpectrometer kinetic según los siguientes criterios:

- 2 enchufes con toma de tierra para el BioSpectrometer kinetic y para la impresora.
- Mesa de laboratorio fija con tabla de trabajo horizontal.
 Espacio requerido por el equipo: 50 cm de ancho (con impresora: 75 cm), 50 cm de profundidad.
- Temperatura: 15 °C a 35 °C.
- Evite fluctuaciones de temperatura (p. ej., debido a ventanas abiertas).
- Evite la luz solar directa.
- Humedad: 25 % al 70 % de humedad relativa.



Preste atención de que no se encuentren objetos debajo del equipo (p. ej. hojas sueltas, cuadernos) que puedan obstaculizar el suministro de aire.

4.3 Conexión del equipo a la red eléctrica

- 1. Coloque el BioSpectrometer kinetic sobre una superficie de trabajo apropiada.
- 2. Cerciórese de que la tensión de la red y la frecuencia de la red coincidan con las indicaciones en la placa de características.
- 3. Conecte el equipo a la red eléctrica y enciéndalo accionando el interruptor principal.
- 4. Retire la lámina protectora del indicador.

4.4 Conectar el equipo a una red



La conexión del equipo a una red es opcional. También puede utilizar el equipo sin que esté conectado a ninguna red.

Informaciones a los ajustes de red (ver Device Settings en pág. 75)

Requisitos Cable Ethernet (RJ45)

- 1. Conecte el cable Ethernet con el conector hembra a la red.
- 2. Conecte el cable con el conector hembra Ethernet 10 (ver Vista general del producto en pág. 17).



Impresora de red

El equipo reconoce de forma automática una impresora de red sujeta a los siguientes requisitos:

- La impresora se encuentra en el mismo segmento de red que el equipo.
- La impresora se apoya en el protocolo Zeroconf..
- La impresora tiene funcionalidad PostScript.

4.5 Conexión de la impresora al puerto USB

4.5.1 Impresora térmica DPU-S445

Requisitos

En el equipo está instalado el software de la versión 3.4.4.0 o superior.

En los ajustes de la impresora se ha seleccionado la impresora térmica DPU-S445 (ver *Device Settings en pág. 75*).

Conecte la impresora térmica DPU-S445 al puerto USB para impresoras.

- 1. Conecte el cable de impresora al puerto USB para impresoras **4** (ver *Vista general del producto en pág. 17*).
- 2. Conecte el cable de impresora con la impresora.
- 3. Conecte la impresora con la fuente de alimentación y el cable de alimentación suministrados (accesorios de la impresora) a la red eléctrica y encienda la impresora.

En las instrucciones de uso de la impresora encontrará indicaciones respecto a la impresora.

4.6 Conexión de un ordenador o memoria USB para la exportación de datos

Puede conectar una memoria USB, formateada en FAT-32, en el puerto USB **4** (ver *Vista general del producto en pág.* 17).

Alternativamente también puede conectar el equipo directamente a un ordenador vía cable USB para la exportación de datos:

Requisitos

- PC con Windows, versión XP, SP2 o versión superior.
- Cable USB con un conector tipo A y uno tipo B, respectivamente.
- Conecte el equipo al ordenador enchufando el cable USB en el puerto USB 8 (ver Vista general del producto en pág. 17).



- No se requiere ningún software para PC especial para la transmisión de datos: los paquetes de datos transmitidos son registrados por el ordenador como si se tratase de una memoria USB, es decir como un soporte de datos intercambiable. Para visualizar los datos, únicamente tiene que abrir el paquete de datos registrado.
- La transferencia de datos a la memoria USB o al ordenador se inicia en el paso print & export (ver print & export en pág. 65) del método una vez finalizada la serie de mediciones.

Instalación Eppendorf BioSpectrometer® kinetic Español (ES)

5 Manejo

5.1 Elementos de control



Imag. 5-1: Elementos de control del BioSpectrometer kinetic

Tecla	Función
1232abcdefmethod4569hiKi67890µ%	Teclado: introducción de texto y números. Teclas 1 a 9 y 0 : durante la introducción de texto usted también puede introducir letras y caracteres especiales, aparte de números, mediante pulsación repetida de una tecla. Alternativamente puede conmutar a un teclado superpuesto con [Keyboard].
method	Fuera de los campos de entrada: llamar la selección de métodos.
function	Fuera de los campos de entrada: llamar la selección de funciones.
Edit	Tecla programable: selección de funciones. La asignación de la tecla cambia con el diálogo del software. La función actual es indicada en el indicador directamente encima de la tecla.

Tecla	Función			
	Mover el cursor hacia la izquierda, derecha, hacia arriba y hacia abajo. • Navegar entre los campos de entrada.			
	 Teclas de cursor			
	 Teclas			
0	 Teclas O y O dentro de un gráfico: navegar en el eje x del gráfico para, p. ej., indicar los valores de extinción dependientes de la longitud de onda en un escaneo. 			
	Teclas 🛇 y 🛇 en un espectro de longitudes de onda de extinción: modificar la sección de imagen (método SpectraZoom) (ver Tab. en pág. 61).			
exit	Salir de la selección actual al siguiente nivel superior.			
delete	Borrar la entrada. En una secuencia de caracteres se borra el caracter a la izquierda del cursor.			
enter	 Activar el método o la función seleccionados. Abrir la lista de selección. 			
	Confirmar la entrada o selección.			
standard	Iniciar la medición de la solución patrón.			
blank	Iniciar la medición del blanco.			
sample	Iniciar la medición de la muestra.			

5.1.1 Introducción de texto

Es posible entrar texto para darle un nombre a un método o para indicar la unidad del resultado. Limitación: para nombres de métodos sólo están permitidos números y letras, así como el guión bajo ("_").

dsDNA: check paramete	rs / save as							
Enter the name and storage location.								
Method name:	dsDNA							
Target directory:	Target directory: OFavorites/MyMethods							
	OFavorites/	MyMetho	ods	•				
				fo				
			das aktuelle oder ein Zielv	Verzeichnis verzeichnis				
			in "Favorites"					
Keyboard abc Save Cancel								
dsDNA: check parameters / save as								
Enter the name and s	storage locatio	n.						
Method name:	PCR prod							
Target directory:	Favorites/N	/lyMethod	s					
	OFavorites/	MyMetho	ods	•				
λ q w e r t y u i o P [] 0 Info								
$ \begin{array}{c} \mathbf{J} \mathbf{a} \mathbf{s} \mathbf{d} \mathbf{f} \mathbf{g} \mathbf{h} \mathbf{j} \mathbf{k} \mathbf{l} \mathbf{j} , \mathbf{i} \text{Current entry:} \\ \hline \begin{array}{c} \mathbf{c} \mathbf{z} \mathbf{z} \mathbf{v} \mathbf{c} \mathbf{v} \mathbf{h} \mathbf{n} \mathbf{m} \mathbf{z} \mathbf{i} \mathbf{c} \mathbf{v} \mathbf{k} \mathbf{v} $								
Space "Numbers"								
Numbers	abc		Save	Cancel				

Introducción a través del teclado:

Con las teclas de cursor **O** y **O** puede navegar dentro del campo de entrada y modificar posiciones individuales en el nombre.

Teclas programables:

- [Keyboard]: visualizar el teclado.
- [abc]: cambiar entre letras en mayúscula y minúscula al introducir texto vía teclado.
- [Save]: guardar el texto introducido.
- [Cancel]: cancelar la entrada de texto.

Introducción a través del teclado superpuesto: Con las teclas de cursor selecciona los caracteres superpuestos y los confirma pulsando la tecla **enter**. Igual que en un teclado de ordenador, usted puede conmutar con la tecla "Shift" y/o tecla fijadora entre escritura en mayúsculas y minúsculas para la siguiente y/o para todas las siguientes entradas. Teclas programables:

- [Numbers]: cambiar a entrada vía teclado.
- [Save]: guardar el texto introducido.
- [Cancel]: cancelar la entrada de texto.

5.2 Inserción de la cubeta

En el compartimento de la cubeta puede insertar cubetas rectangulares de vidrio o plástico habituales en el mercado:

- Medidas exteriores: 12,5 mm × 12,5 mm
- Altura del recorrido óptico: 8,5 mm sobre el fondo de la cubeta
- Altura total: por lo menos 36 mm

Las cubetas tienen que ser ópticamente transparentes a la respectiva longitud de onda de medición. Para mediciones en el sector ultravioleta del espectro, Eppendorf ofrece con la UVette una cubeta de plástico que en longitudes de onda a partir de 220 nm es transparente y, por ello, también es adecuada para la medición de ácidos nucleicos.



Requisitos

- La cubeta está libre de contaminación causada por polvo o huellas digitales y libre de arañazos.
- El compartimento de la cubeta está libre de partículas, polvo y líquido.
- El volumen de medición en la cubeta es suficiente. Prestar atención al volumen de medición mínimo.
- · La solución de medición está libre de partículas y burbujas.



La dirección del recorrido óptico está marcada con un flecha en la carcasa.

- 1. Posicione la cubeta así que la ventana óptica de la cubeta muestre en dirección del recorrido óptico.
- 2. Al insertar la cubeta, presiónela hasta el fondo superando una ligera resistencia.

5.3 Visión general de la secuencia de medición5.3.1 Preparación de la medición

- Encienda el equipo y también la impresora, dado el caso.
 El equipo realizará una autocomprobación (duración: aprox. 1 minuto) y mostrará la selección de métodos.
- 2. Ponga las cubetas a disposición para la medición (ver Inserción de la cubeta en pág. 26).
- 3. Prepare las soluciones de medición para las mediciones de los blancos, en caso necesario de las soluciones patrón y de las muestras.
- 4. Abra la tapa del compartimento de la cubeta. La tapa puede permanecer abierta durante las mediciones.



Las soluciones de medición para soluciones patrón y muestras con extinciones inferiores a 0,05 A no deben utilizarse. El límite de determinación del equipo es mucho menor, sin embargo la influencia de las perturbaciones procedentes de las soluciones de medición (p. ej., partículas, burbujas, turbiedades) en la fiabilidad de los resultados con estas extinciones tan reducidas es muy alta. Para más información, p. ej., la Userguide nº 013, consulte nuestra página de Internet <u>www.eppendorf.com</u>.

5.3.2 Secuencia de medición

5.3.2.1 Selección del método



 Seleccione con las teclas de cursor el método deseado y llámelo pulsando la tecla enter.
 En el siguiente capítulo (ver *Métodos en pág. 35)* encontrará una visión general y una descripción detallada de todos los métodos.

Wizard: el Wizard o asistente en el borde superior del indicador le guiará paso a paso a través del método.

Cuadro de ayuda: en cada paso del proceso obtendrá textos de ayuda en la parte inferior derecha del indicador.

Teclas programables: con las teclas programables [< Back] y [Next >] se desplazará dentro del Wizard un paso hacia adelante o un paso hacia atrás.

5.3.2.2 Comprobación de parámetros

Cuvette	10 mm	Page 1/2
Wavelength	595 nm	
Unit	µg/mL	
Calculation	Standard	
Standards	6	
Banlicates	1	
rieplicates		
Decimal places	0	€ Info
Decimal places Autoprint	0 off	Info Edit parameters: "Edit" softkey.
Decimal places Autoprint	0 off	Info Edit parameters: "Edit" softkey. Show more parameters: "Page up" or "Page dn".

 Compruebe los ajustes de los parámetros. Con las teclas programables [Page dn] y [Page up] llama las páginas de la lista de parámetros. Con [Edit] modifica y guarda los parámetros.

5.3.2.3 Mediciones de blancos y soluciones patrón



En una evaluación sin soluciones patrón (p. ej., mediciones de ADN) no se requiere este paso de método.

	Conc. µg/mL	Abs. A ₅₉₅	Linear regression: not calculated
Standard 1	100	-, -, X: -,	<u>*</u>
Standard 2	250	-, -, X: -,	
Standard 3	500	 X:	Measure blank:
Clandard A	750	-,	"blank" key.
ast Cal Curv	ve Fit Graph	Abort	< Back Next >

	Conc. µg/mL	Abs. A ₅₉₅	Quadratical regression: Conc.= 924.41 • A ²	
standard 3	500	0.700	-134.52•A	
		x: 0.709	+123.14	
		0.927		
Standard 4	750	0.929	Coefficient of	
		x: 0.928	$R^2 = 0.9970$	
		1.047		
Standard 5	1000	1.047		
		x: 1.047	Info	
		1.288	Save evaluation and	
Standard 6	1500	1.289	"Next >" softkey.Scroll	
		x: 1.289	standards/replicates ▲ and ▼ keys.	

- 1. Mida primero un blanco (tecla **blank**).
- 2. Luego mida sucesivamente todas las soluciones patrón (tecla **standard**).

En el indicador está marcada la siguiente solución patrón que se tiene que medir. Con las teclas programables [Graph] y/o [Table] puede cambiar la visualización de resultados.

 Con [Next] acepta la evaluación calculada a partir de los resultados de las soluciones patrón.

Bradford:measure standards measure samples print & export new serie Bradford 2010-11-25 16:28:23 # 08 Abs (A ID: 1.200 213µg/mL 0.900 0.393 A. 0.600 0.300 Measure blank or samp "blank", "sample" keys. 0.000 300 600 900 1200 . (µg 0 Scroll results Conc.: 213; Abs: 0.393 < Back Next > Dilution | Edit ID Finish

5.3.2.4 Medición de muestras

5.3.2.5 Finalización de un método



5.3.2.6 Opcional: Retocar los resultados



• Con la tecla **sample** mide sus muestras una tras otra.

Los resultados de blancos permanecen almacenados para una serie de medición. Una nueva medición de un blanco, sin embargo, se puede realizar en cualquier momento. (En la ilustración aquí mostrada de una secuencia de medición con evaluación vía curva estándar se muestra el gráfico de la evaluación además del resultado de la muestra.)

- Pulse [Finish] para finalizar la serie de mediciones y retornar a la selección de métodos.
- 2. Después de la finalización de todas las mediciones, apague el equipo y cierre el compartimento de la cubeta para protegerlo contra suciedad.

En algunos métodos tiene la posibilidad de retocar los resultados en el paso **process results**. Por ejemplo, puede utilizar la función de zoom **SpectraZoom** en los espectros.

5.3.2.7 Impresión y exportación

sDNA: measure samples [process results	print & export	new serie	
DNA 2015-06-04 10:16:30				
Jata packets:				
Samples:				
Results		Format:		
Data		(● XLS		
Graph		OPDF	OPDF	
Graph data (XLS on	ly)	OXLS & F	PDF	
Method:				
Parameters				
		Inl	0	
		Select data pa "enter" key.	ackets:	
		Start print or a "Print"; "Expo	export: rt" softkeys	
Print Export Sam	ples Finish	< Back	Next >	

- 1. Compile paquetes de datos para todas las muestras o para muestras seleccionadas.
- Imprima los datos, guárdelos en una memoria USB o expórtelos a un ordenador vía cable USB o por correo electrónico.

5.3.3 Indicaciones importantes para las mediciones



A tener en cuenta en cada medición:

- En caso de cubetas de plástico: ¿Cuántas mediciones se pueden realizar sucesivamente y de manera fiable en la cubeta?
- Mida el blanco de la cubeta antes de realizar mediciones de muestras o de soluciones patrón para compensar el blanco del reactivo y también el de la cubeta.
- Los resultados de blancos permanecen almacenados para una serie de mediciones. Una nueva medición de blanco, sin embargo, es posible en cualquier momento, incluso entre mediciones de muestras.
- Los valores de extinción siempre se corresponden con los valores directamente medidos. El factor de dilución o de cubeta y las extinciones de fondo no se incluyen hasta llegar al cálculo del resultado posterior (ver *Valores de extinción en pág. 105*).
- Desde el inicio de una medición hasta la indicación de un resultado de medición transcurre típicamente un tiempo de aprox. 2 a 3 segundos. Si cae poca luz sobre el receptor (en caso de valores de extinción altos), el tiempo de medición puede ser prolongado automáticamente hasta 9 segundos para aumentar la precisión de la medición. En mediciones cinéticas no se aplica esta prolongación automática del tiempo de medición para evitar conflictos con el intervalo de tiempo preprogramado para el registro de los puntos de medición.
- Preste atención de que los valores de extinción medidos no excedan el límite superior del campo de medida fotométrico. En este caso deseche el resultado de la medición. El límite superior del campo de medida fotométrico no sólo depende de la longitud de onda (ver *Propiedades fotométricas en pág. 102*), sino también del blanco de la cubeta. Las ultra-microcubetas con diafragma pequeño como la **TrayCell** (Hellma) pueden tener un blanco de hasta aprox. A = 1. El campo de medida fotométrico disponible es reducido por este valor. Puede estimar el blanco de la cubeta si mide la cubeta llena de agua desmineralizada como muestra contra el compartimento de cubeta vacío como blanco. El blanco de la Eppendorf µCuvette G1.0 se puede despreciar (aprox. A = 0).
- Elimine la solución de medición completamente después de la medición y antes de que eche la siguiente solución de medición para minimizar la contaminación por arrastre. Si a causa de altas diferencias de concentraciones se espera que haya contaminación por arrastre de una muestra a la siguiente, lave la cubeta entre las mediciones.
- En caso de diferencias de temperatura entre la lámpara y el entorno puede producirse una deriva fotométrica. Por ello tiene que esperar a que un equipo proveniente de un entorno más frío alcance la temperatura ambiente.

Evite cambios de temperatura bruscos. Realice una nueva medición de blancos en caso de series de medición prolongadas o en caso de mediciones después de un período de tiempo prolongado.

5.3.4 Indicaciones para el trabajo con la termostatización de cubetas

La termostatización es regulada a través de una medición en el portacubetas. La temperatura en la solución de medición puede diferir de la temperatura en el portacubetas.

El grado de la desviación depende del volumen de medición, del material de la cubeta, de la forma de la cubeta y de la temperatura ambiente. La velocidad de termostatización también depende de estos factores. Las cubetas de plástico se calientan más despacio que las cubetas de vidrio. La superficie de la cubeta, que tiene contacto directo con la pared del portacubetas, debería ser lo más grande posible para permitir una termostatización rápida. Por esta razón, las semi-microcubetas de plástico, así como, p. ej., la UVette sólo se calientan lentamente.

Como ayuda, en las siguientes tablas se indican valores típicos medidos por Eppendorf para la termostatización en cubetas cerradas, estando el compartimento de la cubeta cerrado. La temperatura se midió en la solución de medición; la temperatura ambiente era de 24,5 °C.

Tipo de cubeta / volumen de medición	Temperatura objetivo	La temperatura a ajustar en los parámetros de un método
Macrocubeta de vidrio de sílice	25 °C	25 °C
1.500 μL	30 °C	30,4 °C
	37 °C	37,7 °C
Macrocubeta de plástico 1.000 μ L	25 °C	25 °C
	30 °C	30,4 °C
	37 °C	37,7 °C
Semi-microcubeta de vidrio de	25 °C	25 °C
sílice 500 μL	30 °C	30,4 °C
	37 °C	37,7 °C
Ultra-microcubeta de vidrio de	25 °C	25 °C
sílice 60 μL	30 °C	30,3 °C
	37 °C	37,6 °C

Tab. 5-1: Temperatura a ajustar para la termostatización de una solución de medición

Tipo de cubeta / volumen de medición	Temperatura inicial y temperatura objetivo	Duración del control de temperatura	
Macrocubeta de vidrio de sílice	25 °C → 37 °C	aprox. 7 min	
1.500 μL	37 °C → 25 °C	aprox. 11 min	
	25 °C → 30 °C	aprox. 7 min	
Macrocubeta de plástico 1.000 µL	25 °C → 37 °C	aprox. 13 min	
	37 °C → 25 °C	aprox. 19 min	
Semi-microcubeta de vidrio de	25 °C → 37 °C	aprox. 7 min	
sílice 500 μL	37 °C → 25 °C	aprox. 12 min	
Ultra-microcubeta de vidrio de	25 °C → 37 °C	aprox. 7 min	
sílice 60 μL	37 °C → 25 °C	aprox. 9 min	
	25 °C → 30 °C	aprox. 5 min	

Tab. 5-2: Duración para la termostatización de una solución de medición



- Para una termostatización eficiente, el volumen de la solución de medición en la cubeta no debería sobrepasar el borde del portacubetas.
- Para acelerar la secuencia de medición en la medición de series, puede precalentar las cubetas con reactivo en un termostato fuera del BioSpectrometer antes de que coloque la cubeta en el portacubetas y añada la muestra.
- Al cambiar de un método con termostatización a un método sin termostatización, tenga en cuenta que la temperatura del portacubetas deriva lentamente en dirección temperatura ambiente. Los resultados del método sin termostatización pueden verse afectados por ello.

