



Medical-Biological
Research & Technologies

RTS-1 / RTS-1C

Registrador de crecimiento celular en tiempo real



Manual de funcionamiento
Certificado

para la versión
V.1AW

Contenidos

1. Precauciones de seguridad
2. Información general
3. Cómo empezar
4. Calibración
5. Funcionamiento
6. Métodos aprobados para el cultivo de microorganismos
7. Recomendaciones para crear ajustes personales para el cultivo de microorganismos. Puntos que se deben tener en cuenta:
 - 7.1. Valores específicos de distribución de temperatura (psicrófilos, mesófilos, termófilos)
 - 7.2. Crecimiento celular en función de la intensidad de rotación
 - 7.3. Ventilación y tipos de tubos recomendados
 - 7.4. Crecimiento celular dependiendo de la frecuencia de medición (aerobios, anaerobios)
 - 7.4. Tamaño de partículas y coeficientes de calibración 600 nm/850 nm
 - 7.5. Intervalo lineal de mediciones DO como una función de volumen medio
8. Especificaciones
9. Mantenimiento
10. Calibración del dispositivo para el mantenimiento
11. Garantía y reclamaciones
12. Declaración de conformidad

1. Precauciones de seguridad

Significado de los siguientes símbolos:



¡Precaución! Asegúrese de haber leído y comprendido este manual antes de utilizar el equipo. Preste especial atención a las secciones marcadas con este símbolo.

SEGURIDAD GENERAL

- Utilice este producto solo según se indica en el manual de funcionamiento proporcionado.
- La unidad no se debe utilizar si se ha caído o dañado.
- Después del transporte o el almacenamiento, mantenga la unidad a temperatura ambiente durante 2 horas antes de conectarla al circuito eléctrico.
- Utilice solo métodos de limpieza y descontaminación recomendados por el fabricante.
- No realice modificaciones en el diseño de la unidad.

SEGURIDAD ELÉCTRICA

- No enchufe la unidad a una toma de corriente sin conexión a tierra, ni tampoco utilice un cable de prolongación sin conexión a tierra.
- Conecte el dispositivo únicamente a una fuente de alimentación con el voltaje correspondiente al que aparece en la etiqueta del número de serie.
- Utilice solo la unidad de fuente de alimentación externa proporcionada con este producto.
- Asegúrese de que se puede acceder con facilidad al interruptor y a la unidad de fuente de alimentación externa durante el uso.
- Desconecte la unidad del circuito eléctrico antes de moverla.
- Apague la unidad desactivando el interruptor de alimentación y desconectando la unidad de fuente de alimentación externa de la toma de alimentación.
- Si entra líquido en la unidad, desconéctela de la unidad de la fuente de alimentación externa y haga que la revise un técnico de mantenimiento y reparación.
- No ponga la unidad en funcionamiento en instalaciones en las que se pueda formar condensación. Las condiciones de funcionamiento de la unidad se definen en la sección de Especificaciones.

DURANTE EL FUNCIONAMIENTO

- No ponga la unidad en funcionamiento en entornos con mezclas de productos químicos explosivos o agresivos. Póngase en contacto con el fabricante para obtener información sobre el posible funcionamiento de la unidad en ambientes específicos.
- No ponga la unidad en funcionamiento si está defectuosa o se ha instalado incorrectamente.
- No se debe utilizar fuera de las salas de laboratorio.
- No toque la unidad para comprobar la temperatura. Utilice un termómetro.
- Limpie siempre y descontamine el rotor después del funcionamiento.

SEGURIDAD BIOLÓGICA

- Es responsabilidad del usuario llevar a cabo una descontaminación adecuada si se derraman o se introducen materiales peligrosos en el equipo.

2. Información general

El registrador de crecimiento celular en tiempo real es un dispositivo que se puede utilizar como un incubador con medición de densidad óptica en tiempo real. El control de temperatura permite utilizar el RTS-1/RTS-1C como un incubador, por ejemplo, para cultivar células. Debido a la innovadora tecnología de mezclado (giro inverso de la muestra sobre su propio eje), es posible realizar mediciones de DO sin interferencias con la sonda. El software desarrollado para el registro, la visualización y el análisis de datos permite el funcionamiento en tiempo real.

El modelo RTS-1C está equipado con una unidad de refrigeración que permite la refrigeración de las muestras a +4 °C y la programación de la temperatura mediante el software.

