

Register your instrument! www.eppendorf.com/myeppendorf



Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence

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.

OliGreen®, PicoGreen®, RiboGreen®, NanoOrange® and Qubit® are registered trademarks of Molecular Probes, Inc., USA.

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 TM in this manual.

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

Notice

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

Índice

| 1 | Instr | ucciones de empleo |
|---|---------------------|---|
| | 1.1 | Utilización de estas instrucciones |
| | 1.2 | Símbolos de peligro y niveles de peligro |
| | | 1.2.1 Símbolos de peligro |
| | | 1.2.2 Niveles de peligro |
| | 1.3 | Convención de representación |
| | 1.4 | Abreviaturas |
| | | |
| 2 | | ucciones generales de seguridad11 |
| | 2.1 | Uso de acuerdo con lo previsto11 |
| | 2.2 | Requerimiento para el usuario |
| | 2.3 | Peligros durante el uso previsto |
| | | 2.3.1 Daños personales |
| | | 2.3.2 Daños en el equipo |
| | 2.4 | Información sobre la responsabilidad de producto |
| | 2.5 | Indicaciones de seguridad en el equipo |
| | | |
| 3 | | ripción del producto15 |
| | 3.1 | Vista general del producto |
| | 3.2 | Alcance de suministro |
| | 3.3 | Características del producto |
| | | 3.3.1 Métodos |
| | | 3.3.2 Manejo |
| | | 3.3.3 Emisión de resultados |
| | | 3.3.4 Autocomprobación del equipo |
| | | |
| 4 | | lación |
| | 4.1 | Preparación de la instalación |
| | 4.2 | Seleccionar ubicación |
| | 4.3 | Conexión del equipo a la red eléctrica |
| | 4.4 | Conectar el equipo a una red |
| | 4.5 | Conexión de la impresora al puerto USB |
| | | 4.5.1 Impresora térmica DPU-S445 |
| | 4.6 | Conexión de un ordenador o memoria USB para la exportación de datos |
| _ | | .i. |
| 5 | мап е 5.1 | ejo |
| | 5.1 | |
| | E 2 | 5.1.1 Introducción de texto |
| | 5.2 | Inserción de la cubeta |
| | 5.3 | Visión general de la secuencia de medición |
| | | 5.3.1 Preparación de la medición |
| | | 5.3.2 Secuencia de medición |
| | | 5.3.3 Indicaciones importantes para las mediciones |

| 6 | Méto | dos | | 33 |
|---|------|-----------|--|----|
| | 6.1 | | ón del método | |
| | 6.2 | Descrip | ción de métodos fotometría | 34 |
| | | 6.2.1 | Grupo de métodos Absorbance | |
| | | 6.2.2 | Grupo de métodos Routine | |
| | | 6.2.3 | Grupo de métodos Basic | |
| | | 6.2.4 | Grupo de métodos Advanced | |
| | 6.3 | | ción de métodos: fluorimetría | |
| | | 6.3.1 | Grupo de métodos: rutina | |
| | | 6.3.2 | Grupo de métodos Basic | |
| | 6.4 | | tros de los métodos | |
| | 6.5 | | e métodos | |
| | 0.0 | 6.5.1 | check parameters | |
| | | 6.5.2 | measure standards | |
| | | 6.5.3 | measure samples | |
| | | 6.5.4 | Muestras de medición: Visualización de resultados | |
| | | 6.5.5 | process results. | |
| | | 6.5.6 | Resultados de procesos: Opciones | |
| | | 6.5.7 | print & export | |
| | | 6.5.8 | Finalizar la serie de mediciones | |
| 7 | Func | iones | | 65 |
| | 7.1 | Funcior | nes del grupo principal User | 65 |
| | | 7.1.1 | Results Memory | 67 |
| | | 7.1.2 | General Method Parameters | 68 |
| | | 7.1.3 | Absorbance Spectra Library | 71 |
| | | 7.1.4 | Device Settings | 71 |
| | | 7.1.5 | Device Calibration | 74 |
| | | 7.1.6 | Info | 74 |
| 8 | Mant | | to | |
| | 8.1 | | za | |
| | | 8.1.1 | Limpieza de la cubierta del compartimento de la cubeta | |
| | 8.2 | | cción/Descontaminación | |
| | 8.3 | • | bbación del equipo | |
| | | 8.3.1 | Comprobación de la unidad espectrométrica | |
| | | 8.3.2 | Comprobación de la unidad de fluorescencia | |
| | | 8.3.3 | Autocomprobación del equipo | |
| | 8.4 | | r fusibles | |
| | 8.5 | Descon | taminación antes del envío | 83 |
| 9 | | - | roblemas | |
| | 9.1 | | generales | |
| | 9.2 | , | es de error | |
| | 0.3 | Identifia | caciones de resultados | 01 |

| 10 | Trans | porte, al | macenaje y eliminación | 95 |
|----|--------|-----------|--|-----|
| | 10.1 | Transpo | orte | 95 |
| | 10.2 | Almace | namiento | 95 |
| | 10.3 | Elimina | ción | 96 |
| 11 | Datos | | S | |
| | 11.1 | | stro de corriente | |
| | 11.2 | Condici | ones del entorno | 97 |
| | 11.3 | Peso/di | mensiones | 97 |
| | 11.4 | Propied | ades fotométricas | 98 |
| | 11.5 | | eter | |
| | 11.6 | Otros p | arámetros técnicos | 99 |
| | 11.7 | Paráme | tros de aplicación | 100 |
| 12 | Méto | do de ev | aluación | 101 |
| | 12.1 | Valores | de extinción | 101 |
| | | 12.1.1 | Valor de blanco | 101 |
| | | 12.1.2 | Corrección de fondo | 101 |
| | | 12.1.3 | Corrección de cubeta | 102 |
| | 12.2 | Transm | isión | 102 |
| | 12.3 | Evaluac | ión con factor o con solución patrón | 103 |
| | 12.4 | Evaluac | ión con curva/línea recta de solución patrón | 104 |
| | 12.5 | Dilució | 1 | 105 |
| | 12.6 | Procedi | mientos de evaluación especiales para ácidos nucleicos y proteína UV | 105 |
| | | 12.6.1 | Corrección A ₂₆₀ y corrección A ₂₈₀ | 105 |
| | | 12.6.2 | Ratio A260/A280 y ratio A260/A230 | 106 |
| | | 12.6.3 | Conversión en concentraciones molares y cantidades de ácidos nucleicos | 106 |
| | | 12.6.4 | Cálculo del factor para proteína en "General Method Parameter" | 108 |
| | 12.7 | Procedi | mientos de evaluación especiales para los métodos de tinción | 108 |
| | | 12.7.1 | Cálculo del factor para el colorante a partir del coeficiente de extinción | 108 |
| | | 12.7.2 | Cálculo de la FOI | 109 |
| | | 12.7.3 | Conversión a cantidades de colorante | 109 |
| | 12.8 | Dual wa | avelength | 110 |
| | 12.9 | Fluorim | etría | 111 |
| | | 12.9.1 | RFU | 111 |
| | | 12.9.2 | Blanco | 111 |
| | | 12.9.3 | Evaluación con estándar y curva/recta estándar, dilución | 111 |
| 13 | Inform | mación p | para pedidos | 113 |
| | Conti | ii aadaa | | 115 |

Índice

6

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence 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:

| A | Descarga eléctrica | | Sustancias con propiedades explosivas |
|----|--------------------|----------|---------------------------------------|
| | Sustancias tóxicas | <u> </u> | 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 | Pulse esta tecla para realizar la acción descrita. |
| o sample | |
| 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

Μ

mol/L (molar)

OD600

Densidad óptica con la longitud de onda 600 nm

RFU

Relative Fluorescence Unit – Unidad de fluorescencia relativa: Medida para la intensidad en mediciones de fluorescencia

RNA

Ribonucleic acid – ácido ribonucleico (ARN)

ssDNA

single stranded DNA - ADN monocatenario

T

Transmisión: La transmitancia (T) se calcula como el cociente de I (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

10

Instrucciones de empleo Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence Español (ES)

2 Instrucciones generales de seguridad

2.1 Uso de acuerdo con lo previsto

El campo de aplicación del BioSpectrometer fluorescence son los laboratorios de investigación especializados en biología molecular, bioquímica y biología celular. El BioSpectrometer fluorescence 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 fluorescence 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. Además se pueden realizar mediciones de fluorescencia para la cuantificación de biomoléculas.

