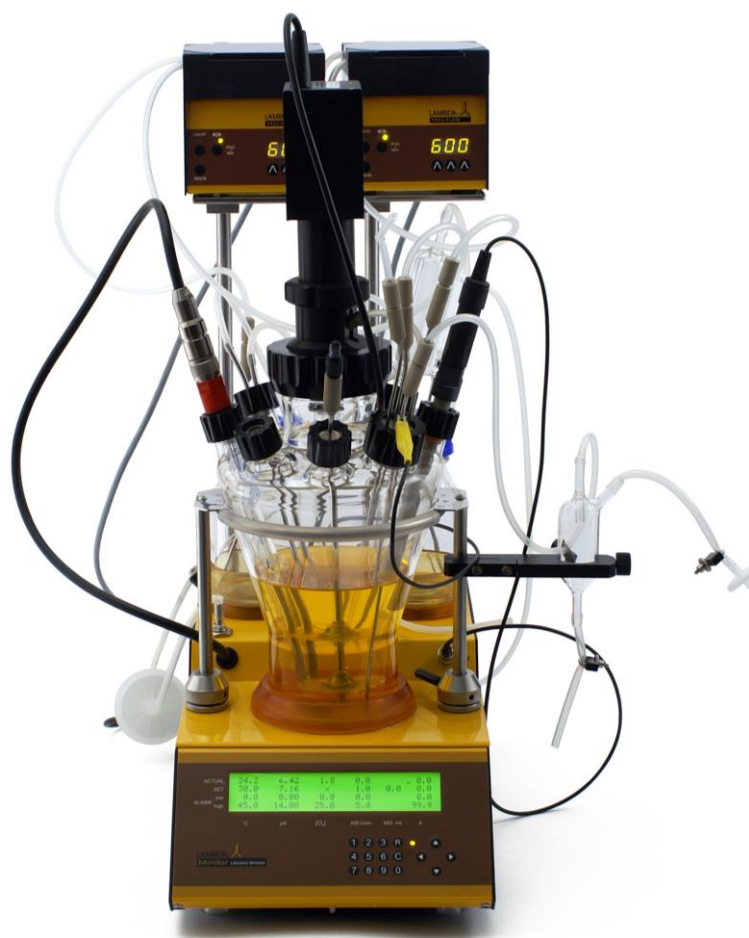


LAMBDA MINIFOR Fermentador- Biorreactor de Laboratorio

MANUAL DE OPERACIONES



LAMBDA CZ s.r.o.

Lozibky 1

CZ-61400 Brno

República Checa

Hotline: +420 603 274 677

Email: support@lambda-instruments.com

Instrumentos de Laboratorio LAMBDA

Sihlbruggstrasse 105

CH-6340 Baar

Suiza

Tel.: +41 444 50 20 71

Tabla de contenidos

1	Chequeo de la entrega e inspección	8
1.1	Chequeo de las cajas y el equipamiento	8
1.2	Verificación de la nota de entrega	8
2	Introducción	8
2.1	Concepto de diseño del MINIFOR	8
2.1.1	Kit listo para el uso y avanzado del MINIFOR	9
2.1.2	Unidad Principal de Control LAMBDA	11
2.1.3	Vasos del MINIFOR	11
2.1.4	Unidad de agitación	13
2.1.5	Electrodo de temperatura y pH	13
2.1.6	Control del pH	14
2.1.7	Control de la Temperatura	14
2.1.8	Control de la aireación y la pO ₂	15
2.1.9	Medición del potencial REDOX	16
2.1.10	Dispositivo de muestreo	16
2.1.11	Control de antiespumante	17
2.1.12	Condensador del gas de salida	18
2.1.13	Parámetro "X"	19
2.1.14	Caja de conexión cuádruple	19
2.2	Modos de fermentación MINIFOR LAMBDA / Valores preestablecidos o prefijados/ Opciones	19
2.2.1	Fermentaciones en modo batch o volume constante	21
2.2.2	Fermentaciones en modo incrementado o volumen variable	21
2.2.3	Modo Continuo de Fermentación	22
2.3	Medidas de seguridad	23
2.3.1	Manipulación de los vasos de vidrio	23
2.3.2	Conectores con doble cierre LAMBDA	24
2.3.3	Conexión a la fuente de energía de los instrumentos adicionales	25
2.3.4	Esterilización	25
2.3.5	Presión	25
2.3.6	Reactivos y microorganismos peligrosos	25
3	Instalación y preparación (basado en el kit avanzado del MINIFOR (1 L))	26
3.1	Aspectos esenciales para la preparación e instalación del MINIFOR-RESUMEN GENERAL	26
3.2	Puesta a punto con la Unidad Principal de Control LAMBDA	27
3.3	Sujetadores y varillas de soporte o apoyos para las bombas peristálticas LAMBDA	27
3.4	Instalación del vaso de fermentación	28
3.4.1	Instalación del vaso de reacción de 7 L	32
3.5	Unidad de agitación y distribuidor de burbujas	35
3.5.1	Vasos de 0,3 L y volumen mínimo de trabajo: discos de agitación de forma mariposa - no distribuidor de burbujas	40
3.6	Entrada de aire	41
3.6.1	Superficie de aireación	42
3.7	Instalación del electrodo de pO₂	44
3.8	Instalación del electrodo de temperatura y pH	47
3.9	Válvula de seguridad limitante de la presión	50
3.10	Ensamblaje de los dispositivos de adición y muestreo	52

3.10.1	Puertos de muestreo cuádruple y de adición	52
3.10.2	Preparación de los conectores de tuberías o mangueras de PEEK LAMBDA con doble sello	53
3.10.3	Preparación del dispositivo de inoculación (Septum o tabique)	54
3.10.4	Preparación del dispositivo de muestreo	56
3.10.5	Preparación de las botellas de almacenamiento	57
3.10.6	Montaje de los dispositivos de muestreo y adición.....	59
3.11	Dispositivo de enfriamiento del medio	61
3.11.1	Lazo (bucle o serpentín) de enfriamiento.	61
3.11.2	Dedo de enfriamiento electrónico Peltier	63
3.12	Condensador del gas de salida y filtro de salida de aire	65
3.12.1	Condensador del gas de salida de vidrio con el filtro de aire de salida.....	66
3.12.2	Ensamblaje del condensador electrónico del gas de salida	68
3.13	Instalación del módulo de escala para el modo de operación continuo	71
3.13.1	Adaptación del intervalo de medición para el volumen / masa de trabajo	71
3.13.2	Conexión del módulo de pesada para el biorreactor - fermentador MINIFOR.....	72
3.13.3	Selección del intervalo	72
3.13.4	Conexión de las bombas de adición o eliminación o cosecha de medio	74
3.14	Sistema de control del antiespumante (ANTIFO & DOZITO) Instalación.....	74
3.14.1	Instalación del detector y controlador de espuma ANTIFO.....	75
3.14.2	Preparación del DOZITO, bomba de jeringuilla miniaturizada.....	76
3.14.3	Conectando el ANTIFO y el DOZITO	80
3.15	Conexiones de los cables	81
3.15.1	Resumen de todas las conexiones del MINIFOR	81
3.15.2	Unidad de Agitación	83
3.15.3	Electrodo de pH y temperatura.....	83
3.15.4	Dedo de enfriamiento Peltier para el medio	84
3.15.5	Bomba peristáltica LAMBDA y Massflow	85
3.15.6	Electrodo de pO ₂	86
3.15.7	Entrada del flujo de gas	87
3.15.8	Salida del flujo de gas	88
3.15.9	Parámetro X.....	89
3.15.10	ANTIFO y DOZITO	89
3.15.11	Conexión a tierra del MINIFOR	91
3.15.12	Conexión del ordenador o computadora	92
3.15.13	Alarma	92
3.15.14	Fuente de energía principal.....	93
3.16	Instalación de la bombas peristálticas	94
3.16.1	Instalación de las tuberías o mangueras.....	95
3.16.2	Ajuste de la velocidad o flujo.	96
3.16.3	Seleccionado la dirección del flujo	97
3.16.4	Llenado o vaciado rápido de la línea	98
3.16.5	Conexión de las bombas peristálticas	98
3.16.6	Colocación de las bombas peristálticas	100
4	Panel de control y pantalla o monitor.....	100
4.1	Teclas.....	101
4.1.1	Teclas de función (C, R)	102
4.1.2	Teclas de Navegación (Teclas de flechas)	102
4.1.3	Teclas de números	104
4.2	Modos (estados) del MINIFOR.....	104
4.3	Puntos de ajuste y ALARMA	106
4.3.1	Ajuste de temperatura	107
4.3.2	Ajuste del pH, pO ₂ , flujo de aire, agitador y X.....	108
4.3.3	Alerta de (des)activación.....	108
5	Calibraciones.....	109
5.1	Agitador, Temperatura, Flujo o Velocidad: No calibración	109

5.2	Calibración del electrodo de pH	109
5.2.1	Lista de gastables	110
5.2.2	Calibración paso a paso del electrodo de pH	110
5.2.3	Comprobación cruzada de la calibración de pH	113
5.3	Calibración del electrodo de pO₂	115
5.3.1	Lista de gastables	116
5.3.2	Inspección del electrodo	116
5.3.3	Polarización.....	117
5.3.4	Saturación del oxígeno en el agua	117
5.3.5	Calibración del electrodo de pO ₂	119
5.3.6	Mensajes / Errores	123
5.3.7	Verificación o comprobación cruzada de la calibración de la pO ₂	123
5.4	Calibración del flujo de la bomba	124
5.4.1	Calibración volumétrica	124
5.4.2	Calibración por peso	126
5.5	Calibración del canal X: Ejemplo para el módulo de pesada	127
5.5.1	Introducción general del canal-X	127
5.5.2	Calibración del módulo de pesada	127
5.5.3	Puesta en marcha de la regulación de la bomba	130
5.6	Sistema Antiespumante	131
5.6.1	Ajuste de la sensibilidad en ANTIFO	131
5.6.2	Ajuste del intervalo o paso de volumen en el DOZITO	132
6	Conexión al ordenador o computadora y programa de fermentación	134
6.1	FNet programa fácil de usar para fermentaciones	134
6.1.1	Programa listo para el uso	134
6.1.2	Archivo de datos.....	135
6.1.3	Control de Procesos	135
6.2	SIAM Programa para fermentación industrial	135
6.2.1	Programa muy sofisticado	135
6.2.2	Dispositivos o instrumentos analizados utilizando SIAM	136
6.2.3	Aplicaciones	136
6.3	Programa para el módulo de mezclado automático de gases MINI-4 gas	137
6.3.1	Tipos de sistemas de mezcla de gases (Gas-Mix)	137
6.3.2	Control de Procesos	137
6.4	Conexión al ordenador o computadora	138
7	Esterilización & Reinstalación	139
7.1	Preparación para la esterilización	139
7.2	Esterilización de las botellas de almacenamiento y de las líneas de tuberías o mangueras de las bombas	142
7.3	Esterilización del electrodo de pH-temperatura	143
7.4	Lista de chequeo antes de la esterilización	143
7.5	Espacio en el autoclave y ciclo de esterilización	144
7.6	Reinstalación	145
7.7	Prueba de esterilidad	146
8	Inoculación	146
8.1	Lista de verificación o chequeo antes de la inoculación	147
8.2	Proceso de inoculación	148
9	Muestreo Estéril	149

10	Mantenimiento	152
10.1	Mantenimiento de la válvula de seguridad de sobrepresión.....	152
10.2	Mantenimiento y almacenamiento del electrodo de pH	152
10.2.1	Limpieza del electrodo de pH	153
10.2.2	Almacenamiento del electrodo de pH.....	154
10.3	Mantenimiento y almacenamiento del electrodo de pO₂.....	154
10.3.1	Mantenimiento y limpieza de la membrana pO ₂	154
10.4	Limpieza del vaso de reacción.....	155
10.5	Mantenimiento de las entradas estériles y los filtros de salida	155
11	Solución de problemas.....	156
12	Especificaciones Técnicas.....	157
13	Declaración de la CE.....	159
14	Garantía	159

Nota de Derecho de Copia

LAMBDA CZ s.r.o.
Lozibky 1,
CZ-61400 Brno,
República Checa

© Instrumentos de Laboratorios LAMBDA

Todos los Derechos Reservados.

LAMBDA puede modificar el equipamiento y los documentos sin cualquier notificación adicional.

La reproducción, adaptación sin un permiso previo por escrito de Instrumentos de Laboratorio LAMBDA está prohibido.

Nota aclaratoria

LAMBDA CZ s.r.o. se reserva el derecho de cambiar la información de este documento sin notificación. Las actualizaciones de la información de este documento reflejan o expresan nuestro compromiso para continuar el desarrollo y mejoras del producto.

Símbolos y signos utilizados en el manual:



Las recomendaciones y consejos permiten aprender más acerca de la manipulación fácil del equipamiento.



Los mensajes de atención indican las instrucciones de seguridad y protección para el personal y el equipamiento. Si estas no son tenidas en cuenta o seguidas pueden provocar daños al instrumento y al personal.



Los mensajes con el pulgar hacia arriba indican las cosas que se recomiendan hacer.



Los mensajes con el pulgar hacia abajo indican la prohibición de cosas que no deben hacerse con el biorreactor - fermentador MINIFOR.



La información básica lo provee de la información esencial sobre el instrumento.

Bold

Los textos que se encuentren resaltados o en “**negritas**” enfatizan las palabras claves o frases.

1 Chequeo de la entrega e inspección

1.1 Chequeo de las cajas y el equipamiento

Después de recibir la orden, inspeccione cuidadosamente las cajas, vaso de cultivo y las otras partes de vidrio para verificar si ocurrió algún daño durante el envío.

En caso de que se detecten daños, por favor infórmelo inmediatamente al departamento de venta local o envíenos una nota de reclamación. Por favor, tenga en cuenta que nosotros podemos ayudar en la reclamación del seguro, sólo si el problema es informado dentro de un plazo de dos semanas después del despacho.

1.2 Verificación de la nota de entrega

Chequee detalladamente la nota de entrega y verifique que haya recibido todo y que por ende no se olvidó o extravió ningún componente.

Si cualquier parte de la orden faltara, existiesen fallas para operar el equipamiento o incluso hayan ocurrido daños durante el envío, infórmelo inmediatamente.

2 Introducción

2.1 Concepto de diseño del MINIFOR

El biorreactor - fermentador MINIFOR LAMBDA, diseñado para áreas pequeñas o mesas de laboratorios está disponible para volúmenes desde 35 mL hasta 6.5 L.

El biorreactor - fermentador MINIFOR LAMBDA, ha sido diseñado para que varios biorreactores - fermentadores puedan ser colocados uno al lado del otro, lo cual es muy apropiado para la optimización de biotransformaciones y de los parámetros de crecimiento del cultivo. El MINIFOR LAMBDA ocupa un espacio mínimo en las mesas de laboratorio permitiendo además un buen acceso a todas las partes de la unidad.

El MINIFOR puede ser usado también para trabajar independientemente o puede ser conectado directamente al ordenador para ser controlado de forma remota, y para el tratamiento extensivo de los datos, regulación o corrida y almacenamiento.



Figura 2-1 Kit avanzado del MINIFOR (1L), vista frontal.



Figura 2-2 Kit avanzado del MINIFOR (1L), vista lateral.

Varias innovaciones y nuevas ideas han sido introducidas.

- Durante muchos años, los vasos o recipientes de vidrio han sido empleados en el cultivo celular y han demostrado **mantener una esterilidad “perfecta”**. Por ende hemos usado esa idea en el biorreactor / fermentador MINIFOR.
- El **sistema de agitación** se basa en movimientos **hacia arriba y hacia abajo**. El sistema de agitación tiene un motor con una membrana para asegurar la esterilidad y el mezclado eficiente sin la formación de vórtices (por lo tanto los deflectores no son necesarios). **Los discos de agitación que simulan biológicamente una “cola de pescado”** ofrecen máxima eficiencia sin bordes cortantes; estos mezclan las células gentilmente y producen menos espuma.
- El cultivo es calentado mediante radiaciones parecidas a las solares con un reflector de oro y un radiador parabólico ubicado debajo del vaso para mantener la temperatura de forma precisa.
- Una unidad compacta, sin torre externa o extra, permite **medir y controlar seis parámetros** con el uso de un moderno microprocesador ubicado en la parte frontal del instrumento.

2.1.1 Kit listo para el uso y avanzado del MINIFOR.

El sistema biorreactor - fermentador MINIFOR LAMBDA incluye el kit listo para el uso y el avanzado.

Tabla 1 . Muestra una idea general del kit listo para el uso y el avanzado del MINIFOR LAMBDA

	MINIFOR	
	Kit avanzado	Kit listo para el uso.
Escala del reactor	El fermentador de laboratorio y el tanque agitado de escala de laboratorio.	
Diseño del reactor	Tanque agitado.	
Modo de operación	"Batch" o volumen constante, incrementado o volumen variable, continuo, (perfusión).	
Control de parámetros	Velocidad del agitador o de agitación, temperatura, pH, oxígeno disuelto,	
* Control de parámetros adicional *	Flujo de aire, parámetros libres, control de nivel para el modo de operación continuo.	
Microprocesador Con programa interno, pantalla o monitor y teclado	x	x
Agitación Controlador automático de agitación 0, 0.1, 0.2, ..., 19.9, 20 Hz min. 0 Hz (= 0 rpm) máx. 20 Hz (= 1200 rpm)	x	x
Medición Intervalo completo 0 - 20 Hz	x	x
Temperatura Controlador automático de temperatura Desde 5 °C sobre la T ambiente hasta 70 °C	x	x
Mediciones con Pt100 Desde 0 hasta 99,9 °C en intervalos o pasos de 0,1 °C.	x	x
Calentador infrarrojo (IR).	x	x
Lazo (bucle o serpentín) de enfriamiento	x	x
pH Controlador automático de pH 0 - 13	x	x
Medición con el electrodo de pH 0 -13	x	x
Bomba para la adición de ácido (PRECIFLOW).	x	* opcional
Bomba para la adición de base (PRECIFLOW).	x	* opcional
Sostenedores y varillas de apoyo para las bombas.	x	* opcional
Recipientes de almacenamiento y tuberías para la adición de ácido y la base.	x	* opcional
OD (pO ₂).		
Controlador automático de DO (proporcional) 0 - 25 mg oxígeno/L (en intervalos o pasos de 0,1 mg).	x	x
Mediciones con el electrodo del OD. 0 - 25 mg oxígeno/L (en intervalos o pasos de 0,1 mg).	x	* opcional
Flujo de aire Controlador de aeración automático (proporcional) 0 - 5 L/min en intervalos de 0,1 L/min	x	x
Medición con el equipo controlador del flujo de gas interno (Massflow) 0 – 5 mL/min en intervalos de 0,01 mL/min.	x	x
Parámetros libres Controlador automático, enchufe o conector, monitor o pantalla.	x	x

Alertas Para valores altos y bajos de cada parámetro.	X	X
Válvula de sobrepresión.	X	X
Dispositivo de muestreo.	X	* opcional
Dispositivo de enfriamiento para el gas de salida.	X	X
Programa para ordenador o computadora (PC) (FNet, SIAM), ordenador portátil.	* opcional	* opcional
Bombas de cosecha y alimentación o suministro: PRECIFLOW / MULTIFLOW/ HiFLOW / MAXIFLOW / VIT-FIT / VIT-FIT HP, INTEGRADORES de las bombas.	* opcional	* opcional
MODULO de pesada para el modo continuo.	* opcional	* opcional
Sistema antiespumante automático (ANTIFO & DOZITO)	* opcional	* opcional
Enriquecimiento de O₂/mezcla de 4 gases: controladores y massflows. MASSFLOW 500/ MASSFLOW 5000	* opcional	* opcional
Compresor de aire AEROSILENTO.	* opcional	* opcional
Electrodo REDOX , controlador, bombas / massflow	* opcional	* opcional
Enfriador tipo PELTIER para medio / libre de gas.	* opcional	* opcional
Luz LUMO y controlador para PBR (Fotobioreactor).	* opcional	* opcional
Manual de operación y video.	X	X
Garantía.	2 años	

El MINIFOR LAMBDA es el biorreactor - fermentador más flexible que existe en el mercado. Inicialmente trabaja con el kit listo para el uso o incluso con el kit avanzado, el sistema puede ser mejorado o actualizado de acuerdo a los requerimientos del proyecto. Por ejemplo: cambiar vasos, adicionar bombas y MASSFLOWS, ANTIFO & DOZITO, etc.

2.1.2 Unidad Principal de Control LAMBDA

LAMBDA conoce que los sistemas biológicos son complejos y que la mayoría de los parámetros deben ser mejor controlados. Para lo cual suministra la unidad de control principal la que permite la medición de los parámetros y los lazos de regulación (**°C, pH, pO₂, agitación y otro canal de selección denominado X**), el cual puede ser usado por cualquier otro controlador. Esta unidad está lista para aceptar un módulo de escala para el control preciso de los parámetros en **fermentaciones continuas**.

Todos los procesos son controlados digitalmente mediante dos microprocesadores. La tecnología moderna permite un mejor control que la que se usaba anteriormente. La tecnología moderna nos permite agrupar todos los lazos (bucles o serpentines) de control en un espacio pequeño, a un costo relativamente bajo y hemos usado esto para que nuestros clientes se beneficien, en vez de comprar cada módulo a un alto costo.

La unidad principal de control contiene el panel de control el cual es usado para la visualización y control de los parámetros.

2.1.3 Vasos del MINIFOR

¡El MINIFOR puede ser usado para cultivar en un volumen de trabajo mínimo de 35 mL con el control preciso de seis parámetros!

Este tiene el mayor intervalo de volumen que existe en el mercado, porque es el único instrumento que puede ser usado para volúmenes que oscilan entre 35 mL y algo más de 6 L. La unidad principal de control puede ser la misma mientras que los vasos de trabajo pueden ser cambiados de acuerdo a los requerimientos del proyecto. La velocidad del tráfico de señales es mayor y la regulación es más precisa en cada unidad principal de control.

LAMBDA diseñó y creó puertos laterales en los vasos. El acceso es mucho mejor y la vista global o general es muy buena. La forma innovadora del vaso LAMBDA elimina el costoso disco superior (placa principal superior o adaptador de placa de cabeza o plato de cabeza) completamente. La tapa con rosca del puerto central permite un fácil montaje y apertura con un solo movimiento de la mano.