Manejo Eppendorf BioSpectrometer® kinetic Español (ES)

6 Métodos6.1 Selección del método

Los métodos y las plantillas de métodos ya están preprogramados en el momento de la entrega. Los métodos están divididos en grupos principales y subgrupos.

Method Selection				
Main Groups	Sub Groups	Methods		
Favorites	Nucleic acids	dsDNA		
Routine	 Proteins direct ov Proteins (reagent) 	SSDNA IIIII		
🗅 Basic	🗅 Dye labels	RNA		
Advanced	Bacterial density	Oligo		
		New Method>		
Cut Copy	Rename Delete	Paste Function		

Métodos protegidos contra escritura	P	Los métodos más importantes de la biología molecular. Pueden modificar los parámetros, pero luego solamente guardarlos bajo un nuevo nombre de método.
Métodos no protegidos contra escritura		Pueden modificar los parámetros de cualquier forma y, después de guardarlos, pueden empezar directamente con la medición.
Plantillas para métodos nuevos	×	Cada grupo de métodos contiene una plantilla que ya está preprogramada con juegos de parámetros completos para facilitar la programación de métodos nuevos. Los parámetros se pueden modificar sin ninguna restricción y luego guardar bajo un nombre nuevo.

Para llamar un método, seleccione con las teclas de cursor primero el grupo principal, luego el subgrupo y finalmente el método. Confírmelo con **enter**.

Absorbance	Métodos para mediciones de absorbancia y transmisión rápidas y sencillas sin evaluación adicional
Routine	Métodos de la biología molecular utilizados con frecuencia. Los métodos están preprogramados fijamente. Una modificación de parámetros es posible guardando el método bajo un nombre nuevo.
Basic	Métodos para la evaluación de mediciones de absorbancia con factor, solución patrón o curva/línea estándar. Plantilla de métodos para la medición y evaluación de cinéticas.
Advanced	Métodos para la evaluación de procedimientos de medición de dos longitudes de onda, así como para cinéticas con unas opciones de evaluación más exigentes.
Favorites	En <i>Favorites</i> puede crear sus propias carpetas con <new folder=""></new> y copiar los métodos frecuentemente utilizados a estas carpetas para poder acceder a estos métodos con más rapidez.

En todas las carpetas puede crear nuevos métodos con <New Method>.

En *Favorites* puede crear sus propias carpetas (p. ej., para una asignación orientada a personas), renombrarlas y borrarlas.

[Cut] y [Paste]	Recortar e insertar métodos.
[Copy] y [Paste]	Copiar e insertar métodos.
[Delete]	Borrar métodos.
[Rename]	Renombrar métodos.

Tab. 6-2:	Teclas programables	en la se	elección de	métodos
-----------	---------------------	----------	-------------	---------

Puede insertar los métodos copiados o recortados o bien en otra carpeta bajo *Favorites* o bien bajo un nombre nuevo en la carpeta original. Navegue con las teclas de cursor a la columna **Methods** de la carpeta deseada y pulse [paste] para insertar el método.

6.2 Descripción de métodos fotometría

En este capítulo se describen los métodos y las plantillas de métodos preprogramados.

6.2.1 Grupo de métodos Absorbance

Single λ

- Medición de extinción en una sola longitud de onda.
- Ninguna evaluación posterior.
- Determinación de la transmisión de una muestra posible.

Single λ - continuous

- Medición de extinción repetida en una sola longitud de onda.
- La introducción de parámetros para un control de temperatura entre 20 y 42 °C es posible (preajuste: 37 °C).
- Introducción de parámetros para tiempo total e intervalos de tiempo para los puntos de medición. Durante la medición es posible detener el proceso antes de tiempo.
- Evaluación como cinética vía **Regresión lineal**. La modificación posterior del intervalo de tiempo para la evaluación es posible.
- Los valores de medición son representados en un gráfico de extinción y tiempo.
- Para evaluar valores de medición posteriormente como cinética vía regresión lineal, pulse la tecla programable [Next >] y vaya al paso de método **process results**.

Multi λ

- Mediciones de extinción en dos a seis longitudes de onda.
- Ninguna evaluación posterior.

Scan

- Medición de un espectro de longitudes de onda de extinción a lo largo de un rango de longitudes de onda definido.
- Indicación de longitud de onda y extinción en el espectro mediante navegación con un cursor de longitudes de onda.
- La modificación de la sección del espectro a través de 3 diferentes variantes de zoom es posible.
- Detección de pico (Peak) posible.
6.2.2 Grupo de métodos Routine

Los métodos del grupo *Routine* están preprogramados como métodos fijos. Por ello, si se modifican parámetros de método en los métodos preprogramados de manera fija, tiene que darse un nombre nuevo al respectivo método.

Nucleic acids

- Determinación de la concentración de ácidos nucleicos mediante medición a 260 nm y evaluación vía factor.
- Diferentes métodos de ácidos nucleicos como dsDNA o RNA están preprogramados. Los parámetros se diferencian por el factor.
- Método preprogramado para cubetas de microlitros: Medición de ADN en volúmenes de muestra en el rango de microlitros con un paso óptico de 1 mm (con cubetas de microlitros como Eppendorf μCuvette G1.0 o Hellma[®] TrayCell).
- Se muestra la siguiente información adicional acerca de la pureza del ácido nucleico medido, la cual se puede extraer de los parámetros de medición en caso necesario:
 - Ratio A260/A280, Ratio A260/A230
 - Espectro de longitudes de onda de extinción del ácido nucleico
 - Extinción de la longitud de onda de fondo (preajuste: 320 nm; la extinción del ácido nucleico puro debería ser de aproximadamente cero)
- La corrección de turbidez parcial vía parámetro **Background** está preajustada.
- Una conversión de las concentraciones en concentraciones molares, así como (tras entrada de volumen de la muestra) en cantidades de ácido nucleico es posible (paso de método: **process results**).

Proteins direct UV

- Determinación de la concentración de proteínas a través de una medición a 280 nm y evaluación vía factor o solución patrón.
- Métodos preprogramados para la emisión directa de las extinciones como resultado (*Protein A 280*), así como para la evaluación vía coeficiente de extinción específico de la albúmina (*Albumin A 280*).
- Método preprogramado para cubetas de microlitros: Medición de ADN en volúmenes de muestra en el rango de microlitros con un paso óptico de 1 mm (con cubetas de microlitros como Eppendorf μCuvette G1.0 o Hellma[®] TrayCell).
- Se muestra la siguiente información adicional acerca de la pureza de la proteína medida, la cual se puede extraer de los parámetros de medición en caso necesario:
 - Espectro de longitudes de onda de extinción de la proteína
 - Extinción de la longitud de onda de fondo (preajuste: 320 nm; la extinción de la proteína pura debería ser aquí aprox. cero).
- La corrección de turbidez parcial vía parámetro **Background** está preajustada.
- En la programación de métodos se importa el factor correspondiente mediante la simple selección de la proteína de una lista predeterminada. La definición de los factores se realiza por separado en las funciones del grupo **Gen. method param.** Diferentes proteínas están preprogramadas en **Gen. method param.** Puede añadir otras proteínas más.

Proteins (with reagent)

- Determinación de la concentración de proteínas mediante medición según reacciones de color y evaluación vía soluciones patrón o factor (típico: evaluación con curva de solución patrón).
- Los métodos *Bradford*, *Bradford micro*, *Lowry*, *Lowry micro*, *BCA y BCA micro* ya están preprogramados. Según el fabricante del reactivo tal vez se tenga que modificar el parámetro "Curve fit" (tipo de curva de solución patrón).

Dye labels

- Para biomoléculas marcadas con colorante: Determinación de la concentración de la biomolécula (ácido nucleico o proteína) mediante medición a 260 y/o 280 nm y del colorante en un solo procedimiento de medición.
- Evaluación con factor. Aparte de la biomolécula también se pueden medir paralelamente hasta dos colorantes a dos distintas longitudes de onda.
- Además evaluación de la frecuencia de incorporación del colorante (FOI). Selección entre dos diferentes métodos de cálculo de FOI.
- Métodos ya preprogramados: ssDNA, marcado con Cy 3 y/o Cy 5.
- La corrección de la influencia del espectro del colorante sobre la exactitud de la medición de las biomoléculas es posible.
- Una corrección de turbiedad parcial a través del parámetro Background es posible.
- Información adicional sobre la pureza del ácido nucleico medido: Ratio A260/A280 y ratio A260/A230 (valores de ratio solamente para ácidos nucleicos), espectro de longitudes de onda de extinción.
- En la programación de métodos se importan diversos parámetros correspondientes como longitudes de onda de medición y factores de evaluación a partir de unas listas predeterminadas mediante simple selección de la biomolécula y del colorante. La definición de estos parámetros se realiza por separado en las funciones del grupo **Gen. method param.** Diferentes ácidos nucleicos, proteínas y colorantes están preprogramados en **Gen. method param.**. Puede añadir otros ácidos nucleicos, proteínas y colorantes más.
- Solo para ácidos nucleicos marcados: Una conversión de las concentraciones en concentraciones molares, así como (tras entrada de volumen de la muestra) en cantidades de ácido nucleico y tinte es posible (paso de método: process results).

Bacterial density

- Medición de la turbiedad para determinar la densidad de bacterias.
- La medición a 600 nm ya está preprogramada.
- · Información adicional: Espectro de longitud de onda de extinción.



La medición de densidad de bacterias en 600 nm no es ninguna medición absoluta. Existen diversos factores que pueden influir en el resultado de la medición. Las informaciones detalladas se encuentran en nuestra página de Internet <u>www.eppendorf.com</u>

6.2.3 Grupo de métodos Basic

Factor, Standard

- Medición en una longitud de onda y evaluación vía factor o solución patrón.
- Los métodos para la evaluación vía factor y solución patrón están preprogramados.
- Visualización del espectro de longitudes de onda de emisión
- Una corrección de turbiedad parcial a través del parámetro Background es posible.

Calibration curve

- Medición en una longitud de onda y evaluación posterior con una serie de 2 a 12 soluciones patrón.
- Diversos procedimientos de evaluación ("Curve fit") como regresión lineal y regresión no lineal son seleccionables.
- Visualización gráfica y tabular de los resultados de la solución patrón.
- Es posible utilizar la última evaluación de solución patrón almacenada.
- Un método para la evaluación con curva de solución patrón está preprogramado.

Simple kinetics

- Medición de una cinética en una longitud de onda y evaluación posterior con factor.
- 3 diferentes procedimientos de medición son posibles:
 - "linear regression": Evaluación de una serie de puntos de medición registrada en intervalos.
 - "two point": Cálculo de ΔA/min a partir de 2 puntos de medición en momentos definidos.
 - "endpoint": Registro de un punto de medición en un momento definido.
- La introducción de parámetros para un control de temperatura entre 20 y 42 °C es posible (preajuste: 37 °C).
- En el procedimiento de medición "linear regression", la curva de la extinción y el tiempo es representada gráficamente.
- Un método para la evaluación con regresión lineal está preprogramado y se puede modificar para otros procedimientos de evaluación ("endpoint", "two.point") mediante una simple selección.

6.2.4 Grupo de métodos Advanced

Dual wavelength

- Medición en dos longitudes de onda y evaluación de los valores de extinción medidos mediante dos fórmulas básicas (subtracción, división)
- Es posible definir variantes de las fórmulas básicas.
- El resultado se puede evaluar con un factor, una solución patrón o una serie estándar.
- Los métodos para el cálculo mediante subtracción y división, así como la posterior evaluación con factor están preprogramados.

Advanced kinetics

Además de la descripción del método *Simple kinetics* (grupo de métodos *Basic*) tiene las siguientes posibilidades:

- Medición de una cinética del blanco de reactivo. El resultado del blanco es restado de todos los resultados de la muestra antes de la evaluación.
- Alternativamente a la evaluación vía factor también es posible realizar una evaluación por medio de una solución patrón.

6.3 Parámetros de los métodos

En este capítulo se explican los parámetros para la programación de los métodos. El orden de los parámetros así como es indicado en el equipo puede variar ligeramente en unos pocos métodos en comparación con el orden en la tabla para representar los parámetros en la pantalla de una manera más clara. La tabla representa la totalidad de los parámetros que están disponibles para los diferentes métodos. Para cada método solamente se requiere una pequeña parte de estos parámetros que son representados en la pantalla.

Parámetro	Entrada	Explicación
Cubeta	Selección: 10 5 2 1 0,5 0,2 0,1 mm	Recorrido óptico de la cubeta. Los valores de absorbancia siempre son convertidos automáticamente por el equipo a un espesor de capa de 10 mm de una cubeta estándar (ver <i>Valores</i> <i>de extinción en pág. 105)</i> . Por ello, factores como "50" para el cálculo de concentraciones de dsDNA no tienen que ser modificados por usted cuando modifique el parámetro Cuvette .
No. of wavelengths	Entrada de valores: Rango: de 2 a 6.	Solo para el grupo de métodos Multi λ . Número de las longitudes de onda en las que se debe medir.
Wavelength	Entrada de valores: Longitud de onda de medición en nm. Rango: de 200 a 830 nm.	Longitud de onda de medición: basándose en la absorbancia medida en esta longitud de onda se calcula la concentración. En los grupos de métodos Multi λ y Dual wavelength se introduce más de una longitud de onda. Para algunos grupos de métodos (p.ej. Nucleic acids y Proteins direct UV) las longitudes de onda están preprogramadas fijamente. En el grupo de métodos Dye labels no introduce las longitudes de onda de medición individualmente durante los pasos del método. Los factores se importan automáticamente de la función General Method Parameters a través de la simple selección de biomolécula y colorante.
Unit	Selección: mg/mL µg/mL ng/ mL pg/mL µg/µL mg/dL µmol/mL nmol/mL pmol/mL pmol/µL U U/mL U/L % Abs A/min Libre programabilidad adicional de otras unidades en la función General Method Parameters/Units. Máx. 7 dígitos.	Unidad para el resultado de concentración. La selección está limitada en los métodos fíjamente preprogramados del grupo Routine a unidades que son útiles para estos métodos.
Formula type	Selección: division subtraction	Solo para el grupo de métodos Dual wavelength . Tipo de fórmula para el cálculo de las extinciones en las dos longitudes de onda antes de la evaluación con factor o solución patrón.

Parámetro	Entrada	Explicación
Fórmula: <i>a</i>	Entrada de valores: Valor para <i>a</i> en la fórmula de evaluación. Límite: máx. 5 dígitos incluyendo el punto decimal.	Solo para el grupo de métodos Dual wavelength . Valor para <i>a</i> en la fórmula: [(<i>a*A1</i>) / (<i>b*A2</i>)] * <i>c</i> + <i>d</i> y [(<i>a*A1</i>) - (<i>b*A2</i>)] * <i>c</i> + <i>d</i> .
Fórmula: <i>b</i>	Entrada de valores: Valor para <i>b</i> en la fórmula de evaluación. Límite: máx. 5 dígitos incluyendo el punto decimal.	Solo para el grupo de métodos Dual wavelength . Valor para <i>b</i> en la fórmula: [(a*A1) / (b*A2)] * c + d y [(a*A1) - (b*A2)] * c + d.
Fórmula: <i>c</i>	Entrada de valores: Valor para c en la fórmula de evaluación. Límite: máx. 5 dígitos incluyendo el punto decimal.	Solo para el grupo de métodos Dual wavelength . Valor para c en la fórmula: [(a*A1) / (b*A2)] * c + d y [(a*A1) - (b*A2)] * c + d.
Fórmula: <i>d</i>	Entrada de valores: Valor para <i>d</i> en la fórmula de evaluación. Límite: máx. 5 dígitos incluyendo el punto decimal.	Solo para el grupo de métodos Dual wavelength . Valor para <i>d</i> en la fórmula: <i>[(a*A1) / (b*A2)] * c + d</i> y <i>[(a*A1) - (b*A2)] * c + d</i> .
Calculation	Selección: Factor Standard	Procedimiento de evaluación para el cálculo de la concentración de la muestra a partir de la absorbancia medida.
Factor	Entrada de valores: Factor. Límite: máx. 6 dígitos incluyendo el punto decimal.	Factor para la conversión de valores de absorbancia en concentración. En los siguientes grupos de métodos también es posible introducir factores negativos: Simple kinetics, Advanced kinetics, Dual wavelength, Factor . En el grupo de métodos Dye labels los factores no se introducen individualmente durante los pasos del método. Los factores se importan automáticamente de la función General Method Parameters a través de la simple selección de biomolécula y colorante.
Protein	Selección: Lista de tipos de proteína que están incluidos en la función General Method Parameters/Proteins.	Solo para los grupos de métodos Dye labels y Proteins direct UV. En la selección de la proteína también se importa de la función General Method Parameters/Proteins el allí programado parámetro correspondiente Factor .
Standards	Entrada de valores: Número de soluciones patrón. Rango: de 1 al 12.	Número de las diferentes concentraciones patrón para la evaluación con soluciones patrón. En algunos métodos, el área para el número de soluciones patrón está limitada a un área más pequeña que del 1 al 12.

Parámetro	Entrada	Explicación
Replicates	Entrada de valores: Número de réplicas por solución patrón. Rango: de 1 a 3.	Número de las mediciones de repetición para las diferentes concentraciones patrón.
Std. Conc.	Entrada de valores: Valores de concentración de las soluciones patrón. Límite: máx. 6 dígitos incluyendo el punto decimal.	Según el número de soluciones patrón, este parámetro se ofrece para todos las soluciones patrón (p. ej.: Std. Conc. 1, Std. Conc. 2,).
Decimal places	Entrada de valores: Número de partes decimales para el resultado. Rango: de 0 a 3.	Número de partes decimales para el resultado de concentración calculado.
Dye 1	Selección: Lista de colorantes que están incluidos en la función General Method Parameters/ Dyes.	Solo para el grupo de métodos Dye labels . En la selección del colorante también se importan de la función General Method Parameters/Dyes los parámetros allí programados que corresponden al colorante: factor, longitud de onda, factores de corrección para la medición a 260 y/o 280 nm (véase la descripción del siguiente parámetro).
Correct A260 1	Selección: on off	Solo para el grupo de métodos Dye labels . Corrección de la influencia del espectro del colorante sobre la absorbancia en la longitud de onda de medición de la biomolécula (260 y/o 280 nm). Los espectros de los colorantes tienen en parte una absorbancia reducida a 260 y 280 nm. Estas extinciones falsifican los cálculos para los ácidos nucleicos y/o las proteínas de estos métodos. Para minimizar esta falsificación se utilizan factores de corrección, siempre y cuando estos se conocen para los respectivos colorantes. Si el parámetro es activado, el factor de corrección es importado de la función General Method Parameters/Dyes .
Correct A 280 1	Selección: on off	Solo para el grupo de métodos Dye labels . Para la explicación, véase la descripción del parámetro arriba mencionado Correct A 260 1 .
Dye 2 active	Selección: on off	Solo para el grupo de métodos Dye labels . Existe la posibilidad de medir paralelamente un segundo colorante. Aplicación: marcación de una biomolécula con dos colorantes.
Dye 2	Selección: Lista de colorantes que están incluidos en la función General Method Parameters/ Dyes.	Solo para el grupo de métodos Dye labels en la medición de 2 colorantes. Selección del segundo colorante (vgl. Parameter Dye 1).