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.

Español (ES)

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 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. 75*).
- ▶ 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:

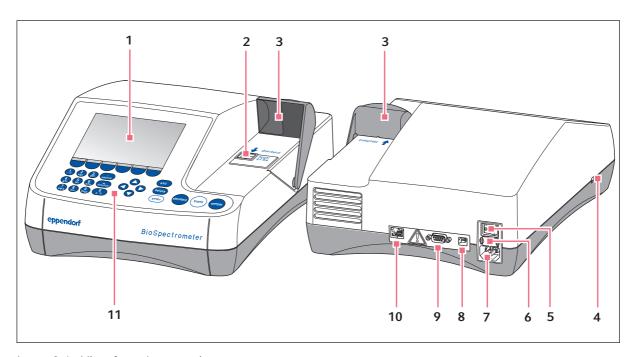
- El equipo no es utilizado según lo especificado en el manual de instrucciones.
- El equipo no es utilizado de acuerdo con el uso previsto.
- El equipo es utilizado con accesorios o consumibles no recomendados por Eppendorf AG.
- El equipo es revisado o mantenido por personas no autorizadas por Eppendorf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

2.5 Indicaciones de seguridad en el equipo

| Representación | Significado | Lugar |
|--|---|--------------------------|
| <u> </u> | Lugar peligroso▶ Tenga 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 |

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 fluorescence |
| 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 fluorescence combina dos métodos de medición espectroscópicos: espectrofotometría y fluorimetría. Puede realizar mediciones espectrofotométricas en el rango UV-VIS de 200 nm a 830 nm, así como mediciones fluorimétricas en dos combinaciones definidas de longitudes de onda en la parte visible del espectro (excitación: 470 nm/emisión: 520 nm y excitación: 470 nm/emisión: 560 nm). Está previsto para la medición de líquidos en cubetas para 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 (fotometría) y/o de 60 μL a 3.000 μL (fluorimetría).

3.3.1 Métodos

Fotometría

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, evaluaciones con factor, estándar y curva estándar). Basándose en los métodos y plantillas preprogramados se pueden crear métodos propios. Con las plantillas del grupo de 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.

Fluorimetría

Se han programado previamente métodos para la detección de la concentración de ácidos nucleicos con PicoGreen, RiboGreen, OliGreen y los reactivos Qubit, así como de proteínas con NanoOrange. También se incluyen variantes breves de los métodos de ácido nucleico para una medición rápida con solo dos estándares. Al igual que con la espectrofotometría, también se han programado previamente plantillas de métodos para procesos de evaluación diferentes (mediante factor, estándar y curva estándar).

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 fluorescence 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 de la unidad de fluorescencia. Para comprobar el equipo de una manera más amplia, active la función **Device calibration** (ver *Autocomprobación del equipo en pág. 82*).

18

Descripción del producto Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence Español (ES)

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. 15*)
- ▶ Compruebe que ninguna pieza presente daños de transporte.

4.2 Seleccionar ubicación

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

- 2 enchufes con toma de tierra para el BioSpectrometer fluorescence 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 fluorescence 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. 71)

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. 15).



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. 71*).

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. 15*).
- 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. 15*).

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. 15*).



- 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. 61*) del método una vez finalizada la serie de mediciones.

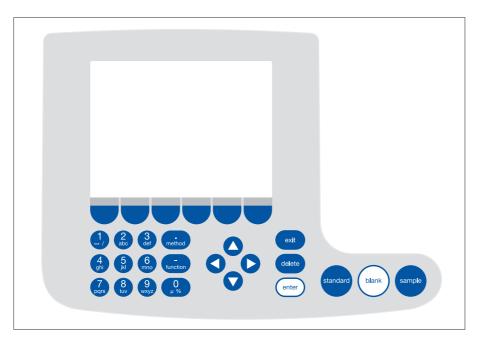
Instalación

22

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence Español (ES)

5 Manejo

5.1 Elementos de control



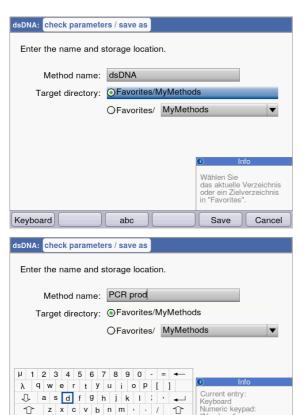
Imag. 5-1: Elementos de control del BioSpectrometer fluorescence

| Tecla | Función |
|--|---|
| 1 2 3 method 4 5 6 muno function 7 8 9 0 | 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 y dentro de un campo de entradas: navegar dentro de una secuencia de caracteres. |
| 000 | Teclas • y • dentro de una indicación de resultados: navegar entre los resultados de una serie de mediciones. |
| 0 | Teclas y 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. 58). |
| 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. |
| antax | Activar el método o la función seleccionados. Abrir la lista de selección. |
| enter | 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 ("_").



Introducción a través del teclado:

Con las teclas de cursor **Q** y **D** 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

Space

Numbers

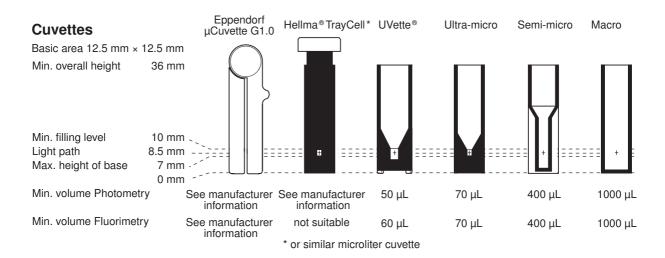
En el compartimento de la cubeta puede insertar cubetas rectangulares de vidrio o plástico habituales en el mercado:

- Medidas exteriores: 12,5 mm x 12,5 mm
- Altura del recorrido óptico: 8,5 mm sobre el fondo de la cubeta

Save

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.



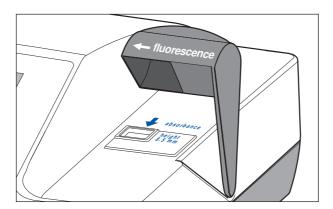
Requisitos

- 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.
- Fluorimetría: la solución de medición está libre de sustancias que muestren una fluorescencia propia no deseada o debiliten la fluorescencia de la sustancia a analizar.
- La temperatura de la cubeta se encuentra por encima de la temperatura del punto de rocío que vale para las condiciones ambientales (humedad y temperatura).



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

- Fotometría: la dirección del haz de luz (de atrás hacia adelante) está marcada en la carcasa: "absorbance".
- Fluorimetría: la dirección del haz de luz (de derecha a izquierda y de vuelta atrás) está marcada en la tapa del compatimento de la cubeta: "fluorescence".



Imag. 5-2: Identificación de los recorridos ópticos

- 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.
- 3. Fluorimetría: cerrar la tapa del compartimento de la cubeta antes de la medición.

5.3 Visión general de la secuencia de medición

5.3.1 Preparación de la medición

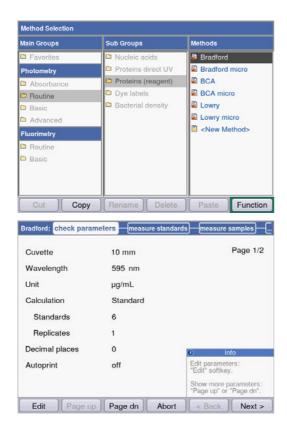
- Encienda el equipo y también la impresora, dado el caso.
 El equipo realizará una autocomprobación (duración: aprox. 1 minuto) y mostrará la selección de métodos.
- 2. Ponga las cubetas a disposición para la medición (ver Inserción de la cubeta en pág. 25).
- 3. Prepare las soluciones de medición para 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.



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 n° 013, consulte nuestra página de Internet www.eppendorf.com.

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. 33*) 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

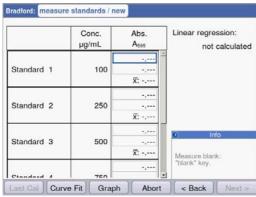


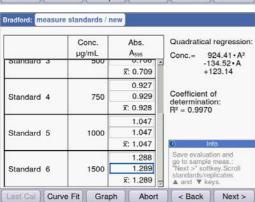
Compruebe los ajustes de los parámetros. Con las teclas programables [Page dn] y [Page up] llama las páginas de la lista de parámetros. Con [Edit] modifica y guarda los parámetros.