El registrador de crecimiento celular en tiempo real es aplicable en:

- Biología molecular
- Biología celular
- Biotecnología
- Bioquímica
- Química
- Microbiología

Características

- Mezclado innovador debido al giro inverso del tubo con la muestra alrededor de su eje.
- Gracias a la innovadora tecnología de mezclado, es posible medir la densidad óptica y la dispersión de la luz de la muestra en tiempo real sin interferencias de la sonda, manteniendo la esterilidad del proceso.
- El cambio de parámetros como la temperatura, las revoluciones por minuto y el período de giro en una dirección, junto con la posibilidad de creación de algoritmos de experimento (incluida la programación de perfiles de temperatura, la programación de perfiles intensidad de mezclado, el control de la densidad óptica, etc.) permiten tanto el rendimiento de la difícil secuencia de algoritmos del proceso de fermentación, como alcanzar resultados repetibles y coherentes.

Posibilidades del software:

- Seguimiento remoto y control del proceso de fermentación
- Registro en tiempo real de los procesos de agregación/desagregación de la suspensión de partículas o cinética del crecimiento celular
- Gráficos de usuario, incluidos gráficos en 3D
- Pausa
- Guardar y cargar datos de resultados
- Informes de hojas de cálculo en PDF y Excel
- Conexión simultánea de hasta 10 unidades que permite, por un lado, investigar la influencia de los diferentes factores físicos y químicos en el proceso de fermentación y, por otro, investigar la interdependencia de dichos factores en experimentos de matriz.

3. Cómo empezar

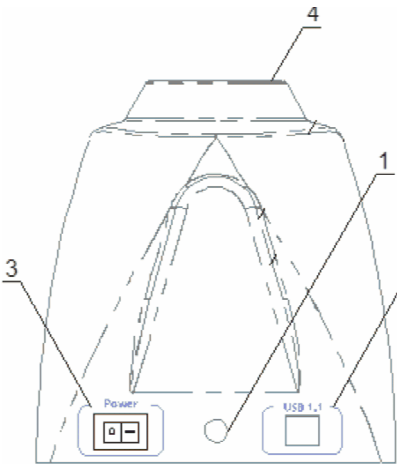
3.1. Desempaquetado

Retire con cuidado los materiales del paquete y guárdelos para un futuro envío y almacenamiento de la unidad.

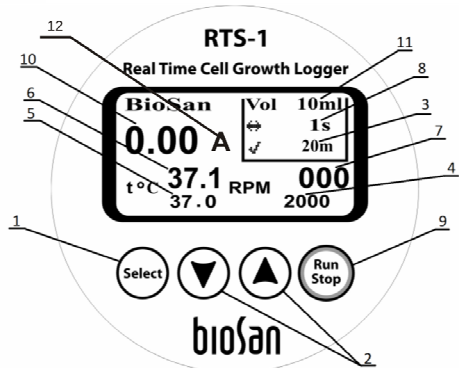
Examine con atención si se ha producido algún daño en la unidad durante el transporte. La garantía no cubre los daños producidos durante el transporte.

3.2. Kit completo. El kit de la unidad incluye:

- RTS-1, registrador de crecimiento celular en tiempo real o RTS-1C, registrador de crecimiento celular en tiempo real con refrigeración 1 unidad
- Tapa 1 unidad
- Recipientes de 50 ml del biorreactor TPP TubeSpin® 20 unidades
- Cable de datos 1 unidad
- Unidad de disco USB con archivos de instalación del software y manual de instalación 1 unidad
- Fuente de alimentación externa 1 unidad
- Manual de funcionamiento, certificado 1 copia



Ilus. 1 Panel trasero



Ilus. 2 Panel de control

3.3. Configuración:

- coloque la unidad en una superficie de trabajo horizontal plana.
- conecte la unidad de fuente de alimentación externa a la toma (Ilus. 1/1) en el lateral trasero de la unidad;
- encienda el ordenador, si se ha apagado;
- instale el software siguiendo el procedimiento de instalación que se describe en el manual correspondiente.