Parámetro	Entrada	Explicación
Correct A260 2	Selección: on off	Solo para el grupo de métodos Dye labels en la medición de 2 colorantes. Análogamente al parámetro Correct A 260 1 .
Correct A 280 2	Selección: on off	Solo para el grupo de métodos Dye labels en la medición de 2 colorantes. Análogamente al parámetro Correct A 280 1 .
Show scan	Selección: on off	En la medición de muestras, indicación de un escaneo (gráfico de longitud de onda de absorbancia) adicionalmente al resultado.
Start λ	Entrada de valores: Longitud de onda en nm. Rango: de 200 a 830 nm.	Longitud de onda inicial para el registro del escaneo.
Stop λ	Entrada de valores: Longitud de onda en nm. Rango: de 200 a 830 nm. El valor tiene que ser mayor que el valor para Start λ .	Longitud de onda de detención para el registro del escaneo.
A260/A280	Selección: on off	Solo para ácidos nucleicos. En la medición de muestras, indicación de la ratio A260/A280 adicionalmente al resultado.
A260/A230	Selección: on off	Solo para ácidos nucleicos. En la medición de muestras, indicación de la ratio A260/A230 adicionalmente al resultado.
FOI	Selección: none dye/kb pmole/ μg	Solo para el grupo de métodos Dye labels . En la medición de muestras, indicación de FOI adicionalmente al resultado. La FOI (frecuencia de incorporación) es una medida para el número de moléculas de colorante incorporadas en el ácido nucleico por molécula del ácido nucleico. Las unidades son "dye/kb" (moléculas de colorante por 1000 bases) o "pmole/µg" (pmol de colorante por µg de ácido nucleico). "none": ningún cálculo de la FOI.
Background	Selección: on off	Antes del cálculo del resultado de una muestra se resta la absorbancia de una longitud de onda de fondo, en la que el analito a medir debe mostrar la absorbancia cero, de la absorbancia de la longitud de onda de medición. Aplicación frecuente: corrección de turbiedad parcial en la medición de ácidos nucleicos (longitud de onda de fondo para ello: 320 nm o 340 nm).

Parámetro	Entrada	Explicación
Wavelength	Longitud de onda en nm. Rango: de 200 a 830 nm.	Longitud de onda en la que se va a medir el fondo. En forma pura, el analito a medir debería tener aquí el valor de absorbancia cero.
Background for dyes	Selección: on off	Solo para el grupo de métodos Dye labels . Aplicación de la corrección de fondo a la medición del colorante (véase el parámetro Background).
Wavelength	Longitud de onda en nm. Rango: de 200 a 830 nm.	Solo para el grupo de métodos Dye labels . Longitud de onda en la que se debe medir el fondo para el colorante. En forma pura, no contaminada, el colorante a medir debería tener en esta longitud de onda el valor de absorbancia cero.
Temperature on	Selección: on off	Solo para métodos cinéticos. Uso del control de temperatura de la cubeta.
Temperature	Entrada de valores: Temperatura en °C. Rango: de 20 a 42 °C.	 Solo para métodos cinéticos. Entrada de la temperatura para el control de temperatura de la cubeta, cuando el parámetro Temperature está puesto en "on". Atención: Daños y mediciones erróneas a causa de agua condensada. En caso de una alta humedad del aire, se puede producir agua condensada en una cubeta que tenga una temperatura claramente inferior a la temperatura ambiente. El agua condensada puede ocasionar daños en el sistema óptico y provocar resultados de medición equivocados. No ajuste la temperatura de la cubeta de manera duradera a una temperatura claramente inferior a la temperatura de la cubeta de manera duradera a una temperatura claramente inferior a la temperatura de la cubeta de manera duradera a una temperatura claramente inferior a la temperatura de la cubeta de manera duradera a una temperatura claramente inferior a la temperatura
Measuring procedure	Selección: lin.regr. endpoint two point	Solo para métodos cinéticos. "linear regression": medición a lo largo de varios momentos en intervalos de tiempo fijos en un período definido. Evaluación mediante regresión lineal del gráfico de absorbancia-tiempo dentro del tiempo de medición. Resultado de absorbancia: ΔA/min. "endpoint": medición de un punto de medición después de un tiempo definido. Resultado de absorbancia: A. "two point": medición de 2 puntos de medición en momentos definidos. Evaluación: mediante interpolación lineal entre estos puntos de medición en el gráfico de absorbancia-tiempo. Resultado de absorbancia: ΔA/min.

Parámetro	Entrada	Explicación
Reagent blank	Selección: on off	Solo para métodos cinéticos del grupo de métodos Advanced kinetics en una evaluación con factor. Medición de un blanco de reactivo (RL). El RL se mide con el mismo procedimiento de medición que una muestra. El resultado de absorbancia en A y/o Δ A/min se resta del resultado de absorbancia de la muestra antes de que se calcule la concentración de la muestra. Aplicación: corrección de resultados de muestras en cinéticas con desviación del reactivo. El blanco de reactivo contiene el reactivo, así como agua desmineralizada como muestra.
Delay	Entrada de valores: Tiempo desde el inicio hasta el primer punto de medición. Rango: 00:00 a 10:00 min:sec.	Solo para métodos cinéticos. Tiempo desde el inicio de la secuencia de medición hasta el registro del primer punto de medición.
Measuring time	Entrada de valores: Tiempo entre el primer y el último punto de medición. Rango: de 00:05 a 59:59 min:sec.	Solo para métodos cinéticos y los procedimientos de medición "lin.regr." y "two point". Tiempo desde el registro del primer punto de medición hasta el registro del último punto de medición.
Total time	Entrada de valores: Tiempo entre el primer y el último punto de medición. Rango: de 00:05 a 59:59 min:sec.	Solo para el método cinético Single λ – cont . Tiempo desde el registro del primer punto de medición hasta el registro del último punto de medición.
Interval	Entrada de valores: Tiempo entre dos puntos de medición. Rango: de 00:05 a 10:00 min:sec.	Solo para métodos cinéticos y el procedimiento de medición "lin.regr.". Intervalos de tiempo entre los puntos de medición.
Autoprint	Selección: on off	Impresión de un resultado de medición con la impresora térmica directamente después de la medición. Solamente se imprimen los datos de resultado esenciales. Para la emisión de datos más detallados, puede reunir los paquetes de datos deseados en el paso de método print & export al final de la serie de mediciones e imprimirlos.
Transmisión	Selección: on off	Si se selecciona el parámetro Calculate Transmission , se muestra la transmisión (en %) de la muestra.

6.4 Pasos de métodos

Bradford: check para	meters measure st	andards measure samples
Cuvette	10 mm	Page 1/2
Wavelength	595 nm	
Unit	µg/mL	
Calculation	Standard	
Standards	6	
Replicates	1	
Decimal places	0	Info
Autoprint	off	Edit parameters: "Edit" softkey.
		Show more parameters: "Page up" or "Page dn".
Edit Page up	Page dn A	bort < Back Next >

El asistente ("Wizard") en el borde superior de la pantalla le guiará a través de los pasos del método. El paso de método activo está resaltado.

Un método comprende un máximo de 5 pasos. El paso activo es resaltado ópticamente. Después del último paso **print & export** de una serie de mediciones se ofrece como paso adicional el inicio de una nueva serie de mediciones. Esta comienza de nuevo con la medición de las muestras.

Paso de método	Explicación
check parameters	Comprobar los parámetros del método. Realizar una modificación en caso necesario.
measure standards	Sólo en métodos con una evaluación de solución patrón: Medir y evaluar soluciones patrón. Es posible un uso alternativo de la última evaluación de solución patrón guardada.
measure samples	Medición de muestras
process results	Solo en algunos métodos: Retocar los resultados, p. ej., zoom de ampliación/ reducción de gráficos de escaneos.
print & export	Reunir los paquetes de datos para la impresión o exportación de los datos.

Con las teclas programables [Next >] y [< Back] navega entre los pasos del método. Con [Abort] y [Finish] puede cancelar y/o finalizar la secuencia de medición. El nombre de esta tecla programable cambia de [Abort] a [Finish] después de la primera medición de una muestra.

6.4.1 check parameters

radiord: check para	meters measure standar	ds measure samples
Cuvette	10 mm	Page 1/2
Wavelength	595 nm	
Jnit μg/mL		
Calculation	Standard	
Standards	6	
Replicates	1	
Replicates Decimal places	1 0	Info
Replicates Decimal places Autoprint	1 O off	Info Edit parameters: "Edit" softkey.
Replicates Decimal places Autoprint	1 0 off	Info Edit parameters: "Edit" softkey. Show more parameters: "Page up" or "Page dn".

) F	age up	Page dn	Save	Save As	Cancel
				Range: 1 to 3	
Autoprint				Number of re measurement	peat ts for stand
Decimal plac	es	0		0 In	fo
Replicates		2 *			
Standards		6			
Calculation		Standard	•		
Unit		µg/mL ▼			
Wavelength		595 nm			
Cuvette		10 mm 🔻			Fage 1/2

Method name:	Bradford_1			
Target directory:	⊙Favorites/MyMethods			
	OFavorites/	MyMethods	-	
		0 In	0	
		Wählen Sie das aktuelle V oder ein Zielv in "Favorites".	o /erzeichnis erzeichnis	

Teclas programables

- [Page dn] y [Page up]: Para cambiar de página entre las 1 a 3 páginas de parámetros.
- [Edit]: Conmutar al modo de edición de parámetros.

Modo de edición de parámetros:

Los parámetros modificados están marcados con un asterisco rojo, mientras la modificación aún no ha sido guardada.

Teclas programables

- [Save] y [Save as]: Guardar las modificaciones. Con [Save as] tiene que darle un nombre nuevo al método. Eso siempre es el caso cuando modifica los métodos del grupo *Routine* preprogramados por Eppendorf.
- [Cancel]: Salir del modo de edición sin guardar los cambios.

Guardar el método bajo un nombre nuevo: Puede guardar el método o bien en la misma carpeta de donde llamó el método o bien en el grupo de métodos *Favorites* en una carpeta libremente seleccionable.

Puede introducir el nombre (máximo 20 caracteres) a través de un teclado superpuesto (tecla programable [Keyboard]) o directamente a través del teclado (ver *Introducción de texto en pág. 25*). Después de guardar los datos retornará a la pantalla **check parameters**.

6.4.2 measure standards



Teclas programables

La primera solución patrón a medir está marcada en la pantalla. Después del blanco (tecla **blank**), mida todas las soluciones patrón una tras otra (tecla **standard**).

Si mide más de una réplica por solución patrón, se calculará y mostrará automáticamente la media para cada solución patrón.

Con las teclas de cursor y también puede seleccionar unas soluciones patrón determinadas para la medición. Una nueva medición de soluciones patrón individuales también es posible de esta manera.

- [Last cal]: Llamar la última evaluación estándar guardada para este método para utilizarla para mediciones de muestras.
- [Curve fit]: Seleccionar el procedimiento para la evaluación de solución patrón. También puede modificar el procedimiento posteriormente, siempre y cuando el resultado no haya sido guardado. En el capítulo "Procedimientos de evaluación" (ver *Evaluación con curva/línea recta de solución patrón en pág. 108*) encontrará indicaciones respecto a la selección del procedimiento de evaluación.
- [Graph]: Cambiar a la representación gráfica de los resultados de solución patrón.



En cuanto se disponga del mínimo número de resultados para la evaluación con el procedimiento seleccionado (Curve fit), el resultado de evaluación es visualizado en la parte derecha de la pantalla. Entonces es posible realizar un almacenamiento anticipado de la evaluación y cambiar a la medición de muestras por medio de la tecla [Next >].

Representación gráfica de la evaluación de solución patrón.

Con las teclas de cursor **O** y **D** puede navegar entre las soluciones patrón para visualizar los resultados. Si hay más de una réplica por solución patrón, puede cambiar entre los resultados de las réplicas con **O** y

 En la representación gráfica también puede seleccionar y medir soluciones patrón individuales o medirlas nuevamente.

Teclas programables

- [Table]: Cambiar la representación de la tabla de los resultados de solución.
- [Next >]: Guardar la evaluación de solución patrón y cambiar a la medición de muestras.

6.4.3 measure samples

Con la tecla **sample** mide sus muestras una tras otra. Los resultados de blanco permanecen almacenados para una serie de mediciones, pero una medición de blanco nueva es posible en cualquier momento. Con las teclas O y O puede navegar entre los resultados de muestras obtenidos hasta el momento en la serie de mediciones.



Indicación de resultados:

- El resultado de la concentración (6 dígitos con coma flotante) es resaltado claramente.
- Con gráfico: El resultado se encuentra en la parte derecha de la pantalla.
- Sin gráfico: El resultado se encuentra en el centro de la pantalla.
- Además del resultado también se muestra el valor de extinción que sirve de base de forma más pequeña.

Otros datos

• arriba a la derecha; 1ra línea:

Número de muestra: Es un número consecutivo y es puesto a "1" para cada serie de mediciones nuevas.

Dilución de la muestra (si es que se ha indicado)

- arriba a la derecha; 2da línea: Identificación de la muestra (ID) (si es que se ha indicado)
- arriba a la izquierda: Nombre del archivo bajo el cual los datos son exportados como archivo Excel en el paso de método print and export (ver en pág. 65).

Teclas programables

- [Dilution]: Introducir la dilución de la muestra.
- [Edit ID]: Introducir la identificación de la muestra
- [Data]: Indicar los datos de resultados adicionales (no en todos los métodos).
- [Finish]: Finalizar la serie de mediciones y retornar a la selección de métodos.



Los valores de extinción mostrados equivalen siempre a los valores directamente medidos. El factor de dilución o de cubeta, así como las extinciones de fondo no se incluyen hasta el siguiente cálculo de resultados (ver *Valores de extinción en pág. 105*).

Introducir la dilución



La tecla programable [Dilution] estará activada después de haberse medido el blanco (tecla **blank)**.

- 1. Presione la tecla programable [Dilution].
- Introduzca los volúmenes para la muestra (máximo 3 dígitos) y para el tampón de dilución (máximo 4 dígitos).

Los siguientes resultados de las muestras son multiplicados por el equipo con el factor de dilución calculado.

Teclas programables

- [Clear dil.]: Borrar los valores para la dilución de muestras.
- [OK]: Confirmar la dilución de muestras y retornar a la medición de muestras.
- [Cancel]: Cancelar la entrada y retornar a la medición de muestras.

La dilución se utilizará para todos los resultados de muestras siguientes hasta que se modifique haciendo una entrada nueva.

Introducir la identificación de la muestra

La identificación (ID) se aplica para el siguiente resultado de muestra. Al introducir un ID, aparece el último ID que se introdujo para poder introducir rápidamente unos ID consecutivos. No es posible asignar dos veces el mismo ID dentro de una serie de mediciones.



- 1. Presione la tecla programable [Edit ID].
- Introduzca el ID de la muestra (máximo 12 dígitos).

Alternativas para la entrada de texto:

- Teclado: Pulsando la tecla repetidas veces se pasa por las posibilidades de entrada de esta tecla.
- Visualizar teclado con tecla programable [Keyboard]: Navegue con las teclas de cursor y confirme con **enter**.

Teclas programables

- [Keyboard]: superponer el teclado en la pantalla.
- [abc]: conmutar entre letras mayúsculas y minúsculas al introducir texto vía teclado.
- [OK]: Confirmar la entrada del ID y retornar a la medición de muestras.
- [Cancel]: Cancelar la entrada y retornar a la medición de muestras.

Resultado con dilución e ID



Resultado con dilución e ID de la muestra.

6.4.4 Muestras de medición: Visualización de resultados

En esta sección obtendrá para todos los grupos de métodos una representación de indicaciones de resultados típicas, así como una visión general de otros datos de resultados que puede acceder a través de la tecla programable [Data].

Grupo de métodos	Indicación de resultados		Explicación
Grupo principal Al	osorbance		
Single λ	Single A: check parameters measure samples Single A 2010-07-02 14:15:18 4.390 A ₃₄₀ 0.439 A _{3401 mm}	# 01 D:	 Indicación de resultados: Extinción en esa longitud de onda de medición Solo en caso de dilución o uso de una cubeta que no sea de 10 mm: Indicación adicional del valor de extinción antes de la conversión.
	Dilution Edit ID Data Finish	Info Measure blank or sample: "blank", "sample" keys. Scroil through results: ▲ and ▼ keys. < Back Next >	

Grupo de métodos	Indicación de resultados	Explicación
Single λ – continuous	Single X - cont: <u>check parameters</u> measure samples <u>process results</u> Single X - cont 2010-11-25 16:40:37 Abs. (A) 1.500 0.900 0.600 0.300 0.0000 0.000 0.000 0.000 0.000 0.000 0.000 0.000	 Antes de la medición: Paso de método check parameters: Indicación del acondicionamiento térmico. Cuando se haya alcanzado la temperatura ajustada en los parámetros y la indicación cambia de Tempering a Ready, puede cambiar a la medición.
	100:00 00.14 00.22 00.30 00.35 Move cursor: t: 00:00; Abs.: 0.036 ✓ and ▶ keys. Dilution Edit ID Data Finish Back Next >	 Puede cancelar la medición anticipadamente con la tecla programable [Stop].
		 Indicación de resultados: Gráfico con indicación de extinción-tiempo y línea recta de regresión trazada. Valor de "A/min" calculado a partir de la regresión lineal.
		 Datos adicionales (tecla programable [Data]): Pares de valores de extinción-tiempo para el primer y el último punto de medición. Parámetro de calidad para la regresión lineal Navegue en el gráfico de un punto de medición a otro con y ●. En caso necesario, modifique en el paso de método process results el intervalo de tiempo para la evaluación con regresión lineal.
Multi λ	Multi J.: [check parameters] measure samples print & export] [new series] Multi J. 2010-07-09 16:08:45 # 01 ID:	Indicación de resultados: • Extinciones en las longitudes de onda de medición
	λ 1 0.349A₂₂₀ λ 2 0.735A₂₀₀ λ 3 0.187A₂₀₀ λ 4 0.006A₂₂₀	 Datos adicionales (tecla programable [Data]): Solo en caso de dilución o uso de una cubeta que no sea de 10 mm: Valor de absorbancia antes de la conversión.





Grupo de métodos	Indicación de resultados	Explicación
Dye labels	ssDNA - Cy 3: check parameters measure samples process results Abs (A)	 Indicación de resultados: Resultados de concentración con extinción en la longitud de onda de medición de la biomolécula. Si está activado en los parámetros: Escaneo. Navegue en el gráfico de un punto de medición a otro con • y •. Datos adicionales (tecla programable [Data]). Si se activaron los parámetros correspondientes: Ratio A260/A280 y ratio A260/A230. Valores de extinción para 280 nm y 230 nm, así como para la longitud de onda de medición del colorante. Valor FOI. Valores de extinción para las longitudes de onda de fondo. En la medición de proteínas marcadas con colorante no se indican las ratios y la FOI.
Bacterial density	OD 600: check parameters measure samples print & export new series OD 600 2010-07-02 14/20:39 # 01 III IIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIIII	 Indicación de resultados: Resultado calculado con extinción en la longitud de onda de medición. Si está activado en los parámetros: Escaneo. Navegue en el gráfico de un punto de medición a otro con Y .

Grupo de métodos	Indicación de resultados	Explicación
Grupo principal Ba	ısic	
Factor, standard	Factor_1: check parameters measure samples print & export new ser Pactor_1: 2017-10-30 15:11:55 # 02 ID: 02 ID: 02 ID: 02 ID: 02 ID: 02 ID: 0.500 0.500 0.500 4 0.500 Ass. 0.500 Ass. 0.500 Asso 0.500 Asso 0.500 Asso 0.500 Asso 0.500 Asso 0.500 Asso Move \n cursor: 4 and ▶ keys. Move \n cursor: 4 and ▶ keys. Dilution Edit ID Data Finish < Back Next >	 Indicación de resultados: Resultado de la concentración con extinción en la longitud de onda de medición. Si está activado en los parámetros: Escaneo. Navegue en el gráfico de un punto de medición a otro con • y •. Con la tecla programable [Data] se muestran los valores de extinción para las longitudes de onda de fondo.
Calibration curve	Análogamente a <i>Proteins (with reagent)</i> (véase arriba)	 Indicación de resultados: Resultado de la concentración con extinción en la longitud de onda de medición. Gráfico de la evaluación de solución patrón con el resultado de la muestra trazado.

Grupo de métodos	Indicación de resultados Explicación
Simple kinedes	 Simple kinetics 2010:11:25 10:44:19 Paso de método check Parameters: Indicación del acondicionamiento térmico. Cuando se haya alcanzado la temperatura ajustada en los parámetros y la indicación cambia de Tempering a Ready, puede cambiar a la medición. Indicación de resultados: Resultado de la concentración con extinción y/o A/min en la longitud de onda de medición. Solo en el procedimiento de medición de regresión trazada. Navegue en el gráfico de un punto de medición a otro con Q y D
	 Datos adicionales (tecla programable [Data]). En función del procedimiento de medición: Pares de valores de extinción-tiempo para el primer y el último punto de medición (procedimiento "endpoint": solo un punto de medición). Parámetro de calidad para la regresión lineal (no procede para cinéticas con una pendiente inferior a 0,050 E/min).