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.



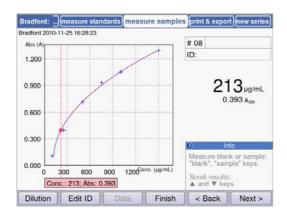


- 1. Mida primero un blanco (tecla **blank**).
- 2. Luego mida sucesivamente todas las soluciones patrón (tecla **standard**).

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.

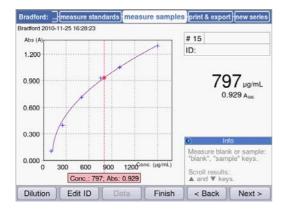
5.3.2.4 Medición de muestras



Con la tecla sample mide sus muestras una tras otra.

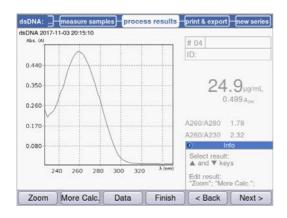
Los resultados de blancos permanecen almacenados para una serie de medición. Una nueva medición de un blanco, sin embargo, se puede realizar en cualquier momento. (En la ilustración aquí mostrada de una secuencia de medición con evaluación vía curva estándar se muestra el gráfico de la evaluación además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

5.3.2.5 Finalización de un método



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

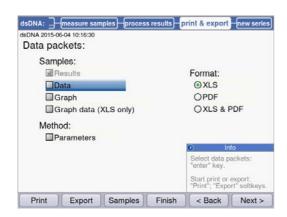
5.3.2.6 Opcional: Retocar los resultados



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.

▶ Seleccione con las teclas de cursor ○ y ○ los resultados de la serie de medición que desee retocar. Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence Español (ES)

5.3.2.7 Impresión y exportación



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

Español (ES)



5.3.3

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 y valores RFU indicados 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. 101*).
- 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 (con valores de extinción altos o valores RFU bajos), el tiempo de medición se puede prolongar automáticamente hasta 9 segundos (fotometría) y/o hasta 6 segundos (fluorimetría) para aumentar la precisión de la 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. 98*), 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). Fluorimetría: una autofluorescencia elevada de la cubeta (típico en cubetas de plástico) puede limitar el margen de medida que está a disposición.
- 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.

32

Manejo Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence Español (ES)

6 Métodos

6.1 Selección del método

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



| Métodos protegidos contra escritura | F | 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 | P | 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**.

Tab. 6-1: Métodos fotométricos

| 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. |
| Advanced | Métodos para la evaluación de procedimientos de medición de dos longitudes de onda. |
| 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. |

Tab. 6-2: Métodos fluorimétricos

| Routine | Mediciones fluorimétricas de ácidos nucleicos y proteínas con los reactivos de la empresa Invitrogen. (Es posible que se requiera una licencia de la empresa Molecular Probes, Inc., Eugene, OR, EE.UU. o de la empresa Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, EE.UU. para la realización de estos procedimientos.) |
|---------|--|
| Basic | Métodos para la evaluación de mediciones de fluorescencia con solución patrón o curva/línea recta estándar. Método Raw fluorescence para la medición rápida de la fluorescencia sin ninguna evaluación. |

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.

Tab. 6-3: Teclas programables en la selección de métodos

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

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.

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence Español (ES)

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 www.eppendorf.com

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.

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.

6.3 Descripción de métodos: fluorimetría

6.3.1 Grupo de métodos: rutina

Los métodos del grupo *Routine* están preprogramados como métodos fijos. Después de modificar los parámetros de método en los métodos preprogramados, debe adjudicarse un nuevo nombre para el método.

Los siguientes métodos preprogramados se basan en las especificaciones de trabajo de la empresa Invitrogen para el reactivo correspondiente. La realización de este proceso podría requerir una licencia de la empresa Molecular Probes, Inc., Eugene, OR, EE.UU. o Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, EE.UU.

Ácidos nucleicos

Detección fluorimétrica de la concentración de ácidos nucleicos tras la reacción con reactivos.

- Medición de ADN con PicoGreen, evaluación de curva/recta estándar.
- Medición de ARN con RiboGreen, evaluación de curva/recta estándar.
- Medición de oligonucleótidos con OliGreen, evaluación de curva/recta estándar.

Las variantes del programa de métodos se han programado como "short methods". En "short methods" puede medir con sólo dos estándares (el estándar cero y otro estándar). Los resultados no son tan precisos como en la medición con varios estándares, sin embargo, la exactitud es suficiente para muchos fines, ya que la curva estándar (relación entre señal de medición y concentración) es aproximadamente lineal.

Medición de ADN con reactivos Qubit, evaluación de curva/recta estándar.
 Ningún "short method", ya que la curva estándar no es lineal.

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence Español (ES)

Proteínas

Detección fluorimétrica de la concentración de proteínas tras la reacción con reactivos.

Medición de proteínas con NanoOrange, evaluación de curva/recta estándar.
 El método se basa en una especificación de trabajo de la empresa Invitrogen para este reactivo.
 Ningún "short method", ya que la curva estándar no es lineal.



Los métodos con reactivos Qubit varían de las especificaciones de trabajo de la empresa Invitrogen. Deben realizarse además dos diluciones estándar.

Para la preparación de muestras y la realización puede recibir más información de Eppendorf. Los datos de contacto de Application Support se encuentran en la parte de atrás del manual de instrucciones.

6.3.2 Grupo de métodos Basic

Raw fluorescence

- Medición de la RFU.
- · Hay un método preprogramado para la medición en la longitud de onda de medición 520 nm.

Estándar

- Medición de la RFU y evaluación con estándar.
- Hay un método preprogramado para la evaluación con estándar.

Calibration curve

- Medición de las RFU y evaluación con 2 a 12 estándares
- Se pueden seleccionar distintos procedimientos de evaluación como regresión lineal ("Curve fit") o regresión no lineal.
- Indicación gráfica y tabular de los resultados estándar.
- Es posible usar la última evaluación estándar guardada.
- Hay un método preprogramado para la evaluación con curva de calibración.

6.4 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 de extinción en pág. 101</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 \(\lambda\) 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. |
| Wavelength (em) | Selección: 520 nm 560 nm | Solo para el grupo de métodos fluorimétricos Basic : Longitud de onda de medición: basándose en la fluorescencia medida en esta longitud de onda (longitud de onda de emisión) se calcula la concentración. En los métodos del grupo Routine la longitud de onda está preprogramada de manera fija. |
| Wavelength (ex) | Ninguna entrada posible. Longitud de onda de medición: 470 nm | Solo para los grupos de métodos fluorimétricos: Se muestra la longitud de onda de excitación de 470 nm. |

| Parámetro | Entrada | Explicación |
|-------------------|---|--|
| 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 <i>Routine</i> 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. |
| Fórmula: <i>a</i> | Entrada de valores: Valor para a en la fórmula de evaluación. Límite: máx. 5 dígitos incluyendo el punto decimal. | Solo para el grupo de métodos Dual wavelength . Valor para a en la fórmula: $[(a*A1) / (b*A2)] * c + d$ y $[(a*A1) - (b*A2)] * c + d$. |
| 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 b 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: d | Entrada de valores: Valor para d en la fórmula de evaluación. Límite: máx. 5 dígitos incluyendo el punto decimal. | Solo para el grupo de métodos Dual wavelength . Valor para d en la fórmula: $[(a*A1) / (b*A2)] * c + d$ y $[(a*A1) - (b*A2)] * c + d$. |
| Calculation | Selección: Factor Standard | Procedimiento de evaluación para el cálculo de la concentración de la muestra a partir de la absorbancia medida. |

| Parámetro | Entrada | Explicación |
|----------------|--|---|
| Factor | Entrada de valores: Factor. Límite: máx. 6 dígitos incluyendo el punto decimal. | Factor para la conversión de valores de absorbancia/RFU en concentración. En los siguientes grupos de métodos también es posible introducir factores negativos: 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. |
| 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). |

| Parámetro | Entrada | Explicación |
|-----------------|---|--|
| Correct A260 1 | Selección: on I 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 I 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 I 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). |
| Correct A260 2 | Selección: on I 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 I 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 I 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. |

| Parámetro | Entrada | Explicación |
|---------------------|--|--|
| A260/A280 | Selección: on I off | Solo para ácidos nucleicos. En la medición de muestras, indicación de la ratio A260/A280 adicionalmente al resultado. |
| A260/A230 | Selección: on I 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 I 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). |
| 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 I 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. |
| Autoprint | Selección: on I 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 I off | Si se selecciona el parámetro Calculate Transmission , se muestra la transmisión (en %) de la muestra. |

6.5 Pasos de métodos



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. |

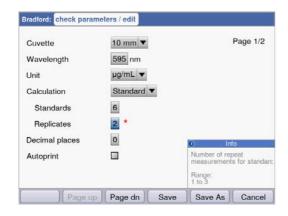
Con las teclas programables [Next >] y [< Back] navega entre los pasos del método. Con [Abort] y [Finish] puede cancelar y/o finalizar la secuencia de medición. El nombre de esta tecla programable cambia de [Abort] a [Finish] después de la primera medición de una muestra.