Tabla 2 . Vista resumen de los vasos del MINIFOR.

Vasos del MINIFOR					
Tipo de Vaso	0.3	0.4	1	3	7
Volumen de trabajo. min. (L) máx. (L)	0.035 0.4	0.15 0.45	0.3 1.7	0.5 3	1 6.5
Dimensiones de los vasos para la esterilización. altura H (cm) diámetro D (cm)	34 22	22 23	34 25	37 34	50 30
Puertos Cantidades de cuellos laterales equivalentes a los puertos tradicionales.	6	8 22	8 22	8 22	8 22

2.1.3.1 Junta tórica líquida LAMBDA para vasos de 7 L

Las juntas tóricas estándares tienen varias propiedades indeseables o inconvenientes.

- Si cualquier suciedad o filamentos se encontraran debajo de la junta tórica, entonces los microorganismos tendrán un gran túnel o vía para acceder o entrar en el vaso.
- Las juntas tóricas requieren grandes fuerzas de compresión para ajustar perfectamente. El enrosque de las superficies de conexión tiene que ser perfecto y regular en aras de eliminar la mayor compresión de un lado contra una menor compresión en el otro. Las fuerzas mecánicas resultantes pueden provocar una alta tensión sobre las partes de vidrio, especialmente durante la esterilización.
- Sustitución frecuente de la juntas tórica grande puede resultar en la recurrencia de altos costos.

Por lo tanto, para vasos grandes de 7 L, LAMBDA propone una nueva solución para los problemas mencionados con anterioridad, la **junta tórica líquida**:

La junta tórica líquida **consiste de una resina de silicona parcialmente endurecida y rellena con el más puro polvo de cuarzo y de consistencia extremadamente fina (como el humo).**

Esta llena las cavidades entre las superficies de unión, ajusta completamente para evitar el paso de gases y no genera tensión sobre el vidrio.

Esta puede solidificarse en varias horas a temperatura ambiente o en minutos durante la esterilización en la autoclave. La junta tórica líquida forma una gran superficie de contacto y no pocos mm con una gran superficie de unión por cubrir como en el caso de juntas tóricas estándares.

Además, esta **pasta para la junta tórica líquida** puede ser **reusada** muchas veces.

2.1.4 Unidad de agitación

La unidad de agitación LAMBDA está incluida en cada kit del MINIFOR.

LAMBDA utiliza un sistema de agitación no rotacional con movimientos hacia arriba y hacia abajo. Este sistema de agitación muestra una nueva posibilidad de alcanzar una “fácil” y “perfecta” esterilidad, mantenida solo con un costoso acoplamiento magnético. Los problemas causados por el acoplamiento magnético son eliminados totalmente aquí y combinados con el sistema de agitación empleado.

El **vibromezclador**: un potente motor mueve uno o más discos de agitación hacia arriba y hacia abajo.

La frecuencia de agitación es controlada mediante un microprocesador. El intervalo del agitador es de 0 - 25 Hz y puede ser usado en intervalos o pasos seleccionados de **0,1 Hz**.

La frecuencia de agitación, así como la cantidad y tipo de los discos de agitación pueden ser seleccionados de acuerdo a las aplicaciones.

Los discos del agitador disponibles son:

- Discos estándares del agitador del tipo “cola de pescado”: para células de mamíferos, células de plantas, hongos, bacterias y levaduras. La más suave agitación y la biomimética de la “cola de pescado” garantizan un mezclado uniforme a lo largo o durante la biorreacción / fermentación.
- Discos metálicos opcionales para medios viscosos.
- Discos tipo mariposa para pequeños volúmenes de trabajo.

2.1.5 Electrodo de temperatura y pH

El electrodo de temperatura (Pt100) está incorporado con el electrodo de pH. El electrodo pH/Pt100 está incluido en cada kit de MINIFOR.

La Pt100 es usada para:

- Corrección automática de la temperatura para la correspondiente medición de pH.
- Medición de la temperatura del medio de fermentación / caldo celular o de cultivo.
- Control automático de la temperatura del medio de fermentación / caldo o de cultivo.

El electrodo de pH es utilizado para:

- Medición del pH.

2.1.6 Control del pH

Cada kit del MINIFOR contiene el microprocesador para el control automático de pH y temperatura.

El kit avanzado del MINIFOR incluye 2 bombas peristálticas PRECIFLOW, tuberías, y vasos de almacenamiento para el control automático del pH.

Para el control automático del pH, el microprocesador compara el valor de pH real con el preestablecido o prefijado. De acuerdo a las diferencias de estos valores, el ácido o la base serán adicionados al medio

La base o el ácido, ambos en forma líquida, son adicionados automáticamente por la bomba peristáltica LAMBDA, teniendo en cuenta las diferencias entre el valor preestablecido prefijado y el real de la medición. Por lo tanto, esto no se realiza mediante el encendido y apagado sino durante el intervalo completo de velocidad de la bomba.

En vez de ácido en forma líquida, es posible también adicionar gases como: CO₂ para el control automático del pH. Para esto es necesario desconectar la bomba peristáltica para el ácido y conectar el controlador de gas adicional Massflow para el control automático del pH.

2.1.7 Control de la Temperatura

Los bloques de calentamiento así como las mantas de calentamiento de silicona tienen desventajas bien conocidas.

- Su eficiencia es limitada por la calidad del contacto entre la superficie de calentamiento y las paredes del vaso. La transferencia de calor ocurre solo por difusión, la cual es especialmente baja cuando el gradiente de temperatura es pequeño.
- Otra desventaja, es que la visión dentro del vaso es limitada o restringida y no es posible iluminar cultivos de algas desde el exterior.
- Un criterio aún peor, es el sobrecalentamiento de los cultivos celulares, el cual ocurre cuando el nivel del líquido del cultivo está por debajo de la parte superior de la manta o camiseta.
- Otra gran desventaja es que las pinzas y las mantas de calentamiento no permiten el enfriamiento natural del vaso por lo que un sistema de enfriamiento complementario es entonces requerido. Esto incrementa ambas cosas, el costo y la complejidad del sistema. Incluso un pequeño daño de las mantas puede provocar electrocución.

Para eliminar todos los problemas mencionados anteriormente por el uso de los bloques de calentamiento y mantas o camisetas. LAMBDA inventó o creó un **calentador de radiaciones IR**, el cual se coloca debajo de la base del vaso.

El espiral de calentamiento está ubicado en un reflector parabólico dorado, el cual concentra la energía en la base del vaso. Los rayos calientan óptimamente el medio desde la parte inferior. Esto crea una convección natural hacia arriba en el área, aún **sin agitación mecánica y sin crear ningún punto caliente en el volumen de medio contenido en el vaso**. Alrededor de la mitad del calor es adsorbido por la base de vidrio, mientras que la otra mitad es adsorbida directamente en el medio. No es posible imaginar una forma más suave de calentamiento similar a la solar.

El cambio de temperatura es mucho más rápido y el ajuste es mucho más preciso y simple de llevar a cabo.

La temperatura es medida con el **Pt100**, la cual está incorporada con el electrodo de pH (por favor refiérase a 2.1.5 Electrodo de pH y temperatura).

Si fuese necesario trabajar con temperaturas por debajo de 4 °C por encima de la temperatura ambiente o si el enfriamiento fuese necesario debido a reacciones exotérmicas, entonces el intervalo de control de la temperatura puede ser cambiado mediante la adición de un sistema de enfriamiento opcional.

El kit del MINIFOR incluye el **lazo (bucle o serpentín) de enfriamiento** el cual permite la circulación del líquido de refrigeración (por ejemplo: agua del grifo o corriente, o líquido de enfriamiento del baño termostataado) para mantener la temperatura. O, es posible obtener también el **dispositivo electrónico de enfriamiento PELTIER** para un volumen de trabajo de hasta 3 L.

2.1.8 Control de la aireación y la pO₂

El sistema controlador Massflow LAMBDA está especialmente diseñado para su uso en biorreactores y fermentadores de laboratorios LAMBDA para el control del aire y otros gases.

Un sensor de flujo de alta calidad de masa laminar mide la el flujo o velocidad. El resultado aparece en la pantalla o monitor de la unidad principal de control. La celda del flujo de masa tiene una caída de presión muy pequeña y una lectura con un error de linealidad inferior o menor que ±3%. La repetibilidad de la medición es mejor que ±0.5%.

El flujo es regulado por una válvula de aguja proporcional de propiedades especiales controlada por un microprocesador. El flujo puede ser programado y el volumen calculado.

Inicialmente el parámetro necesita ser seleccionado para el control:

- Control automático del flujo [L/min] de un gas (mezcla)
O
- El control automático de pO₂ (OD, oxígeno disuelto) [Refiérase al capítulo 5.3]

2.1.8.1 Flujo de aire

Antes de usar flujo de gas, es imperativo que la presión de aire tiene que estar 0.05 MPa (0.5 bars).

Cada kit del MINIFOR contiene un **MASSFLOW interno**: 0 – 5000 mL/min, el cual controla intervalos o pasos de 10 mL/min. La válvula proporcional para el suministro de gas se abre de acuerdo al valor preestablecido o prefijado

El Massflow interno del MINIFOR puede ser usado para una corriente de gas o para una corriente de mezcla de gases.

Para la mezcla de gases y el enriquecimiento de O₂, **Massflows externos** opcionales pueden ser usado:

- MASSFLOW externo 5000: 0 – 5000 mL/min, controla en intervalos o pasos de 10 mL/min
- MASSFLOW externo 500: 0 – 500 mL/min, controla en intervalos o pasos de 1 mL/min

2.1.8.2 Electrodo de pO₂ (OD = oxígeno disuelto)

Mediante la adición de aire / O₂, el MASSFLOW interno (0-5000 mL/min) que controla intervalos o pasos de 10 mL/min puede ser usado para el control automático de la pO₂.

Además, el electrodo de pO₂ (OD electrodo = electrodo de oxígeno disuelto) es requerido.

El Kit avanzado del MINIFOR está equipado con el electrodo de OD. Aunque es posible adquirir el electrodo de pO_2 para ser usado con el kit de MINIFOR listo para el uso, si fuese necesario.

Propiedades técnicas del electrodo de OD:

- El electrodo de pO_2 puede ser esterilizado hasta 130 °C.
- Respuesta rápida, menos de 1 min para el 95% de la señal final.
- Amplio intervalo de medición 0 - 25 mg de oxígeno disuelto/L.
- Compensación automática de la temperatura.
- Hasta 3 bars de presión de proceso.
- Menos de 2 h de tiempo de polarización.

LAMBDA ha desarrollado un electrodo para medir oxígeno utilizando un cuerpo completamente no metálico, fabricado de un material nuevo y muy resistente, PEEK, el cual tiene una resistencia química similar al PTFE, pero es mucho más estable mecánicamente.

El electrodo es del tipo Clark con un cátodo Pt grande y un ánodo de referencia de Ag/Cl. La membrana está fabricada de vidrio reforzado con una fina capa de PTFE. El PTFE es mejor que las membranas de silicona porque forman muchos menos depósitos en la superficie de Teflón que en cualquier otro material.

La membrana está casi totalmente protegida, y sólo una apertura muy pequeña sobre el cátodo está libre. Por consiguiente, la probabilidad de daño de la membrana se reduce grandemente.

Principio de operación: La membrana de PTFE es permeable a los gases y no permite que cualquier otra sustancia disuelta pase a través de ella. Mediante la selección del voltaje de polarización correcto, el oxígeno, el cual difunde a través de la membrana, es reducido en el cátodo, generando una corriente eléctrica proporcional a la concentración de oxígeno. Esta señal es medida y transformada en la concentración de oxígeno disuelta en el medio.

2.1.9 Medición del potencial REDOX

La medición del potencial REDOX para cultivos anaeróbicos puede ser ejecutada con el electrodo REDOX y la unidad de control.

El electrodo REDOX es una herramienta opcional que puede ser adquirida si se necesita.

La medición del potencial de Red-Ox se realiza utilizando un electrodo esterilizable de medición combinada de pH y temperatura con un electrodo adicional Pt fijado en el cuerpo de vidrio. Este electrodo está conectado al biorreactor - fermentador MINIFOR de la misma forma en que se conecta el electrodo estándar de pH.

LAMBDA REDOX permite la medición del potencial Red-Ox y la transferencia digital de los datos a un ordenador o computadora personal (PC) con la ayuda del programa de fermentación SIAM. La unidad de control muestra el potencial Red-Ox medido en términos de mV.

La señal RedOx de salida puede ser recibida en el enchufe o conector "hembra" de la bomba ("PUMP") en la parte posterior o trasera de la unidad principal de control del biorreactor - fermentador de laboratorio MINIFOR.

2.1.10 Dispositivo de muestreo

El dispositivo de muestreo del MINIFOR está incluido en el KIT avanzado del MINIFOR.

Para disminuir el riesgo de contaminación durante el muestreo, LAMBDA suministra un dispositivo de muestreo de fácil manipulación. Este consiste en una trampa de vidrio con tres tuberías o mangueras con entrada y salida. Fuera del cual, uno de las tuberías o mangueras está conectada al puerto de muestreo, el segundo tiene que estar conectado al filtro de aire y el tercero es la salida que se empleada para el muestreo.

Las muestras deben ser tomadas desde el vaso empleando una de las cánulas del dispositivo de muestreo cuádruple (aquella con la aguja más larga).

Si es necesario, el dispositivo estándar de muestreo del MINIFOR, puede ser reemplazado por cualquier otro dispositivo de muestreo (igual al estándar de su laboratorio).

2.1.11 Control de antiespumante

El sistema de control del nivel de espuma es una herramienta opcional y no está incluido en el kit listo para el uso del MINIFOR ni tampoco en el avanzado.

El biorreactor - fermentador de laboratorio MINIFOR LAMBDA puede ser equipado con un nuevo detector de espuma y el sistema de control:

ANTIFO y DOZITO

2.1.11.1 DOZITO = bomba de jeringuilla (jeringa) miniaturizada para la adición de antiespumante

El espacio alrededor del vaso del biorreactor / fermentador es muy importante y el volumen de la sustancia antiespumante empleada en los procesos de fermentación y cultivo celular es usualmente poco, en el orden de pocos mL.

Por esta razón, LAMBDA ha desarrollado, probablemente el sistema de bomba de jeringuilla más pequeño del mundo. Se utiliza una jeringuilla de vidrio especial de 5 mL reesterilizable para la adición del agente antiespumante.

El sostenedor magnético del DOZITO puede ser colocado en cualquier lugar conveniente sobre la cubierta superior de la placa del exterior de la unidad principal de control del biorreactor / fermentador MINIFOR.

El volumen añadido de líquido antiespumante puede variar desde una docena de microlitros hasta 0,3 mL.

Especificaciones:

Fuerza de empuje: más de 20 N

Longitud del paso: ajustable desde 0 hasta 4 mm.

Protección: electrónica en caso de bloqueo.

Dimensiones: 3.6 x 2.7 x 12.7 cm (L x A x P)

Peso: 230 g

2.1.11.2 ANTIFO = Sistema de detección de espuma y controlador del DOZITO.

La presencia de espuma en el vaso del reactor es detectada mediante de la medición de la conductividad eléctrica.

En lugar de un electrodo adicional para el antiespumante, se emplean dos cánulas (una larga y otra corta) a partir del puerto de muestreo cuádruple del vaso fermentador MINIFOR LAMBDA. **No se necesita usar puertos adicionales para la detección y control del anti-espumante.**

Especificaciones:

Suministro de energía eléctrica: 12 V CD, 2 W (a partir del enchufe o conector "hembra" de la bomba del fermentador MINIFOR).

Intervalo de conductividad: desde 1 k Ohm hasta 0.5 M Ohm

Frecuencia: 4 kHz CA

Voltaje de la medición: 100 mV CA

Dimensiones: 3 x 3 x 16 cm (L x A x P)

Peso: 220 g

2.1.11.3 Prevención automática de sobredosificación de antiespumante

La adición de mucho agente antiespumante va en detrimento de la transferencia de oxígeno desde las burbujas de aire hacia el interior del medio de cultivo. La adición excesiva de líquido antiespumante (sobredosificación del antiespumante) se evita por medio de la introducción de un intervalo de espera de aproximadamente 20 segundos después de la primera adición del agente antiespumante.

La segunda adición del agente antiespumante ocurre solo cuando la espuma no desaparece durante el tiempo de espera. Además, la dosis del antiespumante puede ser controlada también en pasos de volumen por medio de la bomba de jeringuilla en miniatura DOZITO LAMBDA.

2.1.12 Condensador del gas de salida

El condensador del gas de salida evita la condensación del agua en el filtro de salida y el bloqueo resultante del flujo de gas de salida. El agua condensada fluye de regreso al vaso de cultivo.

Este flujo de retorno es importante, en especial cuando se trabaja con pequeños volúmenes por semanas, de no ser así el medio se concentraría y el volumen de trabajo podría disminuir.

2.1.12.1 Condensador del gas de salida con líquido de enfriamiento

Un condensador de vidrio del gas de salida que puede ser conectado con un líquido de enfriamiento (agua fría) está incluido en cada kit del MINIFOR.

2.1.12.2 Condensador electrónico del gas de salida

El condensador electrónico del gas de salida es una herramienta opcional. No está incluida en el kit Listo para su uso ni en el Avanzado del MINIFOR.

Como alternativa para los condensadores de aire con sistema de enfriamiento con agua, LAMBDA ofrece un condensador del gas de salida del tipo Peltier con un controlador electrónico de temperatura operacional que hace descender la temperatura hasta 5 °C.

Esto resulta en una mejor eliminación de la humedad a partir de la corriente del gas de salida que la que logran los condensadores que usan sistemas de enfriamiento con agua.

¡Este sistema electrónico de condensación también permite un enfriamiento más eficiente y constante **sin agua de enfriamiento o refrigeración!**

2.1.13 Parámetro “X”

El parámetro “X” permite el control de cualquier otro parámetro diferente de °C, pH, pO₂, flujo o velocidad de aire y agitación. Este es un control de parámetro opcional a ser empleado cuando se necesite.

Usualmente, para el modo de operación continuo en la fermentación, el módulo de pesada (quimiostato) puede ser usado como parámetro “X” para controlar la adición o remoción del sustrato del vaso de reacción.

Es posible para el control del electrodo de conductividad, potencial Redox y también del electrodo de CO₂ como parámetro “X”.

2.1.14 Caja de conexión cuádruple

La caja de conexión cuádruple es una herramienta opcional que puede ser usada con el MINIFOR. Esta no está incluida en los kits estándares Listo para su uso ni Avanzado del MINIFOR LAMBDA.

La caja de conexión cuádruple consiste en 4 conectores de 8-polos adicionales (dos en la parte posterior y dos en la parte frontal) que pueden ser conectados y controlados por el biorreactor – fermentador (Refiérase a la Fig. 3.15-24 o Art. No.: 800202).

Si se requiere o necesita emplear instrumentos adicionales con el MINIFOR, este dispositivo (caja de conexión cuádruple) ayuda a extender la conexión por adición de hasta 4 instrumentos LAMBDA adicionales (ej. bombas, controlador del flujo de gas, módulo de pesada y controlador del antiespumante, etc).

Esta caja de conexión provee un suministro de energía y conexiones de la línea RS-485.

Para incrementar adicionalmente el número de conexiones disponibles, pueden ser conectadas juntas dos cajas de conexión cuádruple.

2.2 *Modos de fermentación MINIFOR LAMBDA / Valores preestablecidos o prefijados/ Opciones*

El MINIFOR LAMBDA puede ser utilizado con diferentes modos de operación: “batch” o volumen constante, incrementado o volumen variable y continuo.








A continuación se explicará por medio de un breve resumen las herramientas necesarias para los diferentes modos de operación:

Tabla 3 Modos de fermentación: “batch” o volumen constante, incrementado o volumen variable & continuo

“Batch” = kit del MINIFOR LAMBDA (listo para su uso o avanzado).


Incrementado = kit del MINIFOR LAMBDA (listo para su uso o avanzado) + 1 Bomba para adición de medio.

Continuo = kit del MINIFOR LAMBDA (listo para su uso o avanzado) + 1 bomba para adición de medio + 1 bomba para cosecha + 1 módulo de pesada (velocidad de la bomba para adición de medio = velocidad de la bomba para la cosecha = velocidad de crecimiento).

<p>Batch</p>	 <p>MINIFOR (kit listo para su uso o avanzado)</p>			
<p>Modo incrementado o volumen variable</p>	 <p>MINIFOR (kit listo para su uso o avanzado)</p>	 <p>Bomba de Alimentación (Bomba peristáltica)</p>		
<p>Continuo</p>	 <p>MINIFOR (kit listo para su uso o avanzado)</p>	 <p>Bomba de Alimentación (Bomba peristáltica)</p>	 <p>Bomba de Cosecha (Bomba peristáltica)</p>	 <p>Módulo de pesada</p>

2.2.1 Fermentaciones en modo batch o volume constante

Tabla 4 Modo de Fermentación: “Batch: = *kit del MINIFOR LAMBDA (listo para su uso o avanzado)*”

<p>Batch</p>	 <p>MINIFOR (kit listo para su uso o avanzado)</p>	<p>-</p>	<p>-</p>	<p>-</p>
---------------------	--	----------	----------	----------

El modo convencional de fermentación en un sistema cerrado es el modo de fermentación “batch” o volumen constante.

El procedimiento de incubación se lleva a cabo después de la inoculación de microorganismos a una solución estéril de nutrientes. Ningún otro componente es adicionado al proceso de fermentación excepto ácidos o bases para controlar y mantener el pH. El aire (O₂), es controlado para el caso de cultivos de microorganismos aeróbicos.

Existe un cambio constante general de la composición del medio de cultivo / concentración de biomasa como resultado del metabolismo celular.

2.2.2 Fermentaciones en modo incrementado o volumen variable

Tabla 5 Modo de fermentación: incrementado = *kit del MINIFOR LAMBDA (listo para su uso o avanzado) + 1 Bomba para adición de medio.*

<p>Modo incrementado o volumen variable</p>	 <p>MINIFOR (kit listo para su uso o avanzado)</p>	 <p>Bomba de Alimentación (Bomba peristáltica)</p>		
--	--	--	--	--

Una mejora al proceso cerrado en “batch”o volumen constante donde todo el sustrato es adicionado al inicio de la fermentación es el modo de operación de fermentación incrementada o volumen variable.