Grupo de métodos	Indicación de resultados	Explicación
Grupo principal A	dvanced	
Dual wavelength	Division: check parameters) measure samples print & export) new series Division 2010-07-02 14-27:47 # 02 Dil.: 10 + 90 µL ID: 20.08 µg/mL 0.803 A _{cae} 0.803 A _{cae} λ 1 0.679 A ₂₆₀ Info λ 2 0.845 A ₅₀₀ Measure blank or sample: "blank", "sample" keys. Scroll through results: and ♥ keys. Dilution Edit ID Data Finish < Back	 Indicación de resultados: Resultados de la concentración: Se calcula a partir de Acalc. con factor o evaluación de solución patrón. Acalc.: se calcula con la fórmula definida en los parámetros a partir de las extinciones medidas en las dos longitudes de onda. Valores de extinción que se midieron en las dos longitudes de onda. Datos adicionales (tecla programable [Data]). Si se activaron los parámetros correspondientes: Valor de extinción para la longitud de onda de fondo.
Advanced kinetics	Análogamente a <i>Simple kinetics</i> (véase arriba).	 Adicionalmente a los datos como en el grupo de métodos Simple kinetics: Datos adicionales (tecla programable [Data]). Si se activó el parámetro correspondiente: Extinción y/o A/min para el blanco del reactivo.

6.4.5 process results

Después de la medición de muestras siguen en el modo de parámetro dos pasos opcionales: **process results** y **print & export**.

En el paso **process results** puede retocar los resultados en algunos de los métodos. Ejemplo: Modificación de la sección del espectro de un escaneo.

Igual que en la indicación de resultados, puede navegar entre los resultados de las muestras de la serie de mediciones con las teclas de cursor \diamond y \heartsuit y seleccionar deliberadamente resultados para su retoque.

Opción	Explicación	Disponible en el método
Zoom	Modificar la limitación de los ejes en el gráfico de extinción-longitud de onda para limitar la representación a secciones ampliadas del gráfico.	 Básicamente todos los métodos a los que se ofrece el parámetro Scan y que ha sido activado. Multi λ Scan Nucleic acids Proteins direct UV Dye labels
More calculations	Convertir los resultados de concentraciones en concentraciones molares, así como en cantidades totales (tras introducción de un volumen).	 Nucleic acids Dye labels (con ácidos nucleicos como biomolécula)
Peak detection	Detectar picos en espectros de longitudes de onda de extinción.	• Scan
Linear regression	Modificar el intervalo de tiempo para la evaluación de una cinética mediante regresión lineal.	 Básicamente todos los métodos cinéticos en los que se aplicó el procedimiento de medición "Linear regression". Single λ - continuous Simple kinetics Advanced kinetics

Tab. 6-3: Opciones: Visión general



Las opciones para el retoque se ofrecen en las dos teclas programables de la izquierda. En este ejemplo: [Zoom] y [More Calculations].



Después de las modificaciones puede salir del modo actual con las dos teclas programables de la derecha:

- [Save]: Guardar la modificación y retornar al paso de método **process results**.
- [Cancel]: Cancelar y retornar al paso de método process results.

Después de guardar las modificaciones, puede transferirlas con [Yes] a todas las muestras de la serie de mediciones.

6.4.6 Resultados de procesos: Opciones

Zoom

Presione la tecla programable [Zoom] y seleccione una de las siguientes variantes.



Variante [spectra]:

- Con las teclas del cursor y : Mover el cursor de longitudes de onda. Este determina el centro para el zoom en el eje X.
- Con las teclas del cursor y S: Ampliar y reducir gradualmente la sección mostrada del eje X según el procedimiento SpectraZoom.
 La sección mostrada del eje Y es adaptada automáticamente en cada paso de modo que el máximo y el mínimo de los datos representados aprovechan la sección óptimamente.

Variante [spectra-0]:

Se corresponde con la variante [spectra] con una excepción:

El límite inferior de la sección representada del eje Y equivale siempre a "0 A".

Variante [free]:

Los límites de intervalos se pueden introducir libremente para ambos ejes. Navegación entre los campos de entrada con las teclas de cursor (**O**, **O O**, **D**).

En las 3 variantes se retorna a la representación inicial del espectro con la tecla programable [reset zoom].

More calculations

Presione la tecla programable [More calc.].



Grupo de métodos Nucleic acids:

- Tras entrada de la masa molar (alternativamente en bases/pares de bases o en kDa): Convertir el resultado de la concentración en concentración molar.
- Tras entrada del volumen de la muestra: Calcular la cantidad total de la muestra.

Grupo de métodos Dye labels:

Ácido nucleico:

- Tras entrada de la masa molar (alternativamente en bases/pares de bases o en kDa): Convertir el resultado de la concentración en concentración molar.
- Tras entrada del volumen de la muestra: Calcular la cantidad total de la muestra.

Colorante:

• Tras la entrada del volumen de la muestra: Calcular la cantidad total de la muestra.



- Para dsDNA se supone que se trata de un ácido nucleico bicatenario al calcular la concentración molar. Para los métodos ssDNA, RNA y Oligo se supone que se trata de un ácido nucleico monocatenario.
- Para métodos que fueron programados en el grupo principal *Routine*, grupo de métodos Nucleic acids, mediante <New Method>, siempre se parte de ácidos nucleicos bicatenarios para el cálculo de la concentración molar.

Peak detection

Presione la tecla programable [Peaks]. Para la detección de picos (Peak) puede variar dos criterios:

• Trama λ : Trama de evaluación en la escala de longitudes de onda para la detección de picos (p. ej. 10 nm).

Ejemplo 10 nm: Se evalúa la sección del espectro de -5 nm a +5 nm en relación al pico a detectar.

 Mín. Δ Abs: Mínima diferencia entre el pico a detectar y la extinción más baja en la trama de evaluación. Al mismo tiempo ningún valor de extinción en la trama debe ser superior al valor del pico (p. ej.: 0,5).

Ejemplos:



Trama λ : 100 nm, mín. Δ Abs: 0,050: El pico no es detectado porque la trama λ es demasiado grande: Las extinciones en el borde izquierdo de la trama son más grandes que la extinción del pico.

Trama λ : 20 nm, mín. Δ Abs: 0,200: El pico no es detectado, porque el valor predeterminado para **Mind.** Δ Abs es demasiado grande. La diferencia de la extinción del pico y la extinción más baja en la trama es inferior a 0,2 A.

Trama λ : 20 nm, mín. Δ Abs: 0,050: El pico es detectado.

Linear regression

En procedimientos cinéticos, que son evaluados a través del procedimiento de medición "Regresión lineal", puede definir posteriormente los momentos iniciales y finales para la evaluación de la regresión en el paso de método **process results**.



Seleccionar los puntos de medición

- Tecla programable [First pt.]: Defina el primer punto de medición para la evaluación de la regresión. Seleccione el punto de medición con
 y O. Confírmelo con enter.
- Tecla programable [Last pt.]: Defina el último punto de medición para la evaluación de la regresión. Seleccione el punto de medición con
 y O. Confírmelo con enter.
- Paralelamente a la modificación de los momentos el resultado es medido nuevamente. Para ello también se calcula nuevamente el blanco del reactivo en el intervalo de tiempo nuevamente definido.

6.4.7 print & export

En el último paso de método opcional, puede reunir paquetes de datos para todas las muestras o para muestras seleccionadas de una serie de mediciones:

- para imprimirlos en la impresora
- para la exportación a una memoria USB
- para la exportación de un cable USB directamente a un PC
- · para la exportación por correo electrónico

sDNA: measure samples	process results	print & export	new serie
DNA 2015-06-04 10:16:30			
Data packets:			
Samples:			
Results		Format:	
Data		(● XLS	
Graph		OPDF	
Graph data (XLS on	ily)	OXLS & F	PDF
Method:			
Parameters			
		Ini	0
		Select data pa "enter" key.	ackets:
		Start print or e "Print"; "Expo	export: rt" softkeys

.

Seleccionar los paquetes de datos

 Navegue con las teclas de cursor y confirme con enter.

Seleccionar formato

- XLS: Exportar como tabla de Excel.
- PDF: Exportar o imprimir como PDF.

Teclas programables

- [Print]: Iniciar una impresión.
- [Export]: Iniciar una exportación.
- [Sample]: Seleccionar resultados de muestras individuales.

Seleccionar los paquetes	de datos
Results	Datos de resultado primarios; no seleccionables, porque siempre son transferidos.
Data	Datos de resultado adicionales que se muestran durante la medición en los indicadores de resultados al pulsar la tecla programable [Data].
Graph	Espectro de longitud de onda de extinción. (Sólo en métodos cinéticos con el procedimiento de medición "Regresión lineal": gráfico de extinción-tiempo.)
Graph data	Los datos numéricos básicos para el gráfico. "export only": Sólo para la exportación, no disponible para la impresión.
Parameters	Parámetros de los métodos
Standards/Results	Datos de resultados de la evaluación de solución patrón.
Standards/Graph	(Sólo en evaluaciones de solución patrón con varias soluciones patrón: gráfico de extinción-concentración.)

En función del método y del ajuste de los parámetros solamente se proporcionan los paquetes de datos disponibles respectivamente.

Seleccionar resultados de muestras individuales



Seleccionar muestras

- Presione la tecla programable [Samples] para llamar la selección de muestras.
- Navegue con las teclas de cursor y confirme con enter.

Teclas programables

- [Select all]: Seleccionar todas las muestras
- [De-Sel. all]: Deseleccionar selección.

Iniciar una exportación

Los datos se transfieren como archivos en Excel (.xls) o en PDF. Los archivos de Excel se pueden leer con versiones de Excel a partir de Excel 97. Para cada uno de los paquetes de datos seleccionados se creará una hoja de cálculo en el programa Excel. El nombre del archivo está compuesto por el nombre del método, la hora y la fecha de la serie de mediciones.

			Export	Cancel
	V		External sto Connect an storage dev Export PC: The device of JSB mass s	nto rage medium: USB mass ice. works as an torage device
ema	i@example.com	T		
OExport OExport	t to external storage medi t to PC to an e-mail address	um		
ne experti	USDNA_2013_00_04_10_1	0_30.815		

Seleccionar la variante de exportación

- Navegue con las teclas de cursor y confirme con enter.
- Export to external storage medium: Guardar los datos en una memoria USB.
 Si no está conectada una memoria USB, la primera variante no es seleccionable.
- Export to PC: Guardar los datos en un PC.
- Export via email: Enviar los datos a una dirección de correo electrónico.

Exportación a una memoria USB

- 1. Inserte una memoria USB, formateada con FAT32, en el puerto USB **4** (ver *Vista general del producto en pág. 17*).
- 2. Inicie con [Export] la "Exportación a un soporte de datos externo".

Exportación a un PC

Requisitos del PC: Sistema operativo Windows XP, SP2 o una versión superior.

- 1. Conecte el equipo a un ordenador conectando el cable USB al puerto USB **8** (ver *Vista general del producto en pág. 17*).
- 2. Cerciórese en caso de una exportación repetida que los datos anteriormente exportados al disco duro del ordenador hayan sido almacenados, ya que si no serían sobrescritos por la nueva exportación.
- 3. Inicie con [Export] la "Exportación a un PC".
- 4. El paquete de datos exportado es mostrado en su ordenador como soporte de datos intercambiable con el nombre "eppendorf". Abra el archivo en esta unidad y guárdelo en el disco duro.

Exportar a una dirección de correo electrónico

- 1. Seleccione de la lista una dirección de correo electrónico o seleccione "Edit", para configurar una nueva dirección de correo electrónico.
- 2. Inicie con [Export] el "Envío a una dirección de correo electrónico".

E-mail address:	
🕿 email@example.com	
	© Info
	Info Edit:

Editar direcciones de correo electrónico

- Seleccione en la lista desplegable "Edit" y confirme con el botón enter.
 Se abrirá una nueva ventana en la que se puede editar las direcciones de correo electrónico.
- [Edit]: Editar dirección de correo electrónico.
- [New]: Añadir una nueva dirección de correo electrónico.
- [Delete]: Borrar dirección de correo electrónico.

Iniciar una impresión

Los datos pueden imprimirse con una impresora conectada a la red o a un cable USB.



Si el equipo se encuentra conectado a una red, se mostrarán y reconocerán de forma automática todas las impresoras compatibles en la red. Si no existe ninguna conexión a la red, solo podrá escoger la impresora conectada con USB.

Select Printer	
HP Color LaserJet 2605dn Seiko DPU-S445 Seiko DPU-414	IP address: 192.168.20.10
Refresh	Print Cancel

- 1. Seleccione la impresora.
- 2. Inicie con [Print] la impresión de los datos.

6.4.8 Finalizar la serie de mediciones

Después del último paso de método **print & export** puede iniciar una nueva serie de mediciones con el método seleccionado o seleccionar un nuevo método.

Finalizar la serie de mediciones e iniciar una nueva serie de mediciones

Ibumin A 280:	measur	e samples	process	results	print & export	new series
oumin A 280 201	0-11-19 18:3	12:05				
					O In	fo
					Start or end	fo
					Start or end new series of	10
					Start or end new series of measurement	fo 5.

- Tecla programable [Next >]: Llamar el paso de método new series
- Tecla programable [New]: Llamar el paso de método measure samples e iniciar una nueva serie de mediciones.

Finalizar la serie de mediciones y seleccionar un nuevo método

• Tecla programable [Finish]: Finalizar la serie de mediciones y llamar la selección de métodos.

7 Funciones

7.1 Funciones del grupo principal User

Con la tecla **function** o la tecla programable [Function] accede a un menú con funciones como ajustes del equipo o consulta de resultados almacenados.

Las funciones se encuentran dentro de 3 columnas, igual que en la selección de métodos. Las funciones en el grupo principal *User* son accesibles para usted. Igual que en la selección de métodos, se navega con las teclas de cursor para seleccionar primero el subgrupo deseado y luego la función deseada. Con **enter** activa la función.



irmware Version		
Device name Firmware version Serial number	Eppendorf BioSpectrometer kinetic 4.2.3.13 6136ZL000020	
Memory utilization	34%	
	ОК	

Tecla programable [Info]:

- Versión de firmware
- Número de serie del BioSpectrometer kinetic
- Utilización de memoria actual

Subgrupo	Explicación
Results memory	 Mostrar valores almacenados. Los resultados se pueden consultar estando estructurados por métodos y por series de medición y se pueden imprimir, exportar y borrar de la memoria. Es posible borrar series de medición individuales, todas las series de medición de un método o toda la memoria de resultados. Para borrar el método y todas las series de medición correspondientes, pulse la tecla programable Delete. Confírmelo con enter.
General method parameters	 Los parámetros que se pueden utilizar para diversos métodos, están almacenados de manera central en el área Functions. Los parámetros ajustados en fábrica no se pueden borrar. Los parámetros nuevos creados se pueden modificar libremente. En el paso de método Check parameters se pueden seleccionar fácilmente los parámetros que abarcan varios sectores a través de casillas de selección. Proteins, Nucleic acids, Dyes contienen parámetros que se utilizan para métodos de los grupos Dye labels y Proteins direct UV. Units: Unidades para resultados de concentración que se pueden utilizar para mútodos.
Absorbance spectra library	Espectros de longitudes de onda de extinción de sustancias importantes, p. ej., ADN. Los espectros sirven de información y se pueden utilizar para la comparación con el espectro de un resultado de muestra.
Device settings	Ajustes de equipo editables, p. ej., idioma.
Device calibration	 Posibilidad de comprobar el espectrofotómetro. Para ello necesita un juego de filtros de Eppendorf. Posibilidad de comprobar la unidad de control de temperatura.
Info	Licencias de código abierto.

Tab. 7-1: Visión general de las funciones

7.1.1 Results Memory



- Seleccione en la columna derecha el método, cuyos resultados guardados desea consultar.
- Para borrar el método y todas las series de medición correspondientes, pulse la tecla programable Delete.
- Confírmelo con enter.

- Seleccione la serie de mediciones deseada con ayuda de las teclas de cursor.
- Para borrar el método y todas las series de medición correspondientes, pulse la tecla programable Delete.
- Confírmelo con enter.

Igual como en los pasos de un método, usted aquí también puede navegar por orden a través de los indicadores de los parámetros, de las soluciones patrón, de los resultados de muestras y, finalmente, a través de los paquetes de datos para la impresión y exportación.

La asignación de las teclas programables se corresponde con la asignación en los pasos del método.

dsDNA:	Its print & export
dsDNA 2012-06-29 15:57:28	
Data packets:	
Samples:	
Results	
Data	
Graph	
Graph data (not for printing)	
Method:	
Parameters	
	Info
	Select data packets: "enter" key.
	Start print or export: "Print"; "Export"softkeys.
Print Export Samples Finish	< Back Next >

7.1.2 General Method Parameters



Teclas programables

- [Edit]: Editar el grupo de parámetros seleccionado.
- [New]: Crear un nuevo grupo de parámetros.
- [Delete]: Borrar el grupo de parámetros seleccionado.
- [OK]: Retornar a la selección de funciones.

 Si desea imprimir o exportar resultados, seleccione los paquetes de datos.
 El procedimiento para imprimir y exportar, así como el significado de las teclas de función corresponden al paso de método print & export.

- Seleccione en la columna derecha el grupo de parámetros, en el cual desea editar parámetros.
- Confírmelo con enter.

En este ejemplo se han juntado grupos de parámetros para diversas tinciones (componentes de colorantes para los métodos de tinción) y se han guardado bajo un nombre cada uno. Bajo este nombre se puede importar el grupo de parámetros deseado al programa de método al editar un método de tinción.

Las tinciones disponibles de fábrica están protegidas contra escritura y no se pueden editar ni borrar.

Indicador:

- izquierda: nombre de la tinción. Seleccione con
 ◊ y ♥.
- derecha: parámetros correspondientes
73



- Para editar un grupo de parámetros, seleccione con △ y ♥ el parámetro a editar.
- Confírmelo con enter.

Teclas programables

- [OK]: Guardar la entrada y retornar a la selección de grupos de parámetros.
- [Cancel]: Retornar a la selección de grupos de parámetros sin modificación alguna.

Al programar un método de los grupos de métodos **Dye labels** o **Proteins direct UV** puede acceder a las entradas hechas en **General Method Parameter**:

ssDNA - Dye: check par	rameters / edit	
Cuvette Unit Nucleic acid	10 mm ▼ μg/mL ▼ ssDNA ▼	Page 1/3
Factor	37	
Decimal places	1	
Dye 1	New dye 🔻 *	
Correct A260 1		
Correct A280 1		Info
		Selection of the dye defines associated parameters. Editing possible in Gen. method param.
Page up	Page dn Save	Save As Cancel

Seleccione el nombre del colorante para importar el grupo de parámetros correspondiente al programa de métodos. A través de la selección "edit" en el parámetro "Nucleic acid" también puede acceder directamente a la función **General Method Parameter** y visualizar o editar allí los parámetros.

Tab. 7	-2:	Parámetros	en Genera	I Method	Parameter
100.7	∠.	i aranicu 05	ch ochera	internou	rarameter

Parámetro	Explicación
Proteins	Estos parámetros son cargados en los parámetros de método al seleccionar una proteína durante la programación de un método del grupo Dye labels o Proteins direct UV . Los parámetros programados de fábrica están protegidos contra escritura y no se pueden editar ni borrar.
 Protein name Factor A_{0.1%} Ext.coeff. Molecular mass 	Aparte del nombre y de la longitud de onda, también puede introducir los siguientes datos para definir el factor para el cálculo de la concentración a partir de la extinción: Factor o A _{0.1%} o coeficiente de extinción y masa molar.

Parámetro	Explicación
Nucleic acids	Estos parámetros se cargan en los parámetros del método al seleccionar un ácido nucleico durante la programación de un método del grupo Dye labels . Los parámetros programados de fábrica están protegidos contra escritura y no se pueden editar ni borrar.
NA nameFactorDouble-stranded	El factor se utiliza para calcular la concentración a partir de la extinción. El parámetro Double-stranded tiene influencia sobre el cálculo de la concentración molar del ácido nucleico (ver <i>Conversión en</i> <i>concentraciones molares y cantidades de ácidos nucleicos en pág. 110</i>)
Dyes	 Estos parámetros se cargan en los parámetros del método al seleccionar un colorante (Dyes) durante la programación de un método del grupo Dye labels. Los parámetros programados de fábrica están protegidos contra escritura y no se pueden editar ni borrar.
 Dye name Wavelength Ext.coeff. Factor Corr. A260 Corr. A280 	 Aparte del nombre, también puede introducir los siguientes datos para definir el factor para el cálculo de la concentración a partir de la extinción: Factor o coeficiente de extinción. Los factores de correción para las extinciones a 260 y/o 280 nm se utilizan cuando la función de corrección está activada en los parámetros del método. Encontrará más información en el capítulo sobre la evaluación (ver <i>Corrección A₂₆₀ y corrección A₂₈₀ en pág. 109</i>).
Units	Puede seleccionar una unidad de todas las unidades disponibles durante la programación de parámetros de método. Las unidades que se utilizan en métodos preprogramados aparecen sobre fondo gris y no se pueden borrar.
• Unit	Introducir una unidad aún no programada para el resultado de concentración.



