

RTS-8 Plus

Biorreactor multicanal con medición no invasiva de concentración de las células pH y O₂ en el modo de tiempo real



Si tiene alguna opinión sobre nuestros productos o servicios, nos gustaría conocerla. Envíenos todos sus comentarios a:

Fabricante:

SIA Biosan
Ratsupites 7 k-2, Riga, LV-1067, Letonia

Tel: +371 674 261 37

<https://biosan.lv>

Marketing: sales@biosan.lv

Servicio: service@biosan.lv

Contenido

1. Acerca de esta edición de las instrucciones	3
2. Precauciones de seguridad	4
3. Información general.....	6
4. Cómo empezar	8
5. Calibración del sistema óptico OD	10
6. Información y calibración del sistema óptico y los sensores de pH y O ₂	11
7. Operación	12
8. Métodos recomendados para el cultivo de microorganismos	14
9. Recomendaciones para crear entornos personales para el cultivo de microorganismos. Puntos a tener en cuenta.....	15
9.1. Particularidades de la distribución de la temperatura (psicrófilos, mesófilos, termófilos).....	15
9.2. Crecimiento celular en función de la intensidad de rotación	15
9.3. Aireación y tipos de tubos recomendados	16
9.4. Ejemplo de resultados de mediciones de pH y pO ₂	17
9.6. Influencia de la fase de crecimiento de la calibración de fábrica en el error de medición alcanzable de la calibración del usuario.	20
9.7. Calibración del usuario.	20
10. Especificaciones.....	21
11. Información para pedidos	23
12. Mantenimiento	24
13. Almacenamiento y transporte	25
14. Garantía	26
15. Declaración de conformidad de la UE	27

1. Acerca de esta edición de las instrucciones

1.1. La edición actual de las instrucciones de uso se aplica a los siguientes modelos:

Modelo y nombre	Versiones
RTS-8 Plus, Biorreactor multicanal con medición no invasiva de concentración de las células pH y O ₂ en el modo de tiempo real	V.2AW, V.2A01, V.3AW, V.3A01, V.4A02, V.5A02

1.2. Edición 2.-5.01 – diciembre de 2024.

2. Precauciones de seguridad

2.1. Símbolos utilizados en estas instrucciones.



¡Atención!

Asegúrese de haber leído y comprendido completamente las presentes instrucciones antes de utilizar el equipo. Preste especial atención a las secciones marcadas con este símbolo.



¡Atención!

Las superficies pueden calentarse durante el uso.

2.2. Símbolos e iconos utilizados en la unidad y el embalaje.

	Marcado CE, el fabricante afirma la conformidad con las normas europeas de salud, seguridad y protección del medio ambiente, véase 14.1
	Marcado de la directiva RAEE, véase 14.1
	Marcador de posición de inserción del tubo, véase 7.1

2.3. Seguridad general.

- Utilícelo sólo como se especifica en el manual de instrucciones suministrado. La seguridad de uso del producto puede verse mermada si no se utiliza de la forma indicada o si se utilizan accesorios (tubos halcón) que no se ajusten a las características requeridas.
- La unidad no debe utilizarse si se ha caído o dañado.
- Almacene y transporte la unidad como se describe en la sección **Almacenamiento y transporte**.
- Antes de utilizar cualquier método de limpieza o descontaminación que no sea el recomendado por el fabricante, compruebe con éste que el método propuesto no dañará el equipo.
- No realice modificaciones en el diseño de la unidad.
- El dispositivo está optimizado para funcionar únicamente con tubos Falcon de 50 ml, todas las demás formas de aplicación de la unidad están prohibidas.



¡Atención!

La unidad es pesada (20 kg). Es necesario levantar la unidad únicamente sujetándola firmemente con ambas manos por debajo de los rebajes laterales izquierdo y derecho.

2.4. Seguridad eléctrica.

- No conecte el aparato a la toma de corriente sin toma de tierra, ni utilice el cable alargador sin toma de tierra.
- Conéctelo únicamente a una fuente de alimentación cuya tensión coincida con la que figura en la etiqueta del número de serie.
- Desconecte la unidad del circuito eléctrico antes de moverla.
- Apague la unidad desconectando el interruptor de alimentación y desconectando la fuente de alimentación externa de la toma de corriente.

- Asegúrese de que el interruptor de alimentación situado en la parte posterior de la unidad y el enchufe de alimentación sean fácilmente accesibles durante el uso.
- Esta unidad se controla mediante un PC. Asegúrese de que el PC conectado cumple las normas de seguridad y CEM.
- Si penetra líquido en el aparato, desconéctelo de la alimentación externa y hágalo revisar por un técnico de reparación y mantenimiento.
- No utilice la unidad en locales donde pueda formarse condensación. Las condiciones de funcionamiento de la unidad se definen en la sección **Especificaciones**.

2.5. Durante el funcionamiento.

- No utilice la unidad en entornos con mezclas químicas agresivas o explosivas. Comuníquese con el fabricante para conocer el posible funcionamiento de la unidad en atmósferas específicas.
- Durante la instalación, asegúrese de que haya espacios de al menos 15 cm entre las paredes de la unidad y otros elementos para garantizar un funcionamiento normal (en particular, para garantizar una ventilación adecuada).
- No utilice la unidad si está defectuosa o se ha instalado incorrectamente.
- No utilice la unidad fuera de las salas de laboratorio.
- No compruebe la temperatura al tacto. Utilice un termómetro.
- Limpie y descontamine siempre el enchufe y la tapa después de la operación.
- Tenga cuidado al trabajar cerca de las tomas de tubo giratorias.

2.6. Seguridad biológica y química.

- Durante el tratamiento mecánico y térmico de los materiales, es posible la formación de gases y sustancias peligrosas (incluidas las inflamables), por lo que debe tenerse cuidado.
- Es responsabilidad del usuario llevar a cabo una descontaminación adecuada si se derrama material peligroso sobre el equipo o penetra en él. Los medios de desinfección deben ser tales que no se produzcan reacciones químicas peligrosas entre los materiales derramados y los productos de limpieza. En caso necesario, consulte al fabricante.
- El tubo del biorreactor debe cerrarse muy herméticamente. Consulte en **4.5** las instrucciones para comprobar los tubos.



¡Atención!

El producto no está diseñado para su uso en entornos peligrosos y con materiales peligrosos (químicamente activos / agresivos, explosivos, etc.).

No mezcle líquidos inflamables si ello puede suponer un peligro.

2.7. Sensor y transmisor.

Es responsabilidad del cliente validar el sensor y el transmisor en condiciones de usuario final de acuerdo con las precauciones de seguridad de la aplicación para garantizar que el uso del sensor es seguro y adecuado para el fin previsto.

Biosan no se hace responsable explícitamente de las pérdidas directas o indirectas causadas por la aplicación de estos sistemas de medición. En particular, debe tenerse en cuenta que pueden producirse fallos de funcionamiento debido a la vida útil naturalmente limitada del sensor en función de la aplicación respectiva. Se recomienda la instalación de estaciones de medición de reserva cuando se utilicen los sensores en aplicaciones críticas para evitar pérdidas consecuentes. Es responsabilidad del cliente instalar un sistema de seguridad adecuado en caso de fallo del sensor.