6.5.1 check parameters



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.

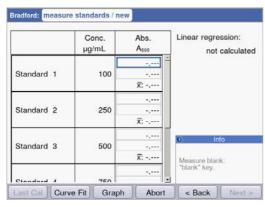
Teclas programables

- [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**.

6.5.2 measure standards



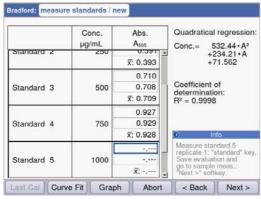
La primera solución patrón a medir está marcada en la pantalla. Después del blanco (tecla **blank**), mida todas las soluciones patrón una tras otra (tecla **standard**).

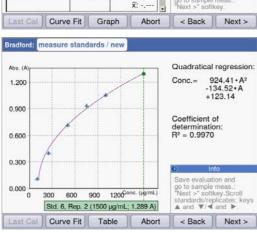
Si mide más de una réplica por solución patrón, se calculará y mostrará automáticamente la media para cada solución patrón.

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.

Teclas programables

- [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. 104)* 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.

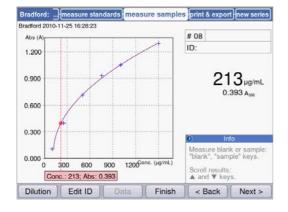
Con las teclas de cursor
y
puede navegar entre las soluciones patrón para visualizar los resultados. Si hay más de una réplica por solución patrón, puede cambiar entre los resultados de las réplicas con
y
Len la representación gráfica también puede seleccionar y medir soluciones patrón individuales o 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.

6.5.3 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. 61).

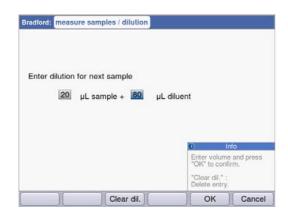
Teclas programables

- [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. 101*).

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

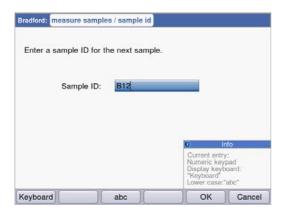
- [Clear dil.]: Borrar los valores para la dilución de muestras.
- [OK]: Confirmar la dilución de muestras y retornar a la medición de muestras.
- [Cancel]: Cancelar la entrada y retornar a la medición de muestras.

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

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence Español (ES)

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].
- 2. Introduzca el ID de la muestra (máximo 12 dígitos).

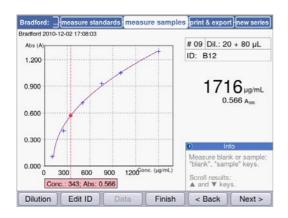
Alternativas para la entrada de texto:

- 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.

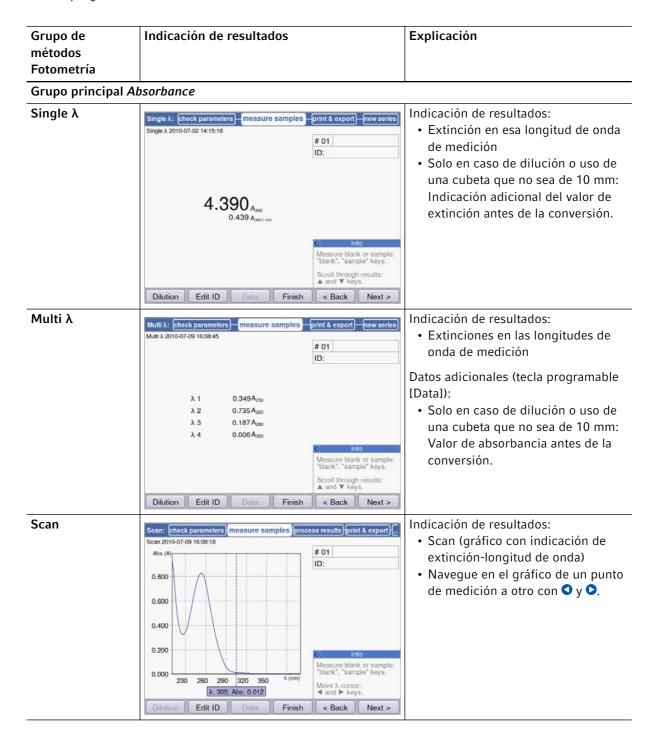
Resultado con dilución e ID

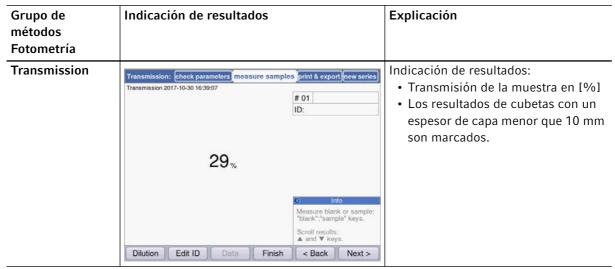


Resultado con dilución e ID de la muestra.

6.5.4 Muestras de medición: Visualización de resultados

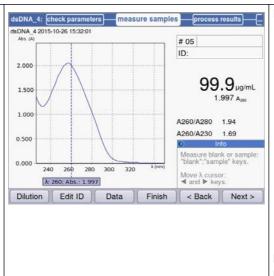
En esta sección obtendrá para todos los grupos de métodos una representación de indicaciones de resultados típicas, así como una visión general de otros datos de resultados que puede acceder a través de la tecla programable [Data].





Grupo principal Routine

Nucleic acids

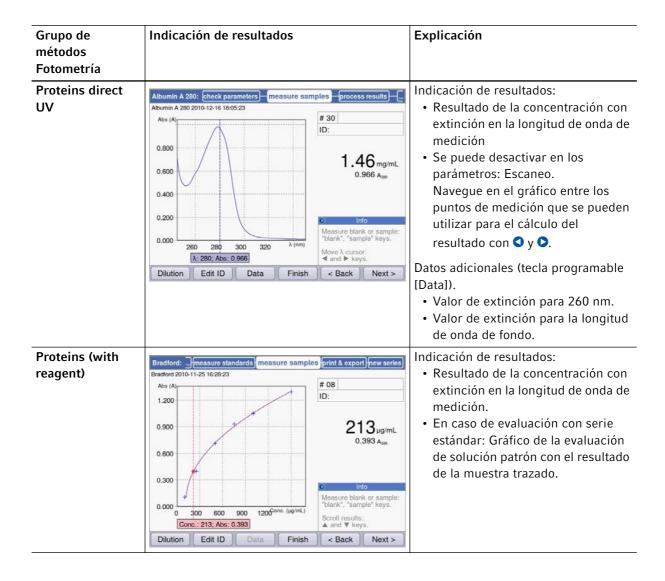


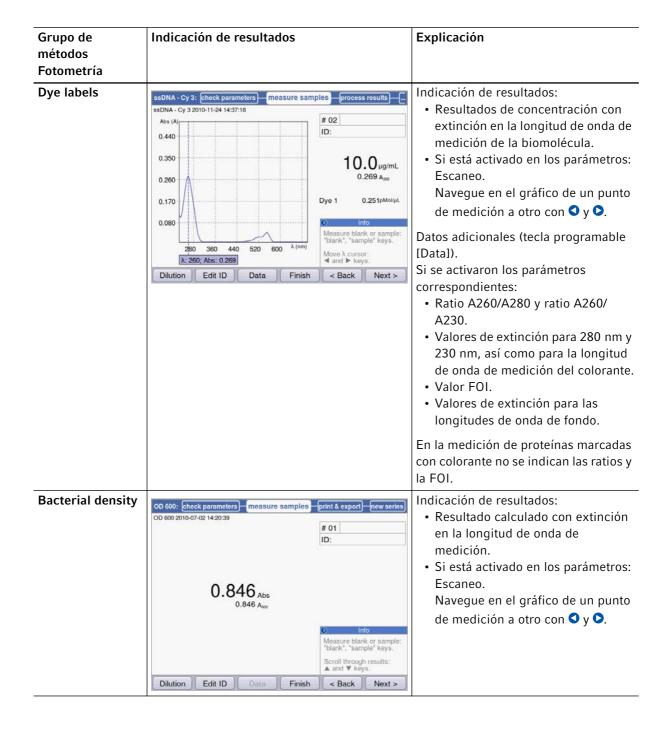
Indicación de resultados:

- Resultado de la concentración con extinción en la longitud de onda de medición
- Se puede desactivar en los parámetros: Ratio A260/A280
- Se puede desactivar en los parámetros: Ratio A260/A230.
- Se puede desactivar en los parámetros: Escaneo.
 Navegue en el gráfico entre los puntos de medición que se pueden utilizar para el cálculo del resultado con y.