• Las características para proteínas que no han sido preprogramadas de fábrica se pueden determinar en el banco de datos expasy: http://www.expasy.org/tools/protparam.html.

• También puede encontrar una tabla con valores A_{1%} para muchas proteínas en: C.N.Pace et al., Protein Science (1995), 4: 2411–2423 (tabla 5). Los valores A_{1%} se tienen que multiplicar por 0,1 para obtener los valores A_{0,1%} necesarios.

75

Functions Main Groups Sub Groups Functions 🖻 User 🖺 BSA Gen. method param. 🖹 dsDNA Abs. spectra library 🖺 NADH Nitrophenol 🗅 Device settings Device calibration 🗀 Info Method Info

7.1.3 Absorbance Spectra Library

Absorbance Spectra Library: dsDNA

Abs (A) 0.800 0.600 0.400 0.200 0.200 0.200 240 260 280 300 320 340^k (nm) Export Print OK

7.1.4 Device Settings



En la columna derecha selecciona el espectro que desea llamar y lo confirma con **enter**.

Teclas programables

- [Export] y [Print]: Exportar a una memoria USB o a un ordenador (vía cable USB) y/o imprimir (ver print & export en pág. 65).
- [OK]: Retornar a la selección de funciones.

Los siguientes ajustes de pueden adaptar:

Device Settings

- General
- Network
- E-Mail
- Date and Time

Language	Ligion
Device name	BioSpectrometer kinetic
Power save mode	10 Min 🔻
Self test interval	Weekly
last self test	2016-02-08 11:28:14
	Spectrometer unit PASSED

General Device Settings

- Seleccionar idioma: alemán, inglés, francés, español, italiano, japonés*).
- Nombre del equipo
- Ajustar el intervalo de tiempo para la activación del modo de ahorro de energía.
- Ajustar la frecuencia de la autocomprobación automática después de la activación del equipo.
- Se muestra la información acerca de la última autocomprobación.

*) Si se cambia el idioma, p. ej., al japanés, también se cambia el tipo de letra. Esto puede conducir a que algunas partes del texto no sean mostradas correctamente.

 Apague el equipo y vuelva a encenderlo. Después del reinicio del equipo, todos los idiomas se mostrarán correctamente.

Teclas programables

- [Save]: Guardar modificaciones y retornar a la selección de funciones.
- [Cancel]: Retornar a la selección de grupos de parámetros sin modificación alguna.

Networ	k Settings	
IP	Get IP settings via DHCP	
	IP address	192.168.20.61
	Subnet mask	255.255.255.0
	Default gateway	192.168.20.1
DNS	Get DNS settings via DHC	P
	Primary DNS server	192.168.20.1
	Secondary DNS server	192.168.20.1
Tes	st MAC Info	Save Cancel

E-Mail Settings	
SMTP server	mailserver.example.com
Port	25
Sender e-mail address	biospec@example.com
Use SMTP authentication	1
User name	
Password	
Recipient e-mail address	email@example.com
Test	Save

Network Settings

Pregunte a su administrador cuáles son los ajustes necesarios.

- Seleccionar si los ajustes de IP se deberán efectuar automáticamente vía DHCP. Los ajustes de IP también se pueden introducir manualmente.
 - Dirección IP
 - Máscara de subred
 - Puerta de enlace estándar
- Seleccionar si los ajustes de DNS se deberán efectuar automáticamente vía DHCP (solamente disponible si los ajustes de IP se adquieren automáticamente vía DHCP).
 Los siguientes ajustes de DNS se pueden introducir manualmente:
 - Servidor DNS primario
 - Servidor DNS secundario

Teclas programables

- [MAC Info]: Información sobre ajustes de la red informática.
- [Save]: Guardar modificaciones y retornar a la selección de funciones.
- [Cancel]: Retornar a la selección de grupos de parámetros sin modificación alguna.

Email Settings

Pregunte a su administrador cuáles son los ajustes necesarios.

- Servidor SMTP: Introducir el servidor de correo electrónico.
- Introducir el puerto.
- Remitente: Introducir el nombre del equipo.
- Utilizar la autenticación SMTP: Si se requiere una autenticación, se tiene que indicar un nombre de usuario y una contraseña.
- Dirección de correo electrónico del destinatario: Lista con direcciones de correo electrónico.

E-Mail Addresses	
E-mail address: I∞ email@example.com	
	① Info
	Edit: Edit the selected address.
Edit New Delete	ОК



Editar direcciones de correo electrónico

 Seleccione en la lista desplegable "Edit" y confirme con el botón enter.
 Se abrirá una nueva ventana en la que se puede editar las direcciones de correo electrónico.

Teclas programables

- [Edit]: Editar dirección de correo electrónico.
- [New]: Añadir una nueva dirección de correo electrónico.
- [Delete]: Borrar dirección de correo electrónico.

Date and Time Settings

- Seleccionar la región.
- Seleccionar la ciudad.
- Indicación de la hora actual
- Ajuste manual de la hora: Introducir la fecha y hora.
- Hora de la red informática Servidor horario: Indicar el servidor horario deseado.

Teclas programables

- [Save]: Guardar las modificaciones y retornar a la selección de funciones.
- [Cancel]: Retornar a la selección de grupos de parámetros sin modificación alguna.

7.1.5 Device Calibration

La comprobación del equipo está descrita por separado (ver Comprobación del equipo en pág. 81).

7.1.6 Info



Bajo el punto de menú **Copyright** encontrará información sobre licencias para software de fuentes abiertas.

8 Mantenimiento

8.1 Limpieza



¡PELIGRO! Electrocución debida a la penetración de líquidos.

- Apague el equipo y desenchúfelo de la red de distribución eléctrica antes de empezar con la limpieza o con la desinfección.
- No deje entrar ningún líquido al interior de la carcasa.
- No efectúe ninguna limpieza o desinfección por pulverización en la carcasa.
- Solo vuelva a conectar el equipo a la red de distribución eléctrica si está completamente seco por dentro y por fuera.



¡AVISO! Corrosión producida por productos de limpieza y desinfectantes agresivos.

- No utilice productos de limpieza corrosivos ni disolventes agresivos o abrillantadores.
- No incube los accesorios durante un tiempo prolongado en productos de limpieza o desinfectantes agresivos.
- 1. Limpie las superficies con un paño humedecido en un detergente suave.

Limpieza del compartimento de la cubeta

2. Limpie el compartimento de la cubeta únicamente con un bastoncillo de algodón libre de hilachas humedecido en etanol o isopropanol. Evite que entre líquido en el compartimento de la cubeta. Si fue necesario humedecerlo con agua para eliminar la suciedad, debe utilizar un nuevo bastoncillo de algodón humedecido en etanol o isopropanol para acelerar el secado del compartimento de la cubeta.

8.1.1 Limpieza de la cubierta del compartimento de la cubeta

Si no solamente quiere limpiar la superficie de la cubierta del compartimento de la cubeta, la cual se puede acceder con facilidad, también puede desmontar la cubierta.



• No enjuague la cubierta del compartimento de la cubeta en un producto de limpieza.

- Limpie la cubierta del compartimento de la cubeta de la manera descrita.
- 1. Levante la cubierta del compartimento de la cubeta con una mano.
- 2. Sujete la cubierta con la otra mano a la altura del pasador y jale la cubierta hacia la derecha hasta que el pasador haya salido por completo.





• Jale la cubierta hacia la derecha en un ángulo de 90 grados.

- 3. Limpie la cubierta con un paño o un bastoncillo de algodón libre de hilachas previamente humedecido en un producto de limpieza suave.
- 4. Vuelva a introducir el pasador en la carcasa hasta el tope.

El pasador desaparece por completo en la carcasa.



Si no va a utilizar el fotómetro, cierre el compartimento de la cubeta con la cubierta azul para protegerlo contra polvo y otras contaminaciones.

8.2 Desinfección/Descontaminación



¡PELIGRO! Electrocución debida a la penetración de líquidos.

- Apague el equipo y desenchúfelo de la red de distribución eléctrica antes de empezar con la limpieza o con la desinfección.
- No deje entrar ningún líquido al interior de la carcasa.
- No efectúe ninguna limpieza o desinfección por pulverización en la carcasa.
- Solo vuelva a conectar el equipo a la red de distribución eléctrica si está completamente seco por dentro y por fuera.
- 1. Limpie el aparato con un detergente suave antes de la desinfección (ver Limpieza en pág. 79).
- 2. Seleccione un método de desinfección que cumpla con las determinaciones legales y directrices vigentes para su área de aplicación.
- 3. Utilice, p. ej., alcohol (etanol, isopropanol) o desinfectantes que contengan alcohol.
- 4. Limpie las superficies con un paño que haya humedecido previamente con un desinfectante suave.
- 5. Si es necesario desmontar la tapa del compartimento de la cubeta para realizar la desinfección, debe proceder de la manera descrita para desmontar y montarla (ver *Limpieza de la cubierta del compartimento de la cubeta en pág. 80*).
- 6. Puede desinfectar la tapa desmontada del compartimento mediante desinfección por pulverización.

8.3 Comprobación del equipo

Condiciones:

- Atenerse a las condiciones ambientales (ver Condiciones del entorno en pág. 101).
- Realizar la comprobación a aprox. 20 °C. Evitar fluctuaciones de temperatura (p. ej., debido a ventanas abiertas).
- Solo extraer el filtro brevemente de su caja y protegerlo contra contaminación o deterioro.
- Proteger el filtro contra polvo, calor, líquido y vapores agresivos.
- Al comprobar la unidad espectrométrica: la etiqueta adhesiva del filtro utilizado señala hacia adelante.
- El compartimento de la cubeta está libre de suciedad.

8.3.1 Comprobación de la unidad espectrométrica

Para comprobar la exactitud fotométrica y la veracidad de las longitudes de onda, Eppendorf ofrece un juego de filtros (juego de filtros de referencia BioSpectrometer). El juego contiene un filtro de blanco A0 y tres filtros A1, A2 y A3 para comprobar la exactitud fotométrica, así como 3 filtros para comprobar la veracidad de las longitudes de onda en el rango de 260 nm a 800 nm. Las extinciones de los filtros se miden comparándolos con el filtro de blanco A0. Aparte de la información sobre la exactitud, también obtendrá información sobre la precisión: a partir de las 15 mediciones que se realizan por cada longitud de onda no solo se calcula el valor medio, sino también el coeficiente de variación (el valor cv).

Para la medición, inserte primero el filtro de blanco (para la medición del blanco) y luego inserte los filtros de prueba y las cubetas en el compartimento de la cubeta. Los valores de absorbancia medidos para los filtros de prueba son comparados con el margen de valores permisible. Los valores límite para el margen de valores permisible de cada filtro están impresos en una tabla en la tapa de la caja de filtros.

Si desea documentar los valores, puede imprimirlos o exportarlos después de la medición. Como máximo se pueden guardar hasta 12 controles. Si la memoria se encuentra llena, los valores se sobrescribirán en los controles más antiguos.

	on : Devi	ce calibrati	on/Spectron	neter unit	Order N Set No./	lo./Best. Nr.: 6 'Satz Nr.:956	135 928.001
		L	imits measure	d against Blan	k A 0 at approx.	20°C	
		(Grenzwerte gen	nessen gegen l	Blank A 0 bei ca. 2	20°C	
N: 6135	914.956	916.956	917.956	937.956	921.956	922.956	923.956
Filter	Blank	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample	Sample
Туре	A 0	260 nm	280 nm	800 nm	A 1	A 2	A 3
CO	0.000	1 401 1 720	Limiting	g values (A)/GI	renzwerte (E)	0.004.0.075	1 405 1 507
80 nm	0.000	1.481-1.730	1 052 1 215		0.147-0.171	0.824-0.875	1.495-1.587
20 nm	0.000		1.033-1.313		0.142-0.161	0.852.0.006	1.478-1.509
20 nm	0.000				0.137-0.161	0.003-0.900	1.475-1.504
50 nm	0.000				0.130-0.160	0.907-0.903	1 373-1 458
62 nm	0.000				0.141-0.165	0.922-0.979	1 365-1 450
95 nm	0.000				0 140-0 164	0.918-0.975	1 344-1 427
00 nm	0.000				0.138-0.162	0.907-0.963	1.288-1.368
00 nm	0.000			1.056-1.233	0.136-0.160	0.896-0.952	1.249-1.326
	0.000	Rando	m error of wave	length	Ran	dom error of photom	eter
		Zufällige Mes	sabweichung der	Wellenlänge	Zufallige M	essabweichung des P	hotometers
			Limiting va	lues CV (%)/Gr	enzwerte VK (%)		
260 - 4	105 nm	≤ 3.	.0 %		≤ 3.0 %	≤ 2.0 %	≤ 1.5 %
550 - 8	300 nm	< 3.	.0 %		< 3.0 %	< 2.0 %	< 3.0 %
<u>Wave</u> All cl	elength and haracterizad	photometric ch tions are perfor	aracterization of med on a Cary 1	f <u>filters:</u> 00 Bio reference	UV/Vis spectrophot	ometer, serial numb	er EL 99023107.
<u>Wave</u> All cl The i	<u>elength and</u> haracterizat instrument i prm within r	<u>photometric ch</u> tions are perfor is requalified re nanufacturer's :	<u>aracterization of</u> med on a Cary 1 gularly by the m specifications.	<u>f filters:</u> 00 Bio reference anufacturer, and	UV/Vis spectrophot I is confirmed and d	ometer, serial numbi locumented to	er EL 99023107.
<u>Wave</u> All cl The i perfo	<u>elength and</u> haracterizat instrument i prm within r	<u>photometric ch</u> tions are perfor is requalified re; manufacturer's :	aracterization of med on a Cary 1 gularly by the m specifications.	f <u>filters:</u> 00 Bio reference anufacturer, and	UV/Vis spectrophot I is confirmed and d	ometer, serial numbo locumented to	er EL 99023107.
<u>Wave</u> All cl The i perfo Welle	elength and haracterizau instrument i orm within r enlângen- ur	<u>photometric ch</u> tions are perforn is requalified re, manufacturer's : na photometrisc	aracterization of med on a Cary 1 gularly by the m specifications. he Restimmuna.	<u>f filters:</u> 00 Bio reference anufacturer, and der Filter:	UV/Vis spectrophot I is confirmed and d	ometer, serial numbi locumented to	er EL 99023107.
<u>Wave</u> All cl The I perfo <u>Welle</u> Alle I	elength and haracterizau instrument i instrument i orm within r enlängen- un Messungen w	photometric ch tions are perfor, is requalified re, nanufacturer's : nanufacturer's : nanufacturer's : werden auf eine;	aracterization ol med on a Cary 1 gularly by the m specifications. <u>he Bestimmung 1</u> m Cary 100 Bio l	f <u>filters:</u> 00 Bio reference anufacturer, and der Filter: Referenz UV/Vis	UV/Vis spectrophot I is confirmed and d Spektrophotometer,	ometer, serial numbi locumented to	er EL 99023107.
<u>Wave</u> All cl The i perfo <u>Welle</u> Alle I Serie	elength and haracterizat instrument i orm within r milängen- un Messungen v nnummer E	photometric ch tions are perfori is requalified re manufacturer's : na photometrisco werden auf eineu 1. 99023107 du	aracterization ol med on a Cary 1 gularly by the m specifications. <u>he Bestimmung 1</u> m Cary 100 Bio I rchgeführt.	f <u>filters:</u> 00 Bio reference anufacturer, and de <u>r Filter:</u> Referenz UV/Vis	UV/Vis spectrophot I is confirmed and d Spektrophotometer,	ometer, serial numbi locumented to	er EL 99023107.
<u>Wave</u> All cl The i perfo <u>Welle</u> Alle I Serie Diese	elength and haracterizat instrument i rrm within r enlängen- ur Messungen v ennummer E es Instrumer	photometric ch tions are perfor is requalified re, manufacturer's : nd photometrisc verden auf eine: 1. 99023107 du tt wird regelmä	aracterization oj med on a Cary 1 gularly by the m specifications. <u>he Bestimmung 1</u> m Cary 100 Bio 1 rchgeführt. ßig vom Herstell	f <u>filters:</u> 00 Bio reference anufacturer, and de <u>r Filter:</u> Referenz UV/Vis er requalifiziert	UV/Vis spectrophot I is confirmed and d Spektrophotometer, und die spezifikatioi	ometer, serial numbi locumented to nsgemäße Funktion d	er EL 99023107. Iokumentiert.
<u>Wava</u> All cl The i perfo <u>Welle</u> Alle I Serie Diese	<u>elength and</u> haracterizai instrument i rrm within r enlängen- ur Messungen v nnummer E es Instrumer	photometric ch tions are perfor is requalified re, manufacturer's : nd photometrisc werden auf eine 12 99023107 du nt wird regelmä	aracterization oj med on a Cary 1 gularly by the m specifications. he Bestimmung 1 m Cary 100 Bio I rchgeführt. ßig vom Herstelli	<u>f filters:</u> 00 Bio reference anufacturer, and <u>der Filter:</u> Referenz UV/Vis er requalifiziert	UV/Vis spectrophot I is confirmed and d Spektrophotometer, und die spezifikatioi	ometer, serial numbi locumented to nsgemäße Funktion d	er EL 99023107. Iokumentiert.
<u>Wavı</u> All cl The i perfo <u>Welle</u> Alle I Serie Diese	<u>tlength and</u> haracterizai instrument i rrm within r unlängen- ur Messungen v innummer E es Instrumer	photometric ch tions are perfor is requalified re, manufacturer's : na photometrisc werden auf eineu 1. 99023107 du nt wird regelmä	aracterization of med on a Cary 1 gularly by the m specifications. he Bestimmung 1 m Cary 100 Bio I rchgeführt. ßig vom Herstell	<u>f filters;</u> 00 Bio reference anufacturer, and de <u>r Filter;</u> Referenz UV/Vis er requalifiziert	UV/Vis spectrophot l is confirmed and d Spektrophotometer, und die spezifikation	ometer, serial numbo locumented to nsgemäße Funktion d	er EL 99023107. Iokumentiert.
<u>Wavı</u> All ci The i perfo <u>Welle</u> Alle i Serie Diese	<u>tlength and</u> haracterizati instrument i prm within n within n trainagen- un Messungen v nnummer E ts Instrumen	<u>photometric ch</u> tions are perforn is requalified re, nanufacturer's : n <u>a photometrisc</u> werden auf einen 1. 99023107 du nt wird regelmä	aracterization of med on a Cary 1 gularly by the m specifications. <u>he Bestimmung</u> m Cary 100 Bio I rchgeführt. ßig vom Herstell	<u>f filters;</u> 00 Bio reference anufacturer, and d <u>er Filter;</u> Referenz UV/Vis er requalifiziert	UV/Vis spectrophot l is confirmed and d Spektrophotometer, und die spezifikation	ometer, serial numbo locumented to nsgemäße Funktion d	er EL 99023107. Iokumentiert.
<u>Wavı</u> All ci The i perfo <u>Welle</u> Alle i Serie Diese	<u>tlength and</u> instrument i orm within r <u>unlängen- un</u> Messungen v innummer E es Instrumer	<u>photometric ch</u> tions are perforn is requalified re nanufacturer's : n <u>a photometrisc</u> werden auf einen 'L 99023107 du nt wird regelmä	aracterization ol med on a Cary 1 gularly by the m specifications. <u>he Bestimmuna</u> m Cary 100 Bio I rchgeführt. βlg vom Herstell	f <u>filters:</u> 00 Bio reference anufacturer, and d <u>er Filter:</u> Referenz UV/Vis er requalifiziert	UV/Vis spectrophot i is confirmed and d Spektrophotometer, und die spezifikatioi	ometer, serial numbi locumented to nsgemäße Funktion d	er EL 99023107. Iokumentiert.
<u>Wavı</u> All cı The i perfo <u>Wella</u> Alle i Serie Dieso	<u>elength and</u> instrument i prm within r unlängen- un Messungen v innummer E es Instrumer	<u>photometric ch</u> tions are perforn is requalified re nanufacturer's : n <u>a photometrisc</u> verden auf einen 'L 99023107 du nt wird regelmä	aracterization ol med on a Cary 1 gularly by the m specifications. h <u>e Bestimmung 1</u> m Cary 100 Bio I rchgeführt. ßig vom Herstell	f <u>filters:</u> 00 Bio reference anufacturer, and <u>der Filter:</u> Referenz UV/Vis er requalifiziert	UV/Vis spectrophot l is confirmed and d Spektrophotometer, und die spezifikatio	ometer, serial numbi locumented to nsgemäße Funktion d	er EL 99023107. Iokumentiert.
<u>Wavı</u> All ci The i perfo Alle i Serie Dieso	t <u>lenath and</u> haracterizai instrument i rrm within r unlängen- ur Messungen v mnummer E es Instrumer	<u>photometric ch</u> tions are perfor is requalified re, manufacturer's : n <u>d photometrisc</u> werden auf eine 1: 99023107 du nt wird regelmä	aracterization oj med on a Cary 1 gularly by the m specifications. he <u>Bestimmung 1</u> m Cary 100 Bio I rchgeführt. Big vom Herstell	f <u>filters:</u> 00 Bio reference anufacturer, and <u>der Filter:</u> Referenz UV/Vis er requalifiziert	UV/Vis spectrophot l is confirmed and d Spektrophotometer, und die spezifikatio	ometer, serial numbi locumented to nsgemäße Funktion d	er EL 99023107. Iokumentiert.
<u>Wavi</u> All ci The i perfo Alle i Serie Diese	t <u>elength and</u> haracterizat instrument i rrm within r within r en <u>längen- ur</u> Messungen v Messungen v es lnstrumer	photometric ch tions are perfor is requalified re, manufacturer's : nd photometrisc werden auf eine 12 99023107 du nt wird regelmä	aracterization oj med on a Cary 1 gularly by the m specifications. he Bestimmung 1 m Cary 100 Bio I rchgeführt. ßig vom Herstelli	<u>f filters:</u> 00 Bio reference anufacturer, and <u>der Filter:</u> Referenz UV/Vis er requalifiziert	UV/Vis spectrophot l is confirmed and d Spektrophotometer, und die spezifikation	ometer, serial numbo locumented to nsgemäße Funktion d	er EL 99023107. Iokumentiert.
<u>Wav</u> All ci The i perfo <u>Welle</u> Alle I Serie Diese	<u>elength and</u> haracterizat instrument i orm within r within r <u>enlängen- ur</u> Messungen u nnummer E es Instrumer	photometric ch tions are perfor is requalified re, manufacturer's : nd photometrisc werden auf eineu 1. 99023107 du nt wird regelmä	aracterization of med on a Cary 1 gularly by the m specifications. <u>he Bestimmung 1</u> m Cary 100 Bio I rchgeführt. ßig vom Herstell	<u>f filters;</u> 00 Bio reference anufacturer, and de <u>r Filter;</u> Referenz UV/Vis er requalifiziert	UV/Vis spectrophot l is confirmed and d Spektrophotometer, und die spezifikatio	ometer, serial numbo locumented to nsgemäße Funktion d	er EL 99023107. Iokumentiert.
<u>Wavu</u> All ci Perfo <u>Welle</u> Alle I Series	<u>elength and</u> haracterizat instrument i orm within r within r <u>enlängen- ur</u> Messungen v nnummer E es Instrumer	<u>photometric ch</u> tions are perforn is requalified re, nanufacturer's : n <u>a photometrisc</u> werden auf einen 1. 99023107 du nt wird regelmä	a <u>racterization o</u> j med on a Cary 1 gularly by the m specifications. m Cary 100 Bio I rchgeführt. ßig vom Herstell	<u>f filters:</u> 00 Bio reference anufacturer, and <u>der Filter:</u> Referenz UV/Vis er requalifiziert	UV/Vis spectrophot l is confirmed and d Spektrophotometer, und die spezifikatioi	ometer, serial numbo locumented to nsgemäße Funktion d	er EL 99023107. lokumentiert.
<u>Wav</u> All ci The i perfo <u>Welli</u> Alle I Serie Diese	<u>tlength and</u> instrument i orm within r <u>enlängen- ur</u> Messungen v .nnummer E es Instrumer	<u>photometric ch</u> tions are perforn is requalified re nanufacturer's : n <u>a photometrisc</u> werden auf einen 'L 99023107 du nt wird regelmä	aracterization of med on a Cary 1 gularly by the m specifications. <u>he Bestimmuna</u> m Cary 100 Bio I rchgeführt. ßig vom Herstell	f <u>filters:</u> 00 Bio reference anufacturer, and <u>der Filter:</u> Referenz UV/Vis er requalifiziert	UV/Vis spectrophot i is confirmed and d Spektrophotometer, und die spezifikatio	ometer, serial numbo locumented to nsgemäße Funktion d	er EL 99023107. lokumentiert.
<u>Wav</u> All ci The i perfo <u>Welle</u> Alle I Serie Diese	t <u>length and</u> haracterizat instrument i orm within r Messungen v nnummer E es Instrumer	photometric ch tions are perforn is requalified re, nanufacturer's : n <u>a photometrisc</u> werden auf einen 1. 99023107 du nt wird regelmä	aracterization of med on a Cary 1 gularly by the m specifications. m Cary 100 Bio I rchgeführt. ßig vom Herstell	<u>ffilters:</u> 00 Bio reference anufacturer, and <u>der Filter:</u> Referenz UV/Vis er requalifiziert	UV/Vis spectrophot l is confirmed and d Spektrophotometer, und die spezifikatio	ometer, serial numb locumented to nsgemäße Funktion d	er EL 99023107. lokumentiert.
<u>Wav</u> All ci The i perfo <u>Welle</u> Alle I Serie Diese	<u>tlength and</u> instrument i orm within r <u>enlängen- ur</u> Messungen v .nnummer E es Instrumer	<u>photometric ch</u> tions are perforn is requalified re nanufacturer's : n <u>a photometrisc</u> werden auf einen 1. 99023107 du nt wird regelmä	aracterization of med on a Cary 1 gularly by the m specifications. <u>he Bestimmuna</u> m Cary 100 Bio I rchgeführt. ßig vom Herstell	f <u>filters:</u> 00 Bio reference anufacturer, and <u>der Filter:</u> Referenz UV/Vis er requalifiziert	UV/Vis spectrophot i is confirmed and d Spektrophotometer, und die spezifikation	ometer, serial numb locumented to nsgemäße Funktion d	er EL 99023107. lokumentiert.