3. Información general

RTS-8 Plus es un biorreactor personal que utiliza la tecnología patentada Reverse-Spin®, que aplica un innovador tipo de agitación no invasiva, impulsada mecánicamente y de bajo consumo energético, en la que la suspensión celular se mezcla mediante la rotación del tubo del biorreactor Falcon de un solo uso alrededor de su eje con un cambio de dirección del movimiento de rotación, lo que resulta en una mezcla y oxigenación altamente eficientes para el cultivo aeróbico. Combinado con sistemas de medición de infrarrojo cercano, fluorescencia y luminiscencia, es posible registrar la cinética de crecimiento celular, el pH y el O₂ de forma no invasiva y en tiempo real. Para el pH y el O₂, se utilizan innovadores puntos sensores de un solo uso en el interior de los tubos.

Aunque el suministro de O₂ es uno de los principales problemas en el cultivo de organismos aerobios, especialmente en condiciones de oxígeno limitado, faltaban métodos adecuados para la monitorización real del oxígeno disuelto, y normalmente se daba por supuesto un suministro suficiente de O₂. Los innovadores sensores de oxígeno no invasivos integrados en tubos Falcon permiten ahora monitorizar el oxígeno en línea y ofrecen nuevos conocimientos sobre las actividades metabólicas.

El pH es uno de los principales problemas en el cultivo de células, levaduras o bacterias. Los recipientes de cultivo limitados por sensores se aplican ampliamente en el desarrollo de bioprocesos académicos e industriales. Como no se disponía de métodos adecuados para la monitorización real del pH, se utilizaban engorrosos muestreos en línea que carecían de una alta densidad de datos e interferían con el crecimiento. La medición no invasiva del pH en tiempo real proporciona nuevos conocimientos sobre la actividad metabólica y los cambios en las rutas metabólicas.

Ventajas de los puntos sensores:

- Son pequeños.
- Su señal no depende del caudal de la muestra.
- Pueden separarse físicamente del sistema de medición, lo que permite una medición no invasiva.
- Pueden utilizarse en productos desechables.

Por lo tanto, son ideales para el examen de pequeños volúmenes de muestra, para mediciones altamente paralelas en desechables y para aplicaciones biotecnológicas.

El biorreactor personal es aplicable en:

- Microbiología
- Biología molecular
- Biología celular
- Biotecnología
- Bioquímica
- Biología de sistemas
- Biología sintética

Aplicaciones típicas:

- Cinética de crecimiento en fermentación en tiempo real
- Cribado de candidatos a clones
- Expresión de proteínas
- Experimentos de estrés y fluctuación de temperatura
- Cribado y optimización de medios
- Caracterización del crecimiento
- Pruebas de inhibición y toxicidad
- Control de calidad de cepas

Características:

- El cultivo en paralelo permite ahorrar tiempo y recursos para la optimización de bioprocesos
- El biorreactor controlado individualmente acelera el proceso de optimización
- Posibilidad de cultivar microorganismos microaerófilos y anaeróbicos obligados (condiciones no anaeróbicas estrictas)
- El principio de mezcla Reverse-Spin® permite la medición no invasiva de la biomasa en tiempo real
- El sistema óptico de infrarrojo cercano permite registrar la cinética de crecimiento celular
- Software gratuito para almacenamiento, demostración y análisis de datos en tiempo real
- Diseño compacto de perfil bajo y tamaño reducido para aplicaciones personales
- Control individual de la temperatura para aplicaciones de bioprocesos
- Refrigeración activa para un control rápido de la temperatura, por ejemplo, para experimentos de fluctuación de temperatura
- Perfilado de tareas para la automatización de procesos
- Almacenamiento de datos en la nube para supervisar el proceso de cultivo mientras se está fuera o mediante un smartphone
- La medición no invasiva de O₂ y pH permite un seguimiento preciso de las actividades metabólicas

Para utilizar plenamente las capacidades de RTS-8 plus, el dispositivo debe estar conectado a un PC y al software RTS-8 plus. El dispositivo no puede utilizarse como unidad independiente. Posibilidades del software:

- Registro del crecimiento celular en tiempo real
- Medición y registro de pH y O₂ en tiempo real
- Representación gráfica en 3D de OD, pH, O₂ y tasa de crecimiento en el tiempo por unidad
- Opción de pausa
- Opción de guardar/cargar
- Opción de informe: PDF y Excel
- Conexión simultánea de hasta 1 unidad a 1 ordenador
- Opción de supervisión remota (requiere conexión a Internet)
- Opciones de ciclo/perfilado
- Posibilidad de calibración manual por el usuario para la mayoría de las células

4. Cómo empezar

4.1. **Desembalaje.** Retire con cuidado los materiales de embalaje y consérvelos para futuros envíos y almacenamiento de la unidad. Examine detenidamente la unidad para comprobar si ha sufrido algún daño durante el transporte. La garantía no cubre los daños sufridos durante el transporte.



¡Atención!

La unidad es pesada (20 kg). Es necesario levantar la unidad únicamente sujetándola firmemente con ambas manos por debajo de los rebajes laterales izquierdo y derecho.

4.2. **Juego completo.** El juego de unidades incluye:

- **RTS-8**, Biorreactor multicanal..... 1 pieza
- Tapas blackout con ventilación..... 8 piezas
- Recipientes para biorreactores TPP TubeSpin® Biorreactor 50ml..... 20 piezas
- Recipientes estériles TPP TubeSpin® Biorreactor, 50 ml, con sensores de pH y O₂..... 10 piezas
- Juntas tóricas para recipientes de biorreactores 30 piezas
- Hoja(s) de datos de calibración para sensores de pH y O₂, 1-10 copias 1 juego
- Cable de datos USB 1 pieza
- Unidad de disco USB con archivos de instalación del software y manual..... 1 pieza
- Cable de alimentación 1 pieza
- Instrucciones de uso, declaración de conformidad 1 copia

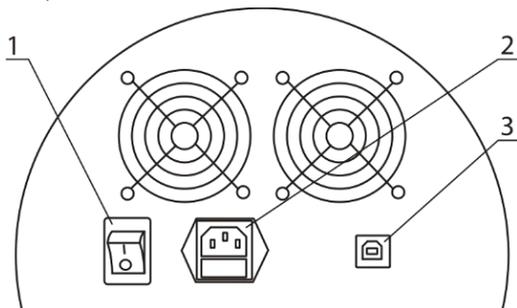


Figura 1. Panel trasero de la unidad

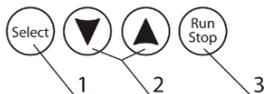
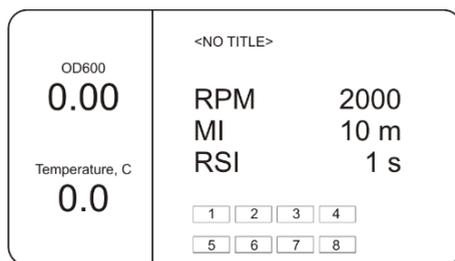


Figura 2. Panel de control

4.3. Configuración.

- Coloque la unidad sobre una superficie de trabajo plana y horizontal.
- Conecte el cable de alimentación a la toma situada en la parte trasera del aparato (fig. 1/2). y coloque el aparato de forma que pueda acceder fácilmente al interruptor de alimentación y a la toma de corriente.
- Encienda el ordenador si estaba apagado.
- Conecte el cable de datos USB al puerto situado en la parte posterior de la unidad (fig. 1/3) y al ordenador personal.
- Inserte la unidad de disco USB en el ordenador personal e instale el software siguiendo el procedimiento descrito en el manual de instalación del software.