Datos adicionales (tecla programable [Datal).

- Valor de extinción para 280 nm.
- Valor de extinción para 230 nm.
- Valor de extinción para la longitud de onda de fondo.



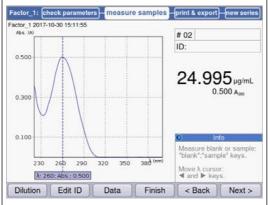


Español (ES)

| Grupo de | Indicación de resultados | Explicación |
|--------------------|--------------------------|-------------|
| métodos | | |
| Fotometría | | |
| Grupo principal Bo | nsic | • |

Grupo principai *Basio*

Factor, standard



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 \bigcirc y \bigcirc .
- Con la tecla programable [Data] se muestran los valores de extinción para las longitudes de onda de fondo.

Calibration curve

Análogamente a Proteins (with reagent) (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 principal Advanced

Dual wavelength



Indicación de resultados:

- Resultados de la concentración: Se calcula a partir de **A**_{calc}. con factor o evaluación de solución patrón.
- A_{calc.}: 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 de medición.

Datos adicionales (tecla programable [Data]).

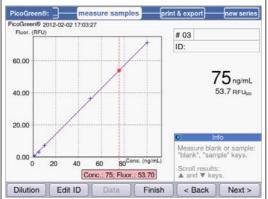
Si se activaron los parámetros correspondientes:

· Valor de extinción para la longitud de onda de fondo.



Grupo principal Routine

Nucleic acids



Indicación de resultados:

- Resultado de la concentración con el valor RFU en la longitud de onda de medición
- Gráfico de la evaluación de solución patrón con el resultado de la muestra trazado.

Proteins

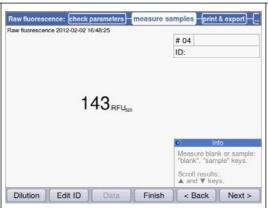
Análogamente a Nucleic acids (véase arriba).

Indicación de resultados:

- Resultado de la concentración con el valor RFU en la longitud de onda de medición
- Gráfico de la evaluación de solución patrón con el resultado de la muestra trazado.

Grupo principal Basic

Raw fluorescence



Indicación de resultados:

- Valor RFU en la longitud de onda de medición
- Solo en caso de dilución: Indicación adicional del valor RFU antes de la conversión.

| Grupo de métodos Fluorimetría | Indicación de resultados | Explicación |
|-------------------------------------|---|---|
| Standard | Standard:measure standards measure samples print & export new series Standard 2012-02-02 16:50:31 # 02 ID: | Indicación de resultados: • Resultado de la concentración con el valor RFU en la longitud de onda de medición |
| | Unto Measure blank or sample: "blank", "sample" keys. Scroll results: | |
| Calibration curve | Análogamente a <i>Nucleic acids</i> (véase arriba). | Indicación de resultados: Resultado de la concentración con el valor RFU en la longitud de onda de medición Gráfico de la evaluación de solución patrón con el resultado de la muestra trazado. |

6.5.5 process results

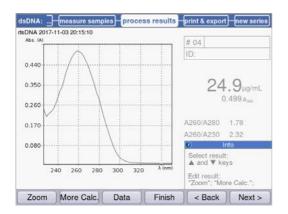
Después de la medición de muestras siguen en el modo de parámetro dos pasos opcionales: **process results** y **print & export**.

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

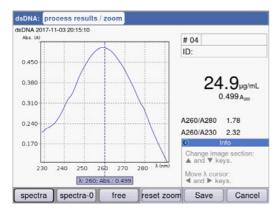
Igual que en la indicación de resultados, puede navegar entre los resultados de las muestras de la serie de mediciones con las teclas de cursor • y • y seleccionar deliberadamente resultados para su retoque.

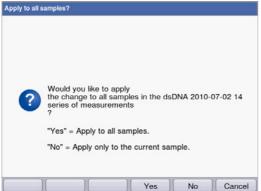
Tab. 6-4: Opciones: Visión general

| 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 |



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.

6.5.6 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.

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]:

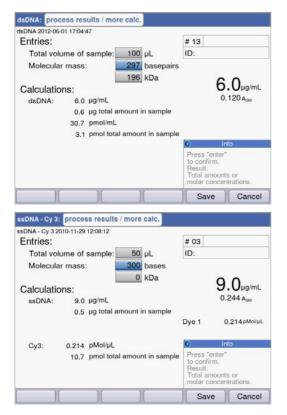
Los límites de intervalos se pueden introducir libremente para ambos ejes.

Navegación entre los campos de entrada con las teclas de cursor $(\bigcirc, \bigcirc \bigcirc, \bigcirc)$.

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.



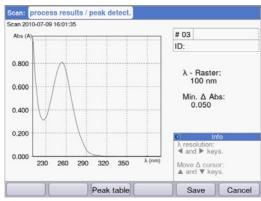
- Para **dsDNA** se supone que se trata de un ácido nucleico bicatenario al calcular la concentración molar. Para los métodos **ssDNA**, **RNA** y **Oligo** se supone que se trata de un ácido nucleico monocatenario.
- Para métodos que fueron programados en el grupo principal *Routine*, grupo de métodos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

Peak detection

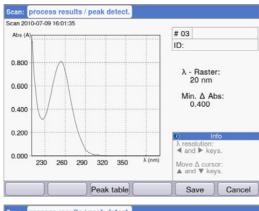
Presione la tecla programable [Peaks]. Para la detección de picos (Peak) puede variar dos criterios:

- 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).

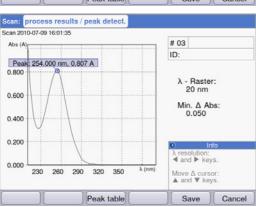
Ejemplos:



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.

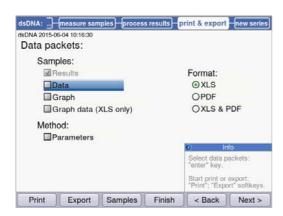


Trama λ : 20 nm, mín. Δ Abs: 0,050: El pico es detectado.

6.5.7 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



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.

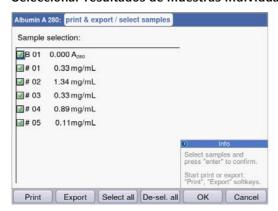
Teclas programables

- [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. | |
| 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

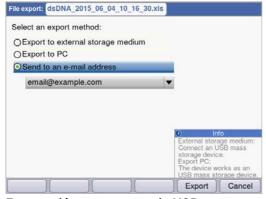
- Presione la tecla programable [Samples] para llamar la selección de muestras.
- Navegue con las teclas de cursor y confirme con enter.

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.



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. 15*).
- 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. 15*).
- 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".



Editar direcciones de correo electrónico

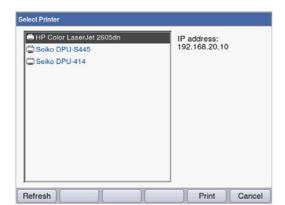
- Seleccione en la lista desplegable "Edit" y confirme con el botón enter.
 Se abrirá una nueva ventana en la que se puede editar las direcciones de correo electrónico.
- [Edit]: Editar dirección de correo electrónico.
- [New]: Añadir una nueva dirección de correo electrónico.
- [Delete]: Borrar dirección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



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

6.5.8 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



- 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.