Imag. 8-1: Lado interior de la tapa de la caja de filtros (muestra)

8.3.1.1 Realizar comprobación a la exactitud fotométrica



vice Calibration: Spectrometer unit	
Check wavelength accuracy	
260 nm	
280 nm	
800 nm	
Check photometric accuracy	
A1	
A2	
A3	"Next" shows the filter set data.

1. Seleccione en el grupo **Device calibration** la función **Spectrometer unit** y confírmela con **enter.**

- 2. Seleccione si desea comprobar la veracidad de las longitudes de onda, la exactitud fotométrica o ambas. Confírmelo con **enter**.
- 3. Conmute con [Next >] al paso siguiente.

vice Calibration:	
Filter set data	
Name	1
Set number	
Order number	
	Info
	"Next" starts the
	o canor carorn

- 4. Rellene los campos de entrada. Los datos son opcionales.
- 5. Conmute con [Next >] al paso siguiente.

- 0
- Si se realiza la calibración por primera vez, se omite el paso 6.
- Si ya se ha realizado la calibración, se mostrarán los resultados de la última calibración.

evice Calibration: Results	
<new calibration=""></new>	
2016-02-08 09:48:03	
	Info
	"Next" configures the calibration.
	Abort < Back Next >

6. Seleccione <New Calibration> e inicie con [Next >] la nueva calibración.

Chock wavelength accuracy	#
Check wavelength accuracy	ID:
	0 Info

7. Siga la indicación en la ventana *Info* y, a continuación, mida el filtro de valor vacío A0.

evice Calibration	
Check wavelength accuracy	#
	ID:

8. Después inicie el valor vacío A0 con el primer filtro de prueba.
En la caja de información se muestra el filtro de prueba esperado (aquí: SAMPLE 260).

Device Calibration:	Spectrometer unit		
Device Calibration 2010	6-02-08 09:48:03		
Check photom	etric accuracy		# 06
			ID: SAMPLE A3
Wavelength	Mean	CV	
260 nm	1.917 A	0.2 %	
280 nm	1.847 A	0.3 %	
320 nm	1.751 A	0.3 %	
405 nm	1.661 A	0.3 %	
550 nm	1.502 A	0.3 %	
562 nm	1.489 A	0.2 %	Info
595 nm	1.456 A	0.4 %	
700 nm	1.376 A	0.6 %	Select results:
800 nm	1.309 A	1.1 %	▲ and ▼ Keys.
Drint Ev	nart	Finich	

 Indicación de resultados tras medición de los 3 filtros de prueba para comprobar la exactitud fotométrica.

Con las teclas • y • puede volver a ver los resultados de los diversos filtros de prueba. **Teclas programables**

- [Finish]: Finalizar prueba.
- [Export]: Exportar resultados como PDF.
- [Print]: Imprimir resultados.
- 10. Compare los valores medios y los valores cv con la tabla suministrada.

 Seleccione en el grupo Device calibration la función Temperature unit y confírmela con

En caso de que los valores medidos no coincidan con el margen de valores permisible, diríjase al servicio técnico de Eppendorf.

8.3.2 Comprobación de la unidad de calentamiento

- Realizar la comprobación a aprox. 20 °C.
- Asegurarse de que el compartimento de la cubeta esté vacío durante la comprobación.

enter.

Functions		
Main Groups	Sub Groups	Functions
😂 User	Results memory	Spectrometer unit
	🗅 Gen. method param.	Temperature unit
	🗅 Abs. spectra library	Perform selftest
	🗅 Device settings	
	Device calibration	
	Info	
Info		Method

A

Temperature (°C)	
Spec. value Status	
20.0	
25.0	
30.0	
37.0	
42.0	
42.0	Info
42.0	Info Ensure that the cuvette shaft is empty and press "Next".

 Asegúrese de que el portacubetas está vacío e inicie la secuencia de comprobación con [Next >]. La siguiente comprobación del calentamiento a 5 temperaturas dura aprox. 30 minutos. Durante la comprobación se indica el tiempo restante estimado.

Temperature	; (°C)	
Spec. value	Status	
20.0	ok	
25.0	ok	
30.0	ok	
37.0	ok	
42.0	ok	
		Info
		The calibration is

3. Indicación de resultados tras finalización de la comprobación.

Un resultado positivo de la comprobación es indicado mediante un "ok" detrás del valor de temperatura. Si en por lo menos una temperatura aparece como resultado "failed", diríjase al servicio técnico de Eppendorf.

8.3.3 Autocomprobación del equipo

Puede ajustar la frecuencia de la autocomprobación (duración aprox. 1 minuto) por medio de la función **Device settings** (ver *Device Settings en pág. 75*). El ajuste de fábrica para el **Intervalo de autocomprobación** es "semanalmente".

En la autocomprobación se comprueban los siguientes puntos:

- Comprobación del detector
 - Determinación del error de medición aleatorio en todo el espectro disponible
- Comprobación de la fuente de luz
 - Comprobación de la energía máximamente disponible de la fuente de luz y de la calidad del recorrido óptico a través del equipo
 - Determinación del error de medición aleatorio de una señal en el sensor de referencia
 - Determinación de la altura de la señal en el sensor de referencia
 - Determinación separada de la intensidad de la luz en la parte ultravioleta del espectro
- Determinación del error de medición sistemático y aleatorio de la longitud de onda
 - Posición de un pico de intensidad en la parte ultravioleta del espectro
 - Precisión de la posición de un pico de intensidad en la parte ultravioleta del espectro
- Error de medición aleatorio del sensor de temperatura
- · Comprobación de la tasa de calentamiento
- > Seleccione en el grupo Device calibration la función Perform selftest y confírmelo con enter.

Una vez transcurrida la autocomprobación, el indicador muestra el siguiente mensaje: **PASSED**. Si el indicador muestra el mensaje **FAILED**, la autocomprobación ha fallado. Si este error no se deja solucionar (ver *Mensajes de error en pág. 91*), diríjase al servicio técnico de Eppendorf.

8.4 Sustituir fusibles



¡PELIGRO! Descarga eléctrica.

 Apague el dispositivo y desconecte el enchufe de la red eléctrica antes de empezar con el mantenimiento o la limpieza.

El portafusible se encuentra entre la hembrilla de conexión a la red eléctrica y el interruptor de la red.





- 1. Extraiga el conector de red.
- 2. Presione los resortes de plástico 1 arriba y abajo y extraiga por completo el portafusible 2.
- 3. Sustituya los fusibles defectuosos vuelva a insertar el portafusible. Preste atención a la posición correcta del riel guía **3**.

8.5 Descontaminación antes del envío

Cuando envíe el equipo en caso de reparación al servicio técnico autorizado o en el caso de eliminación del mismo a su concesionario, tenga en cuenta lo siguiente:



¡ADVERTENCIA! Peligro para la salud debido a la contaminación del equipo.

- Tenga en cuenta las indicaciones del certificado de descontaminación. Encontrará estas indicaciones como archivo PDF en nuestra página de Internet (<u>www.eppendorf.com/</u> <u>decontamination</u>).
- 2. Descontamine todas las piezas que desee enviar.
- 3. Adjunte al envío el certificado de descontaminación completamente rellenado.

Solución de problemas Errores generales 9

9.1

Error	Causa posible	Solución
Los resultados de medición no son precisos.	 Fecha de caducidad del reactivo excedida. 	 Cerciórese de que el reactivo aún no haya caducado y que sea preparado correctamente.
	 Reactivo no preparado correctamente. 	 Utilice para la preparación, si es que se necesita, agua desmineralizada limpia que tenga la calidad adecuada.
	Pipeteo incorrecto.	 Cerciórese de que la pipeta esté calibrada y que pipetee correctamente.
	 Desarrollo de la incubación antes de la medición incorrecto. 	 Si el método requiere una incubación antes de la medición, asegúrese de que la temperatura y la duración de la incubación sean respetadas exactamente.
	• Cubeta sucia.	 Limpie y lave la cubeta. Preste atención al cambiar la cubeta que la ventana óptica de la cubeta no se ensucie y no sea tocada con los dedos. Si la ventana de la cubeta está manchada con huellas dactilares, límpiela mediante frotamiento con un paño libre de pelusa humedecido en etanol o isopropanol.
	 Cubeta no llenada completamente y sin burbujas con la solución de medición. 	 Cerciórese de que se alcance el volumen mínimo de la cubeta que se requiere para una medición y que la solución de medición no contenga burbujas.
	 Turbiedades en la solución de medición. 	 Centrifugue las soluciones de medición turbias que contengan partículas y utilice el sobrenadante claro.
	 El espectrofotómetro deriva. 	 Diríjase al servicio técnico de Eppendorf. Aténgase a las condiciones ambientales prescritas. Evite grandes fluctuaciones de temperatura.
	Compartimento de la cubeta sucio.	 Limpie el compartimento de la cubeta.

Error	Causa posible	Solución
Los resultados de medición son incorrectos.	 Método programado de forma errónea. 	 Cerciórese de que los parámetros del método hayan sido introducidos correctamente.
	 Solución patrón no preparada correctamente. 	 Cerciórese de que se utilice la solución patrón correcta y que la solución de medición sea preparada correctamente para la solución patrón.
	 La extinción del reactivo deriva. 	En una extinción del reactivo inestable y métodos de punto final: en la medición de una larga serie de muestras debe medir e blanco del reactivo no solamente al comienzo, sino también durante la serie d muestras. En caso de deriva del valor del blanco, el reactivo no es apropiado para mediciones libres de errores y debe sustituirse por un reactivo nuevo.
	 La cubeta no está posicionada correctamente. 	 Posicione la cubeta en el compartimento de tal forma que las ventanas ópticas señalen en dirección del recorrido óptico Haz de luz de la fotometría: de atrás hacia adelante

9.2 Mensajes de error

Las indicaciones de mensajes de error se pueden abandonar pulsando la tecla programable [OK].

Los errores de sistema requieren una evaluación por parte del servicio técnico. Estos errores son visualizados en inglés **(System error ...)**. En estos casos diríjase, por favor, al servicio técnico. Otros mensajes de error, en los que usted mismo puede tomar medidas para su solución, están explicados en la siguiente tabla.

Síntoma/mensaje	Causa	Ayuda
Fallo en la autocomprobación.	 La cubierta del compartimento de la cubeta estaba abierta durante la autocomprobación. El compartimento de la cubeta no estaba vacío durante la autocomprobación. 	 Repita la autocomprobación con el compartimento de la cubeta vacío y cerrado.
	 El equipo está defectuoso. 	 Diríjase al servicio técnico de Eppendorf.
No fue posible exportar el fichero.	 En la exportación de datos: Memoria USB mal formateada o defectuosa. Memoria USB extraída demasiado temprano del equipo (durante la exportación). 	 Formatear la memoria USB de nuevo o reemplazarla. Volver a conectar la memoria USB y repetir la exportación.
No fue posible inicializar la impresora.	 Impresora no conectada o apagada. Impresora mal configurada. 	 Conectar la impresora y encenderla. Configurar la impresora nuevamente. Los ajustes de la impresora para una configuración correcta están especificados en la descripción de la instalación (ver <i>Conexión de la impresora</i> <i>al puerto USB en pág. 20</i>).
Medición de blancos: la intensidad en uno de los píxeles con influencia sobre una longitud de onda principal, secundaria o de escaneo es demasiado baja.	 La solución de blanco utilizada para la medición del blanco tiene una extinción demasiado alta. Solución de blanco turbia o equivocada. En escaneos: el rango de longitudes de onda es demasiado grande, ya que la muestra absorbe fuertemente en una parte del rango de longitudes de onda. 	 Comprobar la solución de blanco y medir el blanco nuevamente, dado el caso. En escaneos: adaptar el rango de longitudes de onda al espectro de la muestra.
El nombre introducido no es válido.	 Error en la entrada de nombres. Diversas causas son posibles. Para determinar la causa concreta, prestar atención a la información en el cuadro de ayuda. 	 Véase la información en el cuadro de ayuda.

Síntoma/mensaje	Causa	Ayuda
Ya existe un método (o una carpeta, tinción, proteína, ácido nucleico, unidad) con este nombre.	 El nombre con el cual se quiere almacenar el método ya ha sido utilizado para otro método en la misma carpeta. Este mensaje también aparece cuando se editan nombres que ya han sido otorgados a una carpeta o (bajo General Method Parameter) a un ácido nucleico (colorante, proteína, unidad de concentración). 	 Modificar el nombre.
Los siguientes valores de parámetro no están definidos en General Method Parameter :	 Al abrir un método, cuyo parámetro recurre a General Method Parameter, se ha constatado que por lo menos un parámetro (colorante, ácido nucleico, proteína, unidad) ya no existe allí, es decir, que probablemente ha sido borrado. 	 Seleccione otro parámetro de la lista existente. Si es necesario, programe una nueva entrada en la lista en General Method Parameter para poder recurrir a ella al programar un nuevo método.
El valor del parámetro marcado con * no está definido en los Gen. Meth. Param. Por favor, corrija el parámetro.	Este mensaje de error aparece al editar parámetros de método. • El parámetro no está definido en General Method Parameter.	 Seleccione otro parámetro de la lista existente. Si es necesario, programe una nueva entrada en la lista en General Method Parameter para poder recurrir a ella al programar un nuevo método.
Intervalo de zoom inválido.	 En el proceso de zoom con entrada libre de límites (tecla programable [Free]): Los valores han caido por debajo de los límites inferiores del intervalo de zoom. 	 Introduzca los valores de tal forma que el intervalo no caiga por debajo de los límites del rango de 0,02 A y 10 nm.
Las concentraciones de solución patrón introducidas no ascienden y/o descienden monótonamente. Por favor, corregir las concentraciones de solución patrón.	• Véase el texto de error.	 Introducir las concentraciones de solución patrón de tal forma que la primera solución patrón obtenga la concentración más baja y las siguientes concentraciones de solución patrón formen una secuencia ascendente.
Por lo menos dos concentraciones de solución patrón son idénticas. Por favor, corregir las concentraciones de solución patrón.	Véase el texto de error.	 Introducir las concentraciones de solución patrón de tal forma que la primera solución patrón obtenga la concentración más baja y las siguientes concentraciones de solución patrón formen una secuencia ascendente.