4.4. Características del recipiente del biorreactor:

- Tubos tipo Falcon. TPP TubeSpin® Biorreactor;
- Volumen de trabajo posible 3 - 50 ml (el sistema óptico funciona de 7,5 a 50 ml);
- Forma cónica;
- 5 aberturas (A, B, C, D, E) de diferente tamaño por encima del filtro de PTFE estéril permeable al gas del tapón de rosca;
- Las aberturas pueden sellarse y, de este modo, el intercambio se ajusta a las necesidades;
- El intercambio estéril de gases está garantizado por la membrana filtrante de 0,22 μm ;
- Incluso con una alta densidad celular, el suministro de oxígeno a través de las aberturas es suficiente;
- El tubo cabe en un rotor de centrifuga estándar de 50 ml.

4.5. Colocación del cierre en los recipientes de biorreactores. Debido a la especificidad de la fabricación tipo molde de los tubos de halcón centrífugo, la estructura helicoidal de la rosca de los tapones puede variar, y dadas las condiciones de mezcla vigorosa, el líquido puede derramarse si el tubo no está bien cerrado. Los tubos pueden ser defectuosos, y el derrame de líquido es posible aproximadamente 1 de cada 60 tubos.

Por lo tanto, para sellar los recipientes, se suministra un juego de juntas tóricas. Para colocar las juntas tóricas en los recipientes:

- Prepare una caja de flujo laminar o de limpieza PCR, guantes estériles y pinzas. El procedimiento de ajuste se realiza dentro de una caja estéril.
- Desembale una junta tórica y un recipiente.
- Desenrosque la tapa y aparte el tubo.
- Con ayuda de unas pinzas, introduzca con cuidado la junta tórica en la tapa. Presione la junta tórica en la ranura para que encaje lo máximo posible.
- Sostenga el tubo boca abajo, insértelo en la tapa y enrósquelo firmemente en la tapa, empujando la junta tórica en la ranura. El recipiente está listo para trabajar.

Antes de iniciar el experimento y abandonar el dispositivo, debe comprobarse que los tubos no presentan derrames de líquido en un período de al menos 2 min. a 2000 RPM y 1 s^{-1} Reverse Spin Interval (RSI) con la tapa cerrada. Si aparecen gotitas de líquido en la superficie interior de la tapa, entonces el tapón de rosca está defectuoso y debe sustituirse el tubo.

4.6. Cambio de las características ópticas del tubo en función de la temperatura:

Cuando la temperatura del material plástico está cambiando, es decir, durante el cambio de temperatura de 30°C cada hora, el material plástico del tubo cambia las características ópticas en un rango de $\pm 0,1 \text{ OD} .600$

4.7. Los sensores de pH y O_2 con tubos Falcon vienen en un paquete hermético a la luz. Es necesario almacenar los tubos en el paquete hermético a la luz y utilizar los tubos sólo antes de la iniciación del experimento o calibración.

5. Calibración del sistema óptico OD

5.1. **Verificación de calibración.** El dispositivo está calibrado por software con suspensiones celulares de *E. coli* BL21 o *S. Cerevisiae* de cepa silvestre para su funcionamiento con el tubo de 50 ml TPP TubeSpin® Biorreactor en un intervalo de temperatura de +15 °C a +60 °C.

Para verificar la conformidad de la calibración, siga los procedimientos siguientes:

- Conecte el dispositivo al ordenador, inicie el software y seleccione calibración de fábrica;
- Tome un tubo TPP TubeSpin® Biorreactor 50ml;
- Añadir $10 \pm 0,1$ ml de agua destilada;
- Cierre bien el tapón del tubo;
- Inserte el tubo en la toma;
- Ajuste el intervalo de medición (MI) a 1 minuto;
- Pulsa el botón **Play** (Reproducir) del software;
- El dispositivo empezará a medir en 1 minuto y debería terminar después de 30-60 segundos y el valor de OD debería aparecer en la pantalla y en el software;
- Si el valor OD es igual a 0 ($\pm 0,1$ OD), el dispositivo corresponde a los ajustes de pre-calibración de fábrica y es apto para su uso.

5.2. Creación de la calibración del usuario

5.2.1. Obtenga muestras de suspensión celular en tubos Falcon de 50 ml con densidades ópticas típicas de sus experimentos. Si la DO máxima de su experimento (fase estacionaria) es 5 DO₆₀₀ entonces las muestras recomendadas son 0 (ddH₂O agua o medio caldo) 1, 2, 3, 4, 5, 6 DO₆₀₀.

Medir la DO a la longitud de onda deseada de cada suspensión celular utilizando un espectrofotómetro con las diluciones previas adecuadas. La proporcionalidad entre la DO₆₀₀ y la densidad celular sólo existe para DO₆₀₀ ≤ 0,4 (aproximadamente), recomendamos diluir las muestras en el rango de 0,1-0,2 de DO.

Multiplique los valores del factor de dilución para obtener la DO de las muestras.

Continúe en la página **29** del manual del software.

5.2.2. El **RTS-8 plus** puede calibrarse para detectar la luz dispersa de cualquier célula con cualquier forma y tamaño posibles, pero debido a la diferencia de dispersión de la luz en diversas suspensiones celulares, no podemos garantizar el rango de medición indicado en todas las condiciones.

6. Información y calibración del sistema óptico y los sensores de pH y O₂

6.1. Información general.

6.1.1. Sensor óptico de oxígeno.

La luz de un LED excita el sensor óptico de oxígeno para que emita fluorescencia. Si el sensor encuentra una molécula de oxígeno, el exceso de energía se transfiere a esta molécula en una transferencia no radiativa, disminuyendo o apagando la señal de fluorescencia. El grado de extinción se correlaciona con la presión parcial de oxígeno del analito en la matriz, que está en equilibrio dinámico con el oxígeno de la muestra. La medición del tiempo de decaimiento está referenciada internamente.

6.1.2. Sensor óptico de pH.

Los sensores ópticos de pH utilizan el método DLR (Dual Lifetime Referenced, tiempo de vida doble referenciado), que permite realizar mediciones referenciadas internamente. Una combinación de diferentes tintes fluorescentes detecta los cambios de intensidad en el dominio del tiempo. El tiempo de vida de la luminiscencia medido es una superposición de las señales de un indicador sensible al analito y un indicador de referencia inerte, donde ambos indicadores presentan tiempos de vida de luminiscencia muy diferentes y la luminiscencia del indicador sensible al analito puede ser suprimida por el analito. Es esencial para las mediciones precalibradas y la fácil paralelización de las mediciones mediante la calibración idéntica de un gran número de sensores.

6.1.3. Dependencia de la temperatura de los puntos de los sensores de O₂ y pH.

Es necesario realizar correcciones de temperatura para los puntos del sensor a la misma temperatura de trabajo, por ejemplo 37°C para E. coli o 30°C para levadura. Por ejemplo, a pH 7 puede producirse una desviación de 0,1 pH por cada 5°C sin corrección de temperatura añadida.