3.4. Características del recipiente del biorreactor:

- Tubos de tipo Falcon. Se necesitan tubos de tipo biorreactor 50 TPP TubeSpin[®] para utilizar el kit con aperturas.
- Volumen de trabajo de 10—ml.
- Forma cónica.
- 5 aperturas (A, B, C, D, E) de diferentes tamaños del tapón de rosca sobre el filtro de gas recubierto en PTFE, estéril y permeable.
- Las aperturas se pueden sellar y, por tanto, se puede ajustar el cambio según sea necesario.
- El cambio de gas estéril está garantizado mediante una membrana de filtro de 0,22 μm .
- Incluso con una densidad celular alta, el suministro de oxígeno a través las aperturas es suficiente.
- El tubo se adapta a un rotor de centrifuga estándar de 50 ml.

4. Calibración

El dispositivo se calibra previamente en la fábrica para el funcionamiento con tubos de tipo Falcon de 50 ml a un intervalo de temperatura de +15 °C a +70 °C (+4 °C a +70 °C para RTS-1C) y guarda los datos de calibración cuando se desactiva. Para verificar la conformidad de la calibración, siga los siguientes procedimientos:

- coja un tubo de tipo Falcon de 50 ml;
- añada $10 \pm 0,1$ ml de agua destilada;
- cierre bien la tapa del Falcon;
- introduzca el Falcon en la toma (Ilus. 1/4);
- defina el parámetro de volumen de agua destilada en la pantalla (Ilus. 2/11);
- pulse la tecla **Run Stop** (Ilus. 2/9) (el dispositivo iniciará el ciclo de mediciones de DO aumentando la velocidad a 2.000 rpm);
- el ciclo de mediciones debe finalizar tras 15—20 segundos y el valor de DO debe aparecer en la pantalla;
- si el valor de DO es igual a 0 ($DO \pm 0,05$), el dispositivo corresponde con los valores de fábrica de calibración previa y es adecuado para el uso.

5. Funcionamiento

Recomendaciones durante el funcionamiento

- Retire el tubo de tipo Falcon de la toma de tubos antes de conectar o desconectar la fuente de alimentación externa durante el funcionamiento.
 - Se recomienda iniciar el funcionamiento aproximadamente 15 minutos después de activar el dispositivo (el tiempo necesario para la estabilización en el modo de funcionamiento).
- 5.1. Conecte la unidad de la fuente de alimentación externa al circuito eléctrico (Ilus. 1/1).
 - 5.2. Encienda la unidad utilizando el interruptor de alimentación situado en el panel trasero (Ilus. 1/3).
 - 5.3. Introduzca el tubo en la toma (Ilus. 1/4).
 - 5.4. Pulse la tecla **Select** (Ilus. 2/1) para escoger el parámetro que desea cambiar (el parámetro activo parpadea).
 - 5.5. Utilice las teclas **▲** y **▼** (Ilus. 2/2) para definir el valor necesario (si la tecla se pulsa durante más de 2 segundos, el parámetro deber cambiar más rápido).
 - 5.6. Es posible definir el tiempo entre las mediciones de densidad óptica (Ilus. 2/3), velocidad de giro (Ilus. 2/4), temperatura (Ilus. 2/5), tiempo entre giros inversos (Ilus. 2/8) y volumen de funcionamiento (Ilus. 2/11). Los valores reales de la temperatura y la velocidad se muestran en la pantalla (Ilus. 2/6 e ilus. 2/7).



¡Nota!

Después del encendido, la unidad inicia el calentamiento y mantiene la temperatura independientemente de las demás operaciones.

- 5.7. Pulse la tecla **Run/Stop** (Ilus. 2/9) para iniciar y detener el funcionamiento.
- 5.8. Pulse la tecla **Run/Stop** (Ilus. 2/9) para detener el funcionamiento.



¡Precaución!

La parada de funcionamiento no detendrá el proceso de calentamiento. Para detener el proceso de calentamiento, debe reducirla manualmente hasta que aparezca la indicación "off" (Ilus. 2/5).

- 5.9. Después de terminar la calibración, coloque la unidad en OFF utilizando el interruptor de alimentación (Ilus. 1/3).
- 5.10. Desconecte la unidad de la fuente de alimentación externa del circuito eléctrico (Ilus. 1/1).