Este consiste en la **adición del sustrato** en pequeñas proporciones durante el proceso de fermentación. Estos incrementos son inicialmente pequeños volúmenes de la solución de nutrientes al inicio del proceso y durante la fase de producción en pequeñas dosificaciones.

Existen dos aproximaciones básicas para este modo de fermentación.

Estas son:

- Cultivo con volumen de incremento constante (volumen de incremento fijo)
- Cultivo con volumen de incremento variable.

Como consecuencia del suministro de sustrato, el volumen cambia con respecto al tiempo de fermentación.

Opciones:

- Medio empleado en el modo “batch” o volumen constante puede ser adicionado.
- Adición de la misma concentración de la solución del sustrato limitante empleado en el medio inicial.
- Adición a una velocidad baja de una solución de sustrato limitante concentrada.

2.2.3 Modo Continuo de Fermentación

Continuo	 <p>MINIFOR (kit listo para su uso o avanzado)</p>	 <p>Bomba de Alimentación (Bomba peristáltica)</p>	 <p>Bomba de Cosecha (Bomba peristáltica)</p>	 <p>Módulo de pesada</p>
-----------------	--	--	---	--

El modo de operación de la fermentación en el cual existe un sistema abierto establecido es el modo de fermentación continua.

El mismo volumen de la solución de nutrientes metabolizada con microorganismos o células es removida del vaso del biorreactor, mientras que una solución estéril de nutrientes es adicionada al vaso de reacción en forma continua.

Dos términos son empleados en el caso de los biorreactores de mezclado homogéneo. El primer término, conocido, como **quimiostato**, en el estado estacionario, la concentración de un sustrato es ajustada de manera apropiada para controlar el crecimiento celular. El segundo término, conocido como **turbidiestático**, la concentración de biomasa es monitoreada, el crecimiento celular se mantiene constante y la velocidad de suministro de solución de nutriente es ajustada apropiadamente.

2.2.3.1 Módulo de pesada

Nuestra meta fue diseñar un dispositivo extremadamente compacto, preciso y fácil de usar, el cual pudiera emplearse para la fermentación en modo continuo y cultivos celulares. El módulo de escala es un accesorio opcional para los biorreactores y fermentadores de laboratorio MINIFOR LAMBDA. Este permite mantener el volumen de medio constante, independientemente de la aireación, generación de espuma y agitación.

Este es un método mucho más preciso para el control del volumen del medio que un dispositivo de bajo costo, de tubos para el control del nivel del medio o dispositivos similares, los cuales

controlan sólo el nivel de la superficie del cultivo. Por consiguiente, esto permite una evaluación y cálculo exacto de los parámetros del cultivo.

2.3 Medidas de seguridad.

Siga las medidas de seguridad y precauciones mientras manipula el equipamiento para su seguridad y la del equipamiento. Esto minimiza los riesgos potenciales provocados durante el uso.



¡Siga las medidas de seguridad del laboratorio!

2.3.1 Manipulación de los vasos de vidrio

El vidrio continúa siendo el mejor material para la fabricación de los vasos de los biorreactores. Este no libera iones de metales pesados como el acero o compuestos químicos no polimerizados como los materiales plásticos. Por consiguiente, sin ningún compromiso, LAMBDA sólo suministra vasos de vidrio

El vidrio, sin embargo, es frágil, por lo cual se requiere de una manipulación cuidadosa, especialmente cuando se lavan los vasos.



Preste particular atención, dado que las **partes de vidrio y los vasos pueden romperse, si no son manipuladas con el cuidado requerido.**



Proteja las superficies de vidrio de las rajaduras o ralladuras provocadas por la sílice u otros materiales duros.



¡Utilice siempre la válvula de seguridad de sobrepresión en el vaso de vidrio! Esto evitará un incremento de presión en caso del bloqueo del filtro de salida por exceso de espuma.



¡Durante la esterilización, deje siempre una **abertura de ventilación o venteo** para la **compensación de la presión!**



¡No enrosque las tapas con rosca demasiado fuerte! Esto no es necesario y el vidrio o sus fibras pueden romperse.



¡Nunca caliente un reactor vacío! La radiación de calor es absorbida por las paredes de vidrio y la temperatura pudiera incrementarse a tal punto, que la dilatación térmica pudiera llevar a la ruptura del vaso de vidrio.



¡Durante el **autoclaveo o esterilización, nunca llene más de 2/3 del volumen del vaso de vidrio con líquido!**



Use cepillos con detergente para **remove** la suciedad y soluciones ácidas (ácido acético, ácido cítrico o ácido clorhídrico) y para depósitos de sales.



¡Ponga **siempre una arandela de metal debajo las tapas con rosca** para reducir la fuerza de enrosque necesaria!



Para facilitar la inserción de los **tapones de silicona de sellos o sellado múltiple en los cuellos de vidrio** (ej., electrodos, lazos de enfriamiento, dispositivos para enfriar, tuberías o mangueras, etc), **puede humedecerlos con gotas de agua destilada.** Estos podrán deslizarse y salir con mayor facilidad.



Para **retirar los tapones y electrodos** adicione una gota o dos de agua destilada entre el tapón y la pared de vidrio. Muévelos de un lado al otro, mientras va empujando o halando hacia afuera al mismo tiempo.



Se recomienda colocar un **vaso de vidrio intermedio entre la salida del condensador y el filtro de gas de salida**. Un pequeño volumen de la solución antiespumante conveniente puede ser aplicado o adicionado en el fondo del vaso. Esto destruirá la espuma que debe **entrar en este vaso adicional** e incrementar la protección del filtro de salida contra la obstrucción.



Todos los componentes de vidrio están predestinados a **romperse al cabo del tiempo**. Si la ruptura es limitada a los cuellos laterales, generalmente el vaso puede ser reparado. LAMBDA mantiene también un grupo de **cuellos** para la reparación. Los vasos rotos también pueden ser enviados a LAMBDA. Contáctenos para información adicional.

2.3.1.1 Precauciones especiales para la manipulación los vasos de 3L

Los vasos de 0,3 L son los más pequeños y están recubiertos con camisetas para el biorreactor / fermentador MINIFOR. Las precauciones especiales, de seguridad y consejos e instrucciones pueden ayudarle a trabajar de forma segura con los vasos de volumen mínimo del reactor.



Los **reactores recubiertos con camisetas de 0,3 L** tienen que ser usados solo con los **vasos recubiertos por camisetas llenos completamente de agua**. Los conectores para las tuberías o mangueras de la camiseta son cerrados con tuberías de silicona.



Durante el uso del vaso pequeño recubierto con camiseta de 0,3 L, la **temperatura inicial puede ser ligeramente sobrepasada** después del primer encendido del MINIFOR. Por lo que es **aconsejable fijar la temperatura alrededor de 4°C por debajo de la temperatura de trabajo**. Después de que la temperatura se acerque a este valor, fije la temperatura final de trabajo. Esto **acorta el tiempo de trabajo empleado para la estabilización de la temperatura**. Si el tiempo no es crítico, puede fijar la temperatura deseada y esperar hasta que el sistema se equilibre automáticamente.



Los **vasos de vidrio recubiertos con camisetas** de 0,3 L **no han sido diseñados o fabricados para el enfriamiento** sino solo para amortiguar las variaciones de temperatura. Estos, sin embargo, pueden ser utilizados con la **circulación del líquido proveniente de un baño termostatado** o para el enfriamiento rápido, si se requiere por **razones especiales**. En este caso, inactive el encendido del calentamiento del MINIFOR por medio de la fijación de la temperatura a un valor bajo (ej. 10 °C).

De lo contrario, siga las instrucciones e indicaciones generales de seguridad de los vasos de vidrio del reactor, referidas previamente en 2.3.1 Manipulación de los vasos de vidrio.

2.3.2 Conectores con doble cierre LAMBDA

El sistema de conexión con doble cierre LAMBDA permite la conexión de las tuberías o mangueras de manera fácil y segura al vaso. Este es fabricado de PEEK, el cual es un material nuevo similar al PTEF en su resistencia química extrema y su elevado punto de fusión (350 °C).

Por consiguiente, este puede ser incluso flameado. El PEEK tiene una estabilidad mecánica mucho mayor y no “fluye” como el PTFE. Por sus cualidades superiores, fue seleccionado por LAMBDA a pesar de su elevado precio.

2.3.3 Conexión a la fuente de energía de los instrumentos adicionales



Cuando se conecta el sistema MINIFOR y su línea RS-485, las bombas y controladores externos del flujo de gas MASSFLOW, no pueden ser encendidas por ninguna fuente externa de suministro eléctrico o de energía. Esto se debe a que el voltaje de la fuente externa de suministro eléctrico de 12 V y el suministro de fuente de energía del MINIFOR pudieran no ser exactamente los mismos y la corriente pueden fluir de un instrumento a otro. Esto puede generar problemas y daños en los instrumentos. Si esa conexión fuese inevitable, el uso de un diodo en la línea de suministro eléctrico es requerido.

! Adicionalmente, siga todas las medidas de seguridad del laboratorio y las medidas comunes de seguridad mientras maneja y manipula el equipamiento eléctrico!

2.3.4 Esterilización



¡Nunca esterilice o autoclave ningún cable o la consola del MINFOR u otro dispositivo electrónico, pues estos se destruirán!



¡Nunca someta el vaso a presiones elevadas, pues este se destruirá! Por lo tanto asegúrese de dejar abierto al menos una línea (no dejar presionado ninguna tubería o manguera) lo cual le permite al espacio superior (por encima del medio) un equilibrio de la presión. Usualmente, la línea libre de gas es la más recomendada.



¡Vea también las medidas especiales de seguridad para los vasos en el capítulo 2.2.1 y los subcapítulos para la manipulación de los vasos de vidrio!



Para la esterilización o autoclaveo emplee un balance o equilibrio presión / enfriamiento lento, como se programa usualmente para la “esterilización líquida”.

2.3.5 Presión



¡Nunca someta el vaso a sobrepresión, pues este se destruiría!



Refiérase a las medidas especiales de seguridad para la esterilización en el capítulo 2.3.4

2.3.6 Reactivos y microorganismos peligrosos



¡Mientras manipule reactivos corrosivos y otros reactivos peligrosos póngase espejuelos de seguridad y guantes y siga las instrucciones de seguridad del laboratorio!



Durante la manipulación de patógenos y microorganismos peligrosos aplique las medidas de precaución necesarias de acuerdo con la reglas / zona de laboratorio!



Mientras que su proceso permita el empleo de otros ácidos tales como H_3PO_4 o H_2SO_4 , no utilice HCl como ácido para la fermentación.

3 Instalación y preparación (basado en el kit avanzado del MINIFOR (1 L))

3.1 Aspectos esenciales para la preparación e instalación del MINIFOR- RESUMEN GENERAL

Prepara el puesto de trabajo para comenzar la instalación del MINIFOR.

Área de la mesa	22x40cm (AxP)
Suministro de energía o corriente	Principal 100-240 V AC/50-60Hz, 510W, según CE
Temperatura Ambiente	0 – 40 °C
Humedad relativa	0 - 90 % HR (no-condensada)
Suministro de aire u oxígeno (Cultivo Aeróbico)	0.05 – 0.2 MPa
Suministro de N_2 u otro gas (Cultivo Anaeróbico)	0.05 – 0.2 MPa
Calibración del pH	Soluciones estándares o patrones, 2 tampones en correspondencia con el intervalo de calibración (estándares de pH 7.0 y pH 4.0)
Calibración de la pO_2	Gases estándares: Aire para máximo, N_2 para mínimos y gel control para $pO_2 = 0$ mg/L
Esterilización de los vasos y otras partes necesarias	Autoclave
Opcional: Mantenga la temperatura baja (o redúzcala) con el lazo (bucle o serpentín) de enfriamiento	Circulación de agua fría o circulación de agua termoestabilizada con un baño termostatado



Por favor, refiérase a las medidas de seguridad en el capítulo 2.3

3.2 Puesta a punto con la Unidad Principal de Control LAMBDA

Para comenzar el proceso de instalación, ponga a punto la unidad principal de control LAMBDA, en la cual deben ser fijadas o conectadas otras partes necesarias para el trabajo. La unidad de control incluye conectores para los electrodos de pH y temperatura, espiral de calentamiento por IR, Massflow y otros microprocesadores que controlan todos los parámetros que necesitan ser medidos y controlados.



Coloque la unidad principal de control en el puesto de trabajo donde se hará la instalación completa del Biorreactor MINIFOR.

Figura 3.2-1 Vista frontal de la unidad principal de control del MINIFOR LAMBDA.

3.3 Sujetadores y varillas de soporte o apoyos para las bombas peristálticas LAMBDA

Para el Kit avanzado (que incluye 2 bombas peristálticas LAMBDA), debe fabricarse una pieza para colocar las bombas y las botellas de muestreo en la unidad principal de control del MINIFOR la cual involucrará la adición fácil y controlada de por ej., ácidos, bases, medio de cultivo, nutrientes, minerales, etc en el vaso de reacción y trabajo.



Figura 3.3-1 Como primer paso, inserte las varillas de soporte en la unidad principal de control como se muestra en la figura. Gírelas o rótelas en el sentido de las manecillas del reloj o hacia la derecha para fijarlas.

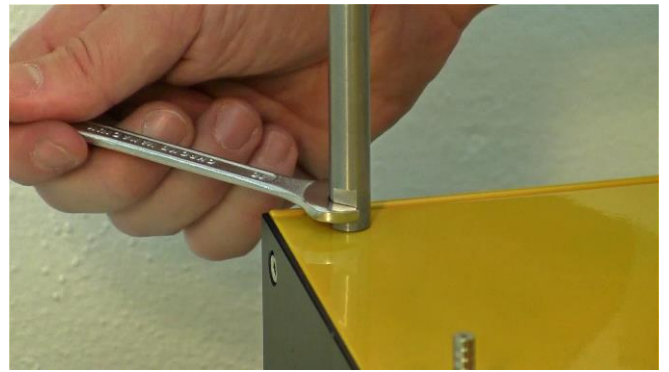


Figura 3.3-2 Asegure las varillas fuertemente con la llave inglesa suministrada por el fabricante.

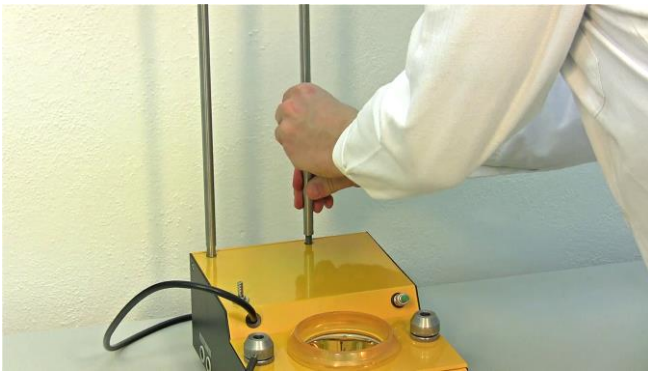


Figura 3.3-3 Inserte la segunda varilla de soporte y fijela. De esta manera ambas varillas de soporte se encuentran en su lugar.

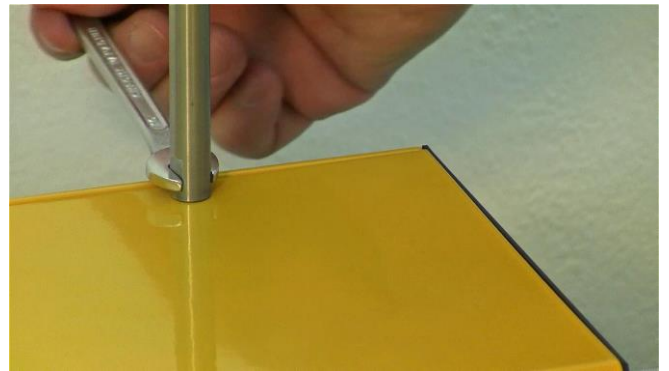


Figura 3.3-4 Fije fuertemente la segunda varilla de soporte de igual forma a como procedió con la primera con ayuda de la llave inglesa.



Figura 3.3-5 La placa de apoyo ajustable que necesita ser insertada en las varillas de soporte (Nota: En caso, de que las bombas peristálticas sean usadas, por ejemplo: para la adición controlada de ácido y base para mantener el pH).

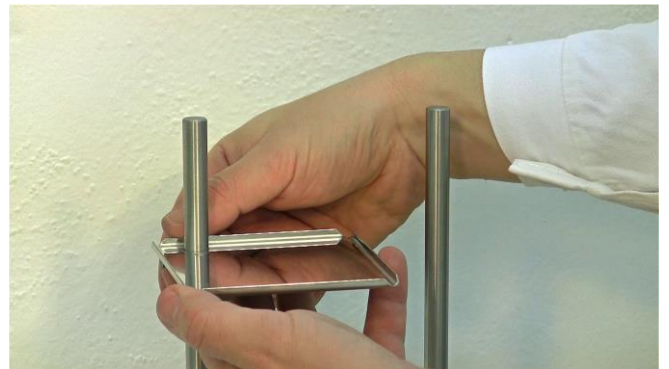


Figura 3.3-6 Inserte la placa de apoyo ajustable en una de las varillas de soporte fijadas y fijela fuertemente usando los destornilladores suministrados. La placa de apoyo puede ser usada para sostener, por ejemplo, una bomba peristáltica LAMBDA.

3.4 Instalación del vaso de fermentación

La fijación de las varillas de soportes y la placa de apoyo para la bomba peristáltica tiene que ser seguida por la instalación de los sujetadores para el vaso de fermentación y el dispositivo de muestreo estéril.

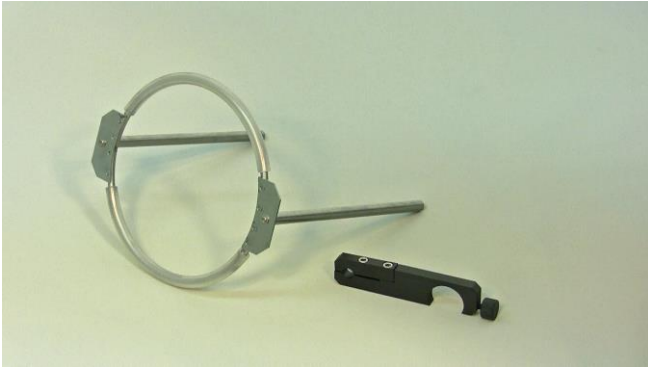


Figura 3.4-1 Sujetador del vaso de reacción y sujetador del dispositivo de muestreo estéril.

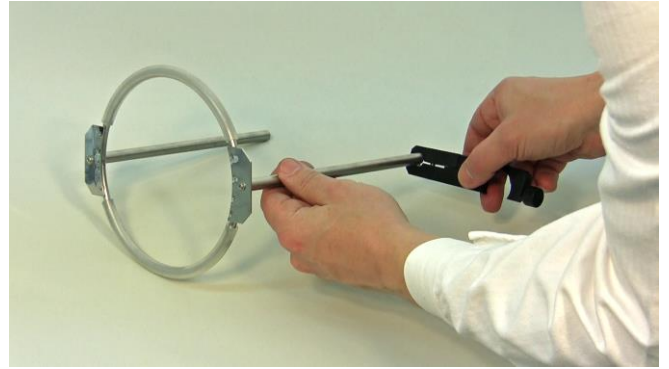


Figura 3.4-2 Inserte el sujetador del dispositivo de muestreo estéril en el sujetador del vaso de reacción.

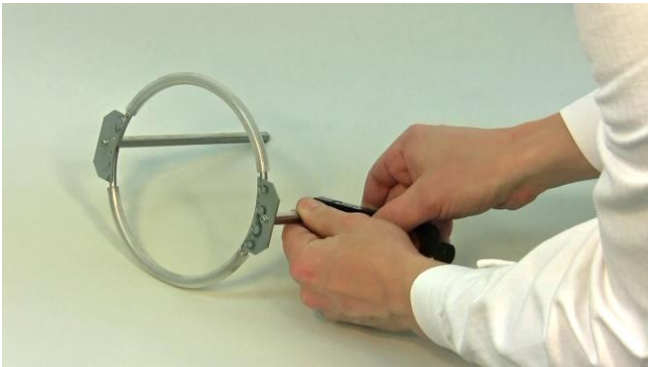


Figura 3.4-3 Coloque el sujetador del dispositivo de muestreo estéril (cerca de la parte superior) en el sujetador del vaso de reacción, de esta manera existirá suficiente espacio para el dispositivo de muestreo y también para las botellas de muestreo / tuberías o mangueras de muestreo que serán colocadas debajo.

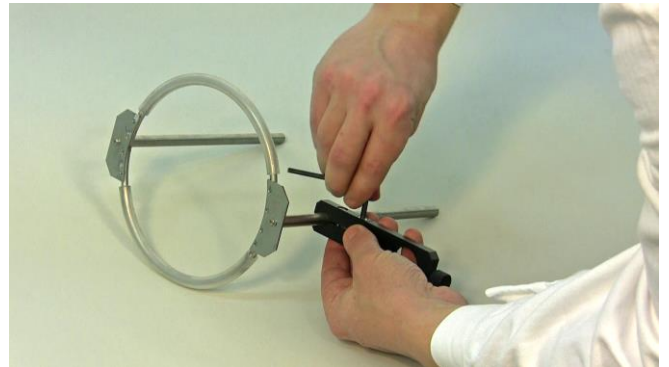


Figura 3.4-4 Después de insertar el sujetador del dispositivo de muestreo estéril y colocarlo, fije y apriete las roscas correspondientes como se muestra con la llave correspondiente para hacer que este quede unido firmemente.



Figura 3.4-5 También apriete la otra rosca como la anterior como se muestra en la figura (Nota: Si necesitara utilizar el dispositivo de muestreo estéril).



Figura 3.4-6 El sujetador vaso de reacción con el sujetador del dispositivo de muestreo estéril necesita ser fijados en la unidad principal de control MINIFOR. Coloque el sujetador del vaso de reacción en los 2 orificios disponibles para este propósito a cada lado del bloque de calentamiento que simula el calentamiento solar.