6.1.4. Limitaciones.



¡Atención! Los sensores no soportan los disolventes orgánicos.

Las mediciones pueden verse influidas por moléculas fluorescentes como la fluoresceína o la rodamina.

El sensor de pH funciona mejor en soluciones con una fuerza iónica > 50 mM y una capacidad tampón > 2 mM. En caso de concentraciones de sal o capacidad tampón inferiores, el pH puede fluctuar o mostrarse incorrectamente.

Los tampones coloreados que suelen utilizarse para los electrodos de pH pueden interferir con los sensores ópticos químicos. No utilice tampones coloreados para calibrar sensores de pH ópticos químicos.

Tenga en cuenta que los sensores de pH no son adecuados para mediciones en agua dulce o del grifo.

Es necesario equilibrar los sensores antes de utilizarlos. Para ello, debe llenar el recipiente con el medio y esperar al menos 60 minutos para que el sensor se equilibre.

La tasa típica de blanqueo del sensor es de 0,035 pH por cada 1000 mediciones.

Deriva típica del sensor de O₂ < 0,03 % O₂ en 30 días (intervalo de muestreo de 1 min.).

6.2. Verificación de la calibración. Cada lote de puntos sensores está precalibrado, pero es necesario realizar una calibración de uno o varios puntos para los nuevos puntos sensores a fin de aumentar la precisión o realizar correcciones debido a 1) fuerza iónica, 2) temperatura, 3) deriva, 4) fotoblanqueo, 5) sensibilidad cruzada. Para verificar la calibración o realizar correcciones, siga los procedimientos siguientes:

- Conecte el dispositivo al ordenador, inicie el software;
- Tome un tubo TPP TubeSpin® Biorreactor de 50 ml con puntos de sensor;
- Añada $10 \pm 0,1$ ml de medio de caldo con pH conocido (para obtener una muestra con pH conocido, consulte los protocolos de calibración del manual del software, páginas 32, 36, 40) y O₂ conocido (para obtener una muestra con O₂ conocido, consulte los protocolos de calibración del manual del software, páginas 45, 46, 48);
- Cierre bien el tapón del tubo;
- Alinee los puntos del sensor con las líneas indicadoras del zócalo (figura 3);
- Inserte el tubo en el zócalo;
- Ajuste el pH y el O₂ MI a 1 minuto;
- Pulse el botón **Play** del software;
- El aparato empezará a medir en 1 minuto y debería terminar después de 5-60 segundos y los valores de pH y O₂ deberían aparecer en la pantalla y en el software.

Si los valores de pH y O₂ son iguales a los valores conocidos adquiridos mediante protocolos de calibración de software, los sensores funcionan según lo previsto.

7. Operación

7.1. Recomendaciones durante el funcionamiento

- Retire el tubo Falcon de la toma de tubo antes de conectar o desconectar la fuente de alimentación externa durante el funcionamiento.
- Inicie el funcionamiento aproximadamente 15 minutos después de encender el aparato (es necesario un cierto tiempo para la estabilización en el modo de trabajo).
- La colocación del tubo en el casquillo debe ser la siguiente: La marca de los volúmenes del tubo TPP debe estar entre y opuesta a las dos marcas del rotor (figura 3); esta posición permite que la luz del láser se transmita sin interrupción por las diferentes marcas que se presentan en la superficie exterior de los tubos y permite que las ópticas de pH y O₂ estén en el mismo eje que el punto del sensor.

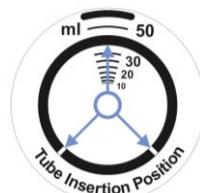


Figura 3. Colocación del tubo

7.2. Conecte el cable de alimentación al circuito eléctrico.

7.3. Encienda el aparato pulsando el interruptor de alimentación situado en el panel posterior (fig. 1/1).



Nota. Tras el encendido, la unidad empieza a calentar y sigue manteniendo la temperatura independientemente de otras operaciones.

7.4. Inserte el tubo en las tomas.

7.5. **Modo de control por software.** Encienda el ordenador con el software instalado y siga trabajando según el manual de funcionamiento del software.



Nota. Mientras la unidad está controlada por PC, las teclas del panel frontal tienen funciones limitadas, sólo funciona el botón **Run Stop**. La pantalla de la unidad muestra "RTS-8 controlled by PC" (RTS-8 controlado por PC).

7.6. **Modo manual.**

7.6.1. Pulse el botón **Select** (Seleccione, fig. 2/1) para activar la posibilidad de cambiar a un canal individual o a un parámetro (la casilla del canal o el parámetro se resaltará y parpadeará). La casilla del canal seleccionado permanecerá parpadearando todo el tiempo mientras el aparato esté encendido. Las indicaciones de colores de las casillas son las siguientes:

- Marrón cuando los canales no funcionan.
- Amarillo cuando se selecciona activamente un canal mediante el botón **Select** (duración 10 segundos) que permite pasar de un canal a otro.
- Verde cuando los canales están en funcionamiento,

7.6.2. Utilice las teclas ▲ y ▼ (fig. 2/2) para cambiar a un canal individual o ajustar el valor necesario (la casilla aparecerá resaltada y parpadearando).

7.6.3. Es posible ajustar mediante las teclas ▲ y ▼ el tiempo entre mediciones de densidad óptica - MI, selección de canal, velocidad de centrifugado (RPM), temperatura (°C), control de temperatura (on/off), intervalo de centrifugado inverso (RSI).

7.6.4. Pulse el botón **Run Stop** (fig. 2/3) para iniciar y detener el funcionamiento.



¡Atención! La parada de funcionamiento no detendrá el proceso de calentamiento. Para detener el proceso de calentamiento, la temperatura ajustada debe reducirse manualmente hasta que aparezca la indicación "off".

7.7. Una vez finalizada la operación, apague el aparato con el interruptor (fig. 1/1).

7.8. Desconecte el cable de alimentación del circuito eléctrico.

8. Métodos recomendados para el cultivo de microorganismos

8.1. *Escherichia Coli anaerobia facultativa*:

2700 rpm (velocidad de giro del recipiente),
1 s⁻¹ (RSI),
37° C (temperatura de la toma),
7,5 ml (volumen de la muestra en el recipiente de ensayo),
20 min, pero no menos (MI)

8.2. **Aerobio termófilo** *Thermophilus sp.*: 2700 rpm,

1 s⁻¹ RSI,
60° C
15 ml
20 min MI
Tasa de evaporación a 60°C = 3,5 ml / 24 h (por favor, ajuste el parámetro Volumen en consecuencia para que el sistema de medición funcione correctamente)

8.3. **Anaerobio aerotolerante** *L. acidophilus*:

0 rpm,
0 s⁻¹ RSI,
37° C,
45 ml,
20 min MI

8.4. **Levaduras** *S. Cerevisiae*:

2700 rpm,
1 s⁻¹ RSI,
30° C
7,5 ml
20 min, pero no menos, MI

8.5. **Anaerobio obligado** *B. bifidum*:

0 rpm,
0 s⁻¹ RSI,
37° C
50 ml (llenado al máximo)
20 min MI

8.6. Es posible que el usuario final se ponga en contacto con el fabricante para que le aconseje o sugiera el microorganismo o la cepa que necesita analizar. Comuníquese con Biosan en la siguiente dirección de correo electrónico: service@biosan.lv

9. Recomendaciones para crear entornos personales para el cultivo de microorganismos. Puntos a tener en cuenta

9.1. Particularidades de la distribución de la temperatura (psicrófilos, mesófilos, termófilos).

Las temperaturas óptimas de crecimiento de los microorganismos se dividen en tres grupos principales (véase la fig. 4):

- Psicrófilos (I) - obligados (1) y facultativos (2);
- Mesófilos (II);
- Termófilos (III) - termotolerantes (3), facultativos (4), obligados (5) y extremófilos (6).