6. Métodos aprobados para el cultivo de microorganismos

Somos completamente conscientes de que el mundo de los microorganismos es infinito y de que cada cepa necesita su propia optimización del crecimiento. Los nuevos métodos para el cultivo de microorganismos que utilizan la tecnología RTS-1 irán en aumento, sin lugar a dudas, e informaremos a nuestros clientes sobre ello. Aquí se muestran 3 métodos aprobados que se desarrollaron en el laboratorio de aplicaciones de Biosan:

6.1. **Anaerobio facultativo** *Escherichia Coli*:

2.000 rpm (velocidad de giro del recipiente),
1 s⁻¹ (frecuencia de giro inverso, RSF),
37 °C (temperatura de la toma),
15 ml (volumen de muestra en el recipiente de muestras),
10 min., pero no menos (Frecuencia de medición, MF)

6.2. **Anaerobio termofílico** *Thermophilus sp.*:

2.000 rpm,
1 s⁻¹ RSF,
70 °C (temperatura real del tubo inferior a 5 °C),
15 ml
10 min MF

Tasa de evaporación a 70 °C = 5 ml / 24 h (ajuste el parámetro de volumen de forma adecuada para que el sistema de medición funcione correctamente)

6.3. **Anaerobio aerotolerante** *L. acidophilus*:

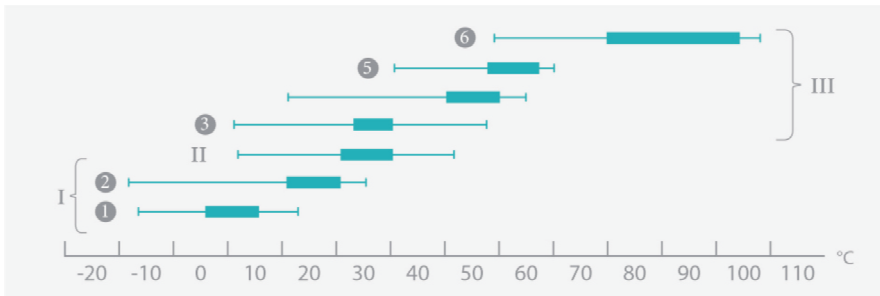
0 rpm,
0 s⁻¹ RSF,
37 °C,
30 ml,
10 min MF

Recomendamos utilizar la programación predefinida de perfiles y ciclos de "Sin mezclado, med. DO" para la distribución homogénea de la suspensión celular del tubo del biorreactor antes de la medición

- 6.4. Actualmente, se están realizando estudios para comprender mejor las ventajas de la tecnología del giro inverso (RS) para cultivar diferentes tipos de microorganismos, como bacterias del ácido láctico y levadura.
- 6.5. El usuario final puede ponerse en contacto con el fabricante para aconsejar o sugerir que se realicen pruebas sobre el cultivo en una cepa o microorganismo necesario. Póngase en contacto con el departamento de I+D de Biosan a través de los siguientes correos electrónicos: science@biosan.lv, igor@biosan.lv, Igor Bankovsky, biotecnólogo asesor en materia de aplicaciones.

7. Recomendaciones para crear ajustes personales para el cultivo de microorganismos. Puntos que se deben tener en cuenta:

- 7.1. Valores específicos de distribución de temperatura (psicrófilos, mesófilos, termófilos). Las temperaturas de crecimiento óptimo de microorganismos se dividen en tres grupos principales (consulte la Ilus. 3):



Ilus. 3 Paneles de temperatura y zonas de crecimiento óptimo de procariontas y su clasificación.

I. Psicrófilos

- 1 ;
- 2 —facultativos

II. Mesófilos

III. Termófilos

- 3 —termotolerantes
- 4 —facultativos
- 5 —obligados
- 6 —extremófilos

La línea gruesa representa la temperatura de crecimiento óptima.

- 7.1.1 Para los psicrófilos, el dispositivo se debe instalar en una cámara frigorífica. A pesar del dispositivo de refrigeración activa, la muestra se calienta por la parte superior abierta del tubo de tipo Falcon. Además, se debe tener en cuenta que la temperatura real del reactor siempre será diferente de la temperatura real de la muestra debido a su rotación (a bajas temperaturas, por debajo de los 10 °C) y será superior.