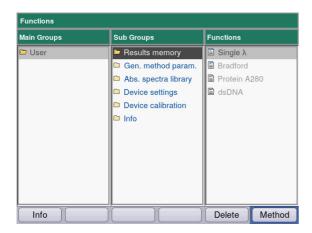
Español (ES)

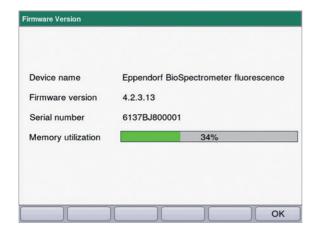
7 Funciones

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.





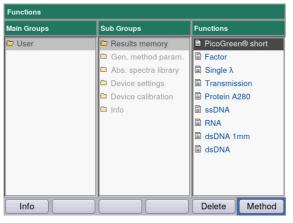
Tecla programable [Info]:

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

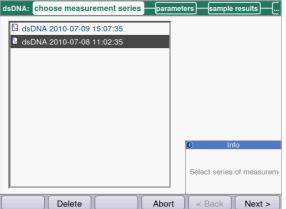
Tab. 7-1: Visión general de las funciones

| 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 muchos métodos. |
| 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 fluorescencia. |
| Info | Licencias de código abierto. |

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.

dsDNA: choose measurement series parameters Page 1/2 Cuvette 10 mm Unit µg/mL Molar Unit pmol/mL 50 Factor Decimal places A260/A280 on A260/A230 off Show more parameters "Page up" or "Page dn". Autoprint off

Abort

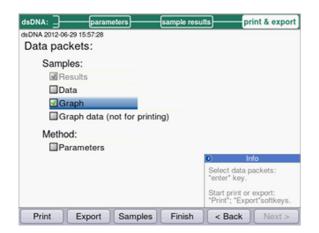
< Back

Next >

Page dn

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.

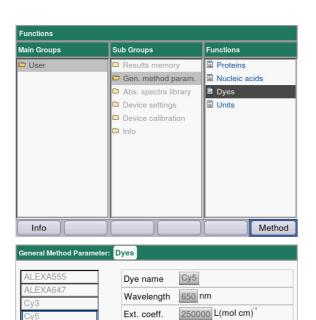
La asignación de las teclas programables se corresponde con la asignación en los pasos del método.



► 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**.

7.1.2 General Method Parameters



- ▶ 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

Teclas programables

New

Edit

- [Edit]: Editar el grupo de parámetros seleccionado.
- [New]: Crear un nuevo grupo de parámetros.
- [Delete]: Borrar el grupo de parámetros seleccionado.

4.000 pMol μL

Settings cannot be changed.

ОК

0.00

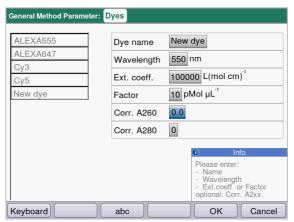
0.05

• [OK]: Retornar a la selección de funciones.

Factor

Corr. A260

Corr. A280

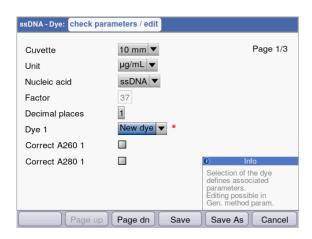


- Para editar un grupo de parámetros, seleccione con o y o el parámetro a editar.
- ▶ Confírmelo con enter.

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**:



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 General Method Parameter

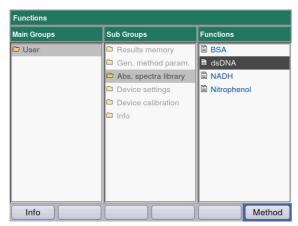
| Parámetro | Explicación |
|--|--|
| Proteins | Estos parámetros son cargados en los parámetros de método al seleccionar una proteína durante la programación de un método del grupo Dye labels o Proteins direct UV . Los parámetros programados de fábrica están protegidos contra escritura y no se pueden 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 concentraciones molares y cantidades de ácidos nucleicos en pág. 106</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 nameWavelengthExt.coeff.FactorCorr. A260Corr. 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 A</i> ₂₆₀ y corrección A ₂₈₀ en pág. 105). |
| 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. |

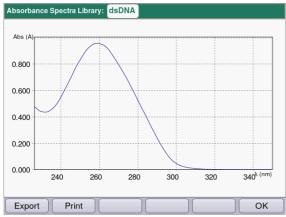


- Las características para proteínas que no han sido preprogramadas de fábrica se pueden determinar en el banco de datos expasy: http://www.expasy.org/tools/protparam.html.
- También puede encontrar una tabla con valores $A_{1\%}$ para muchas proteínas en: C.N.Pace et al., Protein Science (1995), 4: 2411–2423 (tabla 5). Los valores $A_{1\%}$ se tienen que multiplicar por 0,1 para obtener los valores $A_{0,1\%}$ necesarios.

7.1.3 Absorbance Spectra Library



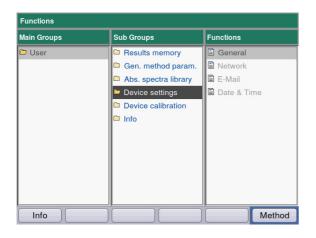
En la columna derecha selecciona el espectro que desea llamar y lo confirma con **enter**.



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. 61).
- [OK]: Retornar a la selección de funciones.

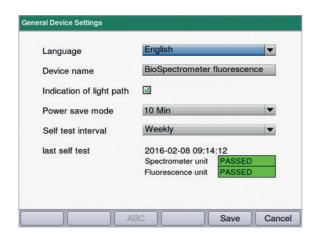
7.1.4 Device Settings



Los siguientes ajustes de pueden adaptar:

Device Settings

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

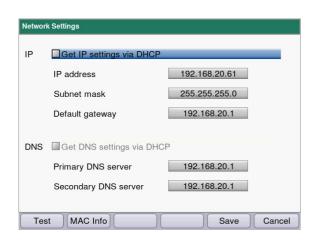


General Device Settings

- 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.
- · Aviso de indicación del paso óptico.
- 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.





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

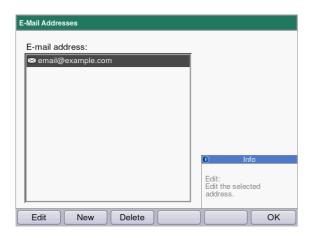
Teclas programables

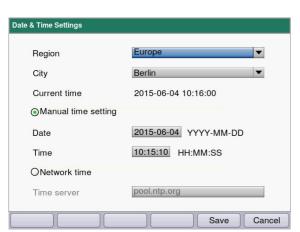
- [MAC Info]: Información sobre ajustes de la red informática.
- [Save]: Guardar modificaciones y retornar a la selección de funciones.
- [Cancel]: Retornar a la selección de grupos de parámetros sin modificación alguna.

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.





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. 77).

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.

directamente en el recorrido óptico. Limpie el vidrio cuidadosamente.

Limpieza del compartimento de la cubeta

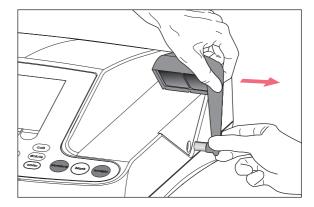
2. Limpie el compartimento de la cubeta únicamente con un bastoncillo de algodón libre de hilachas humedecido en etanol o isopropanol. Evite que entre líquido en el compartimento de la cubeta. Si fue necesario humedecerlo con agua para eliminar la suciedad, debe utilizar un nuevo bastoncillo de algodón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

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. 75).
- 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. 76*).
- 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. 97).
- 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.
 - Comprobación de la unidad espectrométrica: la etiqueta adhesiva del filtro utilizado señala hacia adelante.
 - Comprobación de la unidad de fluorescencia: La etiqueta adhesiva del filtro utilizado señala hacia la derecha.
- 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).