La línea gruesa representa la temperatura óptima de crecimiento.

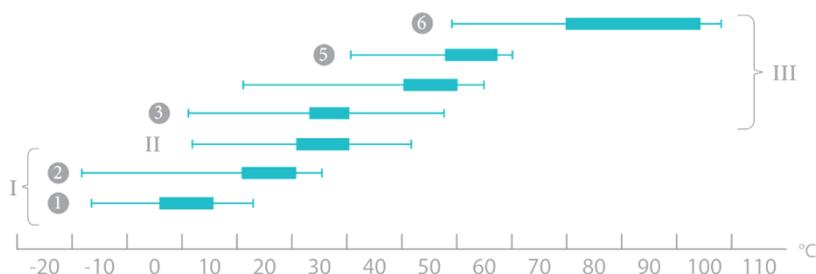


Figura 4. Límites de temperatura y zonas óptimas de crecimiento de procariotas y su clasificación.

9.1.1. Para los psicrófilos, que se cultivan a temperaturas de $15^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por debajo de la temperatura ambiente, el dispositivo debe instalarse en una cámara frigorífica o en una cámara refrigerada. A pesar de la refrigeración activa del dispositivo, la temperatura real del reactor siempre diferirá de la temperatura real de la muestra debido a su rotación.

9.1.2. Para los microorganismos mesófilos, el dispositivo puede situarse a temperatura ambiente.

9.1.3. Para los microorganismos termófilos, el dispositivo puede situarse a temperatura ambiente.

9.2. Crecimiento celular en función de la intensidad de rotación.

Se sabe que la aireación afecta al crecimiento y a la tasa de crecimiento de los microorganismos aerobios. El RSI y las RPM afectan a la tasa de absorción de oxígeno en el biorreactor. Los resultados obtenidos en la fig. 5 y la fig. 6 indican que la tasa máxima de división celular se detecta con un RSI de 1 s^{-1} a una velocidad de 2700 rpm. El aumento de la pausa entre los giros inversos reduce la tasa de crecimiento celular y el rendimiento de DO, alcanzando el ~44% del valor máximo (RSI 1 s^{-1}), cuando el RSI es de 8 s^{-1}

9.2.1. Leyenda del experimento (fig. 5.): Se utilizó el biorreactor multicanal RTS-8 con láser de 850 nm, el volumen de Terrific Broth (TB) en tubo Falcon de 50 ml fue de 10 ml, RSI 1, 2, 4, 8 s^{-1} , MI 10 min, RPM 2000, temperatura 37°C , recipientes del biorreactor TPP.

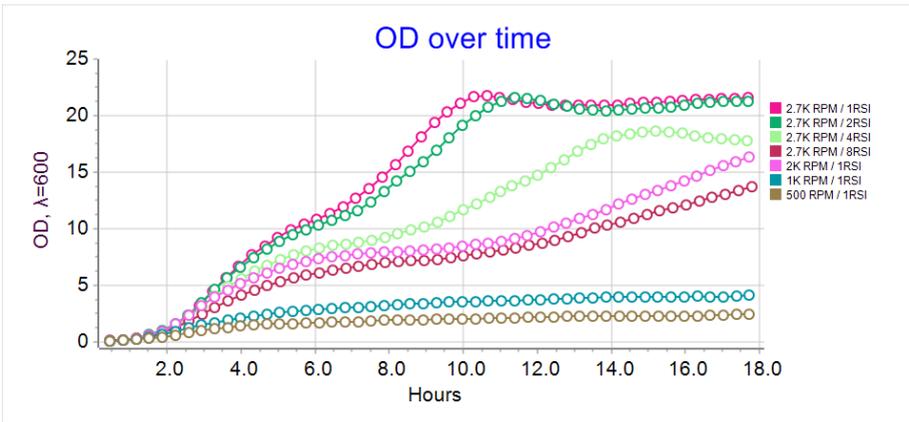


Figura 5. Influencia del intervalo de centrifugación inversa y de las RPM en la cinética de crecimiento ($\Delta OD_{\lambda=600nm} / \Delta t$) frente al tiempo de fermentación (h).

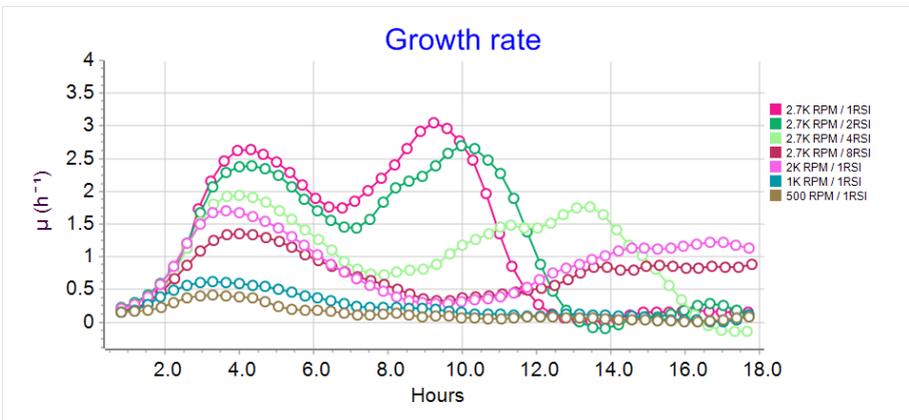


Figura 6. Influencia del intervalo de centrifugación inversa y de las RPM en la cinética de crecimiento ($\Delta OD_{\lambda=600nm} / \Delta t$) frente al tiempo de fermentación (h).

9.3. Aireación y tipos de tubos recomendados.

Para microorganismos aerobios, se recomienda utilizar los tubos suministrados por TPP - TubeSpin® Biorreactor 50 ml. Para obtener resultados óptimos en el cultivo de anaerobios aerotolerantes, es necesario sellar el tapón de rosca del TPP TubeSpin® Biorreactor 50 ml con cinta adhesiva o utilizar tubos TPP Falcon de 50 ml que están disponibles sin orificios de ventilación. El usuario también puede utilizar tubos de centrifuga estándar de 50 ml tipo Falcon, teniendo en cuenta que el material del tubo será tan transparente como el tubo TPP TubeSpin® Biorreactor o debe crear la calibración del usuario.

9.4. Ejemplo de resultados de mediciones de pH y pO2

Los tubos Falcon del biorreactor de un solo uso se llenaron con medio nutritivo y se cubrieron con tapones de rosca provistos de aberturas de respiración especiales, que se cerraron con una membrana semipermeable al oxígeno. A continuación, estos tubos de 50 ml se colocaron en el RTS-8 plus y se inició el proceso de fermentación de forma sincronizada.