Síntoma/monsaia	Causa	Avenda
Sintoma/mensaje	Causa	Ayuua
¡Los valores de medición no son estrictamente monótonos!	 Error en la medición de una serie de soluciones patrón: los valores de extinción medidos de la serie no ascienden o descienden continuamente. 	 Repita las mediciones de solución patrón o borre el resultado de solución patrón medido erróneamente.
No es posible introducir el ID.	 Fallo en la introducción del ID de la muestra. Diversas causas son posibles. Para determinar la causa concreta, prestar atención a la información en el cuadro de ayuda. 	 Véase la información en el cuadro de ayuda.
No es posible indicar la dilución.	 Fallo en la introducción de la dilución. Diversas causas son posibles. Para determinar la causa concreta, prestar atención a la información en el cuadro de ayuda. 	 Véase la información en el cuadro de ayuda.
El cálculo no es posible, ya que se está dividiendo entre cero. El resultado de la extinción o el parámetro Formula "b" es cero.	 En la evaluación de un método del tipo División (grupo de métodos Longitud de onda dual) se tuvo que dividir entre un resultado de extinción con valor "cero". Esto no es permisible matemáticamente. 	 Compruebe los reactivos y muestras utilizados y repita la medición. No introduzca "cero" como valor para el parámetro Formula b.
Sólo se puede realizar una medición más en esta serie de mediciones. Se ha alcanzado el máximo número de mediciones en una serie de mediciones.	• El número de mediciones en una serie de mediciones está limitado a 99.	 Después de 99 mediciones se tiene que iniciar una nueva serie de mediciones.

Síntoma/mensaje	Causa	Ayuda
¡Intervalo de zoom no válido!	 Fallo en el paso de método process results en el modo zoom. Rango de zoom permisible para la escala de longitudes de onda: Intervalo de longitud de onda por lo menos 10 nm Entradas de longitudes de onda sólo dentro del rango programado en los parámetros para el método. Rango de zoom permisible para la escala de extinción: Intervalo de extinción por lo menos 0,02 A Límite superior e inferior para el intervalo de extinción +3 A v/o -3 A 	 Observe los límites mencionados durante la aplicación del zoom.
La configuración del equipo fue modificada de a	 Un BioSpectrometer kinetics no es detectado como variante de cinética, sino como un BioSpectrometer basic. Por ello, los métodos cinéticos no son indicados. 	 Apague el equipo y vuelva a encenderlo. Si el error vuelve a ocurrir: informar al servicio técnico.
El atemperado está defectuoso. Por favor, programe el método sin termostatización o cancele el método.	 La termostatización del equipo está defectuosa. 	 Diríjase al servicio técnico de Eppendorf. Mientras la termostatización no esté reparada, sólo debe utilizar métodos para los cuales no se ha programado ninguna termostatización.
La temperatura ambiente es demasiado alta.	 En métodos cinéticos con termostatización: La temperatura ambiente medida por el equipo se encuentra por encima del rango especificado. 	 Asegúrese de que la temperatura ambiente se encuentre dentro del rango especificado para el funcionamiento del equipo.
La regresión lineal no se pudo aplicar a todas las mediciones.	• En el paso process results de los métodos cinéticos se ha modificado el intervalo de tiempo para la evaluación con regresión lineal y la modificación se debió extender a todos los resultados de medición. El número de puntos de medición requerido, sin embargo, no estaba disponible en por lo menos un resultado de muestra.	 Modifique en el paso process results del método el intervalo de tiempo para la evaluación con regresión lineal únicamente para las muestras que dispongan de suficientes puntos de medición.

9.3 Identificaciones de resultados

Las advertencias y mensajes de error referentes a los resultados aparecen en el cuadro de ayuda en la parte inferior derecha del indicador. En caso de advertencias, el fondo del encabezamiento del cuadro de ayuda es de color amarillo, y en caso de mensajes de error es rojo.

Advertencias: decida usted bajo consideración de la advertencia indicada si el resultado le sirve de algo.

Síntoma/mensaje	Causa	Ayuda
La curva estándar no es monótona. Por favor, seleccionar otro Curve Fit.	 En la evaluación de una curva de solución patrón con los métodos Curve Fit "spline interpolation", "quadratical regression" o "cubical regression" no se obtuvo ningún resultado aprovechable. 	 Seleccionar otro método Curve Fit.
Algunos valores de extinción en longitudes de onda secundarias son demasiado altos y no son indicados.	 En por lo menos una longitud de onda secundaria la extinción se encontraba por encima del campo de medida. Las longitudes de onda secundarias no se utilizan para el cálculo del resultado de concentración, sino para otros fines. Por ejemplo el método dsDNA: extinción a 280 nm para el cálculo de Ratio 260/280. Turbiedades en la solución de medición Mediciones en los límites del campo de medida fotométrico. 	 Cuando los valores de extinción de las longitudes de onda secundarias son relevantes: diluir la muestra y/o eliminar la turbiedad por medio de centrifugación y repetir la medición.
El resultado se encuentra fuera del rango de las concentraciones de solución patrón.	 En métodos con evaluación vía curvas de solución patrón (métodos de evaluación no lineales): el resultado de la muestra se encuentra fuera del rango de las concentraciones de solución patrón por un valor de hasta 5 %. 	 Aceptar el resultado de medición o medir la muestra nuevamente bajo condiciones en las que el resultado se encuentre dentro del rango de las concentraciones de solución patrón (diluir la muestra o modificar las concentraciones de solución patrón y volver a medir).

Mensajes de error: no se muestra ningún resultado; el motivo es indicado en el mensaje de error.

Síntoma/mensaje	Causa	Ayuda
El coeficiente de determinación es < 0,8.	 En métodos con evaluación de series de solución patrón vía métodos de regresión: el coeficiente de determinación para la evaluación de regresión indica que hay una desviación considerable de los puntos de medición de la recta de regresión. Turbiedades en la solución de medición. Mediciones en los límites del campo de medida fotométrico. 	 Aceptar el resultado de la evaluación de solución patrón o medir las soluciones patrón nuevamente. Prestar atención de que las soluciones de medición sean claras.
El coeficiente de determinación para la evaluación de regresión de la serie de solución patrón es < 0,8.	 En métodos con evaluación de series de solución patrón vía métodos de regresión: la advertencia aparece después de mediciones de muestras, cuando la evaluación de regresión de la serie de solución patrón no fue lineal, pero el usuario acepta la evaluación de la solución patrón. 	 Utilizar los resultados de las muestras con la reserva mencionada o medir la serie de solución patrón y las muestras nuevamente.
Escaneo: algunas extinciones medidas son demasiado altas y no son indicadas.	 En por lo menos una longitud de onda del escaneo la extinción se encontraba por encima del campo de medida. Turbiedades en la solución de medición. Mediciones en los límites del campo de medida fotométrico. 	 Cuando los campos no indicados del escaneo son relevantes: diluir la muestra y/o eliminar la turbiedad por medio de centrifugación y repetir la medición.
Medición incompleta.	 Método cinético: usted ha cancelado la medición antes de tiempo con la tecla programable [Stop]. Si se dispone de por lo menos 2 puntos de medición, se calcula e indica un resultado. 	 Aceptar el resultado de medición con tiempo de medición reducido o medir nuevamente con un tiempo de medición más largo.
La cinética no es lineal: el coeficiente de determinación es < 0,95.	 Método cinético con el método de medición "regresión lineal": el coeficiente de determinación para la evaluación de regresión indica que hay una desviación considerable de los puntos de medición de la rectra de regresión. Turbiedades en la solución de medición. Mediciones en los límites del campo de medida fotométrico. La concentración de actividad de la enzima es demasiado elevada. 	 Aceptar el resultado de medición o medir la muestra nuevamente. Antes de la medición nueva, evaluar la causa de la no linealidad y tomarla en consideración (p. ej., aclarar la solución de medición mediante centrifugación o diluir la muestra).

Síntoma/mensaje	Causa	Ayuda
La cinética no es lineal para por lo menos una solución patrón: el coeficiente de determinación es < 0,95.	 Método cinético con el método de medición "regresión lineal" y método de evaluación vía soluciones patrón: el coeficiente de determinación para la evaluación de regresión de por lo menos una medición de solución patrón indica que hay una desviación considerable de los puntos de medición de la recta de regresión. Turbiedades en la solución de medición. Mediciones en los límites del campo de medida fotométrico. La concentración de actividad de la enzima es demasiado elevada. 	Aceptar el resultado de medición o medir la solución patrón nuevamente. Antes de la medición nueva, evaluar la causa de la no linealidad y tomarla en consideración (p. ej., aclarar la solución de medición mediante centrifugación o utilizar una solución patrón menos concentrada).
La temperatura se encontraba fuera del rango permisible durante la medición cinética.	 Temperatura ambiente fuera del rango especificado. Termostatización defectuosa. 	 Medir la muestra a temperatura ambiente dentro del rango especificado (15 °C a 35 °C). Si a pesar de todo aparece la advertencia, diríjase al servicio técnico de Eppendorf.
La extinción en la long. de onda de medición es demasiado alta.	 Turbiedades en la solución de medición. Las superficies ópticas de la cubeta están sucias. Cubeta introducida al revés en el compartimento de la cubeta. La extinción de la solución de medición es demasiado elevada. 	 Medir nuevamente bajo consideración de las posibles causas.
El resultado calculado es negativo.	 Solución de medición mal preparada. Factor introducido erróneamente (signo equivocado). 	 Medir nuevamente bajo consideración de las posibles causas.
Por lo menos uno de los resultados es negativo.	 En métodos con varios resultados (p. ej., Dye labels). Solución de medición mal preparada. Factor introducido erróneamente (signo equivocado). 	 Medir nuevamente bajo consideración de las posibles causas.
El resultado tiene más de 6 posiciones predecimales.	 Concentración de muestra muy elevada. La unidad de concentración no coincide con el rango esperado de la concentración de la muestra. 	 Diluir la muestra y medir nuevamente. Modificar la unidad de concentración (parámetro Unit) y medir nuevamente.

98

Síntoma/mensaje	Causa	Ayuda
El resultado se encuentra por más de 5 % fuera del rango de las concentraciones de solución patrón.	 En métodos con evaluación vía curvas de solución patrón (método de evaluación no lineal): El resultado de la muestra se encuentra por más de 5 % fuera del rango de las concentraciones de solución patrón. 	 Medir la muestra nuevamente bajo condiciones en las que el resultado se encuentre dentro del rango de las concentraciones de solución patrón (diluir la muestra, modificar las concentraciones de solución patrón y volver a medir).
 El cálculo no es posible, ya que se está dividiendo entre cero. El valor de extinción es cero. Error en el cálculo. División entre cero. 	 En la evaluación se tuvo que dividir entre un resultado de extinción con el valor "cero". Esto no es permisible matemáticamente. Ejemplos: cálculo de un factor en la calibración de punto final; cálculo de una relación 260/280 en mediciones de ácidos nucleicos. 	 Compruebe los reactivos y muestras utilizados y repita la medición.
El cálculo no es posible, ya que se está dividiendo entre cero. El resultado de la extinción o el parámetro Formula b es cero.	 En la evaluación de un método del tipo División (grupo de métodos Longitud de onda dual) se tuvo que dividir entre un resultado de extinción con valor "cero". Esto no es permisible matemáticamente. 	 Compruebe los reactivos y muestras utilizados y repita la medición. No introduzca "cero" como valor para el parámetro Formula b.

10 Transporte, almacenaje y eliminación10.1 Transporte

• Utilice el embalaje original para el transporte.

	Temperatura del aire	Humedad relativa	Presión atmosférica
Transporte general	-25 °C – 60 °C	10 % - 95 %	30 kPa – 106 kPa
Transporte aéreo	-40 °C – 55 °C	10 % - 95 %	30 kPa – 106 kPa

10.2 Almacenamiento

	Temperatura del aire	Humedad relativa	Presión atmosférica
En embalaje de transporte	-25 °C – 55 °C	25 % - 75 %	70 kPa – 106 kPa
Sin embalaje de transporte	-5 °C – 45 °C	25 % - 75 %	70 kPa – 106 kPa

10.3 Eliminación

Si debe eliminar el producto, debe tener en cuenta las normativas relevantes.

Información sobre la eliminación de dispositivos eléctricos y electrónicos en la Comunidad Europea:

Dentro de la Comunidad Europea, la eliminación de dispositivos eléctricos está regulada por normativas nacionales basadas en la directiva de la UE 2012/19/UE sobre equipos eléctricos y electrónicos (RAEE).

De acuerdo con estas normativas, los dispositivos suministrados después del 13 de agosto de 2005 en el ámbito "business-to-business", al que pertenece este producto, no pueden eliminarse como desechos municipales ni domésticos. Para documentarlos, los dispositivos han sido marcados con la identificación siguiente:



Como las normativas de eliminación pueden variar de un país a otro dentro de la UE, póngase en contacto con su distribuidor, en caso necesario.

Datos técnicos Suministro de corriente

Suministro de tensión	100 V a 240 V ±10 %, 50 Hz a 60 Hz
Categoría de sobretensión	II
Grado de ensuciamiento	2
Consumo de potencia	Máxima potencia posible según la placa indicadora de tipo: 50 W aprox. 30 W durante el manejo aprox. 5 W con pantalla atenuada y control de temperatura desconectado
Corte de electricidad admisible	aprox. 10 ms a 90 V aprox. 20 ms a 230 V
Clase de protección	I
Fusibles	T 2,5 A/250 V, 5 mm × 20 mm (2 unidades)

11.2 Condiciones del entorno

Funcionamiento	Temperatura ambiente: 15 °C a 35 °C Humedad relativa: 25 % a 70 % Presión atmosférica: 86 kPa a 106 kPa
Presión atmosférica	Utilización hasta una altura de 2.000 m sobre el nivel del mar

Proteger contra la luz solar directa.

11.3 Peso/dimensiones

Peso	5,3 kg
Dimensiones	Ancho: 295 mm Profundidad: 400 mm Altura: 150 mm
Espacio requerido	Ancho: 500 mm (con impresora térmica: 750 mm) Profundidad: 500 mm

11.4 Propiedades fotométricas

Principio de medición	Espectrofotómetro de absorción de un solo haz con haz de referencia
Fuente de luz	Lámpara de destello de xenón
Descomposición espectral	Rejilla cóncava holográfica con corrección de aberraciones
Receptor de radiación	Matriz de fotodiodos CMOS
Longitudes de onda	200 nm a 830 nm
Selección de la longitud de onda	En función del método, libremente seleccionable
Ancho de banda espectral	≤ 4 nm
Ancho de paso más pequeño	1 nm
Error de medición sistemático de la longitud de onda	±1 nm
Error de medición aleatorio de la longitud de onda	≤ 0,5 nm
Rango de medición fotométrico	0 A a 3,0 A con 260 nm
Exactitud de lectura	ΔΑ = 0,001
Error de medición aleatorio del fotómetro	≤ 0,002 con A = 0 ≤ 0,005 (0,5 %) con A = 1
Error de medición sistemático del fotómetro	±1 % con A = 1
Porcentaje de destellos parásitos	< 0,05 %

11.5 Atemperado

Rango de temperatura ajustable	de 20 °C a 42 °C
Ancho de paso mínimo	0,1 °C
Incertidumbre de temperatura máxima (respecto a la temperatura en la muestra)	(ver Tab. en pág. 32)
Error sistemático de la temperatura	±0,2 °C a 25 °C hasta 37 °C
Error aleatorio de la temperatura	±0,15 °C a 25 °C hasta 37 °C

Material de las cubetas	Para mediciones en el rango UV: Vidrio de sílice o plástico transparente a la luz UV (UVette de Eppendorf, 220 nm a 1600 nm) Para mediciones en el rango visible: Vidrio o plástico
Compartimento de la cubeta	12,5 mm × 12,5 mm, calefactado
Altura total de las cubetas	Mín. 36 mm
Altura del haz de luz en la cubeta	8,5 mm
Teclado	22 teclas de membrana 6 teclas de membrana como teclas programables
Emisión de resultados	Absorbancia, transmisión, concentración, escaneo (espectro de longitudes de onda de absorbancia) Otros datos adicionales dependientes del método (ratio, FOI, extinciones de fondo)
Indicador	Pantalla TFT de 5,7", VGA
Idiomas de la guía del operador	Inglés, francés, español, italiano, alemán, japonés
Interfaces	USB Master: para memoria USB e impresora térmica DPU-S445 USB Slave: para la conexión a un ordenador Interfaz serial RS 232 para la impresora térmica DPU-414 Interfaz Ethernet RJ45 Para la conexión a una red Los equipos conectados tienen que cumplir los requisitos de seguridad según la norma IEC 60950-1.

11.6 Otros parámetros técnicos

Métodos	Métados proprogramados y libramento programables para todos los	
Metodos	ivietodos preprogramados y libremente programables para todos los	
	 Mediciones de extinción en una o varias longitudes de onda, escaneos Medición de transmisión en una longitud de onda Ácidos nucleicos y proteínas, OD600, métodos de tinción (medición paralela de biomolécula y marca de colorante) 	
	estándar	
	 Método de dos longitudes de onda con evaluación por subtracción y división 	
	Método cinético: punto final, dos puntos, regresión lineal	
Evaluación en función del método	 Extinción, concentración vía factor y solución patrón. Concentración vía serie estándar: Regresión lineal Regresión no lineal (polinomio de 2do y 3er grado) Evaluación de Spline Interpolación lineal (evaluación de punto a punto) 	
	Cálculos de extinción vía subtracción y división Datos adicionales para ácidos nucleicos: Ratio 260/280 y 260/230; concentración molar, ganancia total Datos adicionales para métodos de tinción: FOI (frequency of incorporation, densidad de marcaje) Escaneos: Zoom, evaluación de picos Cinéticas: Modificación posterior del intervalo de tiempo para la evaluación de la regresión	
Memoria de métodos	> 100 programas de métodos	
Memoria de valores de medición y memoria de calibración	Memoria para > 1 000 resultados con todos los datos de la evaluación del resultado y de la solución patrón, número de la muestra, nombre de la muestra, fecha y el juego de parámetros utilizado del programa de método (El número de los resultados almacenados depende del número de los métodos almacenados.)	

11.7 Parámetros de aplicación

12 Método de evaluación

Este capítulo describe los métodos de evaluación disponibles en los programas de métodos, así como el cálculo de una dilución a través del software del dispositivo.



Tenga en cuenta al comparar los resultados de medición con resultados de otros fotómetros/ espectrofotómetros que los valores pueden depender del ancho de banda de los dispositivos. En los siguientes casos las diferencias pueden ser considerables:

- El espectro de extinción muestra en la longitud de onda de medición un pico estrecho.
- La medición no se realiza en el máximo, sino en el flanco de un pico.

Por ello, verifique la exactitud del método mediante medición de soluciones patrón.

12.1 Valores de extinción

Los valores de extinción se muestran como A_{XXX} (las XXX representan la longitud de onda). Estas indicaciones equivalen siempre a los valores directamente medidos, es decir, sin correcciones que se incorporan en la posterior evaluación como, p.ej., correcciones para espesores de capa ópticos de la cubeta o correcciones de fondo.

12.1.1 Valor de blanco

Todos los valores de extinción se refieren siempre al blanco medido la última vez. Por ello, una medición del blanco es obligatoria al comienzo de cada serie de mediciones y también es posible en cualquier momento durante una serie de mediciones. En el caso ideal, la medición del blanco debería poder compensar todas las posibilidades de influencia sobre el valor de extinción de la solución de medición. Por ello, el blanco se debería medir con la misma solución tampón utilizada para la medición de la muestra, así como en la misma cubeta como el valor de la muestra, a menos que las cubetas utilizadas para la medición del blanco y de la muestra hayan sido sintonizadas ópticamente, es decir, tengan el mismo valor de extinción en la longitud de onda de medición.

12.1.2 Corrección de fondo

Aplicación principal: corrección parcial de falsificaciones de la extinción en mediciones de ácidos nucleicos debido a turbiedades en la solución de medición. Por ejemplo, la extinción a 320 nm, la cual debería encontrarse aprox. en 0 A en ácidos nucleicos puros, es restada de la extinción a 260 nm, que es la longitud de onda de medición para ácidos nucleicos.