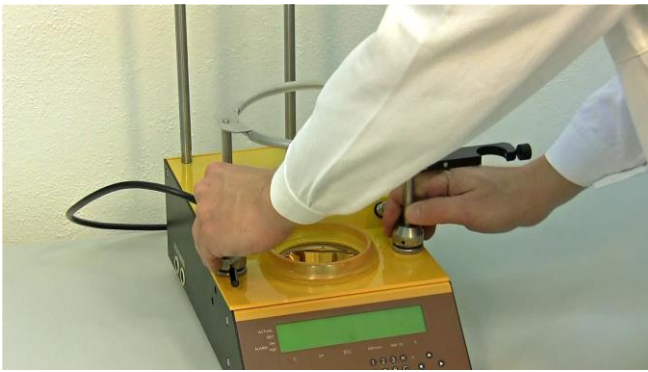


Figura 3.4-7 Inserte profundamente el sujetador del vaso de reacción en los orificios disponibles para este propósito.



Figura 3.4-8 El puerto que se señala en la foto (más grande, ej., puerto de mayor diámetro) es el puerto cuádruple para el muestreo estéril y también para la adición de ácidos o bases.



Figura 3.4-9 El puerto ubicado a continuación del puerto cuádruple es el puerto usualmente definido para el electrodo de pO_2 . El puerto que está justamente en el lado opuesto al del electrodo de pO_2 es el definido para el electrodo de pH. Estos puertos para electrodos están especialmente diseñados (colocados cerca en la circunferencia del vaso mientras que los otros puertos están de cierta forma colocados hacia adentro) para evitar la interferencia con la unidad de agitación.



Figura 3.4-10 Ajuste el sujetador del vaso de reacción profundamente insertado alrededor del vaso de reacción, solo entonces este estará bien apoyado. Este puede estar un poco tenso o rígido, por lo que se debe ser cuidadoso.



Figura 3.4-11 Mientras sostiene el sujetador del vaso de reacción con una mano, apriete uno de los orificios del sujetador del vaso de reacción con la llave para este propósito.



Figura 3.4-12 Apriete la varilla del sujetador del otro orificio para que de esta forma el equipamiento quede seguro. (Nota. Si necesita utilizar el dispositivo de muestreo estéril puede unir el sujetador al ej., apoyo colocado hacia la mano derecha)

La guía de instalación mencionada arriba simula la instalación del sujetador del vaso de reacción de 0,4 L, 1 L y 3 L. Los sujetadores para los vasos de 0,3 L y 7 L son diferentes de estos tipos de sujetadores de reacción.



Figura 3.4-13 Sujetador ajustable lateral (brazo) para el reactor de 0,3 L.



Figura 3.4-14 Sujetador ajustable lateral (brazo) para el reactor de 7 L.



Figura 3.4-15 Inserte los sujetadores ajustables (brazos) de reacción en cada orificio de la unidad principal de control del MINIFOR y apriete las varillas a estos con la llave suministrada.



Figura 3.4-16 Coloque el vaso de reacción en la unidad principal de control con lo cual, los brazos laterales distintivos para los electrodos de pH y pO_2 son apoyados por sujetadores laterales del vaso de reacción. Las juntas elásticas de silicona ayudan a fijar el vaso al sujetador del vaso reacción.



Figura 3.4-17 Coloque la junta elástica de silicona en los brazos o puertos laterales para los electrodos de pH y pO_2 .



Figura 3.4-18 Estire o hale la junta elástica de silicona y fije los brazos laterales al vaso con el sujetador lateral del vaso de reacción.



Figura 3.4-19 El vaso de reacción montado en la unidad principal de control e inmobilizado con la ayuda de los sujetadores laterales (brazos) y las juntas elásticas de silicona.



¡Nunca caliente un reactor vacío! La radiación de calor es absorbida por las paredes de vidrio y su temperatura se incrementa hasta el punto en que su dilatación térmica puede provocar la ruptura del vaso.



Los reactores pequeños con camisetas de 0,3 L tienen que ser usados solo con el vaso con camiseta completamente lleno de agua. Los conectores de las tuberías o mangueras de la camiseta deben estar cerrados (ej.,) con tuberías de silicona.



El mejor intervalo de control automático de temperatura es entre 4 °C sobre la temperatura ambiente y 60 °C. Temperaturas más altas pueden ser alcanzadas por el aislamiento del vaso con una franela y papel de aluminio.

3.4.1 Instalación del vaso de reacción de 7 L

El vaso de 7 L del MINIFOR consisten en 2 partes de vidrio que necesitan ser fijadas juntas. A continuación se explica la preparación de la junta tórica líquida y la instalación del vaso.

3.4.1.1 Preparación de la junta tórica líquida LAMBDA para el vaso de 7 L del MINIFOR

La junta tórica líquida consiste en una nueva resina de silicona parcialmente endurecida y llena con el más puro polvo de cuarzo de consistencia extremadamente fina (similar al humo).



Figure 3.4-20 Ingredientes de la junta tórica líquida LAMBDA. Solución A, Solución B y AEROSIL.

Tabla 6 Preparación de la junta tórica líquida LAMBDA.

	Ingrediente	Preparación	Partes (Peso por volumen)	Propuesta
1.	Solución A	Mezcle la solución A con la solución B.	1	2 g
	Solución B		1	2 g
2.	Polvo AEROSIL	Adicione el AEROSIL en tal cantidad hasta que la mezcla no fluya libremente y cuando se alcance una consistencia similar a la pasta dental		

3.4.1.2 Instalación del vaso de 7 L del MINIFOR con la junta tórica líquida



Figura 3.4-21 Preparación del vaso de reacción, ingredientes de la junta tórica líquida y el cinturón de cierre.



Figura 3.4-22 Tome partes iguales de las soluciones A y B en un vaso de precipitado que no sea de vidrio. Por ejemplo: 2 g de Solución "A" y 2 g de Solución "B". Adicione polvo AEROSIL hasta que la mezcla no fluya más.



Figura 3.4-23 Transfiera el líquido preparado de la junta tórica líquida a una jeringuilla para la aplicación fácil de la mezcla en el vaso.



Figura 3.4-24 Aplique la mezcla en todo el borde de la circunferencia de la parte inferior de vaso como un "espagueti".



Figura 3.4-25 Parte inferior del vaso con la junta tórica líquida.



Figura 3.4-26 Aplique una pequeña cantidad de aceite de silicona en la parte superior del vaso para el retiro fácil de las partes después de finalizar el experimento.



Figura 3.4-27 Coloque la parte superior sobre la parte inferior del vaso.

La pasta llena cualquier cavidad entre las superficies unidas y está completamente apretada a prueba de gas y además no genera ningún estrés en el vidrio.



Figura 3.4-28 Fije ambas partes con el cinturón de cierre segmentado.

La mezcla se solidificará tanto en reposo a temperatura ambiente por varias horas o en solo minutos en la autoclave durante la esterilización



La junta tórica líquida forma una gran superficie de unión y no sólo de algunos mm de contacto como el caso de las juntas tóricas estándares.



Las juntas tóricas líquidas pueden ser reutilizadas muchas veces. La silicona polimerizada unida puede ser removida manualmente y limpiada, por ejemplo: con alcohol o acetona o puede ser solo eliminada con un pedazo de papel.

3.5 Unidad de agitación y distribuidor de burbujas

El paso siguiente es montar la unidad de agitación junto con el distribuidor de burbujas en el vaso de reacción para todas las aplicaciones estériles.



El ángulo del enroscado es de 60° (no lo fuerce).



Durante la instalación de los ejes de agitación, ponga atención para **no tocar las puntas de los electrodos de pH y pO₂**.



Por consiguiente, es altamente **recomendable montar los ejes del agitador primero y después** los electrodos.



Si va a usar el MINIFOR sin agitación entonces coloque y **fije el agitador en el punto 0 (cero)**.



Con el **programa automatizado opcional SIAM**, puede crear herramientas para cambiar la frecuencia de agitación de acuerdo al valor de pO₂. Esto puede ser útil durante las fases que tienen limitaciones de O₂ (con máxima aireación) del modo incrementado o volumen variable estándar automático.



Figura 3.5-1 Microdistribuidor de burbujas con auto-limpieza con sus partes a ensamblar.



Figura 3.5-2 El distribuidor de burbujas tiene que ser ensamblado con las partes dadas para armarlo como se muestra en la foto.

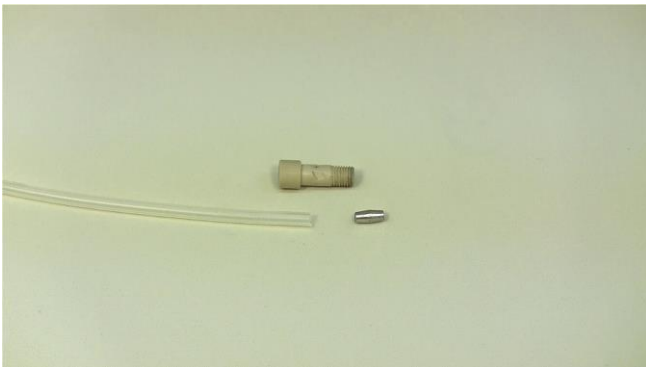


Figura 3.5-3 Las partes mostradas necesitan ser conectadas juntas por el conector de PEEK de la tubería o manguera con doble sello LAMBDA.

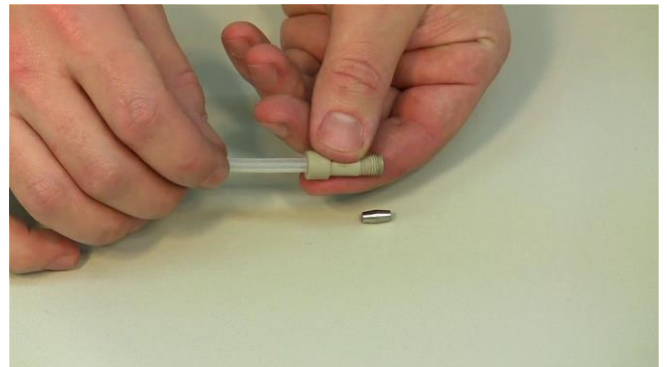


Figura 3.5-4 Inserte la tubería o manguera en la parte o pieza de PEEK de doble sellado correspondiente que albergará la pieza restante de metal.

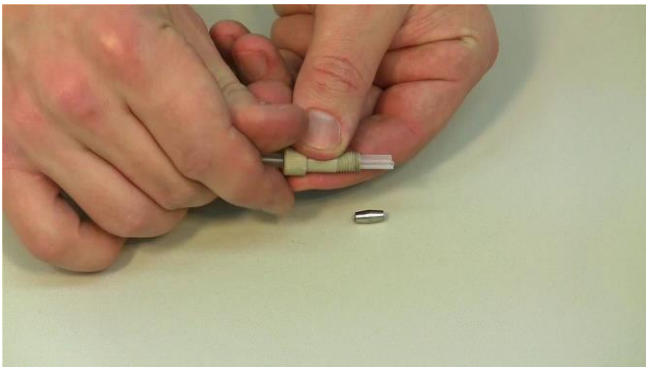


Figura 3.5-5 Permita que la tubería o manguera fluya libremente hacia el otro lado de la parte o pieza correspondiente de PEEK de doble sellado.

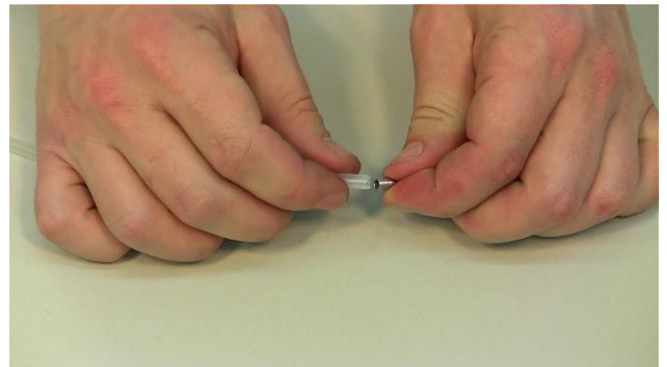


Figura 3.5-6 El inserto cónico de doble sellado tiene que ser insertado dentro de la tubería o manguera.



Figura 3.5-7 Inserte el inserto o pieza de metal cónica de doble sellado en la tubería o manguera que fluye libremente hacia el otro lado de la parte o pieza correspondiente de PEEK de doble sellado.

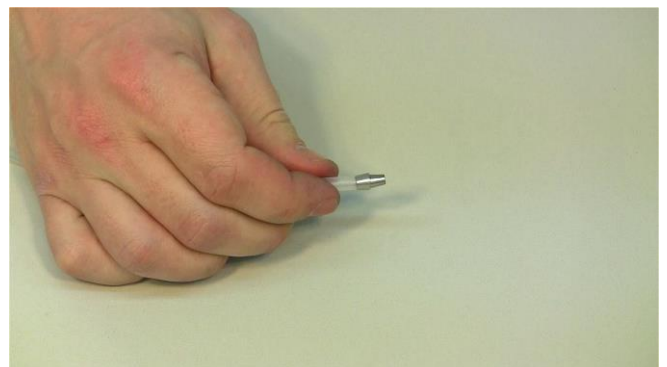


Figura 3.5-8 La tubería o manguera con el inserto o pieza cónica de doble sellado resultante debe ser similar al de la figura ej., la mitad de la porción del inserto o pieza cónica debe encontrarse dentro de la tubería o manguera.



Figura 3.5-9 Tome la llave inglesa y la tubería o manguera con el inserto o pieza cónica de doble sellado. Presiónela contra la llave para introducir completamente la el inserto o pieza metálica cónica de doble sellado en la tubería o manguera.



Figura 3.5-10 La foto muestra el conector de la tubería o manguera de PEEK de doble sellado preparado.

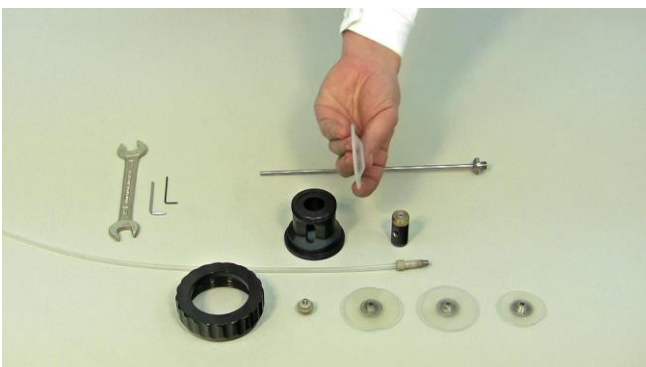


Figura 3.5-11 Muestra del ensamblaje del agitador. La membrana que se observa y que es sostenida por la mano es la membrana de silicona para mantener la esterilidad.



Figura 3.5-12 Tome la membrana estéril de silicona de manera que la superficie convexa de la membrana esté orientada hacia fuera y la cóncava hacia el interior (como se muestra en la figura).

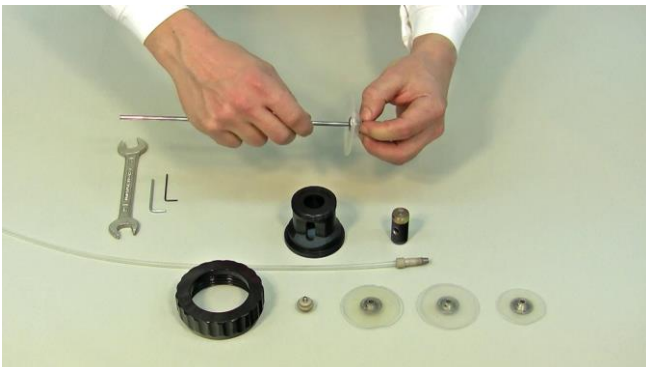


Figura 3.5-13 Inserte el tubo o canal del distribuidor de burbujas en la superficie cóncava (curva hacia dentro) en la membrana para mantener la esterilidad. Esta necesita ser ajustada en el lugar de manera apropiada tal y como se muestra en la figura.

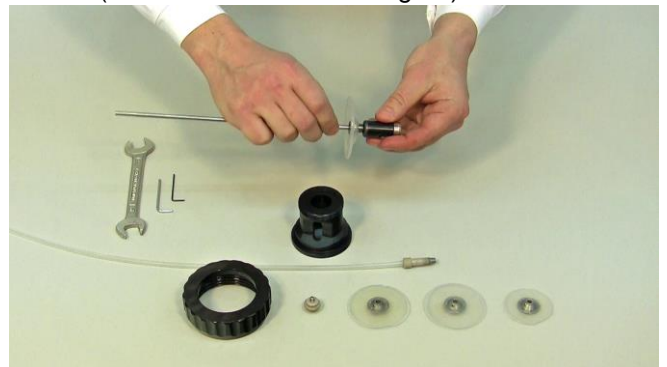


Figura 3.5-14 La tuerca de acoplamiento móvil para el acople magnético tiene que ser fijada en el extremo con rosca del tubo del distribuidor de burbujas. Enrosque la tuerca de acoplamiento móvil para el acople magnético en el extremo con rosca del tubo del distribuidor de burbujas.

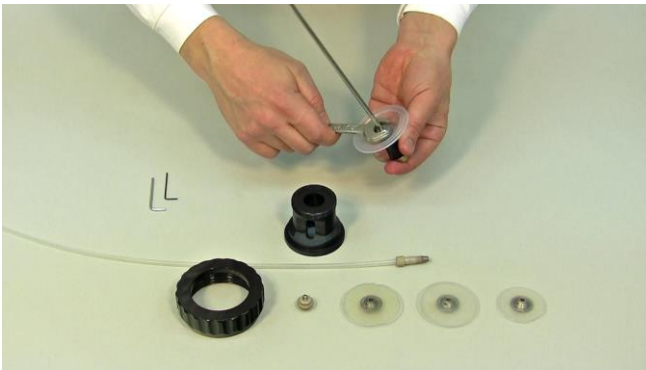


Figura 3.5-15 Apriete el tornillo del tubo de aireación en la cara cóncava de la membrana de silicona para mantener la esterilidad la cual a su vez sujeta firmemente la tuerca de acoplamiento móvil con la membrana.

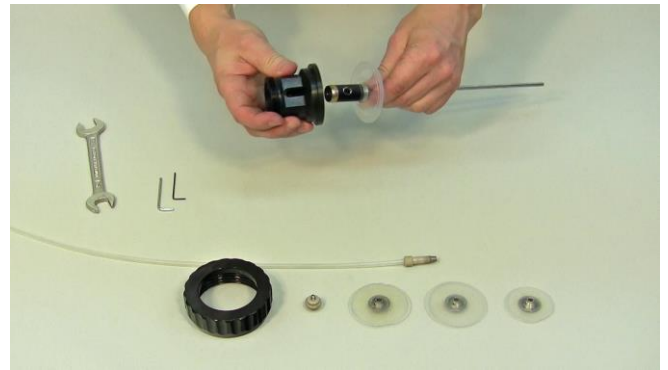


Figura 3.5-16 Coloque el cabeza (cabezal o parte superior) de la unidad de agitación sobre la tuerca de acoplamiento móvil preparada con la membrana para mantener la esterilidad de silicona en el tubo del distribuidor de burbujas.

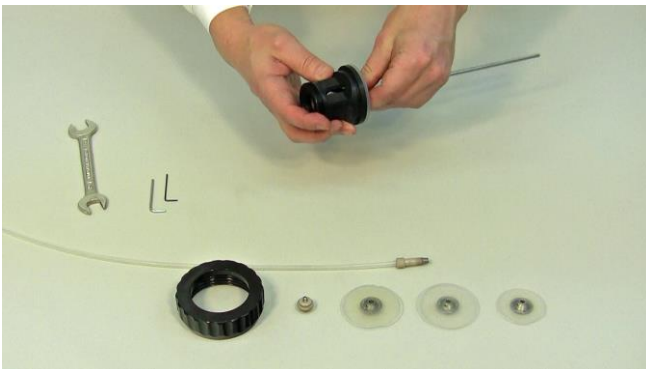


Figura 3.5-17 La cabeza (cabezal o parte superior) de la unidad de agitación tiene que ser colocada de manera tal que el sujetador para la tubería o manguera para la entrada de aire para el conector de la tubería o manguera de doble sellado se observe a través de la apertura.



Figura 3.5-18 Inserte el conector de la tubería o manguera de doble sellado dentro de la tuerca de acoplamiento móvil a través de la cabeza (cabezal o parte superior) de la unidad de agitación. Gire el conector de la tubería o manguera de doble sellado en sentido de las manecillas del reloj o hacia derecha para apretarlo.
(Atención: eje de rosca es 60° (por favor no lo fuerce))



Figura 3.5-19 Asegúrese de que la membrana para mantener la esterilidad de silicona se ajuste y quepa firmemente en las ranuras o cavidades de la cabeza (cabezal o parte superior) de la unidad de agitación.

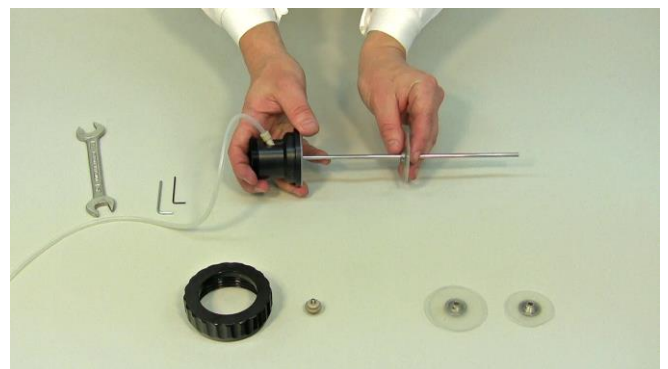


Figura 3.5-20 Comience insertando las "colas de pescado" en el tubo del distribuidor de burbujas. Esto depende del volumen de reacción / preferencias (distancia usual 5 - 6 cm. Nota: pueden ser adaptadas en función de las "colas de pescado" o distancia).



Figura 3.5-21 Ajuste y apriete las “colas de pescado” en el tubo del distribuidor de burbujas con una de las llaves suministradas por el fabricante. (ej. la pieza con roscas debe estar de frente y hacia abajo para todas las “colas de pescado”).



Figura 3.5-23 Se muestra la llave para apretar y asegurar el microdistribuidor de burbujas con auto-limpieza en el extremo del tubo o canal del distribuidor de burbujas.