El volumen de trabajo fue de 10 ml, la temperatura de cultivo fue de 37 ° C, el intervalo de medición (MI) de los sensores fueron cada 20 minutos, el intervalo de giro inverso (RSI) del tubo 1 vez por segundo, la intensidad de rotación de los tubos - de acuerdo con las firmas a las leyendas (fig. 9). La intensidad de aireación se modificó cambiando la velocidad de rotación o velocidad angular (ω) del tubo del biorreactor en rangos discretos de $\omega = 1000$ rpm (curva verde), $\omega = 1500$ rpm (verde claro), $\omega = 2000$ rpm (curva rosa) y $\omega = 2700$ rpm (curva púrpura).

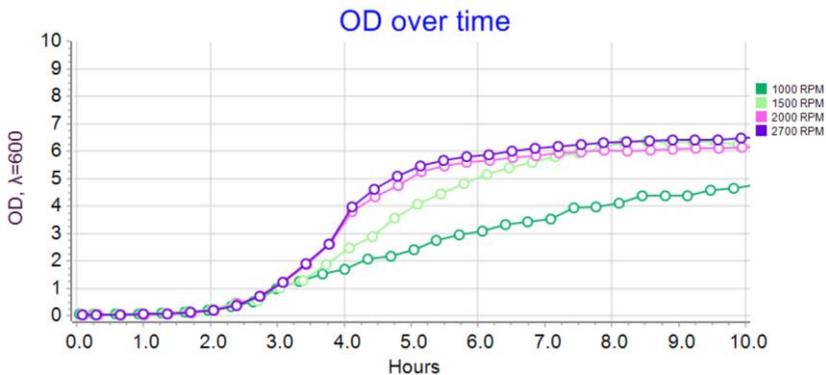


Figura 7.

Influencia de la velocidad de rotación en la dinámica de crecimiento celular en medio LB

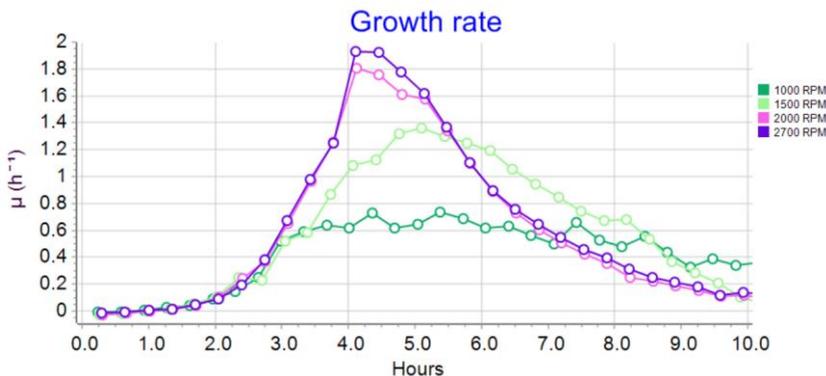


Figura 8. Influencia de la velocidad de rotación del tubo (intensidad de la aireación) en la tasa específica de crecimiento de la biomasa de células.

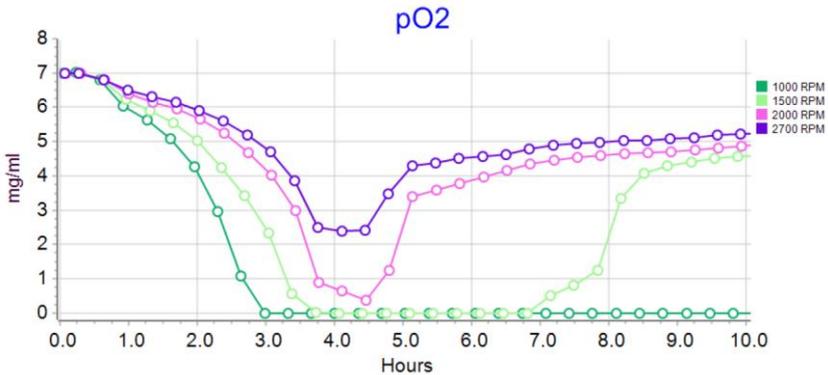


Figura 9. Influencia de la velocidad de rotación del tubo en la dinámica del cambio de la concentración de oxígeno en la suspensión celular.

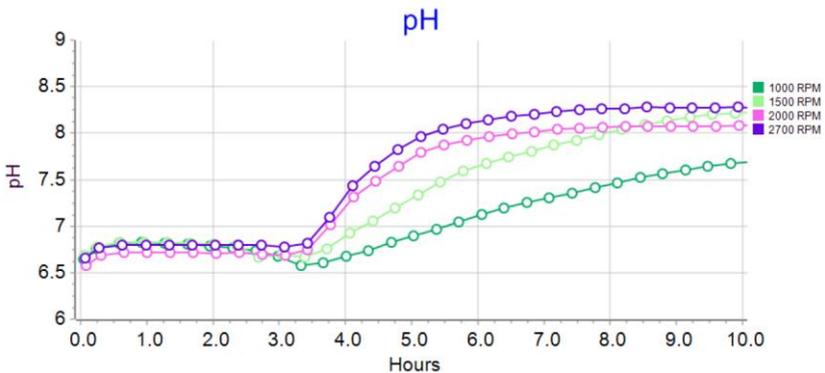


Figura 10. Influencia de la velocidad de rotación en la dinámica del cambio de pH en el medio de cultivo

Consideremos los datos obtenidos de la dependencia de la variación de la tasa de crecimiento del consumo de oxígeno y del pH del medio nutritivo de la velocidad de rotación del tubo. De los datos obtenidos (véase la fig. 9) se desprende que un aumento de la velocidad de rotación del tubo conduce a una aceleración de la tasa de crecimiento de la densidad óptica del medio nutritivo (OD600) y, por consiguiente, de las células cuya concentración (en mg/ml) corresponde a los valores de OD600. La mayor diferencia en la concentración de células se produce durante 4-5 horas de cultivo y, a continuación, después de 10 horas, la DO de todas las variantes se compara en la región de 6,0-6,5 OD600, que es el máximo rendimiento posible de biomasa de células de *E. coli* BL21 en el medio LB.

Y ahora observemos los datos obtenidos en las coordenadas de la tasa de crecimiento de la biomasa de células en función del tiempo de fermentación (ver fig. 10).

De la fig. 8 se desprende que un aumento de ω de 1000 a 1500 y luego a 2000 rpm conduce en cada paso a un aumento de 0,7 veces de la tasa máxima de crecimiento de la biomasa de células (el valor se expresa en OD600/h-1). Un nuevo aumento de ω 2000 rpm a ω 2700 rpm no conduce a un aumento de la tasa de crecimiento específico. Por lo tanto, en un único medio LB a 10 ml del volumen de trabajo del biorreactor, las condiciones de aireación alcanzadas a ω 2000-2700 rpm para esta cepa no son limitantes. Al mismo tiempo, el rango por debajo de ω 2000 rpm conduce a las condiciones limitantes de oxígeno. Además, los datos presentados en la fig. 8 confirman las observaciones anteriores.