 $A_{XXX,corrBkgr} = A_{XXX} - A_{Bkgr}$

 $A_{XXX, korrBkgr}$ = extinción corregida aritméticamente en la longitud de onda XXX nm.

 A_{XXX} = = extinción medida en la longitud de onda XXX nm.

 A_{Bkar} = extinción medida en la longitud de onda de fondo.

12.1.3 Corrección de cubeta

Todos los valores de extinción que se incorporan en los cálculos de resultados, están normalizados a un espesor de capa de la cubeta de 10 mm. Si se utiliza una cubeta con otro espesor de capa, este espesor de capa se tiene que definir en el parámetro **Cuvette**. En este caso, las extinciones medidas son corregidas a resultados de medición con una cubeta con un espesor de capa de 10 mm antes de la conversión a resultados de muestras.

Esta corrección se aplica a:

- Métodos con evaluación vía factor.
- Métodos del grupo Absorbance, en donde solamente se emiten valores de extinción.

La corrección no se aplica a:

- Métodos con evaluación vía soluciones patrón, ya que esto presupone que las soluciones patrón y las muestras son medidas en cubetas con el mismo espesor de capa.
- Cálculos con división: método **Division** (grupo de métodos **Dual wavelength**), así como cálculo de ratios como A₂₆₀/A₂₈₀ (en mediciones de ácidos nucleicos).

$$A_{XXX,corrCuv} = A_{XXX} \times \frac{10}{Cuv}$$

A_{XXX, korrCuv} = extinción corregida aritméticamente en la longitud de onda XXX nm.

 A_{XXX} = extinción medida en la longitud de onda XXX nm.

Cuv = espesor de capa de la cubeta.

12.2 Transmisión

En el grupo de métodos **Absorbance** se puede determinar también la transmisión porcentual (T%) junto con la absorbancia.

 $T[\%] = 10^{-A} \times 100$

A = Absorbancia

T = Transmisión

106

12.3 Evaluación con factor o con solución patrón

 $C = A \times F$

C =concentración calculada.

A = extinción.

F = factor.

El factor está programado en la lista de parámetros y se puede modificar. Se refiere siempre al grosor de la cubeta de 10 mm. Si modifica el parámetro **Cuvette**, esta modificación será considerada por el equipo al calcular el resultado. No tiene que modificar el factor para la evaluación.

Si modifica la unidad de la concentración, sin embargo, tiene que prestar atención a que el factor esté adaptado a la unidad seleccionada.

El factor o bien es introducido directamente como parámetro en el método de evaluación "Factor" o bien es calculado en el método de evaluación "Solución patrón" (evaluación con una concentración patrón):

$$F = \frac{C_s}{A_s}$$

F = factor calculado.

 C_S = concentración de la solución patrón (introducida como parámetro).

 A_S = extinción medida de la solución patrón.

Si se programó medición múltiple (2 ó 3 réplicas) para la solución patrón, se forma el promedio de las extinciones medidas de las réplicas y se utiliza como A_S .

12.4 Evaluación con curva/línea recta de solución patrón

Si se realiza la evaluación con más de una solución patrón, es posible seleccionar con [Curve fit] en el paso de método **measure standards/new** los siguientes métodos de evaluación para la curva/línea recta de solución patrón:

Método de evaluación	Descripción	Mínimo número de puntos estándar requerido
linear interpolation	Conexión lineal de punto a punto en el gráfico de concentración y extinción de la evaluación de solución patrón.	Mínimo 2 soluciones patrón.
linear regression	Regresión polinomial para polinomio de primer grado.	Mínimo 3 soluciones patrón.
quadratical regression	Regresión polinomial para polinomio de segundo grado.	Mínimo 4 soluciones patrón.
cubical regression	Regresión polinomial para polinomio de tercer grado.	Mínimo 5 soluciones patrón.
spline interpolation	Interpolación mediante splines cúbicos naturales.	Mínimo 3 soluciones patrón.

Para métodos de regresión se puede seleccionar además que la línea recta de regresión (curva de regresión) pase por el punto cero.



- Utilice para líneas rectas de calibración el método "linear regression".
- Pruebe en trayectos en curva qué método de evaluación (regresión cuadrática, regresión cúbica, interpolación spline) resulta ser la función mejor adecuada para la evaluación de solución patrón. La interpolación spline une los puntos de medición por medio de polinomios cúbicos, mientras que los métodos de regresión colocan una función cuadrática y/o cúbica de tal modo entre los puntos de medición que para los puntos de medición resulten unas desviaciones relativamente pequeñas de la función.
- En los métodos de regresión también se muestra el coeficiente de determinación (coefficient of determination) como medida para la dispersión de los puntos de medición en torno a la función calculada, aparte de la ecuación de regresión calculada. Con un valor de < 0,8 para el coeficiente de determinación, el resultado estará provisto de una advertencia.
- Si la primera solución patrón tiene la concentración "0", seleccione el ajuste para que la línea recta de regresión (curva de regresión) pase por el punto cero.
- En caso de que ninguno de los métodos recomendados para trayectos en curva produzca resultados satisfactorios, seleccione el método "linear interpolation".
109

12.5 Dilución

Las diluciones introducidas en el paso de método **measure samples** son tomadas en consideración en el cálculo del resultado:

$$C_{\textit{Dil,korr}} = C \times \frac{V_{P} + V_{\textit{Dil}}}{V_{P}}$$

 $C_{Dil, korr}$ = resultado convertido con el factor de dilución

 V_P = volumen de la muestra en la solución de medición

 V_{Dil} = volumen del diluente en la solución de medición

12.6 Procedimientos de evaluación especiales para ácidos nucleicos y proteína UV

Este apartado se ocupa de la evaluación de ácidos nucleicos y/o proteínas en los grupos de métodos **Nucleic acids** y **Proteins direct UV**, así como de componentes biomoleculares correspondientes del grupo de métodos **Dye labels**.

12.6.1 Corrección A₂₆₀ y corrección A₂₈₀

Aplicación: corrección de la influencia de la absorbancia de colorante sobre la absorbancia de ácidos nucleicos y/o proteínas a 260 y 280 nm en los métodos del grupo **Dye labels**.

La aplicación del procedimiento de evaluación se puede activar en los parámetros **Correct A260** y/o **Correct A280**.

 $A_{_{XXX,corr}} = A_{_{XXX}} - CF \times A_{_{YYY}}$

AXXX, korr = absorbancia corregida aritméticamente en la longitud de onda 260 nm y/o 280 nm

 A_{XXX} = absorbancia medida en la longitud de onda 260 nm y/o 280 nm

CF = factor de corrección para la longitud de onda 260 nm y/o 280 nm (los dos factores de corrección para 260 nm y para 280 nm son específicos para un colorante y se programan en **General Method Parameter: Dyes** en el rango **Funciones (Functions**).

 $A_{\gamma\gamma\gamma}$ = absorbancia medida en la longitud de onda del colorante.



Los valores de absorbancia mostrados en los indicadores de resultados son los valores de absorbancia directamente medidos y no corregidos.

12.6.2 Ratio A260/A280 y ratio A260/A230

Aplicación: información acerca de la pureza del ácido nucleico medido. En los parámetros de método está activada la evaluación del ratio A260/A280 y A260/A230.

"Ratio" denomina el cociente de las extinciones medidas en las longitudes de onda mencionadas.

Valores de bibliografía para los valores "ratio" en ácidos nucleicos puros:

A260/A280

- ADN: De 1,8 a 1,9
- ARN: De 1,9 a 2,0 (Current Protocols in Molecular Biology, 1994)

A260/A230

Para la ratio A260/A230 se encuentran diferentes indicaciones en la bibliografía respecto a ácidos nucleicos puros:

- ADN: De 2,3 a 2,5
 - (The Nucleic Acids, 1955)
- ADN: 1,9
 (Current Protocols in Molecular Biology, 1994)

Los valores dependen fuertemente del valor del pH. Por ello, los ácidos nucleicos no se deberían medir en agua, sino en una solución tampón con un valor pH de 7 a 7,2 (p.ej., solución tampón TE).

12.6.3 Conversión en concentraciones molares y cantidades de ácidos nucleicos

La conversión solamente se puede aplicar para ácidos nucleicos y métodos de tinción con ácidos nucleicos como componente biomolecular. La conversión se efectúa en el paso de método **process results/More calculations**.

12.6.3.1 Cálculo de la cantidad

Aplicación: cálculo de la cantidad (masa) de ácido nucleico en todo el volumen de la muestra.

 $M = C \times V_{P,gesamt}$

M = cantidad total calculada (masa) del ácido nucleico en el recipiente de la muestra. Unidad: µg.

C = concentración del ácido nucleico calculada a partir de la medición. Unidad: µg/mL o ng/µL.

 $V_{P, gesamt}$ = volumen total de la muestra en el recipiente de la muestra. Introduzca este valor en **More** calculations. Unidad: µL.

110

111

12.6.3.2 Cálculo de la concentración molar

Aplicación: cálculo de la concentración molar del ácido nucleico a partir de la concentración en masa y la masa molar relativa. La masa molar o bien se introduce directamente o bien es calculada por el equipo a partir del número de bases y/o pares de bases por molécula de ácido nucleico introducido.

$$C_{Mol} = \frac{C \times 10^3}{MM}$$

 C_{Mol} = concentración molar calculada del ácido nucleico. Unidad: pmol/mL.

C = concentración en masa del ácido nucleico calculada a partir de la medición. Unidad: µg/mL o ng/µL.

MM = masa molar relativa. Unidad: kDa

En caso de que en **More calculations** se introdujo el número de bases y/o pares de bases por molécula de ácido nucleico en lugar de la masa molar relativa, la MM se calculará a partir del número de bases y/o pares de bases:

Para dsDNA:

 $MM = bp \times 2 \times 330 \times 10^{-3}$

Para ssDNA, RNA, Oligo:

$$MM = b \times 330 \times 10^{-3}$$

MM = masa molar relativa calculada; unidad: kDa

bp = número introducido de los pares de bases por molécula

b = número introducido de las bases por molécula



- Para dsDNA se supone que se trata de un ácido nucleico bicatenario al calcular la concentración molar. Para los métodos ssDNA, RNA y Oligo se supone que se trata de un ácido nucleico monocatenario.
- Para métodos que fueron programados en el grupo principal *Routine*, grupo de métodos Nucleic acids, mediante <New Method>, siempre se parte de ácidos nucleicos bicatenarios para el cálculo de la concentración molar.

12.6.4 Cálculo del factor para proteína en "General Method Parameter"

Este apartado solamente vale para el cálculo del componente de proteína en los grupos de métodos **Dye labels** y **Proteins direct UV.** En estos grupos de métodos se selecciona el componente de proteína en los parámetros (ver *Parámetros de los métodos en pág. 40*). Al componente de proteína le está asignado un factor que se introduce en la función **General Method Parameter/Proteins** para cada proteína. Alternativamente al factor también se puede introducir o bien $A_{0.1\%}$ o bien el coeficiente de absorbancia más la masa molar de la proteína. En este caso, el factor se calcula del siguiente modo:

$$F_P = \frac{1}{A_{0.1\%}}$$

F = factor para la proteína; unidad: g/L.

 $A_{0.1\%}$ = absorbancia de la proteína a una concentración de 0,1 % (1 g/L).

Al entrar el coeficiente de absorbancia molar y la masa molar relativa de la proteína, es posible calcular $A_{0,1\%}$ a partir de allí:

$$A_{0.1\%} = \frac{\mathcal{E}_P}{MM_P}$$

 ε_P = coeficiente de absorbancia molar de la proteína; unidad: cm⁻¹M⁻¹.

 MM_P = masa molar relativa de la proteína; unidad: Da (introducción en **General Method Parameter** en kDa).

12.7 Procedimientos de evaluación especiales para los métodos de tinción12.7.1 Cálculo del factor para el colorante a partir del coeficiente de extinción

En los métodos de tinción se calcula la concentración del colorante con un factor de la extinción medida (ver *Evaluación con factor o con solución patrón en pág. 107*). El factor se introduce en la función **General Method Parameter/Dyes** para cada colorante. Alternativamente a la entrada del factor también se puede introducir el coeficiente de extinción. En este caso se calcula el factor de la siguiente manera:

$$F_{Dye} = \frac{10^6}{\varepsilon_{Dye}}$$

F = factor para el colorante; unidad: pmol/µL.

 ε = coeficiente de extinción para el colorante; unidad: cm⁻¹Mol⁻¹L.

12.7.2 Cálculo de la FOI

Como valor para la relación entre moléculas de colorante y cantidad de nucleótidos en el ácido nucleico se calcula e indica la frecuencia de incorporación (FOI) en los métodos de tinción. El cálculo se puede seleccionar para dos diferentes unidades de resultado:

Unidad MOLÉCULAS dye/kb

$$FOI = \frac{A_{YYY}}{\varepsilon_{Dye}} \times \frac{10^6 \times MM_{nt}}{A_{XXX} \times F_{NA}}$$

Unidad pmol/µg ADN (y/o ARN)

$$FOI = \frac{A_{YYY}}{\varepsilon_{Dye}} \times \frac{10^9}{A_{XXX} \times F_{NA}}$$

 $A_{\gamma\gamma\gamma}$ = extinción del colorante.

 A_{XXX} = extinción del ácido nucleico.

MM_{nt} = masa molar media de los nucleótidos: 330 g/mol.

 F_{NA} = factor para el cálculo del ácido nucleico.

 ε_{Dve} = coeficiente de extinción para el colorante; unidad: cm⁻¹M⁻¹.

12.7.3 Conversión a cantidades de colorante

El cálculo de la cantidad (masa) de colorante en todo el volumen de la muestra se realiza en el paso de método **process results/More calculations**.

$$M = C \times V_{P,total}$$

M = cantidad total calculada (masa) del colorante en el tubo de muestra. Unidad: pmol.

C = concentración del colorante calculada a partir de la medición. Unidad: pmol/µL.

 $V_{P, total}$ = volumen total de la muestra en el tubo de muestra; es introducido por el usuario en **More** calculations. Unidad: µL.

12.8 Dual wavelength

Para métodos del grupo **Dual Wavelength** se pueden compensar las extinciones que se midieron en dos longitudes de onda antes de que la extinción calculada sea incorporada en la siguiente evaluación con factor o solución patrón.

Para determinar la extinción calculada, es posible definir una evaluación mediante división o mediante sustracción en los parámetros:

$$A_{calc} = \frac{a \times A_1}{b \times A_2} \times c + d$$
$$A_{calc} = \left[(a \times A_1) - (b \times A_2) \right] \times c + d$$

 A_1, A_2 = extinciones medidas.

a, *b*, *c*, *d* = factores que se introducen en los parámetros. También se pueden introducir números negativos.

12.9 Cinética

A partir de los métodos de medición seleccionables, se determina o bien un valor de absorbancia **A** o bien una diferencia de absorbancia normalizada de un minuto $\Delta A/min$. Este valor de absorbancia determinado se utiliza en el cálculo de concentración en virtud de factor o (sólo para **Advanced kinetics**) estándar de un punto.

12.9.1 Método de medición

Endpoint

Al final del tiempo de espera **(tiempo de incubación,** parámetro **Delay)** se mide un valor de absorbancia y se utiliza para el cálculo de concentración.

Two point

Una vez transcurrido el retardo (Delay) se registra un punto de medición y tras el tiempo de medición se registra un segundo punto de medición. A partir de la diferencia de absorción y tiempo se calcula ΔA/min:

$$\frac{\Delta A}{\min} = \frac{A_2 - A_1}{t_2 - t_1}$$

 A_1 , t_1 = absorción y momento para el primer punto de medición.

 A_2 , t_2 = absorción y momento para el segundo punto de medición.

Linear regression

Una vez transcurrido el retardo (Delay) se registran puntos de medición en intervalos de tiempo fijos, desde el principio hasta el final del tiempo de medición. Mediante los puntos de medición en el diagrama de absorbancia-tiempo se realiza una regresión lineal. Resultado: valor de absorbancia en Δ A/min.

12.9.2 Blanco de reactivo

En los métodos del grupo **Advanced kinetics** se puede programar la medición de un blanco de reactivo en los parámetros. Aplicación primaria: compensación de una desviación del reactivo en el método de medición "Regresión lineal". El blanco de reactivo contiene el reactivo y agua desmineralizada en lugar de la muestra y se mide con el mismo método de medición que la muestra. Se mide al comienzo de la serie de muestras; el resultado de absorbancia se resta del resultado de absorbancia de la muestra:

 $A_{\rm RB, corr} = A - A_{\rm RB}$

 $A_{RB, corr}$ = resultado de absorbancia corregido (en A o ΔA /min) de la muestra.

A = resultado de absorbancia medido (en A o ΔA /min) de la muestra.

 A_{RB} = resultado de absorbancia (en A o ΔA /min) del blanco de reactivo.



Cuando en la fase del método **process results** se acorta el intervalo de tiempo para la evaluación cinética con regresión lineal, se aplica automáticamente el visor de medición más corto también para el cálculo del blanco de reactivo, que se utiliza en el cálculo del resultado de la muestra. El blanco de reactivo (sólo) se calcula de nuevo para el cálculo de este resultado de la muestra. Para el cálculo de los otros resultados de la muestra se utiliza el resultado del blanco de reactivo, que se calculó de la muestra.

Al evaluar el método cinético con estándares no se dispone de la medición de un blanco de reactivo. Como alternativa se puede definir el blanco de reactivo como el primer estándar (concentración "cero").

Método de evaluación

Eppendorf BioSpectrometer[®] kinetic Español (ES)

N° de pedido	N° de pedido	Descripción
(Internacional)	(Norteamérica)	
		Eppendorf BioSpectrometer basic
6135 000.009	-	230 V/50 – 60 Hz, conector de la red de distribución Europa
6135 000.017	6135000017	120 V/50 – 60 Hz, conector de la red de distribución América
		Eppendorf BioSpectrometer kinetic
6136 000.002	-	230 V/50 – 60 Hz, conector de la red de distribución Europa
6136 000.010	6136000010	120 V/50 – 60 Hz, conector de la red de distribución América
		Juego de filtros de referencia BioSpectrometer
6135 928.001	6135928001	juego de filtros para verificar la exactitud fotométrica y el error
		sistemático de longitudes de onda (según NIST)
		Eppendorf µCuvette G1.0
6138 000.018	6138000018	Microcubeta Eppendorf para Eppendorf BioPhotometer y
		BioSpectrometer
		Thermal Printer DPU-S445
		Incluye fuente de alimentación y cable de impresora
6135 011.000		230 V, EU
6135 010.004	6135010004	115 V/110V, USA, JP
6135 012.007		230 V, UK
		Thermo paper
0013 021.566	952010409	5 rolls
		Eppendorf UVette 220 nm – 1 600 nm
		Original Eppendorf plastic cuvette, PCR clean, Protein-free
0030 106.300	952010051	50 - 2 000 μL, 80 pieces, individually packaged
		Eppendorf UVette routine pack 220 nm – 1 600 nm
		Eppendorf Quality
0030 106.318	952010069	50 - 2 000 μL, 200 pieces, reclosable box
		Eppendorf macro Vis Cuvettes
0030 079.345	0030079345	10 × 100 pieces
		Eppendorf semi-micro Vis Cuvettes
0030 079.353	0030079353	10 × 100 pieces
		Eppendorf Cuvette Rack
		36 locations, for glass and plastic cuvettes, numbered locations
0030 119.851	0030119851	2 pieces, polypropylene, autoclavable

13 Información para pedidos

Información para pedidos Eppendorf BioSpectrometer® kinetic Español (ES)

eppendorf **Declaration of Conformity**

The product named below fulfills the requirements of directives and standards listed. In the case of unauthorized modifications to the product or an unintended use this declaration becomes invalid.



Date: December 28, 2015

Management Board



lio Managemer

ISO

14001

Certified

ISO

13485

Certified

ISO 9001

Certified

Your local distributor: www.eppendorf.com/contact Eppendorf AG · 22331 Hamburg · Germany eppendorf@eppendorf.com

Eppendorf® and the Eppendorf logo are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany. U.S. Design Patents are listed on www.eppendorf.com/ip. All rights reserved, incl. graphics and pictures. Copyright 2015 © by Eppendorf AG.

www.eppendorf.com

eppendorf

Evaluate Your Manual

Give us your feedback. www.eppendorf.com/manualfeedback

Your local distributor: www.eppendorf.com/contact Eppendorf AG \cdot Barkhausenweg 1 \cdot 22339 Hamburg \cdot Germany eppendorf@eppendorf.com \cdot www.eppendorf.com