Figura 3.5-25 Ponga la unidad de agitación con los discos de “colas de pescado” y el microdistribuidor de burbujas dentro del vaso y fije la tapa con rosca central sobre el vaso de reacción.

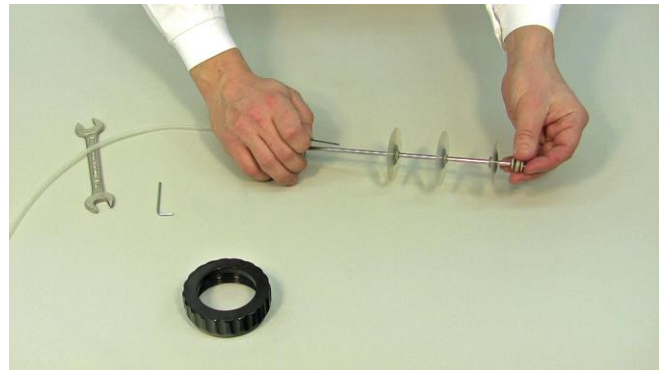


Figura 3.5-22 Después de fijar las “colas de pescado” de forma segura y distribuidas apropiadamente espaciadas en el tubo del distribuidor de burbujas, el microdistribuidor de burbujas con auto-limpieza tiene que ser adicionado en el extremo de esta.

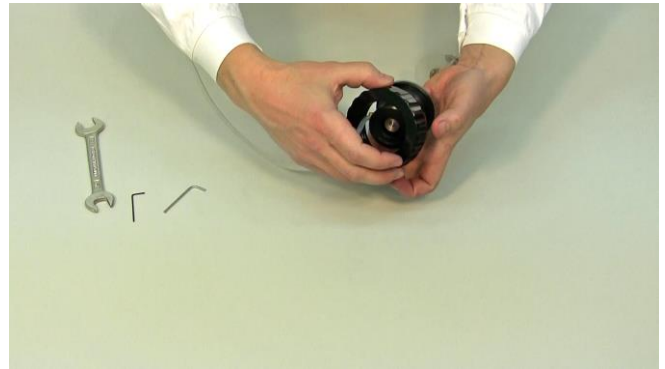


Figura 3.5-24 Coloque la tapa grande central con rosca para la cabeza fijándola sobre la cabeza (cabezal o parte superior) de la unidad de agitación como se muestra.



Figura 3.5-26 Asegúrese que la tapa grande central con rosca para fijar en la cabeza esté apretada de manera segura al borde del vaso de reacción. Vea que la tubería sostenida por la tuerca de acoplamiento móvil de PEEK para la entrada de aire esté colocada como en la figura.

3.5.1 Vasos de 0,3 L y volumen mínimo de trabajo: discos de agitación de forma mariposa - no distribuidor de burbujas.

Si utiliza el vaso de 0,3 L con el volumen mínimo de trabajo, requerirá un disco especial de agitación: el disco con forma de mariposa. Este permite la inserción de los electrodos dentro del volumen mínimo de trabajo.



Figura 3.5-27 Disco agitador con forma de mariposa para vasos de 0,3 L.



Figura 3.5-28 Disco agitador con forma de mariposa montado en el tubo del distribuidor de burbujas en lugar del microdistribuidor de burbujas con auto-limpieza para vasos de 0,3 L.



Si monta el **disco agitador con forma de mariposa** en lugar del microdistribuidor de burbujas con auto-limpieza, entonces no aplique burbujeo. Por consiguiente **coloque una pinza para la tubería o manguera de aire entre el filtro de aire de entrada y la tubería o manguera de burbujeo**. Ver sección 3.6.1. **Aireación de la superficie**. Implemente y use un conector o pieza **en forma de Y** para la superficie de aireación o para el burbujeo a través de una cánula.



Use el **control automático de pO_2** o el **control automático de flujo de gas del MINIFOR** solo con la **superficie de aireación** para volúmenes mínimos en los vasos de 0,3 L.



No utilice el control automático de pO_2 del MINIFOR con burbujeo para volúmenes mínimos en los vasos de 0,3 L.



El controlador del flujo de masa (Massflow) interno libera un mínimo de 100 mL gas/min. Por tanto, mientras utilice volúmenes mínimos en los vasos de 0,3 L, reemplace el distribuidor de burbujas por la aireación de la superficie.



Puede adicionar un controlador de flujo de masa **opcional externo MASSFLOW 500** para el control automático de pO_2 en los volúmenes mínimos de trabajo en los vasos de 0,3 L, y utilice el **programa opcional SIAM PC-software "PID controlador"**.



Utilice una cánula en caso que desee aplicar burbujeo en un vaso de volumen mínimo de 0,3 L.

3.6 Entrada de aire



¡Siempre utilice la válvula de seguridad para sobrepresión en el vaso! Esto previene un incremento en la presión en caso de bloqueo del filtro de salida durante una espuma excesiva. **(Refiérase al capítulo 3.9).**

Esto asegurará que tenga el filtrado apropiado desde su entrada de aire hacia dentro de la biorreacción / fermentación.



Humedezca la punta del electrodo con agua destilada para hacer más fácil el desplazamiento.



Figura 3.6-1 Tome el extremo libre de la tubería o manguera de entrada de aire (conector la tubería o manguera con doble sellado unido a la tuerca de acoplamiento móvil) a partir del la cabeza (cabezal o parte superior) de la unidad de agitación como se muestra en la figura.



Figura 3.6-2 Conecte la tubería o manguera de entrada de aire de la unidad de agitación a un extremo del filtro de aire de entrada.



Figura 3.6-3 Si la inserción de la tubería o manguera dentro del filtro de aire de entrada se encuentra difícil de acometer, entonces use este conector de la tubería o manguera que se provee para la conexión de la tubería o manguera de entrada de aire y el filtro de aire de entrada.



Figura 3.6-4 La foto muestra la conexión del filtro de aire de entrada con la tubería o manguera de la cabeza (cabezal o parte superior) de la unidad de agitación usando el conector de las tuberías o mangueras.

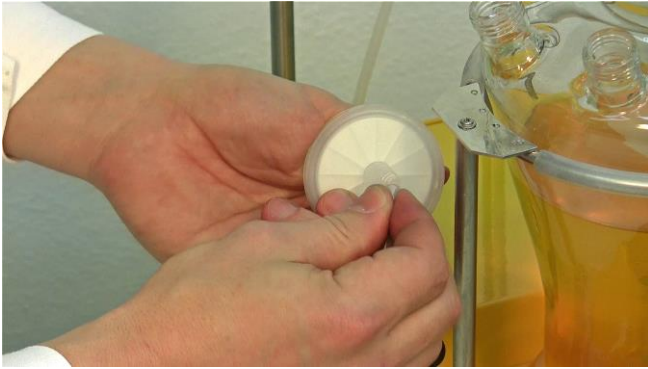


Figura 3.6-5 Conecte una pequeña pieza de tubería o manguera (córtela como desee) al extremo libre mostrado del filtro del aire de entrada.



Figura 3.6-6 Con el otro extremo de la tubería o manguera del filtro de aire de entrada, conéctelo a la salida de aire de la unidad principal de control como se muestra. Inserte la tubería o manguera profundamente hasta el fondo de la toma de salida de aire.



Figura 3.6-7 El cierre de seguridad es suministrado para la entrada de aire. Este protege el filtro de aire de entrada para el caso de líquidos que puedan entrar desde la línea de salida / entrada de aire.

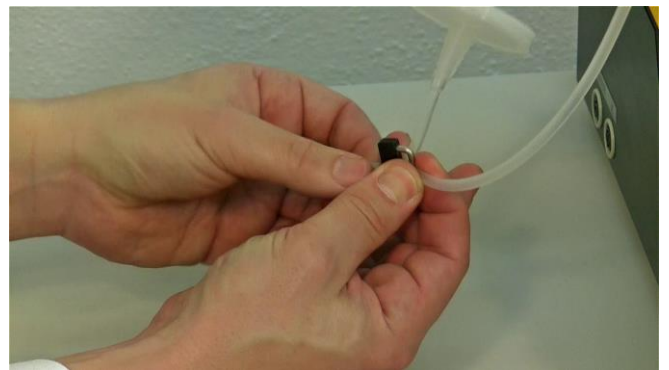


Figura 3.6-8 Asegure el cierre de seguridad fuertemente en el tubo justo antes del filtro de aire de entrada.

(Nota. corte la tubería o manguera según requiera)



Humedezca con algunas gotas de agua destilada la tubería o manguera para facilitar **su inserción**. Entonces deslícelas y sáquelas fácilmente.

3.6.1 Superficie de aireación

La aireación dentro del espacio superior al medio de cultivo (superficie de aireación) en lugar del burbujeo se utiliza principalmente para el cultivo aerobio **en pequeños volúmenes de trabajo** o para otros cultivos aerobios con un bajo consumo de oxígeno (O_2) disuelto. También es posible usar la superficie de aireación para la difusión de gases en el cultivo de células madres.

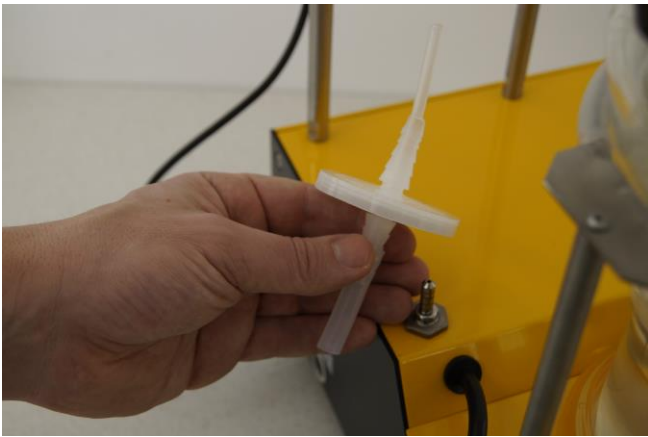


Figura 3.6-9 Inserte la tubería o manguera con el filtro en la toma de salida de aire en la unidad principal de control de MINIFOR.

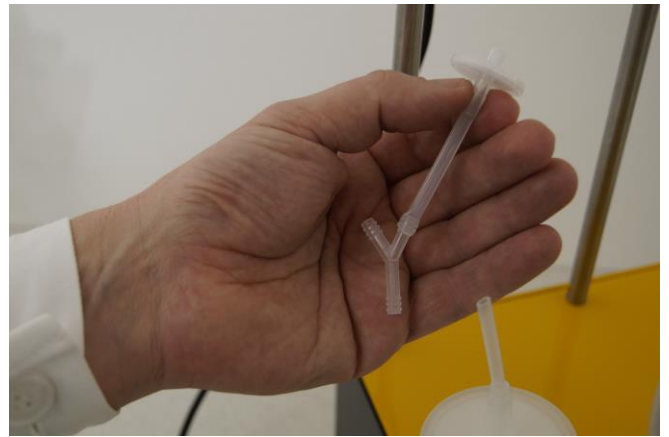


Figura 3.6-10 Agregue o adicione un conector o pieza en forma de Y dentro de la tubería o manguera de aireación.



Figura 3.6-11 Conecte la tubería o manguera con el filtro desde el conector o pieza en forma de Y hasta el distribuidor de burbujas.



Figura 3.6-12 Inserte otra tubería o manguera con el filtro hasta el conector o pieza en forma de Y para la distribución de burbujas en la superficie.



Figura 3.6-13 Conecte la tubería o manguera para la aireación de la superficie a una cánula pequeña hueca en el puerto de muestreo cuádruple que está en el espacio superior o sobre la superficie del medio del MINIFOR.

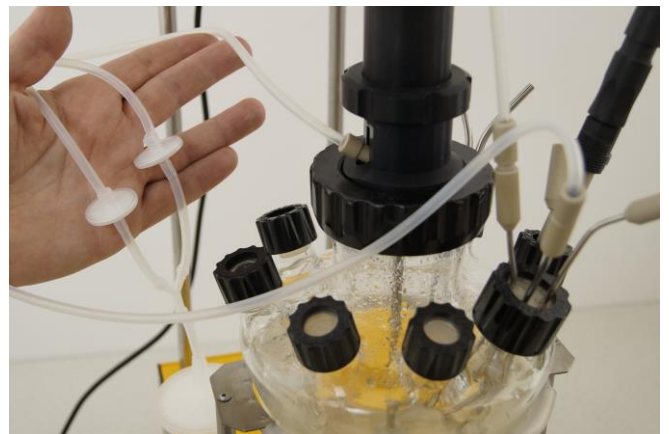


Figura 3.6-14 Asegure la tubería o manguera al distribuidor de burbujas con un cierre cuando use el burbujeo de la superficie.

3.7 Instalación del electrodo de pO_2

El electrodo de pO_2 está incluido en el kit avanzado del MINIFOR o se entrega como una opción del kit listo para el uso del MINIFOR.



El electrodo pO_2 tiene un diámetro ligeramente mayor que el electrodo de pH. Por lo tanto es importante usar el **tapón hueco o abierto coloreado para el electrodo de pO_2** y cualquier tapón hueco transparente para el electrodo de pH.



Los **enchufes o conectores “hembras”** de los cables no pueden ser limpiados por lo que tienen que **mantenerse absolutamente limpios**.



La señal del electrodo de pO_2 es de una alta impedancia. Cualquier suciedad, solución salina u otra contaminación puede afectar negativamente la precisión de la medición.



Durante la instalación de los ejes de agitación, preste atención y **no toque las puntas de los electrodos de pH y de pO_2** .



¡No limpie la enchufe o conector “hembra” del cable del electrodo! (Esta debe permanecer absolutamente limpio).



¡Nunca ponga cable alguno dentro de la autoclave para su esterilización! Esto es similar para todos los electrodos esterilizables.



Es altamente recomendable montar primero los ejes del agitador y después los electrodos.



Coloque en la punta del electrodo alrededor de 1 cm alejada del borde del disco de agitación más cercano. Esto asegura un buen intercambio de la solución que fluye hacia la membrana. Al mismo tiempo esto ayuda a desplazar las burbujas de aire, las cuales se pueden formar accidentalmente sobre la membrana.



El contacto de los electrodos / enchufes o conectores de corriente tienen que permanecer **limpios**. (Evite la ebullición excesiva al final de la esterilización).



Humedezca la punta del electrodo con agua destilada para hacer la introducción más fácil.



El contacto sobre el electrodo puede ser limpiado con agua destilada y secado con papel secante limpio.

La medición de la pO_2 durante el experimento es fácil y puede ser leída en la pantalla o monitor. Ajustes, intervalos (fijar los límites máximo y mínimos), fijar las alarmas, las lecturas reales pueden ser controladas y moduladas en la unidad principal de control del MINIFOR.

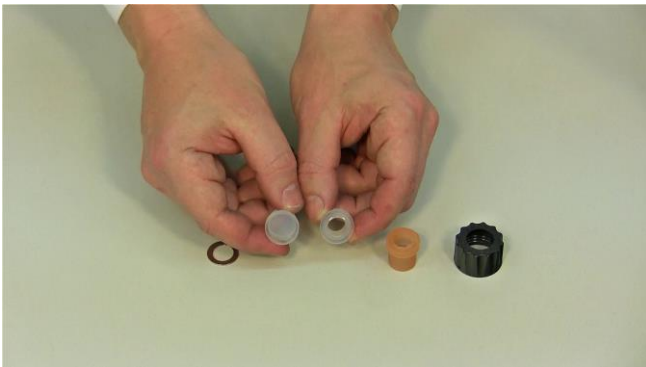


Figura 3.7-1 Antes de proceder con la instalación del electrodo de pO₂, asegure la presencia de tapones, cerrados, electrodos de pH, pO₂ (OD) (3 tipos), arandela, y la tapa abierta (pequeña) con rosca para el vaso de reacción.



Figura 3.7-2 Quite la tapa protectora del lado de la membrana que va hacia el electrodo. (La tapa de protección puede ser retirada o removida fácilmente con un lavado con agua tibia).

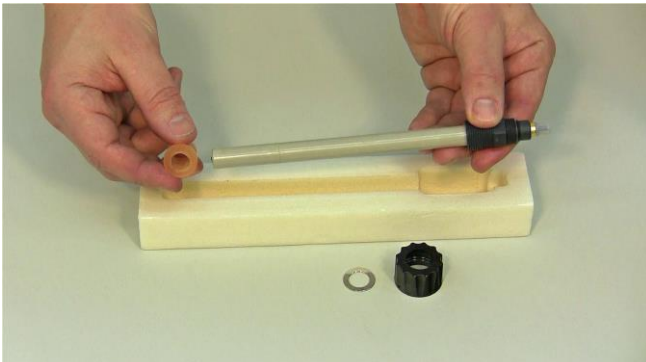


Figura 3.7-3 Use el tapón hueco o abierto coloreado para el electrodo de pO₂ como se muestra.



Figura 3.7-4 Por favor sea cuidadoso, no toque esta parte del electrodo.



Figura 3.7-5 Inserte el tapón de goma coloreado para el electrodo de pO₂ (OD) en el lado derecho del puerto que está cerca del puerto de muestreo (diámetro mayor)



Figura 3.7-6 Asegúrese de que la arandela este colocada sobre el tapón de goma.



Figura 3.7-7 Coloque la tapa negra con rosca un poco suelta sobre el tapón y la arandela.



Figura 3.7-8 Humedezca el electrodo de pO₂ (OD) con agua desionizada para facilitar la inserción del electrodo.



Figura 3.7-9 Inserte el electrodo a través del tapón de color fijado y de la tapa con rosca. Entonces, empuje el electrodo cuidadosamente dentro del puerto y ajuste la altura del electrodo para que quede inmerso en el medio



Figura 3.7-10 Asegure fuertemente la tapa negra con rosca colocada en la parte superior del tapón coloreado.



Figura 3.7-11 El conector del electrodo de pO_2 (OD) tiene que estar conectado entre el electrodo de pO_2 y el enchufe o conexión del electrodo de pO_2 (OD) en la unidad principal de control. Ajuste la cubierta del conector del electrodo de pO_2 (OD) empujándolo hacia arriba como se muestra.



Figura 3.7-12 Coloque y ajuste el conector del electrodo de pO_2 girándolo o rotándolo para encontrar la posición exacta para el cierre de ranuras y cavidades con el electrodo de pO_2 .



Figura 3.7-13 Después de fijar el electrodo de pO_2 (OD) y el conector en la posición exacta de cierre, empuje hacia abajo la cubierta del conector del electrodo de pO_2 (OD) y asegúrelo suficientemente enroscándolo.



Figura 3.7-14 Retire la tapa de seguridad presionando y aflojándola mediante el giro o la rotación del enchufe o conector del electrodo de pO_2 (OD) en la unidad principal de control.



Figura 3.7-15 Asegure el conector del electrodo de pO_2 (OD) al enchufe o conector girándolo o rotándolo y presionando para cerrarlos juntos.



Humedezca con gotas de agua destilada el electrodo y de los tapones de silicona con sellos múltiples en los cuellos de vidrio para facilitar su inserción. De esta forma estos se deslizarán y saldrán fácilmente.



¡Coloque siempre una arandela de metal debajo la tapa con rosca para reducir la fuerza de enrosque necesaria!



¡No enrosque las tapas con rosca demasiado fuerte! No es necesario y las roscas de vidrio pueden romperse.

3.8 Instalación del electrodo de temperatura y pH

El electrodo de temperatura está incorporado con el electrodo de pH e incluido en ambos kit del MINIFOR (avanzado y listo para el uso).



El electrodo de pH tiene un diámetro ligeramente menor que el electrodo de pO_2 . Por lo tanto es importante usar el **tapón hueco o abierto coloreado para el electrodo de pO_2** y cualquier tapón transparente para el electrodo de pH.



Los **enchufes o conectores “hembras”** de los cables no pueden ser limpiados, por lo que tienen que **mantenerse absolutamente limpios**.



Durante la instalación del eje de agitación, preste atención y **no toque las puntas de los electrodos de pH y pO_2** .



¡No limpie la enchufe o conector “hembra” del cable del electrodo! (Esta debe permanecer absolutamente limpia).



¡Nunca ponga cable alguno dentro de la autoclave para su esterilización! Esto es similar para todos los electrodos esterilizables.



Es altamente recomendable **montar primero el eje del agitador** y después los electrodos.



El contacto de los electrodos / enchufes o conectores de corriente tienen que permanecer **limpios**. (Evite la ebullición excesiva al final de la esterilización).



Humedezca la punta del electrodo con agua destilada para hacer la introducción más fácil.



La señal del electrodo de pH es de una alta impedancia. **Cualquier suciedad, solución salina u otra contaminación puede afectar negativamente la precisión de la medición.**



El contacto sobre el electrodo puede ser limpiado con agua destilada y secado con toallas de papel limpio.

Si se utiliza un nuevo electrodo: Retire la tapa protectora de la punta del electrodo y enjuague el electrodo con agua desionizada. Retire cuidadosamente la protección de silicona del diafragma. Agite el electrodo gentilmente si fuese necesario para hacer llegar la solución a la punta del electrodo de vidrio. Ponga el electrodo por al menos 24 h en la solución tampón pH 6-7. (Esto condiciona la capa de vidrio del electrodo y estabiliza la señal). Antes de las mediciones y la calibración enjuague el electrodo con agua desionizada y retire la última gota con un papel de filtro. Espere la estabilización de las lecturas de pH y temperatura.

Para cualquier información adicional refiérase al folleto “InPro® 325X, InPro® 325X (ISM), InPro® 325X i” que se suministra junto al electrodo de pH.

La medición del pH durante el experimento es fácil y puede ser leída en la pantalla o monitor. Ajustes, intervalos (fijar los límites máximo y mínimos), fijar las alarmas, las lecturas reales pueden ser controladas y moduladas en la unidad principal de control del MINIFOR.

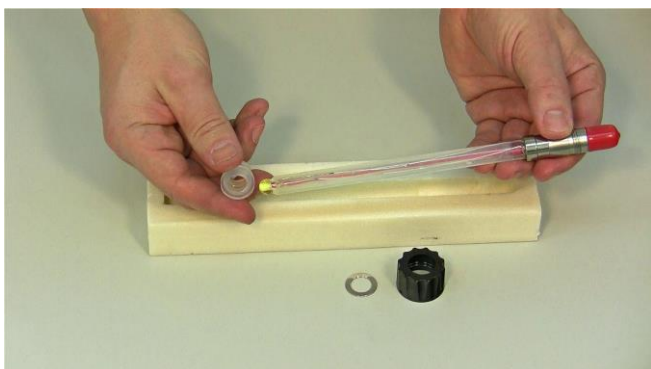


Figura 3.8-1 El electrodo de pH puede ser colocado en los puertos con cualquiera de los tapones blancos huecos suministrados por el fabricante como se muestra.