De los datos presentados en la fig. 9 se desprende que durante la transición del cultivo a la fase logarítmica de crecimiento se observa un aumento de la intensidad del consumo de oxígeno del medio consumido para la generación aeróbica de ATP. Si en condiciones de aireación intensiva (correspondientes a $\omega = 2000$ rpm y $\omega = 2700$ rpm) el cultivo celular no cae en shock hipóxico, para intensidades de aireación correspondientes a ω de 1500 e inferiores se observa hipoxia, es decir, un estado en el que la OTR es inferior a la intensidad de consumo de oxígeno por el cultivo. Es interesante señalar que esta transición se observa a concentraciones celulares en el medio correspondientes a los valores indicados en la Tabla 2.

La Tabla 2 es de interés práctico y puede servir de orientación para el escalado del bioproceso.

Tabla 2. Dependencia de la concentración celular a la que se observa hipoxia de la intensidad de rotación del tubo.

ω (rpm)	μ_{\max}	OD600
2700	1.95	4
2000	1.8	3.75
1500	1.35	2.5
1000	0.7	1.75

Ahora estudiaremos qué ocurre con el pH del medio nutritivo durante la fermentación y cómo afecta a este parámetro la intensidad de la aireación.

Es necesario señalar dos apartados de la dependencia del pH del tiempo de fermentación: 1) retención estable del pH en el intervalo inicial de pH de 6,8, 2) alcalinización del medio nutritivo a pH 8,3 a partir del momento de la limitación de la oxigenación. De los datos obtenidos se deduce que el cambio por parte de los microorganismos del pH del medio no es una respuesta a la limitación de oxígeno (hipoxia), sino que es el resultado de otro proceso no asociado a los procesos aeróbicos. Dado que la fuente de carbono para el ciclo de los ácidos tricarbóxicos son, por regla general, los cetoácidos que resultan de la desaminación y desamidación de los aminoácidos presentes en el LB (hidrolizado triptolítico de la proteína láctea de la caseína), entonces se hace comprensible respecto a la alcalinización del medio nutriente a pH 8,3 - el punto de cambio de equilibrio de la solución amoniacal NH_4OH hacia el gas amoniacal NH_3 después de 4 a 5 horas de fermentación.

9.5. Las células que se utilizan para la calibración en fábrica son *E. coli* BL21 (recién cultivadas en medio TB durante una noche) o la cepa salvaje *S. Cerevisiae* (recién cultivada en medio YPD durante una noche).

9.6. Influencia de la fase de crecimiento de la calibración de fábrica en el error de medición alcanzable de la calibración del usuario.

Durante la transición de las células del crecimiento exponencial a la fase estacionaria, se producen una serie de cambios morfológicos y fisiológicos, como la disminución del volumen celular y el cambio de forma de las células. Por lo tanto, si las células se toman para la medición de referencia utilizando el espectrofotómetro en diferentes fases de la fase estacionaria, la exactitud de la medición puede ser peor de lo especificado. Además, los resultados de las mediciones de DO de los espectrofotómetros difieren entre sí y dependen de la configuración óptica, como el tamaño de la apertura, por ejemplo. Por lo tanto, es un requisito para la aplicación de la misma medición OD espectrofotómetro para la repetibilidad de los resultados.

9.7. Calibración del usuario.

La calibración depende del tamaño y el volumen de la célula. La calibración de un tipo de microorganismo no puede utilizarse con precisión para otro tipo de microorganismo de otro tamaño y forma. El dispositivo puede calibrarse a la longitud de onda de referencia deseada para satisfacer las necesidades del usuario, aunque no puede garantizarse todo el rango de medición especificado. Las calibraciones de fábrica se realizan utilizando células *E. coli* BL21 (fase estacionaria) o *S. Cerevisiae* cepa salvaje (fase estacionaria).

10. Especificaciones

10.1. Biosan está comprometida con un programa continuo de mejora y se reserva el derecho de alterar el diseño y las especificaciones del equipo sin previo aviso.

10.2. Especificaciones de medición óptica.

Fuente de luz.....	Láser
Longitud de onda (λ), nm.....	850 \pm 15
Rango de medición, OD ₆₀₀	0–100
Rango de medición de calibración de fábrica, OD ₆₀₀	
<i>E. coli</i>	0–50
<i>S. Cerevisiae</i>	0–75
Error de medición de calibración del usuario alcanzable, OD ₆₀₀	
0,1-6 \pm	0,3
6-50 \leq	5%
50-75 \leq	10%
Medición en tiempo real, intervalo de medición, min	1–60
Resolución de ajuste de tiempo, min.....	1

10.3. Especificaciones del sensor de O₂

Rango, % O ₂	0–100
Precisión	
a 20,9 %, en % O ₂	\pm 0,4
a 0,2 %, en % O ₂	\pm 0,05
Deriva a 0% O ₂	< 0,03 % O ₂ en 30 días (intervalo de muestreo de 1 min)
Rango de temperatura, °C	hasta 40
Tiempo de respuesta (t ₉₀), segundos	< 6
Límite de detección, % O ₂	0,03
Resolución	
al 20,9 %, en % O ₂	\pm 0,1
a 0,2 %, en % O ₂	\pm 0,01

10.4. Especificaciones del sensor de pH

Rango, pH	4,0–8,5
Precisión a pH 7, pH	\pm 0,10
Deriva, pH por día	< 0,005
Rango de temperatura, °C	hasta 40
Tiempo de respuesta ¹ (t ₉₀), segundos	< 120

10.5. Especificaciones de temperatura (En temperatura ambiente estable de 20 a 25 °C).

Rango de ajuste, °C	+15 ... +60
Punto inferior del intervalo de control, °C	15 por debajo de la temperatura ambiente
Punto superior del rango de control, °C.....	60
Resolución de ajuste, °C	0,1
Estabilidad, °C.....	\pm 0,3
Precisión de la temperatura de la muestra, °C	
20 °C ... 37°C \pm	1
< 20 °C \pm	2
> 37 °C \pm	2

¹ Sensor equilibrado mantenido en solución bien agitada a + 37 °C

10.6. Especificaciones generales.

Tomas de tubo	8
Rango de volumen de trabajo de la muestra, ml	3–50
Volumen de trabajo de la muestra para que el sistema óptico funcione según lo especificado, ml	7,5–50
Rango de velocidad, rpm.....	150–2700
Resolución de ajuste de velocidad, rpm	1
Rango de ajuste del tiempo de giro inverso, seg. 150–250 rpm	0
250–300 rpm	2–60
300–2700 rpm	0–60
Pantalla	LCD
Dimensiones totales (An × Pr × Al), mm.....	690×350×300
Peso, kg, con una precisión de ±10%	20
Tensión y frecuencia de funcionamiento	230 V~ ±10%, 50 Hz o 120 V~ ±10%, 50/60 Hz
Consumo	500 W

10.7. Requisitos del taller.

Descripción del taller	Cámaras frigoríficas y salas de laboratorio cerradas
Temperatura	+4 °C ... +40 °C
Requisitos de humedad	Máximo del 80% de HR a 31 °C, disminuyendo linealmente hasta el 50% de HR a 40 °C. Atmósfera sin condensación.
Altura máxima de funcionamiento	2000 m ASL
Categoría de sobretensión	II
Grado de contaminación	2

11. Información para pedidos

11.1. Versiones disponibles del **RTS-8 Plus**, biorreactor multicanal con medición no invasiva de concentración de las células en el modo de tiempo real.