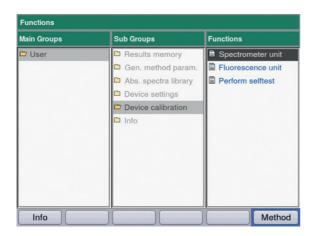
Para la medición, inserte primero el filtro de blanco (para la medición del blanco) y luego inserte los filtros de prueba y las cubetas en el compartimento de la cubeta. Los valores de absorbancia medidos para los filtros de prueba son comparados con el margen de valores permisible. Los valores límite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

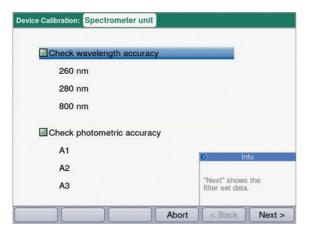
eppendorf BioSpectrometer fluorescence reference filter set Function: Device calibration/Spectrometer unit Order No./Best. Nr.: 6137 928.009 Set No./Satz Nr.: 958 Limits measured against Blank A 0 at approx. 20°C Grenzwerte gemessen gegen Blank A 0 bei ca. 20°C 921.958 SN: 6135 914.958 916.958 917.958 937.958 922.958 923.958 Filter Blank Sample Sample Sample Sample Sample Туре A 0 260 nm 280 nm 800 nm A 1 A 2 A 3 Limiting values (A)/Grenzwerte (E 0.147-0.171 0.821-0.872 1.504-1.598 280 nm 0.000 1.053-1.315 0.142-0.166 0.826-0.877 1.485-1.577 320 nm 0.000 1.476-1.567 0.136-0.160 0.850-0.903 550 nm 0.000 0.139-0.163 0.925-0.982 1.368-1.453 562 nm 0.000 0.139-0.163 0.924-0.981 1.360-1.444 595 nm 0.000 1.338-1.421 700 nm 0.000 0.136-0.160 0.911-0.967 1.281-1.361 800 nm 0.000 0.134-0.158 0.901-0.957 1.243-1.320 Zufällige Messabweichung der Wellenlänge Zufällige Messabweichung des Photometers Limiting values CV (%)/Grenzwerte VK (%) 260 - 405 nm ≤ 2.0 % ≤ 3.0 % 550 - 800 nm ≤ 3.0 % ≤ 2.0 % Fluorescence unit Filter Sample Fluorescence F1 520 nm / 560 nm Type 0.95-1.05 Random error of the fluorescence measurement Zufällige Messabweichung der Fluorescencemessung Limiting values CV (%)/Grenzwerte VK (%) 520 / 560 nm ≤ 3.0 % Filter auf NIST® rückführbar / Filter traceable to NIST® Wavelength and photometric characterization of filters: All characterizations are performed on a Cary 100 Bio reference UV/Vis spectrophotometer, serial number EL 99023107. The instrument is requalified regularly by the manufacturer, and is confirmed and documented to perform within manufacturer's specifications Wellenlängen- und photometrische Bestimmung der Filter: Alle Messungen werden auf einem Cary 100 Bio Referenz UV/Vis Spektrophotometer, nmer EL 99023107 durchgeführt. Dieses Instrument wird regelmäßig vom Hersteller requalifiziert und die spezifikationsgemäße Funktion dokumentiert. 21.12.2017 Sianature

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

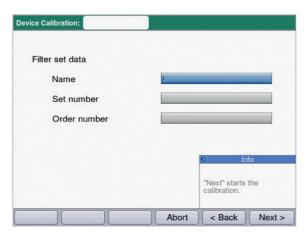
8.3.1.1 Realizar comprobación a la exactitud fotométrica



 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.



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

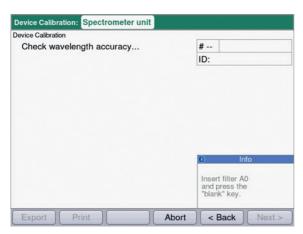
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence Español (ES)



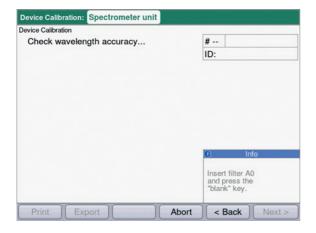
- Si se realiza la calibración por primera vez, se omite el paso 6.
- Si ya se ha realizado la calibración, se mostrarán los resultados de la última calibración.



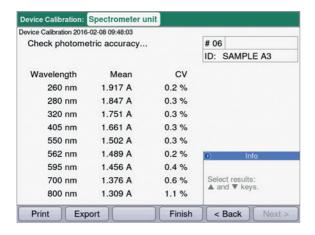
6. Seleccione <New Calibration> e inicie con [Next >] la nueva calibración.



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



- 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).



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

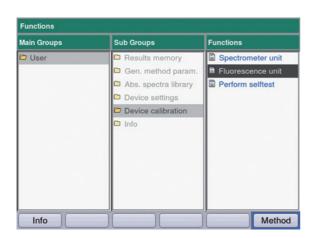
Con las teclas ○ y ○ puede volver a ver los resultados de los diversos filtros de prueba.

Teclas programables

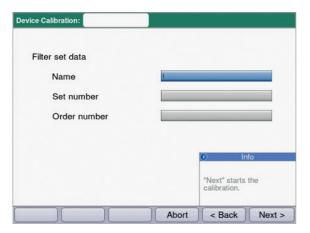
- [Finish]: Finalizar prueba.
- [Export]: Exportar resultados como PDF.
- [Print]: Imprimir resultados.
- 10. Compare los valores medios y los valores cv con la tabla suministrada.

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 fluorescencia



- Seleccione en el grupo Device calibration la función Fluorescence unit. Confírmelo con enter
- Coloque el filtro F1 en el compartimento de la cubeta. Pulse la tecla programable Measure. El equipo mide el filtro de prueba 15 veces en 2 longitudes de onda de emisión. Después de la medición, el indicador muestra 2 valores característicos: "Ratio" como medida para el ajuste correcto y "CV" como medida para el ruido.



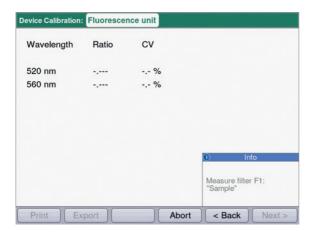
- 3. Rellene los campos de entrada. Los datos son opcionales.
- 4. Conmute con [Next >] al paso siguiente.



- Si se realiza la calibración por primera vez, se omite el paso 5.
- Si ya se ha realizado la calibración, se mostrarán los resultados de la última calibración.



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



 Compare los valores característicos con los valores de la tabla suministrada. En caso de que los valores medidos no coincidan con el margen de valores permisible, 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. 71*). 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

- Determinación del error de medición aleatorio de la luz de excitación ("ruido errático")
- Determinación de la altura y desviación de la señal de la luz emitida
- ▶ 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. 87*), diríjase al servicio técnico de Eppendorf.

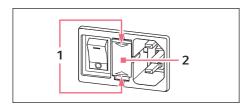
8.4 Sustituir fusibles

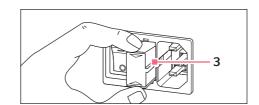


¡PELIGRO! Descarga eléctrica.

▶ 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.

Mantenimiento

84

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence Español (ES)

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 . |
| | Fluorimetría: las sustancias perturbadoras refuerzan o debilitan la señal de fluorescencia. | ▶ Elimine las sustancias perturbadoras. Si no es posible eliminar las sustancias perturbadoras, no se puede utilizar la fluorimetría como método de medición. |
| | Fluorimetría: la cubierta del compartimento de la cubeta está abierta. | Cierre la cubierta del compartimento de la cubeta antes de la medición. |

| 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 el blanco del reactivo no solamente al comienzo, sino también durante la serie de 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 Haz de luz de la fluorimetría: de derecha a izquierda |

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 Conexión de la impresora al puerto USB en pág. 20). |
| 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. |
| Medición de blancos: la emisión en la longitud de onda de medición es demasiado alta. | La solución de blanco utilizada para la medición del blanco tiene una fluorescencia demasiado alta. Solución de blanco turbia o equivocada. | Comprobar la solución de blanco y medir el blanco nuevamente. |

| Síntoma/mensaje | Causa | Ayuda |
|--|---|---|
| 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. |
| 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. |

| Síntoma/mensaje | Causa | Ayuda |
|--|---|--|
| 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. |
| ¡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. | ▶ Observe los límites mencionados durante la aplicación del zoom. | |
| | 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 y/o -3 A | |

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.

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

| 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). |
| 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. |

| Síntoma/mensaje | Causa | Ayuda |
|--|---|--|
| 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. |
| La extinción en la long. de onda de medición es demasiado alta. La emisión 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. Fotometría: extinción demasiado elevada de la solución de medición. Fluorimetría: emisión demasiado elevada de la solución de medición. | ▶ 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. |
| 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). |

| Síntoma/mensaje | Causa | Ayuda |
|---|---|---|
| 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. |

94

Solución de problemas Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence Español (ES)

10 Transporte, almacenaje y eliminación

10.1 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.