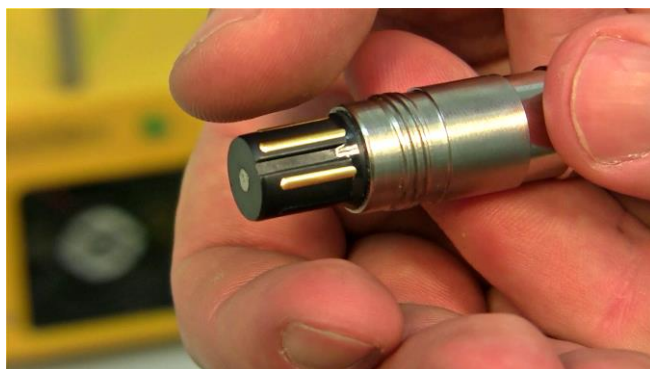


Figura 3.8-2 Debe tenerse cuidado de no tocar la parte del sensor del electrodo durante la manipulación.



Figura 3.8-3 Coloque cualquiera de los tapones blancos huecos en el puerto opuesto al puerto del electrodo de pO_2 .



Figura 3.8-4 Asegúrese de que la arandela esté colocada en el tapón blanco hueco.



Figura 3.8-5 Coloque la tapa negra con rosca un poco suelta sobre el tapón blanco hueco y la arandela.

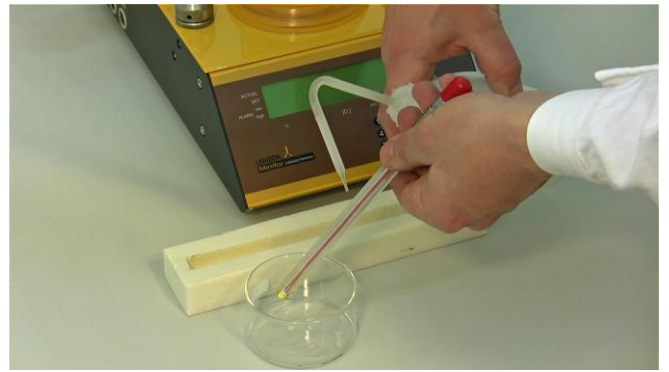


Figura 3.8-6 Humedezca bien el electrodo de pH con el agua destilada para su fácil inserción en el puerto correspondiente.



Figura 3.8-7 Inserte cuidadosamente el electrodo de pH en el puerto preparado con el tapón hueco, la arandela y la tapa negra con rosca.



Figura 3.8-8 Asegure fuertemente la tapa negra con rosca después de la inserción o colocación del electrodo de pH.



Figura 3.8-9 Tome el conector del electrodo de pH de la unidad principal de control del biorreactor MINIFOR. (Cable negro de la unidad).



Figura 3.8-10 Retire la tapa protectora negra de la parte del sensor (parte superior o tope) en el cable y la tapa protectora roja del electrodo de pH.

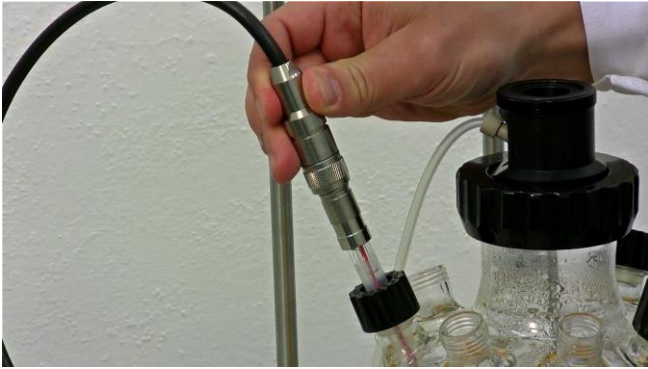


Figura 3.8-11 Conecte el cable del conector del electrodo de pH (negro) de la unidad principal de control con el electrodo de pH. Gire y ajuste el cable conector para el cierre exacto de las ranuras.



Figura 3.8-12 Después del cierre de las ranuras del electrodo de pH y del cable conector, apriete la conexión enroscando la cerradura con rosca en el cable conector rotándola como se muestra.



¡Coloque siempre una arandela de metal bajo la tapa con rosca para reducir la fuerza de enrosque necesaria!



¡No enrosque las tapas con rosca demasiado fuerte! No es necesario y las rosas de vidrio pueden romperse.

3.9 Válvula de seguridad limitante de la presión



¡Use siempre la válvula de seguridad de sobrepresión en el vaso!



¡El uso de la válvula de seguridad limitante de la presión suministrada es imperativo! Esto evitará un incremento de la presión en caso de bloqueo o tupidión del filtro de salida y en caso de formación excesiva de espuma.



¡La presión de entrada máxima no puede exceder los 0,2 MPa incluso por un periodo corto de tiempo! ¡Si esto sucede, las tuberías o mangueras de aire dentro del fermentador del MINIFOR se romperán y tendrán que ser reemplazadas!



La válvula de seguridad tiene que estar perfectamente limpia y las tuberías o mangueras de silicona tienen que ser reemplazadas después de cada evento de sobrepresión. ¡De no ser así, las tuberías o mangueras pueden impedir la correcta operación de la válvula de seguridad de sobre-presión!



Mientras que otros sistemas utilizan discos de membrana y se contaminan, **la válvula de seguridad de sobrepresión LAMBDA evita la contaminación de la corrida o fermentación.**

El vidrio es el material óptimo para los biorreactores y fermentadores de laboratorio. El vidrio es inerte y no libera sustancias indeseables al medio. Desafortunadamente, el vidrio se rompe por lo que los vasos de cultivo de este material no soportan grandes presiones. Bajo condiciones normales no hay problemas, porque las presiones internas en los vasos suelen ser bajas debido a que el aire utilizado (gas de salida) escapa a través del filtro del aire de salida.

Sin embargo, cuando el filtro del aire de salida se bloquea o tupe (ej. por sobreuso en largos periodos de tiempos del mismo filtro o por penetración del líquido o espuma en el filtro) entonces la presión real en el vaso puede ser igual a la presión del gas de entrada^{*}). Esto puede ser peligroso con los vasos de vidrio. El vidrio sufre progresivamente durante muchas esterilizaciones

y su superficie puede ser dañada accidentalmente por arena, anillos, etc. Todos estos efectos disminuirán la resistencia a la presión final de los vasos de vidrio.

*⁾ La presión recomendada del aire de entrada es 0,1 MPa

Cuando la presión dentro del vaso se acerca o aproxima a un valor de sobrepresión (cerca de 0,1 MPa), la válvula comienza a gotear o salirse. Como la presión se incrementa el goteo se hace mayor cada vez y la presión es mantenida en un intervalo de seguridad. El silbido del aire de escape puede ser usualmente escuchado. Esto debe atraer la atención del operario y de esta manera el operario suponer que algo está funcionando mal. En este momento, la presión del aire de entrada tiene que disminuirse y el filtro de salida tiene que ser cambiado o uno nuevo debe ser colocado.

Ensamblaje y mantenimiento de la válvula de sobrepresión:

Componentes de la válvula de seguridad de sobrepresión: Cánula de acero inoxidable con el conector de PEEK LAMBDA, inserto o pieza metálica cónica doble para conexión de tuberías o mangueras y válvula de seguridad de sobrepresión.

La válvula de seguridad de sobrepresión consiste en una pieza tubular con rosca con huecos perpendiculares cubiertos por una pieza larga de 5 mm de una tubería o manguera de silicona común de diámetro externo de 6 mm, diámetro interno de 4 mm y un ancho de la pared de 1 mm. Cuando se alcanza la presión crítica, la pieza tubular se distiende y el aire escapa.



Figura 3.9-1 Inserte un extremo del inserto o pieza metálica cónica doble a la válvula de seguridad de sobrepresión.



Figura 3.9-2 Inserte el otro extremo en la cánula de acero inoxidable con el conector de PEEK LAMBDA.



Figura 3.9-3 Inserte la válvula de seguridad limitante de sobrepresión ensamblada al tapón de goma.



Figura 3.9-4 Inserte el tapón con la válvula de seguridad limitante de sobrepresión ensamblada dentro del puerto. (Probablemente la válvula de seguridad limitante de sobrepresión puede ser colocada al lado del puerto del electrodo de pH).

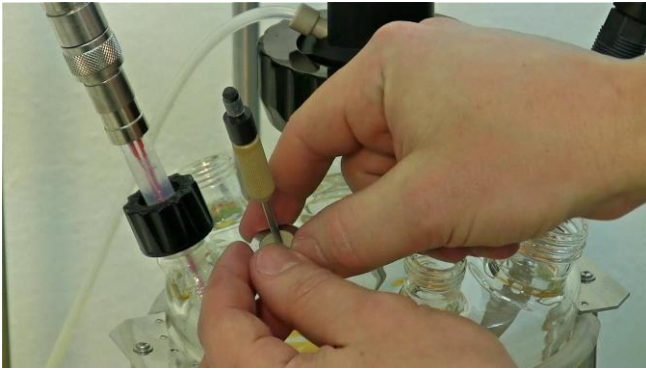


Figura 3.9-5 Asegúrese de que la arandela esté colocada en el tapón con la válvula de seguridad.

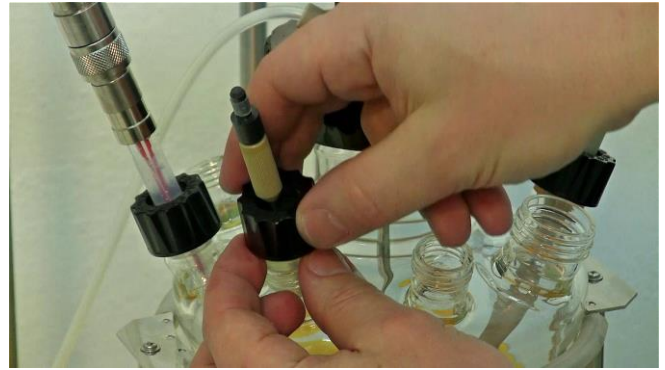


Figura 3.9-6 Al final, coloque la tapa negra con rosca y apriétela girándola o rotándola en el sentido de las manecillas del reloj o a hacia la derecha.

3.10 Ensamblaje de los dispositivos de adición y muestreo

Los dispositivos de adición y muestreo incluyen el dispositivo de muestreo estéril y el puerto cuádruple para la toma de muestras y la adición de ácido, base o tampones, minerales, nutrientes e inóculo en el medio esterilizado, etc respectivamente.

3.10.1 Puertos de muestreo cuádruple y de adición

Los puertos de muestreo cuádruple y de adición incluyen las cuatro cánulas o agujas con la conexión “hembra” con doble sello LAMBDA. Las cánulas usadas pueden ser de acero inoxidable (Figura 3.10.1) o puede ser personalizada con tuberías o mangueras de PTFE en lugar de cánulas de acero inoxidable (Figura 3.10.2).

La conexión con doble sello asegura una conexión fuerte y evita la contaminación a través de los puertos durante la adición de los nutrientes, etc e incluso durante el muestreo.

La conexión con DOBLE CIERRE LAMBDA está fabricada de PEEK. Este es un nuevo material similar al PTFE en su resistencia química extrema y su elevado punto de fusión (350 °C). Puede ser incluso flameado, tiene una resistencia mecánica mucho mayor y no “fluye” como el PTFE. Por sus cualidades superiores, este ha sido seleccionado por LAMBDA a pesar de su elevado precio.

En el ensamblaje para puerto de muestreo cuádruple y de adición, se conectan 3 cánulas con la conexión “hembra” con doble sello LAMBDA con conectores de tubería o manguera de PEEK con doble sello que están destinados para la adición de ácido, base, medios, nutrientes, tampones, etc y muestreo. Un septum o tabique especial se utiliza para la cánula que está siendo utilizada para la inoculación.

A continuación se muestra la preparación de los conectores de tubería o manguera de PEEK con doble sello, el septum o tabique para la inoculación, el dispositivo de muestreo estéril y también las botellas de almacenamiento que son utilizadas para contener el ácido, base, medios, etc para su adición dentro del vaso de trabajo a través del puerto.



Humedezca la punta de la tubería o manguera y las partes de metal con agua destilada para hacer el deslizamiento más fácil.



Figura 3.10-1 Puertos de muestreo cuádruple y de adición con las cánulas de acero inoxidable.

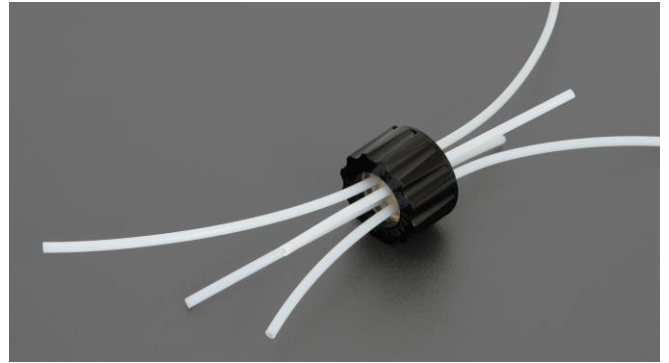


Figura 3.10-2 Puertos de muestreo cuádruple y de adición personalizados con tuberías o mangueras de PTFE en lugar de cánulas de acero inoxidable.

3.10.2 Preparación de los conectores de tuberías o mangueras de PEEK LAMBDA con doble sello

El conector de la tubería o manguera de PEEK LAMBDA con doble sello tiene que ser preparado, igual a como ha sido preparado para la instalación de la unidad de agitación, para asegurar el cierre apropiado de los puertos de muestreo y de adición.

Ahora en esta etapa, los conectores de las tuberías o mangueras con doble sello son preparados para la conexión estéril de la cánula respectiva en el puerto de muestreo cuádruple con la botella de almacenamiento con ácido, base, tampones, medio, etc. Por lo tanto, las tuberías o mangueras deben tener conectores de tubería o manguera de PEEK con doble sello en ambos extremos de la tubería o manguera que necesita ser conectado con el puerto de muestreo cuádruple.



Humedezca la punta de la tubería o manguera y las partes de metal con agua destilada para hacer el deslizamiento más fácil.

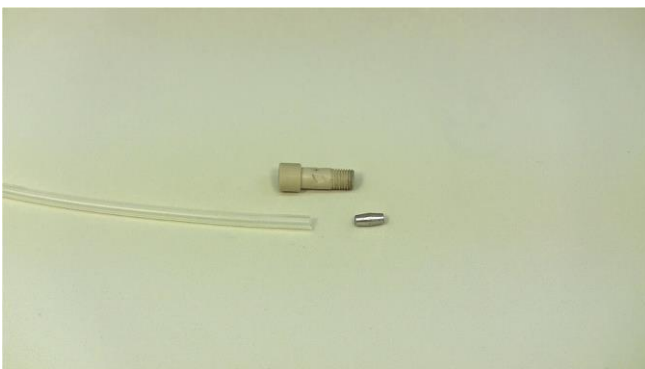


Figura 3.10-3 Las partes o dispositivos mostrados necesitan ser conectados juntos con el conector de la tubería o manguera de PEEK LAMBDA de doble sellado.

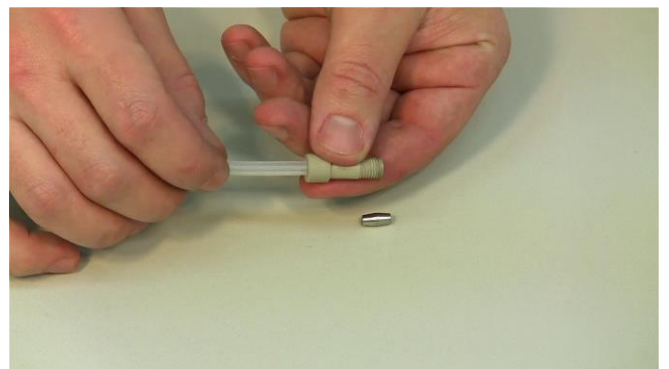


Figura 3.10-4 Inserte la tubería o manguera dentro de la parte de PEEK de doble sellado correspondiente.

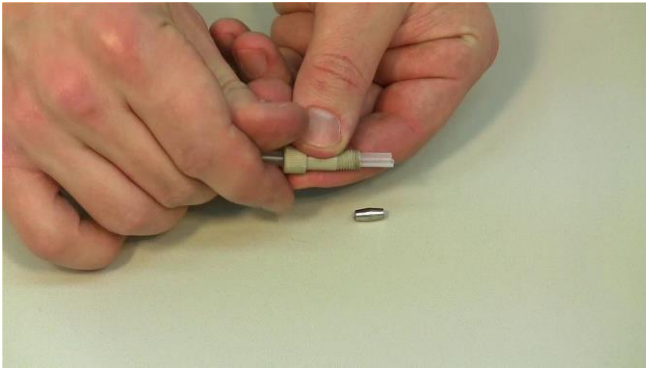


Figura 3.10-5 Permita que la tubería o manguera fluya libremente hasta la otra cara de la parte de PEEK de doble sellado correspondiente.

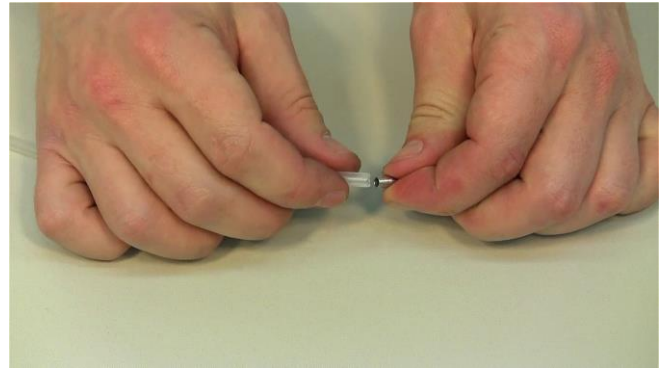


Figura 3.10-6 El inserto o pieza metálica cónica con doble sellado tiene que ser insertada dentro de la tubería o manguera.



Figura 3.10-7 Inserte el inserto o pieza metálica cónica de doble sellado dentro de la tubería o manguera la cual fluye libremente hasta la otra cara de la parte de PEEK con doble sellado correspondiente.

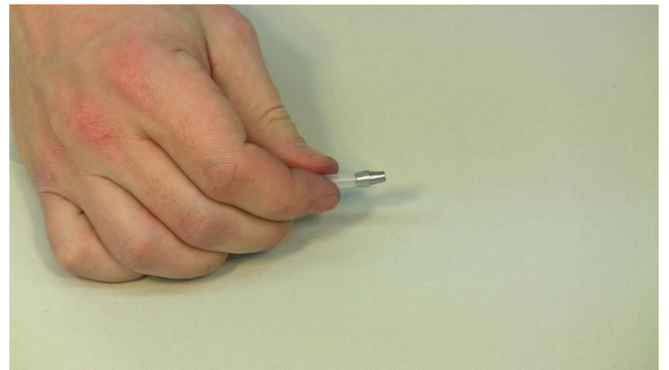


Figura 3.10-8 El inserto o pieza metálica cónica de doble sellado resultante con la tubería o manguera debe quedar como el de la figura ej., la mitad de la porción del inserto cónico debe encontrarse dentro de la tubería o manguera.



Figura 3.10-9 Tome la llave inglesa y el inserto o pieza metálica cónica de doble sellado con la tubería o manguera. Presione el inserto con la tubería o manguera contra la llave inglesa para insertarlo totalmente dentro de esta.



Figura 3.10-10 La figura muestra el conector de la tubería o manguera de PEEK de doble sellado preparado.

3.10.3 Preparación del dispositivo de inoculación (Septum o tabique)

El septum o tabique es el dispositivo de inoculación que será conectado con una de las cánulas en el dispositivo de muestreo cuádruple.



Figura 3.10-11 Las partes deben ser conectadas juntas para formar el dispositivo de inoculación. De izquierda a derecha:

1. Septum o tabique tubular que contiene el inserto o pieza metálica cónica con doble sello para la tubería o manguera dentro;
2. Cuerpo del adaptador del septum o tabique con una junta tórica blanca de septum o tabique para el cuerpo adaptador del septum o tabique;
3. Tapa protectora del septum o tabique que contiene el disco de sellado.



Figura 3.10-12 El septum o tabique tubular (el cual esta sellado en uno de los extremos) debe ser fijado sobre el inserto o pieza metálica cónica con doble sello con el uso de, por ejemplo, una regla dura dejando parte del septum o tabique tubular libre y expuesta como se muestra.

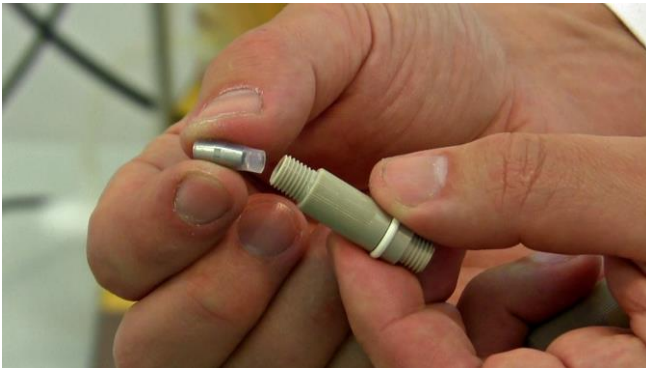


Figura 3.10-13 La pieza metálica cónica con doble sello preparada con el septum o tabique tubular tiene que ser insertada dentro del cuerpo adaptador de septum o tabique.



Figura 3.10-14 Note que el sellado del extremo del septum o tabique tubular debe ser fijado dentro del cuerpo adaptador de septum o tabique (en la otra cara de la junta tórica blanca de septum o tabique) como se muestra.



Figura 3.10-15 Fije la tapa protectora del septum o tabique en la cara con rosca de la junta tórica blanca de septum o tabique.