Versión	Calibrado en	Tensión y frecuencia	Tipo de enchufe	Número de catálogo
V.2AW, V.5AW	<i>E. Coli</i>	230 V~ ±10%, 50 Hz	UE (tipo E/F)	BS-010170-A01
V.3AW	<i>S. Cerevisiae</i>			BS-010170-A08
V.4A02	<i>E. Coli, S. Cerevisiae</i>			BS-010170-A11
V.2A01	<i>E. Coli</i>	120 V~ ±10%, 50/60 Hz	US (tipo B)	BS-010170-A03
V.3A01	<i>S. Cerevisiae</i>			BS-010170-A06

11.2. Para solicitar información o pedir accesorios opcionales, Comuníquese con Biosan o con su representante de Biosan.

11.2.1. Accesorios opcionales.

Descripción	Número de catálogo
TubeSpin® Biorreactor 50-20, tubos de 50 ml con filtro de membrana, TPP®, juego de 20 unidades.	BS-010158-AK
TubeSpin® Biorreactor 50-180, tubos de 50 ml con filtro de membrana, TPP®, juego de 180 unidades.	BS-010158-CK
Tubo estéril de biorreactor TPP de un solo uso de 50 ml con puntos sensores de pH y pO ₂	BS-010170-AK

12. Mantenimiento

12.1. Servicio.

12.1.1. Si la unidad se desactiva (por ejemplo, no gira el tubo, no reacciona a la pulsación de teclas o al PC, etc.) o requiere mantenimiento, desconecte la unidad de la red eléctrica y Comuníquese con Biosan o con su representante local de Biosan.

12.1.2. Todas las operaciones de mantenimiento y reparación (excepto las enumeradas a continuación) deben ser realizadas únicamente por personal cualificado y especialmente formado.

12.1.3. Comprobación de la integridad del funcionamiento. Si la unidad sigue los procedimientos descritos en las secciones anteriores, no es necesario realizar comprobaciones adicionales.

12.2. Limpieza y desinfección.

12.2.1. Utilice jabón suave y agua con un paño suave o una esponja para limpiar el exterior. Enjuague la solución de lavado restante con agua destilada. Seque el exceso de agua con un paño limpio y suave o una esponja.

12.2.2. Para desinfectar las piezas de plástico, utilice etanol al 75% o una solución eliminadora de ADN/ARN (por ejemplo, Biosan PDS-250). Tras la desinfección es necesario secar las superficies con un paño.

12.2.3. Interna (partes ópticas). No utilice líquidos para limpiar las piezas ópticas. Utilice aire de un sifón de goma para eliminar las partículas.

12.2.4. La unidad no es autoclavable.

12.3. **Eliminación.** La eliminación del aparato requiere precauciones especiales y debe llevarse a cabo en un vertedero adecuado, separado de los residuos domésticos normales. Para evitar la contaminación del medio ambiente, todos los residuos resultantes de la eliminación del producto deben recogerse y eliminarse en el país de uso, de acuerdo con los requisitos aplicables para la manipulación de residuos electrónicos.

12.4. **Sustitución del fusible.** Desconecte del circuito eléctrico. Extraiga el enchufe de alimentación de la parte trasera del aparato (fig. 1/2). Extraiga el portafusibles haciendo palanca en el hueco (figura 7). Extraiga el fusible del soporte. Compruebe y sustituya por el fusible correcto, si es necesario, **M** 3,15 A para 230 V y **M** 6,3 A para 120 V (tipo **M** - retardo: Medio).

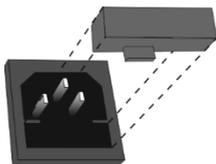


Figura 7. Sustitución de fusibles

13. Almacenamiento y transporte

13.1. Almacene y transporte la unidad en posición horizontal (consulte la etiqueta del embalaje) a temperaturas ambiente entre -20°C y $+60^{\circ}\text{C}$ y una humedad relativa máxima del 80%.

13.2. Después del transporte o almacenamiento y antes de conectarlo al circuito eléctrico, mantenga la unidad a temperatura ambiente durante 2–3 horas.

13.3. Para un almacenamiento prolongado, la unidad no requiere procedimientos especiales.

14. Garantía

14.1. El Fabricante garantiza la conformidad de la unidad con los requisitos de las Especificaciones, siempre que el Cliente siga las instrucciones de funcionamiento, almacenamiento y transporte.

14.2. La vida útil garantizada de la unidad a partir de la fecha de su entrega al Cliente es de 24 meses. Para ampliar la garantía, véase **13.5**.

14.3. La garantía sólo cubre las unidades transportadas en el embalaje original.

14.4. Si el cliente descubre algún defecto de fabricación, deberá rellenar una reclamación por equipo insatisfactorio, certificarla y enviarla a la dirección del distribuidor local. Visite la sección de **asistencia técnica** de nuestro sitio web en el siguiente enlace para obtener el formulario de reclamación.

14.5. Garantía ampliada. Para **RTS-8**, el modelo de clase *Smart plus*, la garantía ampliada es un servicio de pago. Comuníquese con su representante local de Biosan o con nuestro departamento de servicio técnico a través de la sección **Soporte técnico** de nuestro sitio web en el siguiente enlace.

14.6. La descripción de las clases de nuestros productos está disponible en la sección **Descripción de las clases de productos** de nuestro sitio web, en el enlace que figura a continuación.

Asistencia



biosan.lv/es/support

Clases de productos



biosan.lv/classes-es

14.7. La siguiente información le será requerida en caso de que sea necesario el servicio de garantía o post-garantía. Rellene la siguiente tabla y consérvela para sus archivos.

Modelo	Número de serie	Fecha de venta
RTS-8 Plus, biorreactor multicanal con medición no invasiva de concentración de las células en el modo de tiempo real		

14.8. **Fecha de producción.** La fecha de producción figura en el número de serie, en la etiqueta de la unidad. El número de serie consta de 14 dígitos con el nombre XXXXXYYMMZZZZ, donde XXXXXX es el código del modelo, YY y MM - año y mes de producción, ZZZZ - número de la unidad.

15. Declaración de conformidad de la UE

15.1. **RTS-8 Plus**, biorreactor multicanal con medición no invasiva de concentración de las células en el modo de tiempo real, es conforme con las siguientes legislaciones pertinentes de la Unión:

LVD 2014/35/UE	LVS EN 61010-1:2011 Requisitos de seguridad del material eléctrico de medida, control y uso en laboratorio. Requisitos generales. LVS EN 61010-2-010:2015 Requisitos particulares para equipos de laboratorio para el calentamiento de materiales. LVS EN 61010-2-051:2015 Requisitos particulares para equipos de laboratorio para mezclar y agitar.
CEM 2014/30/UE	LVS EN 61326-1:2013 Material eléctrico de medida, control y uso en laboratorio. Requisitos CEM. Requisitos generales.
RoHS3 2015/863/UE	Directiva sobre restricciones a la utilización de determinadas sustancias peligrosas en aparatos eléctricos y electrónicos.
WEEE 2012/19/UE	Directiva sobre residuos de aparatos eléctricos y electrónicos.

15.2. La Declaración de Conformidad está disponible para su descarga en la página del modelo correspondiente de nuestro sitio web mediante los enlaces que aparecen a continuación, en la sección **Descargas**:



RTS-8 Plus