11 Datos técnicos

11.1 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: 25 W aprox. 15 W durante el manejo aprox. 5 W con pantalla atenuada |
| 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 | 5,4 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

| Espectrofotómetro de absorción de un solo haz con haz de referencia |
|---|
| Lámpara de destello de xenón |
| Rejilla cóncava holográfica con corrección de aberraciones |
| Matriz de fotodiodos CMOS |
| 200 nm a 830 nm |
| En función del método, libremente seleccionable |
| ≤ 4 nm |
| 1 nm |
| ±1 nm |
| ≤ 0,5 nm |
| 0 A a 3,0 A con 260 nm |
| $\Delta A = 0,001$ |
| ≤ 0,002 con A = 0 ≤ 0,005 (0,5 %) con A = 1 |
| ±1 % con A = 1 |
| < 0,05 % |
| |

11.5 Fluorimeter

| Principio de medición | Fluorímetro de filtro confocal con haz de referencia |
|---------------------------------|---|
| Fuente de luz | LED |
| Descomposición espectral | Estructura de filtros dicroicos y de paso largo |
| Receptor de radiaciones | Fotodiodo |
| Longitud de onda de excitación | 470 nm |
| | Ancho de banda: 25 nm |
| Longitud de onda de emisión I | 520 nm |
| | Ancho de banda: 15 nm |
| Longitud de onda de emisión II | 560 nm |
| | Ancho de banda: 40 nm |
| Campo de medida | De 0,5 nM a 1 000 nM de fluoresceína (longitud de onda de emisión |
| | 520 nm) |
| Error de medición aleatorio del | ±2 % a 1 nM de fluoresceína (longitud de onda de emisión 520 nm) |
| fluorímetro | |

11.6 Otros parámetros técnicos

| 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 |
| 12,5 mm × 12,5 mm, no calefactado |
| Mín. 36 mm |
| 8,5 mm |
| 22 teclas de membrana |
| 6 teclas de membrana como teclas programables |
| Extinción, transmisión, concentración, escaneo (espectro de |
| longitudes de onda de extinción) |
| Otros datos adicionales dependientes del método (ratio, FOI, |
| extinciones de fondo) |
| Fluorimetría: RFU, concentración |
| Pantalla TFT de 5,7", VGA |
| Inglés, francés, español, italiano, alemán, japonés |
| USB Master: Para memoria USB y impresora térmica DPU-S445 |
| USB Slave: Para conexión a un PC |
| Interfaz serial RS 232: Para impresora térmica DPU-414 |
| Interfaz de Ethernet RJ45: Para conexión a una red |
| Los equipos conectados tienen que cumplir los requisitos de |
| seguridad según la norma IEC 60950-1. |
| |

11.7 Parámetros de aplicación

| Métodos | Métodos preprogramados y libremente programables para todos los procedimientos de medición y evaluación: Mediciones de extinción en una o varias longitudes de onda, escaneos Medición de transmisión en una longitud de onda Mediciones de fluorescencia a 520 nm o 560 nm Ácidos nucleicos y proteínas, OD600, métodos de tinción (medición paralela de biomolécula y marca de colorante) Métodos con evaluación vía factor, solución patrón y serie estándar Método de dos longitudes de onda con evaluación por subtracción y división |
|--|--|
| Evaluación en función del método | Extinción, concentración vía factor y solución patrón. RFU, concentración vía 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 |
| 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.) |

Español (ES)

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. En la fluorometría no se pueden comparar los valores RFU de un equipo a otro, sino que siempre se tienen que relacionar a soluciones patrón con una fluorescencia o concentración conocida.

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.

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

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

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

 A_{Bkqr} = 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).

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

AXXX, 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

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".

Español (ES)

12.5 Dilución

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

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

 $C_{Dil, korr}$ = 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_{YYY} = 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.

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

 $M = \text{cantidad total calculada (masa) del ácido nucleico en el recipiente de la muestra. Unidad: <math>\mu q$.

C = concentración del ácido nucleico calculada a partir de la medición. Unidad: μ g/mL o ng/ μ L.

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

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. 39*). 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. 103*). 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:

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

 $F = \text{factor para el colorante; unidad: pmol/}\mu\text{L}.$

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

Español (ES)

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_{Dye} = 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/ μ L.

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

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:

$$A_{calc} = \frac{a \times A_1}{b \times A_2} \times c + d$$

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

 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 Fluorimetría

12.9.1 RFU

Relative Fluorescence Unit: las unidades de fluorescencia relativa (RFU) son una medida para la fluorescencia medida. A diferencia de los valores de absorbancia en la fotometría, las RFU no se pueden comparar de dispositivo a dispositivo, sino que deben referirse siempre a estándares de fluorescencia o concentración conocida.

12.9.2 Blanco

Todas las RFU se refieren siempre al último blanco medido.

Una medición en blanco es obligatoria, por tanto, al principio de cada serie de medidas y también posible durante una serie de medidas. En caso ideal, la medición en blanco debería poder compensar todas las posibilidades de influencia en la RFU de la solución de medición. El blanco debería medirse, por tanto, con el tampón utilizado también para la medición de muestras así como en la misma cubeta – salvo si las cubetas utilizadas para la medición del blanco y de la muestra están igualadas ópticamente entre sí, es decir, tienen la misma RFU en la longitud de onda de medición

12.9.3 Evaluación con estándar y curva/recta estándar, dilución

La evaluación con un estándar o con una curva/recta estándar es análoga a la evaluación de métodos fotométricos (ver *Evaluación con factor o con solución patrón en pág. 103*).

Si se evalúa con más de un estándar, pueden seleccionarse con la [Curve fit] en el paso de métodos **measure standards/new** distintos procedimientos de evaluación para la curva/recta estándar (ver *Evaluación con curva/línea recta de solución patrón en pág. 104*).

El cálculo del resultado de la dilución se realiza como en los métodos fotométricos (ver *Dilución en pág. 105*).

Método de evaluación

112

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence Español (ES)

Información para pedidos 13

| 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 fluorescence |
| 6137 000.006 | _ | 230 V/50 – 60 Hz, conector de la red de distribución Europa |
| 6137 000.014 | 6137000014 | 120 V/50 – 60 Hz, conector de la red de distribución América |
| | | Juego de filtros de referencia BioSpectrometer fluorescence |
| 6137 928.009 | 6137928009 | juego de filtros para verificar la exactitud fotométrica y el error |
| | | sistemático de longitudes de onda (según NIST), y para |
| | | verificar la precisión fluorimétrica (error aleatorio) y la |
| | | linealidad |
| | | 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 |
| | | Papel térmico |
| 0013 021.566 | 952010409 | 5 rollos |
| | | Eppendorf UVette 220 nm – 1 600 nm |
| | | Cubeta de plástico original de Eppendorf, PCR clean, |
| | | Protein-free |
| 0030 106.300 | 952010051 | 50 - 2 000 μL, 80 unidades, embaladas individualmente |
| | | Eppendorf UVette routine pack 220 nm – 1 600 nm |
| | | Eppendorf Quality |
| 0030 106.318 | 952010069 | 50 - 2 000 μL, 200 unidades, caja recerrable |
| | | Eppendorf macro Vis Cuvettes |
| 0030 079.345 | 0030079345 | 10 × 100 unidades |
| | | Eppendorf semi-micro Vis Cuvettes |
| 0030 079.353 | 0030079353 | 10 × 100 unidades |
| | | Eppendorf Cuvette Rack |
| | | 36 posiciones, para cubetas de vidrio y plástico, posiciones |
| | | numeradas |
| 0030 119.851 | 0030119851 | 2 unidades, polipropileno, autoclavable |

114

Información para pedidos Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence Español (ES)



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.

Product name:

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence

Product type:

Photometer

Relevant directives / standards:

2014/35/EU: EN 61010-1

UL 61010-1, CAN/CSA C22.2 No. 61010-1

2014/30/EU: EN 55011, EN 61326-1

2011/65/EU: EN 50581

Date: December 28, 2015

Management Board

Portfolio Management

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

ISO 9001 Certified ISO 13485 Certified ISO 14001 Certified



Evaluate Your Manual

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