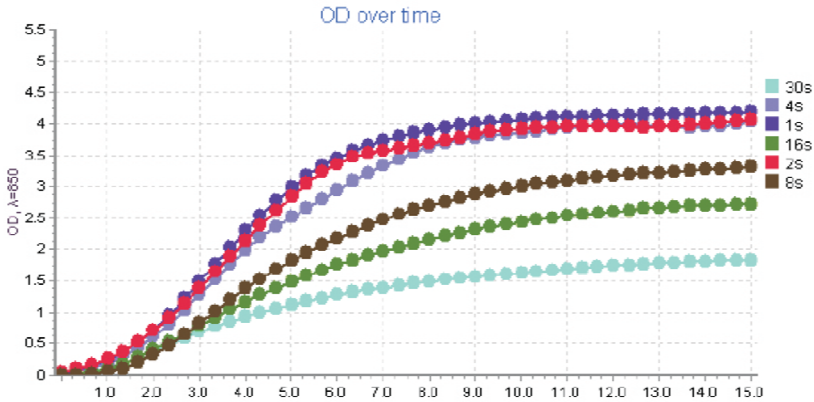
- 7.1.2 Para los microorganismos mesofílicos, el dispositivo se puede localizar a temperatura ambiente.
- 7.1.3 Para los microorganismos termofílicos, consulte la Ilus. 4, en la que se puede observar la comparación de la temperatura del bloque térmico y la temperatura real en el tubo dependiendo de la intensidad de rotación.

RPM	Thermoblock T°C	Real T°C inside the tube		
		V=10ml	V=20ml	V=30ml
2000	70°C	65	62	60
2000	60°C	56	54	53
2000	50°C	46	44	43
2000	40°C	40	40	39
250	70°C	70	70	70
250	60°C	60	60	60
250	50°C	50	50	50
250	40°C	40	40	40

Ilus. 4. Comparación de la temperatura del bloque térmico y la temperatura real en el tubo dependiendo de la intensidad de rotación. Los datos del punto final se recopilaron 1 h 30 min después del inicio del proceso de calentamiento desde la temperatura ambiente

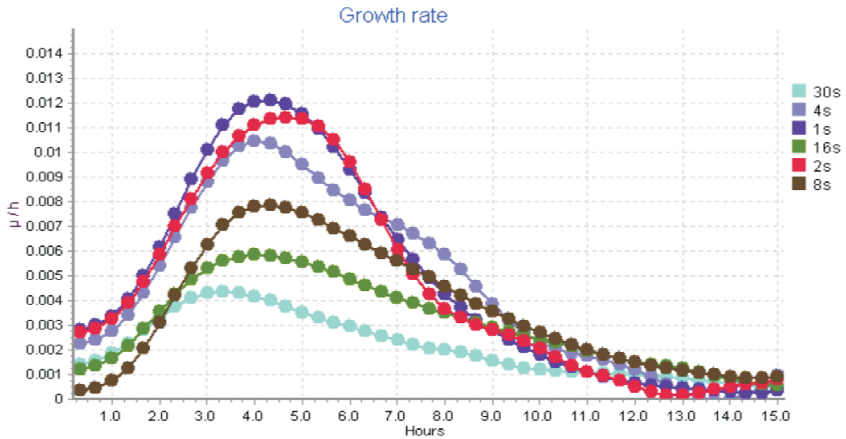
7.2. Crecimiento celular dependiendo de la intensidad de rotación

Es sabido que la ventilación afecta al crecimiento y a la tasa de crecimiento de los microorganismos aeróbicos. La frecuencia de giro inverso afecta a la tasa de oxígeno que se absorbe en el biorreactor. Los resultados obtenidos indican que la tasa máxima de división celular se detecta a una frecuencia de 1 giro inverso por segundo (1 s^{-1}) a una velocidad de 2.000 rpm. El aumento de pausa entre los giros inversos reduce la tasa de crecimiento celular, alcanzando el 50 % del valor máximo, cuando la frecuencia del RS es de 30 s^{-1} (consulte la Ilus 5. y la Ilus. 6.).



Ilus. 5. Influencia de la frecuencia de giro inverso en la cinética de crecimiento ($\Delta DO(\lambda=850 \text{ nm})/\Delta t$) frente al tiempo de fermentación (horas).