Figura 3.10-16 Juego completo para la inoculación. El extremo libre con el inserto o pieza cónica con doble sello tiene que ser insertado en una de las cánulas o agujas del puerto de muestreo cuádruple.

3.10.4 Preparación del dispositivo de muestreo

El dispositivo de muestreo se incluye en cada kit avanzado del MINIFOR.



Mantenga las **líneas (tuberías o mangueras) entre el MINIFOR y el dispositivo de muestreo** tan **cortas** como sea posible.

(Dado que el lavado en sentido contrario es riesgoso por la contaminación, tiene que hacer un lavado de la línea antes de tomar la muestra. Cuanto más corta sea la línea, menor volumen de trabajo perderá).



Humedezca la punta de la tubería o manguera y las partes de vidrio con agua destilada para hacer el deslizamiento más fácil.

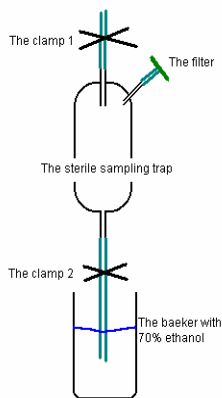


Figura 3.10-17 Representación esquemática del dispositivo de muestreo estéril LAMBDA.

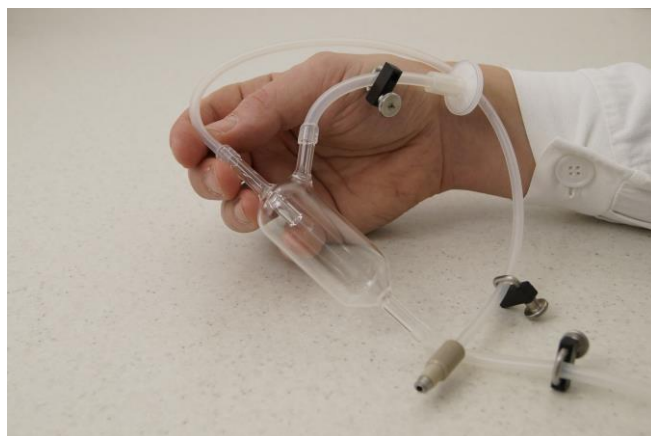


Figure 3.10-18 Representación fotográfica del dispositivo de muestreo estéril LAMBDA.

Como se describe en las **Figuras 3.10—17 y 3.10—18**, el dispositivo de muestreo estéril es fabricado de vidrio con 3 accesos para las conexiones de entrada y salida.

- El acceso vertical del dispositivo de vidrio el cual está adyacente al brazo lateral de acceso necesita ser conectado con el biorreactor para el muestreo.
- El dispositivo tiene que ser conectado por el inserto o pieza de PEEK cónica con doble sello (inserto) con una de las cánulas del puerto del muestreo cuádruple ensamblado (la aguja más larga).
- ¡Apriete o asegure con pinzas la tubería o manguera entre el biorreactor y el dispositivo de muestreo antes de autoclavarlo!
- Conecte un filtro de aire esterilizable (pequeño filtro de ventilación o venteo de 25 mm, tamaño de poro 0.2 μm) al brazo lateral por medio de las tuberías o mangueras cortas de silicona.
- Las tuberías o mangueras de silicona de 10 - 20 cm de largo necesitan ser conectadas al brazo de acceso (en el fondo o base) de salida en el dispositivo de vidrio ej., el brazo vertical opuesto a la conexión de entrada de muestreo con el biorreactor (en la parte más baja del dispositivo).
- Todo tiene que ser esterilizado con el vaso en la autoclave.
- Lo más importante es que todas las tuberías o mangueras tienen que ser pinzadas o cerradas inmediatamente después de la esterilización.
- El dispositivo de muestreo tiene que ser fijado en el sostenedor del dispositivo de muestreo después de la esterilización.



Figure 3.10-19 Tuberías de silicona de 10-20 cm de largo necesitan ser conectadas al brazo de acceso de salida en el dispositivo de vidrio ej., el brazo vertical opuesto a la conexión de muestreo de entrada con el biorreactor (en la parte más baja del dispositivo).



Figure 3.10-20 Un filtro esterilizable de aire (pequeño filtro de ventilación o venteo de 25 mm, tamaño de poro 0.2 μm) conectado al brazo lateral por medio de una tubería o manguera corta de silicona.



Figure 3.10-21 La tubería con el inserto o pieza de PEEK de doble sellado necesita ser conectada con el dispositivo de muestreo estéril (refiérase a 3.10.2). Preparación de los conectores de PEEK de doble sellado LAMBDA. El acceso (brazo) de entrada para conectar la tubería con pieza PEEK con doble sello tiene una tubería de acceso bien adentro de la parte del dispositivo de vidrio (refiérase a la figura).



Puede reemplazar el dispositivo estándar de muestreo del MINIFOR por cualquier otro dispositivo (según el dispositivo estándar del laboratorio) con el uso de una conexión de tuberías o mangueras.

3.10.5 Preparación de las botellas de almacenamiento

Las botellas de almacenamiento son las botellas para la adición del ácido, base, tampones, medios, nutrientes, minerales, etc por medio del bombeo automático hacia dentro del vaso de trabajo.



Figura 3.10-22 Botella de reactivo de 250 mL con tubo metálico (cánula con la conexión “hembra” con doble sello LAMBDA) y conexión de cierre Luer.

Tabla 7 Botellas de almacenamiento: puertos y propósitos

Cantidad	Aguja	Propósito	Que debe ser instalado en ella
1	Larga	Bombear el líquido de salida de la botella hacia el biorreactor (líquido)	Conector LAMBDA con doble sello (para la preparación, refiérase a 3.10.2) y la tubería o manguera que pasa a través de la bomba hacia el puerto cuádruple del vaso fermentador.
1	Corta	Ventilación o venteo (gas)	Filtro de gas , filtro de gas autoclaveable de 0.2µm de diámetro de poro



Los filtros tienen que estar bien fijados en las agujas. Esto puede depender del suministrador o fabricante. Si el filtro y la aguja no son los apropiados, entonces inserte la tubería o manguera de silicona entre la aguja y el filtro. Fíjelo con fijadores de cables autoclaveables.



Las tuberías o mangueras húmedas pueden ser montadas bien en las agujas - pase agua a través de las tuberías o mangueras antes de montarlas. Además el agua será útil durante la esterilización dado que el vapor asegura la transferencia de calor. Sin embargo, asegúrese de que su filtro esté seco.



No use HCl como ácido para la fermentación y biorreacciones en tanto su proceso permita utilizar otros ácidos como H_3PO_4 or H_2SO_4 .

3.10.5.1 Línea o tubería entre las botellas de almacenamiento y el vaso del MINIFOR



Humedezca la silicona / vidrio / metal con agua destilada para hacer más fácil el deslizamiento.

Las botellas de almacenamiento así como las tuberías o mangueras de silicona pueden ser esterilizados junto con el vaso biorreactor / fermentador.



Todas las líneas, tuberías o mangueras entre las botellas de almacenamiento y el vaso del MINIFOR deben ser tan cortas como sea posible para su fácil manipulación, menor probabilidad de contaminación y largo tiempo de uso. Debe también tener en cuenta la longitud adicional del cabezal de la bomba y / o la línea de soldadura o unión.



Las bombas peristálticas LAMBDA (cabezales) trabajan mejor con las tuberías o mangueras de silicona. La máquina de soldadura o unión de la tubería, pudiera necesitar otras tuberías o mangueras las cuales son muy duras para las bombas peristálticas LAMBDA. Para la línea (entre las botellas de almacenamiento y el vaso del MINIFOR) puede usar un tipo diferente de tubería o manguera la cual es conectada con un conector de tubería o manguera autoclaveable.



En el caso de que sean usados conectores de tubería o manguera autoclaveables, fije la tubería o manguera con un fijador de cable. (Para conectores de metales, no use el fijador de cable debido a que las tuberías o mangueras de silicona pueden derretirse sobre el metal después de autoclavarlos).



Si necesita conocer el volumen de líquido adicionado sin el uso de una balanza o si quiere medir la velocidad de flujo, entonces la velocidad de la bomba LAMBDA / flujo tiene que ser calibrada.

Sin embargo, el diámetro interno de la tubería o manguera de silicona puede cambiar durante la esterilización. La primera esterilización tiene el mayor impacto sobre el material. Use solo TUBERÍAS O MANGUERAS AUTOCLAVEABLES para la preparación de las líneas, tuberías o mangueras entre las botellas de almacenamiento y los vasos del MINIFOR.

3.10.6 Montaje de los dispositivos de muestreo y adición

Después de la preparación del puerto de muestreo cuádruple ensamblado, el conector de PEEK de doble sellado de la tubería o manguera, dispositivo de inoculación y el dispositivo de muestreo estéril, tienen que ser montado en su lugar con el objetivo de hacer una completa instalación.



Figura 3.10-23 Inserte el puerto de muestreo cuádruple ensamblado dentro del puerto de mayor diámetro y adyacente al puerto del electrodo de pO_2 instalado. Fíjelo y asegúrelo fuertemente con la tapa negra con rosca.



Figura 3.10-24 Coloque el dispositivo de muestreo estéril en el sostenedor del dispositivo de muestreo estéril (refiérase a 3.4 Instalación del vaso de fermentación) y ajústelo con el tornillo lateral.



Figura 3.10-25 Retire el cierre de protección de la tubería o manguera con doble sello sobre la cánula más larga del puerto de muestreo cuádruple como se muestra.



Figura 3.10-26 Tome la tubería o manguera de PEEK con doble sello del dispositivo de muestreo estéril y conéctelo a la cánula más larga en el puerto de muestreo cuádruple.



Figura 3.10-27 Tome la tubería preparada con los conectores de tubería de PEEK con doble sello en ambos extremos de la tubería o manguera (refiérase a 3.10.2 Preparación de los conectores de PEEK de tubería o manguera con doble sello).



Figura 3.10-28 Conecte un extremo de la tubería o manguera preparada con el conector de la tubería o manguera de PEEK con doble sello a la cánula corta en el puerto de muestreo cuádruple.

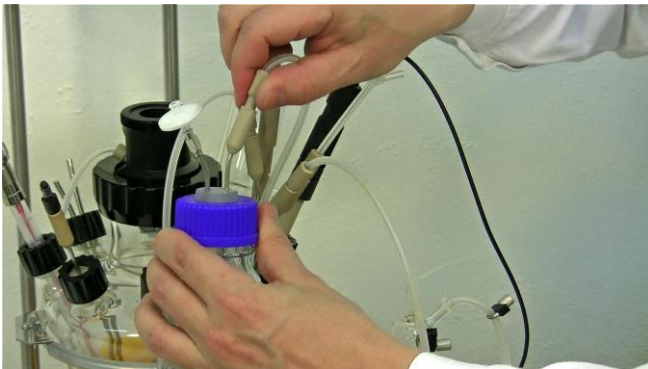


Figura 3.10-29 Conecte el otro extremo de la tubería o manguera preparada con el conector de la tubería o manguera de PEEK con doble sello a la aguja larga de la botella de almacenamiento.



Figura 3.10-30 Las botellas de almacenamiento pueden ser convenientemente mantenidas en la parte posterior de la unidad principal de control del MINIFOR usando el sostenedor de botellas magnético.

3.11 Dispositivo de enfriamiento del medio

LAMBDA ofrece dos formas diferentes para enfriar el medio:

- Lazo (bucle o serpentín) de enfriamiento: para el enfriamiento con líquidos de enfriamiento (suministrado en cada Kit del MINIFOR)
- Dedo de enfriamiento Peltier basado en la celda o efecto Peltier: Enfriamiento termoeléctrico sin líquido de enfriamiento (Dispositivo adicional para vasos de hasta 3 L).



Figura 3.11-1 Lazo (bucle o serpentín) de enfriamiento



Figura 3.11-2 Dedo de enfriamiento Peltier



El sistema de enfriamiento no está conectado al control automático de la temperatura. El control automático de la temperatura se realiza mediante el sistema de calentamiento LAMBDA.



Sin embargo, **con el enfriamiento, puede ajustar la temperatura del medio, justo por debajo de la temperatura requerida como punto preestablecido o prefijado.** Entonces el control automático de la temperatura permitirá alcanzar exactamente el punto preestablecido o prefijado de temperatura.

La mayoría de los sistemas no necesitan enfriamiento. (Esto depende del volumen de trabajo, del tipo de celda y de la densidad así como del suministro de medio o fase de producción).



Si no está seguro de si el sistema necesita enfriamiento o no, entonces monte solo el lazo de enfriamiento (bucle o serpentín) como se describe en el siguiente capítulo.

De esta forma puede conectar el líquido de enfriamiento (agua del grifo o corriente) tan pronto como sea necesario.

3.11.1 Lazo (bucle o serpentín) de enfriamiento.

En caso de que la fermentación necesite enfriamiento, el lazo (bucle o serpentín) de enfriamiento puede ser usado para mantener las condiciones deseadas.

Cada unidad (MINIFOR) es entregada con un lazo (bucle o serpentín) de enfriamiento para el enfriamiento del medio en el vaso usando líquido de enfriamiento.



Humedezca la punta del lazo (bucle o serpentín) / tubería o manguera con agua destilada para hacer más fácil el deslizamiento.



Figura 3.11-3 Coloque el lazo (bucle o serpentín) de enfriamiento en el cuello seleccionado en la parte posterior o trasera del vaso para dejarlo imperturbable.



Figura 3.11-4 Asegúrelo y apriételo gentilmente con la tapa negra con rosca.

Aquí es donde el lazo (bucle o serpentín) de enfriamiento debe permanecer hasta la esterilización del vaso montado.

El momento de la conexión del líquido de enfriamiento (agua corriente del grifo o líquido proveniente del baño termostático) es después de la esterilización o tan pronto como se requiera del lazo (bucle o serpentín) de enfriamiento para mantener la temperatura del medio de trabajo.



Figura 3.11-5 Deslice la tubería o manguera para la entrada del líquido de enfriamiento sobre uno de los tubos verticales del lazo (bucle o serpentín) de enfriamiento como se muestra.



Figura 3.11-6 Deslice la tubería o manguera para la salida del líquido de enfriamiento sobre el otro tubo del lazo (bucle o serpentín) de enfriamiento para permitir el flujo de líquido de enfriamiento a través del lazo (bucle o serpentín) de enfriamiento.

Deje circular el líquido de enfriamiento a través del lazo (bucle o serpentín) de enfriamiento por la conexión de la tubería o manguera para el enfriamiento del medio de trabajo.



Para facilitar **la inserción de los tapones de silicona con sello múltiple dentro de los cuellos de vidrio** (ej. electrodos, lazo (bucle o serpentín) de enfriamiento, sistema de enfriamiento, tuberías, etc) **humedézcalos con gotas de agua destilada**. Esto hará que se deslicen más fácilmente.



¡Coloque siempre una arandela de metal debajo la tapa con rosca para reducir la fuerza de enrosque necesaria!



¡No enrosque las tapas con rosca demasiado fuerte! Si no es necesario, las roscas de vidrio pueden romperse.

3.11.2 Dedo de enfriamiento electrónico Peltier

El dedo de enfriamiento Peltier es un dispositivo termoeléctrico opcional a los kit del MINIFOR. Este permite el enfriamiento del medio de trabajo sin utilizar líquido de enfriamiento y trabaja basado en el efecto de enfriamiento electrónico producido por el flujo de una corriente eléctrica a través de una celda Peltier.

El trabajo con el dedo de enfriamiento electrónico Peltier se hace de acuerdo con el principio de “tubo de calor”, el cual tiene la ventaja de tener una mayor conducción del calor de (hasta 80 veces) comparado con el cobre (!) y puede ser empleado con varios niveles o volúmenes de medio. Este trabaja incluso cuando el lazo (bucle o serpentín) no está enteramente sumergido en el medio.

El sistema de enfriamiento Peltier LAMBDA es extremadamente compacto y ventajoso para los cultivos que deben ser mantenidos a temperaturas bajas. Temperaturas mucho menores pueden ser alcanzadas por el aislamiento del vaso con el material aislante conveniente. El lazo de enfriamiento Peltier LAMBDA elimina la necesidad de baños circulantes refrigerados, los cuales son caros y ocupan una cantidad valiosa de la superficie de la mesa de trabajo.



El dispositivo **es más apropiado para vasos de 1L, máximo 3L.**



No instale el dispositivo de enfriamiento del medio Peltier en vasos de 7 L del MINIFOR.



Nunca ponga el elemento de enfriamiento Peltier o cualquier otra electrónica o partes con cables dentro del autoclave. ¡Esto destruirá estas partes!

Durante la esterilización: La unidad del motor y la unidad de ventilación tienen que ser separadas de los tubos de enfriamiento y accesorios.



Figura 3.11-7 Separe la unidad del motor y ventilador de las tuberías de enfriamiento como se muestra durante la preparación para la esterilización.



Figura 3.11-8 Separe las partes del dedo de enfriamiento Peltier.

Después de la esterilización: El bucle de enfriamiento Peltier tiene que ser preparado por medio de su conexión a la unidad del motor y unidad de ventilación con el bucle de enfriamiento.



Figura 3.11-9 Aplique la pasta conductora de calor en la superficie blanca del elemento de enfriamiento Peltier con componentes electrónicos de control y el ventilador, antes de unir el dedo de enfriamiento con la unidad.

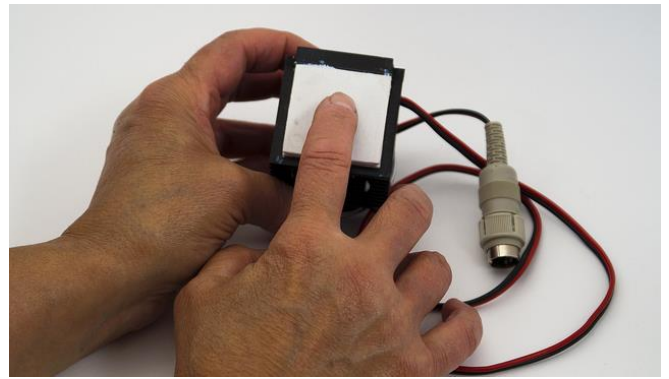


Figura 3.11-10 Esparza la pasta conductora de calor sobre la superficie de forma pareja y fina asegurándose de que no queden o existan burbujas de aire atrapadas.



Figura 3.11-11 Una el elemento de enfriamiento Peltier con componentes electrónicos de control y el ventilador con el lazo (bucle o serpentín) de enfriamiento colocando la superficie blanca con la pasta conductora de calor sobre la trampa respectiva en la unión del dedo de enfriamiento como se muestra.

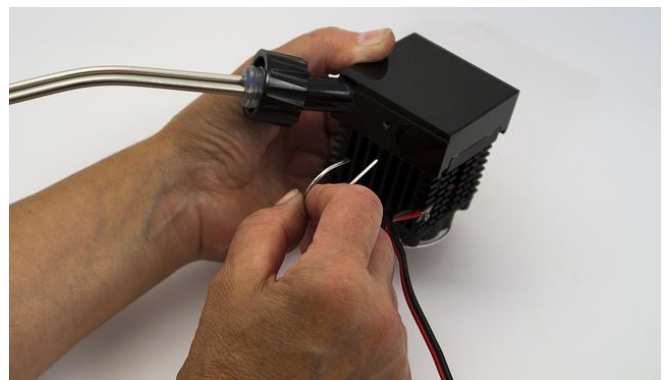


Figura 3.11-12 El dedo de enfriamiento Peltier necesita ser cerrado utilizando una pinza de cierre.



Figura 3.11-13 La pinza de cierre tiene que ser alada firmemente a través del elemento de enfriamiento Peltier con componentes electrónicos de control y el ventilador para hacer el dedo de enfriamiento Peltier intacto o inmóvil.

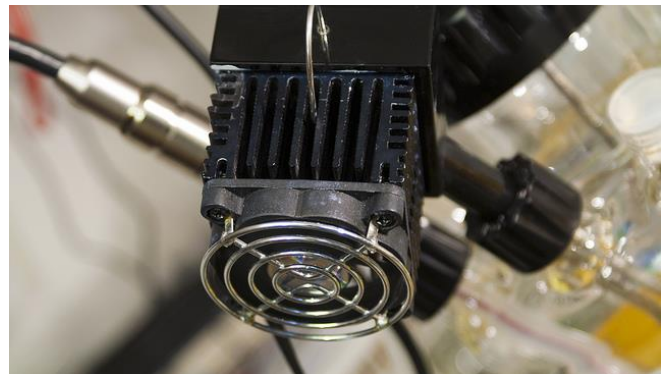


Figura 3.11-14 El dedo de enfriamiento Peltier puede ser colocado en el mismo lugar en que coloca el lazo (bucle o serpentín) de enfriamiento (refiérase a 3.11.1. Lazo (bucle o serpentín) de enfriamiento). Asegúrelo fuertemente con cuidado utilizando la tapa negra con rosca, dado que el cabezal del sistema de enfriamiento Peltier pudiera ser ligeramente pesado mientras se aprieta la tapa con rosca.

El conector para el dispositivo de enfriamiento Peltier tiene que ser conectado dentro del enchufe "PUMP" en la parte de atrás, justo en la esquina superior de la unidad principal de control del MINIFOR:



Figura 3.11-15 Conexión del dispositivo de enfriamiento Peltier: en la parte posterior o trasera del MINIFOR.



Para uso múltiple del conector de la bomba (PUMP), puede comprar la **caja de conexión cuádruple** (ver la lista de precios de Laboratorios LAMBDA).

3.12 Condensador del gas de salida y filtro de salida de aire

El condensador del gas de salida evita o previene la condensación del agua sobre el filtro de salida y el bloqueo resultante del flujo de aire de salida. El agua condensada regresa hacia el interior del vaso.

LAMBDA ofrece dos formas de condensar el gas de salida:

- Condensador del gas de salida de vidrio: Para la condensación del gas de salida utilizando líquido de enfriamiento (suministrado con cada kit del MINIFOR).
- Condensador electrónico del gas de salida Peltier: usado sin líquido de enfriamiento o refrigerante basado en el efecto termoeléctrico de la celda Peltier (Opcional).