7.2.1. Leyenda del experimento (Ilus. 5): El registrador de crecimiento celular en tiempo real RTS-1 se utilizó con un LED de 850 nm, el volumen del medio LB en tubo de tipo Falcon de 50 ml es aproximadamente 15 ml, la frecuencia de giro inverso es 1, 2, 4, 8, 16 y 30 s^{-1} , la frecuencia de medición (MF) es aproximadamente 10 min^{-1} , la velocidad de rotación del reactor es 2.000 rpm, la temperatura es $37 \text{ }^\circ\text{C}$ y el diámetro de los poros del filtro (para ventilación) es $0,25 \text{ }\mu\text{m}$.



7.3. Ventilación y tipos de tubos recomendados.

Para los microorganismos aeróbicos, se recomienda el uso de tubos proporcionados por nosotros (biorreactor TPP TubeSpin® de 50ml), pero para los anaerobios aerotolerantes, como *Lactobacillus acidophilus*, es necesario utilizar tubos de muestra con tapas selladas (sin membrana). Para obtener resultados óptimos al cultivar anaerobios aerotolerantes, se necesita sellar el tapón de rosca del tubo del biorreactor TPP TubeSpin® de 50 ml con cinta. El usuario también puede utilizar tubos de centrifuga estándar de 50 ml de tipo Falcon, teniendo en cuenta que el tubo ha de ser transparente como el del biorreactor TPP TubeSpin®.

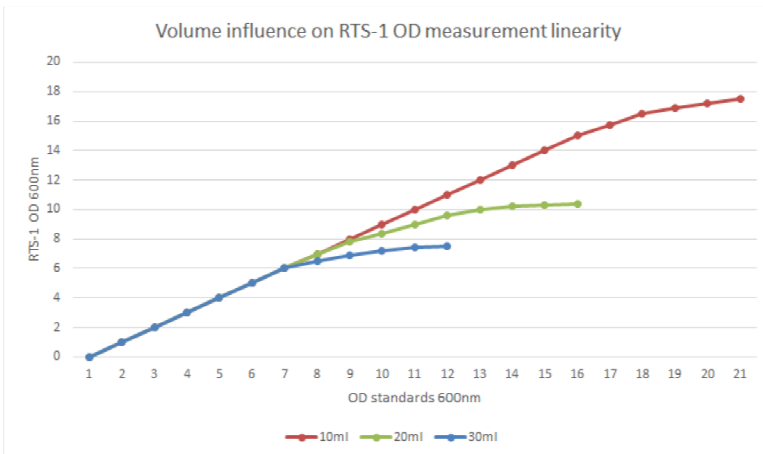
7.4. Tamaño de partículas y coeficientes de calibración 600 nm/850 nm

La calibración del instrumento está diseñada para un microorganismo con un tamaño específico de 0,4-0,8 x 1-3 μm y un volumen celular de 0,6-0,7 μm^3 aproximadamente. En caso de superar el tamaño permisible, el sistema de medición no funcionará correctamente.

El coeficiente de la tasa de conversión de densidad óptica DO ($\lambda = 850 \text{ nm}$) a DO ($\lambda = 600 \text{ nm}$) es igual a 2,2.

Ejemplo de cálculo: para convertir una DO de 3,5 ($\lambda = 850 \text{ nm}$) a DO ($\lambda = 600 \text{ nm}$), simplemente multiplique el resultado por 2,2, cuyo resultado será una DO de 7,7 ($\lambda = 600 \text{ nm}$).

7.5. Intervalo lineal de medición de DO como una función de volumen medio (Ilus. 7)



Ilus. 7. Influencia del volumen del medio de caldo en el intervalo lineal de medición de DO ($\Delta\text{DO}(\lambda=850\text{nm})/\Delta t$) frente al tiempo de fermentación (horas).

Según se puede observar en la Ilus. 7, el dispositivo registra una densidad óptica de la muestra en el intervalo lineal de hasta 15 DO ($\lambda = 600 \text{ nm}$) a un volumen de 10 ml, 8 DO ($\lambda = 600 \text{ nm}$) a 20 ml y 6 DO ($\lambda = 600 \text{ nm}$) a 30 ml.

8. Especificaciones

La unidad está diseñada para el funcionamiento en cámaras frigoríficas a una temperatura ambiente desde +4 °C a +40 °C sin condensación y una humedad relativa máxima del 80 % para temperaturas de hasta 31 °C que disminuye linealmente a un 50 % de humedad relativa a 40 °C.

Especificaciones de medición		RTS-1	RTS-1C
8.1.	Fuente de iluminación	LED	
	Longitud de onda (λ), nm	850 \pm 15	
	Intervalo de medición, DO	0—10,00 \pm 0,18	
	Medición en tiempo real, min/medición	1—60	
	Resolución de ajuste de tiempo, min	1	
Especificaciones de la temperatura		RTS-1	RTS-1C
8.2.	Intervalo de ajuste, °C	De +25 a +70	De +24 a +70
	Punto de intervalo de control inferior, °C	5 por encima de la temperatura ambiente	15 por debajo de la temperatura ambiente
	Punto de intervalo de control superior, °C	+70	
	Ajuste de resolución, °C	0,1	
	Estabilidad, °C	\pm 0,1	
Especificaciones generales		RTS-1	RTS-1C
8.3.	Volumen de muestra, ml	5—30	
	Intervalo de velocidad, rpm	250—2.000	
	Resolución de ajuste de velocidad, rpm	1	
	Pantalla	LCD	
	Dimensiones generales (An x L x Al), mm	130 x 212 x 200	
	Peso*, kg	1,7	2,2
	Voltaje / consumo de energía	CC 12 V	
		3,3 A / 40 W	5 A / 60 W
	Fuente de alimentación externa	Entrada de CA de 100-240 V 50/60 Hz	
		Salida CC de 12 V	

Biosan se compromete a realizar un programa continuo de mejora y se reserva el derecho a modificar el diseño y las especificaciones del equipo sin proporcionar avisos adicionales.

* Precisión de \pm 10 %.

9. Mantenimiento

- 9.1. Si la unidad necesita mantenimiento, desconecte la unidad de la red eléctrica y póngase en contacto con Biosan o con su representante local de Biosan.
- 9.2. Todas las operaciones de reparación y mantenimiento las debe realizar solamente el personal cualificado y especialmente formado.
- 9.3. El etanol estándar (75%) u otros agentes de limpieza recomendados para la limpieza del equipo de laboratorio se pueden utilizar para la limpieza y descontaminación de la unidad.
- 9.4. Limpie las gotitas de líquidos y la posible suciedad del rotor del dispositivo después de finalizar la fermentación.

10. Calibración del dispositivo para el mantenimiento



¡Nota!

Utilice solo esta calibración si el sistema de medición no funciona correctamente.

- 10.1. Encienda el dispositivo.
- 10.2. Introduzca un tubo de centrifuga de 50 ml con 10 ml de H₂O en el dispositivo.
- 10.3. Defina el parámetro de volumen en 10 ml.
- 10.4. Al usar el panel de control o el panel de control de la unidad del software, defina las RPM en 2.000.
- 10.5. Pulse el botón **Run/Stop**.
- 10.6. Mantenga pulsado el botón **Select** hasta que el comando "CC" aparezca y parpadee en la pantalla.
- 10.7. Pulse el botón ▲ y el número "0.00" aparecerá y parpadeará en la pantalla.
- 10.8. Espere 15 segundos y pulse el botón ▼.
- 10.9. Ahora el dispositivo está calibrado y realizará una medición de verificación

11. Garantía y reclamaciones

- 11.1. El fabricante garantiza el cumplimiento de la unidad con los requisitos de las Especificaciones, siempre que el cliente siga las instrucciones de funcionamiento, almacenamiento y transporte.
- 11.2. La vida útil garantizada de la unidad desde la fecha de entrega al cliente es de 24 meses. Póngase en contacto con su distribuidor local para verificar la disponibilidad de la garantía ampliada.
- 11.3. Si el cliente descubre algún defecto de fabricación, se debe cubrir, certificar y enviar una reclamación de incumplimiento del equipo a la dirección del distribuidor local. Visite la sección de soporte técnico de la página www.biosan.lv, para obtener el formulario de reclamación.
- 11.4. La siguiente información será necesaria en caso de que se necesite en servicio de garantía o de postgarantía. Complete la siguiente tabla y guárdela para futuras referencias.

Modelo	Registrador de crecimiento celular en tiempo real: Refrigeración de RTS-1 / RTS-1C
Número de serie	
Fecha de venta	

12. Declaración de conformidad

Biosan SIA

Ratsupites 7, build.2, Riga, LV-1067, Letonia

Teléfono: +371 67860693, +371 67426137 Fax: +371 67428101

<http://www.biosan.lv>

Versión 1.01 - Agosto de 2014