Es altamente recomendable colocar un vaso intermedio entre el condensador del gas de salida y el filtro del aire de salida. Coloque una pequeña cantidad o volumen de la solución antiespumante conveniente en el fondo de este vaso o botella intermedia. Esto destruirá la espuma que debe entrar en este vaso o botella e incrementará la protección del filtro de aire de salida contra la obstrucción.



Figura 3.12-1 Botella intermedia entre el condensador del aire y el filtro del aire de salida.

Parte izquierda: el aire entra dentro de la botella y llega al fondo del frasco;

Parte derecha: el filtro de aire montado sobre una cánula la cual lleva hacia el espacio superior de la botella

El aire de salida necesita un **filtro de gas** estéril (autoclaveable, de tamaño de poro de $0.2 \mu\text{m}$) para mantener el sistema del reactor estéril después de la esterilización. Es importante que el filtro de gas permanezca seco y que **no se afecte** por la condensación, de lo contrario existirá riesgo de obstrucción y contaminación.

El condensador del gas de salida previene la condensación del agua en el filtro de salida y el bloqueo u obstrucción resultante del flujo de aire de salida. El agua condensada regresa hacia el interior del vaso.

Este flujo de retorno es también importante, particularmente cuando se trabaja con pequeños volúmenes por semanas, pues lo contrario concentra el medio y el volumen de trabajo pudiera disminuir.



Para facilitar la **inserción del electrodo y de los tapones de silicona con sellos múltiples en los cuellos de vidrio**, (ej. electrodos, lazos de enfriamiento, tuberías o mangueras, etc), **humedézcalos con gotas de agua destilada**. Esto permitirá el desplazamiento y la salida fácil.



¡Coloque siempre una arandela de metal debajo de la tapa con rosca para reducir la fuerza de enrosque necesaria!



¡No enrosque las tapas con rosca demasiado fuerte! Si no es necesario y las roscas de vidrio pueden romperse.

3.12.1 Condensador del gas de salida de vidrio con el filtro de aire de salida

Fije el filtro de aire, libre de gas, con una tubería o manguera larga en el condensador de vidrio. Cuanto más larga sea la tubería o manguera entre el condensador y el filtro es mejor. La tubería o manguera tiene que ser mantenida en una posición vertical recta. Debe tenerse cuidado de no formar lazos, para que de esta manera el líquido condensado regrese hacia el vaso para mantener el volumen de trabajo constante.

Durante la esterilización:



Figura 3.12-2 Condensador del gas de salida de vidrio y el filtro del gas de salida necesitan ser esterilizados junto con el vaso del MINIFOR.



Figura 3.12-3 Inserte el condensador del gas de salida dentro del puerto con el tapón abierto o hueco, una arandela y la tapa negra con rosca. Seleccione un puerto que no sea perturbado durante el trabajo.



Figura 3.12-4 Selle la tubería o manguera con la "banda de cierre" plástica como se muestra. Es recomendable colocar una pequeña pieza de tubería o manguera cortada verticalmente sobre esta antes del sellado con la "banda de cierre".



Coloque una pequeña pieza de tubería o manguera verticalmente sobre la tubería o manguera de salida fijada en el condensador de vidrio antes del sellado con la "banda de cierre". Esto evita que se le aplique mucha fuerza sobre la tubería o manguera por la "banda de cierre" plástica, durante la esterilización.

Después de la Esterilización:



Figura 3.12-5 Conecte el agua de enfriamiento al condensador del gas de salida (brazo inferior = entrada, brazo superior = salida para el agua de enfriamiento).

3.12.2 Ensamblaje del condensador electrónico del gas de salida

El condensador electrónico del gas de salida es un dispositivo opcional termoeléctrico para el MINIFOR.

Este permite el enfriamiento del gas de salida sin el agua de enfriamiento y trabaja basado en el efecto de enfriamiento electrónico producido por el flujo de una corriente eléctrica que pasa a través de una celda Peltier.

El trabajo con el dedo de enfriamiento electrónico Peltier se hace de acuerdo con el principio de “tubo de calor”, el cual tiene la ventaja de tener una mayor conducción del calor (hasta 80 veces) comparado con el cobre (!) y puede ser empleado con varios niveles o volúmenes de medio. Este trabaja incluso cuando el lazo no está enteramente sumergido en el medio.



Nunca ponga el elemento de enfriamiento Peltier o cualquier otro componente electrónico y partes con cables dentro de la autoclave. ¡Esto destruirá estas partes!

Durante la esterilización: La unidad del motor y el ventilador tienen que ser separadas del dedo de condensación y accesorios.



Figura 3.12-6 Separe el elemento de enfriamiento Peltier con los componentes electrónicos de control y el ventilador del dedo de condensación como se muestra durante la preparación para la esterilización.

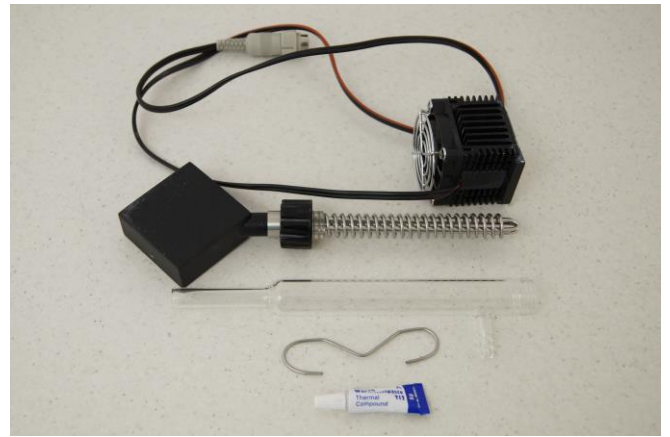


Figura 3.12-7 Partes separadas del condensador del gas de salida Peltier.

Después de la esterilización: El condensador del gas de salida Peltier tiene que ser conectado a la unidad del motor y el ventilador con el dedo de condensación.



Figura 3.12-8 Aplique la pasta conductora de calor en la superficie blanca del elemento de enfriamiento Peltier con los componentes electrónicos de control y el ventilador, antes de unir el dedo de condensación con la unidad. Esparza delicadamente la pasta conductora de calor en la superficie regular asegurándose de que no existan burbujas de aire atrapadas.



Figura 3.12-9 Una el elemento de enfriamiento Peltier con los componentes electrónicos de control y el ventilador con el dedo de condensación colocando la superficie blanca con la pasta conductora de calor en la trampa respectiva en la unión del dedo de condensación como se muestra.



Figura 3.12-10 La celda Peltier unida con el dedo de condensación debe ser mantenida unida con ayuda de una pinza de cierre.

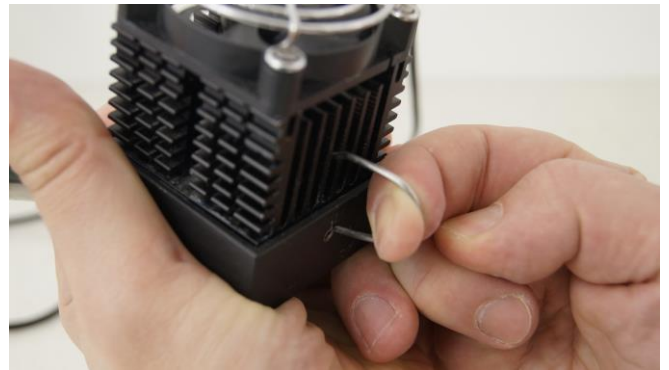


Figura 3.12-11 La pinza de cierre tiene que ser alada firmemente a través del elemento de enfriamiento Peltier con los componentes electrónicos de control y el ventilador y fijada dentro del hueco en ambas caras de la celda, para asegurar el bucle (serpentín) de enfriamiento Peltier intacto o en una sola pieza.



Figura 3.12-12 Inserte el cilindro condensador del gas de salida con la conexión de la tubería o manguera sobre el dedo de condensación y apriételo o asegúrelo con la tapa negra con rosca.



Figura 3.12-13 El condensador del gas de salida Peltier puede ser colocado en el mismo lugar que el condensador de vidrio. Asegúrelo fuertemente con cuidado utilizando la tapa negra con rosca, dado que el cabezal del condensador del gas de salida Peltier pudiera ser ligeramente pesado mientras se aprieta.



Figura 3.12-14 Conecte una tubería o manguera al cilindro condensador del gas de salida y lleve la tubería o manguera a un vaso o frasco de vidrio.



Figura 3.12-15 Conexión del dispositivo de enfriamiento Peltier: en la parte posterior o trasera del MINIFOR.

3.13 Instalación del módulo de escala para el modo de operación continuo

Para el modo continuo de fermentación, el módulo de pesada (quimiostato) debe ser entregado (Opcional).

La instalación del módulo de escala tiene lugar al final del modo de operación en “batch” o volumen constante y antes del cambio al modo continuo. Preinstale el sistema con el módulo de pesada incluso después de la esterilización, para que esté listo en tiempo sin ningún daño en el sistema celular de trabajo.

El peso del instrumento se transmite a través de la punta montada bajo el borde frontal de la unidad principal de control del fermentador MINIFOR. El peso es concentrado sobre esta punta de acero.

El módulo de escala pequeña con todos los circuitos necesarios electrónicos está localizado en un tubo cuadrado para garantizar o asegurar mayor rigidez mecánica.



Figura 3.13-1 La punta de acero se puede encontrar bajo la parte frontal de la unidad del MINIFOR (módulo de escala pequeña). Coloca el módulo de pesada bajo la parte frontal del MINIFOR.



Figura 3.13-2 La punta de acero (módulo de escala pequeña) bajo la parte frontal de la unidad del MINIFOR debe ser colocada en estas ranuras o cavidades del módulo de pesada.

3.13.1 Adaptación del intervalo de medición para el volumen / masa de trabajo

El módulo de escala pequeña (una punta de acero presente bajo la parte frontal de la unidad principal de control) con todos los circuitos electrónicos necesarios está localizado en el tubo cuadrado para asegurar mayor rigidez mecánica. Existen varios **huecos cónicos en la superficie superior del módulo de pesada** permitiendo la **selección del intervalo óptimo de medición** de acuerdo al vaso, instrumentos y volumen de medio utilizado. Este intervalo comienza desde el vaso de menor volumen 0,3 L y se extiende hasta completar el vaso de 6 L lleno.

Seleccione ranuras cercanas al sensor de peso cuando son usados vasos pequeños y ligeros (lejos del cable de conexión / apoyo). Esto incrementará la sensibilidad del control de peso.

Use las ranuras o cavidades en la otra cara del módulo (cerca del cable / apoyo) para **vasos de mayor volumen**. A través de esta selección de hoyos o huecos, el efecto palanca entre la localización del apoyo y del sensor (ver Figura 3.13-2) es usado para incrementar o disminuir la sensibilidad del módulo de escala. Por lo tanto, el intervalo de medición puede ser fácilmente adaptado.

3.13.2 Conexión del módulo de pesada para el biorreactor - fermentador MINIFOR.

Ambas líneas, suministro de voltaje y la de señales están combinadas en el mismo cable para el módulo de pesada. Conecte el conector de cable gris al enchufe o conector "X" en la cara izquierda de la unidad principal de control del MINIFOR.



Figura 3.13-3 Conecte el cable de conexión del módulo de pesada en el enchufe o conector "X" justo al lado del "MIXER o MEZCLADOR" en el lado izquierdo de la unidad principal de control del MINIFOR.



Figura 3.13-4 Inserte el conector y ajústelo de manera segura por medio del enrosque de la manga ajustable presente en el conector.

3.13.3 Selección del intervalo

Seleccione el intervalo donde se requiere la medición o control del volumen:

Después de la conexión del cable del módulo de pesada a la unidad principal de control del MINIFOR, enchufe o conector "X" (refiérase a 3.13.2 Conexión del módulo de pesada para el biorreactor - fermentador MINIFOR), el módulo de escala se activa y la señal de peso real aparecerá en la pantalla en la primera fila del parámetro "X".



Mientras que para seleccionar el intervalo del control del volumen usando el módulo de escala, espere hasta que el **color** del LED o indicador en el **módulo se estabilice**.



Figura 3.13-5 Si el peso del vaso lleno excede el intervalo de medición, una señal peso por encima “^” aparecerá en el valor de peso medido (real) [refiérase al valor real del parámetro “X” en la pantalla] y se encenderá en el módulo de pesada un **LED o indicador de luz roja**

Mueva la punta de pesada del MINIFOR hacia la próxima ranura o cavidad en la izquierda del módulo de pesada. Si la señal del peso por encima “^” y el LED o indicador de luz roja permanece inmóvil, mueva la punta de pesada de nuevo hacia la próxima ranura o cavidad hacia la izquierda.



Figura 3.13-6 Si el peso del vaso es muy bajo, una señal de peso por debajo “_” aparecerá junto con el valor medido (real) de peso. [refiérase al valor real del parámetro “X” en la pantalla] y se encenderá en el módulo de pesada un **LED o indicador de luz verde**

Mueva la punta de pesada del MINIFOR hacia la próxima ranura o cavidad (a la derecha) del módulo de pesada. Si la **señal del peso por debajo “_”** y el LED o indicador de luz verde permanece inmóvil, mueva la punta de pesada de nuevo hacia la próxima ranura o cavidad hacia la derecha.



Figura 3.13-7 Repita los procedimientos de desplazamiento de la punta de pesada hacia la derecha o la izquierda del módulo de pesada hasta que las señales de peso por encima “^” o por debajo “_” desaparezcan.

La posición óptima de la punta de pesada en el módulo de escala puede ser indicada por medio de una luz amarilla. (Espere hasta que el color se establezca antes del próximo paso de ajuste).

Una vez que la posición óptima se obtiene (por ej. cuando no aparecen ninguna de las señales de peso por encima o por debajo), entonces puede iniciarse la calibración del módulo de pesada.

Para la calibración del módulo de pesada, refiérase al capítulo **5.5. Canal de calibración X: Ejemplo Módulo de pesada.**

3.13.4 Conexión de las bombas de adición o eliminación o cosecha de medio

Cuando se comienza el cultivo o la fermentación apretando el botón **R** en el panel de control del fermentador, la bomba X o "PUMP X" bombeará el medio fuera del vaso, hasta que se alcance el valor de peso preestablecido o prefijado. De esta manera el volumen del cultivo se mantendrá constante independientemente de la aireación, intensidad de agitación y formación de espuma.



Figura 3.13-8 Conecte la bomba correspondiente al enchufe o conector de la bomba X o "PUMP X"*) en la parte posterior o trasera del biorreactor - fermentador MINIFOR.



Figura 3.13-9 Presione el botón remoto en el canal "X" de la bomba peristáltica conectada.

*) La bomba de eliminación ha sido previamente conectada a la aguja de cosecha o cualquier otra aguja que alcanza el interior del medio del puerto de muestreo cuádruple o un dispositivo similar.

3.14 Sistema de control del antiespumante (ANTIFO & DOZITO) Instalación

El sistema de control automático del antiespumante es una herramienta **opcional** que puede ser elegida para la detección automática y control del nivel de espuma.



ANTIFO puede ser también conectado a las bombas LAMBDA para la adición automática del antiespumante. Esto puede ayudarle cada vez que necesite una cantidad o volumen mayor de agente antiespumante a ser preparado (modo de operación continuo para volúmenes mayores y formación fuerte de espuma debido a altas concentraciones de proteínas).

3.14.1 Instalación del detector y controlador de espuma ANTIFO



Figura 3.14-1 ANTIFO (detector y controlador de espuma). Coloque el parte principal del ANTIFO en una de las varillas de apoyo del biorreactor / fermentador de laboratorio MINIFOR (ej. Bajo una bomba que esté unida al soporte). De esta manera, será accesible y ocupará un mínimo de espacio.



Figura 3.14-2 Las dos pinzas tipo cocodrilo del ANTIFO necesitan ser conectadas con las cánulas a partir del puerto de muestreo cuádruple para la detección del nivel de espuma en el vaso de trabajo.



Figura 3.14-3 La aguja de cosecha del puerto de muestreo cuádruple (la cual alcanza el fondo del vaso) es usada como medio de contacto.

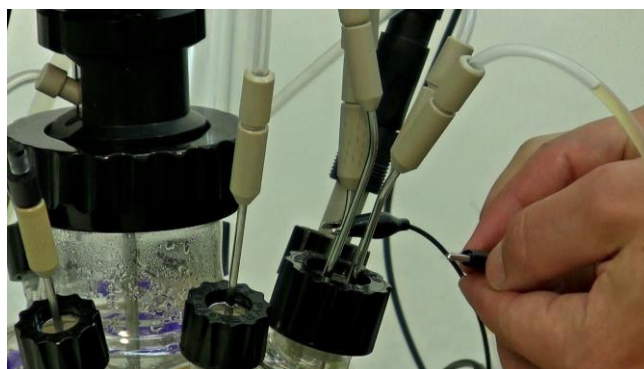


Figura 3.14-4 Conecte uno de las pinzas tipo cocodrilo a la aguja de cosecha del puerto de muestreo cuádruple.



Figura 3.14-5 La segunda pinza tipo cocodrilo (espuma) puede ser conectada a cualquiera de las 3 agujas cortas del puerto de muestreo cuádruple.



Figura 3.14-6 Ajuste la posición de la punta de la aguja "espuma" justo arriba del nivel del medio, donde la espuma debe ser controlada. Conecte la segunda pinza tipo cocodrilo a la aguja corta seleccionada.

Para el ajuste de la sensibilidad del ANTIFO, refiérase al capítulo 5.6.1. Ajuste de sensibilidad del ANTIFO.



La polaridad de estos contactos en las cánulas no tiene función alguna, porque la medición es hecha con un **voltaje de corriente alterna (CA)** muy bajo y **seguro**.

3.14.2 Preparación del DOZITO, bomba de jeringuilla miniaturizada

3.14.2.1 Instalación de la jeringuilla y la línea de adición del antiespumante

Una jeringuilla de inyección especial esterilizable de vidrio de 5 mL es utilizada para la adición del agente antiespumante. Una tubería o manguera de PTFE (teflón) es ajustada con un inserto o pieza de silicona y presionado a través del conector de la jeringuilla y enroscado fuertemente en la punta con rosca de la jeringuilla.

La tubería o manguera de PTFE, la línea de adición de antiespumante, guiada a través del inserto o pieza cónica de silicona y de la parte de PEEK con doble sello ajustada para conectar la jeringuilla del antiespumante con el puerto de adición del antiespumante.

Corte aproximadamente 45 cm de la tubería o manguera de PTFE con un diámetro externo de 1.8 mm (o su ancho preferido de pared). (Evite las tuberías o mangueras largas o con diámetro interno pequeño, si utiliza líquidos viscosos).

En caso de que solo quiera rellenar la jeringuilla, tiene que asegurarse de que:



¡Nunca llene la jeringuilla cuando está fijada al DOZITO!



¡Nunca mueva la varilla que empuja el pistón en la dirección opuesta!



La varilla de empuje es sacada de la bomba solo en la dirección indicada (ver arriba). **¡Tiene que retirar la jeringuilla para el llenado!**



Para evitar que la tubería o manguera de PTFE se doble, introduzca un pequeño segmento (2-3 cm) de tubería o manguera de silicona dentro del conector con rosca.

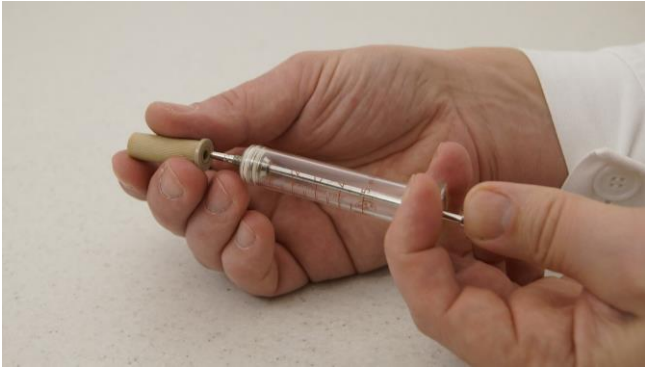


Figura 3.14-7 Empuje el émbolo completamente a lo largo del tubo de la jeringuilla para fijar mecánicamente la punta de salida de metal. Inserte el cuerpo adaptador de PEEK en la punta de la jeringuilla con rosca y ajústela de manera segura enroscándola.

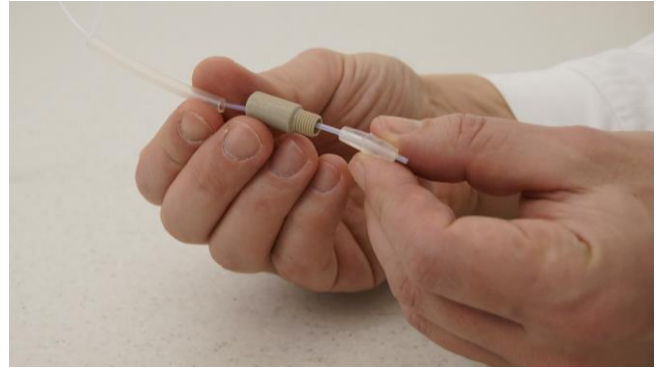


Figura 3.14-8 Inserte el inserto cónico doble de silicona con la tubería o manguera de PTFE dentro de la parte ajustada de PEEK con doble sello a través de un pequeño segmento de la tubería o manguera de silicona, para evitar que la tubería o manguera de PTFE se doble.



Figura 3.14-9 Inserte el sostenedor para autoclavar el cuello con rosca de la parte de PEEK con doble sello que se ajusta.



Figura 3.14-10 . Inserte la parte de PEEK con doble sello que se ajusta preparada con el inserto o pieza de silicona cónica y la tubería o manguera de PTFE al adaptador de PEEK conectado con la jeringuilla



Figura 3.14-11 Jeringuilla esterilizable preparada con la línea del antiespumante.

Llene la jeringuilla con la solución del antiespumante.



Los líquidos viscosos deben ser llenados preferiblemente retirando el émbolo, vertiendo el líquido en la jeringuilla y reinsertando el émbolo en la forma usual con la eliminación del aire en la posición vertical).

Es preferible llenar toda la longitud de la tubería o manguera con líquido antiespumante.

3.14.2.2 Preparación de la jeringuilla y línea del antiespumante para la esterilización



¡Nunca ponga la bomba de jeringuilla de ANTIFO y DOZITO en la autoclave para la esterilización! Esto lo dañará. Esterilice solo la jeringuilla llena con el antiespumante.

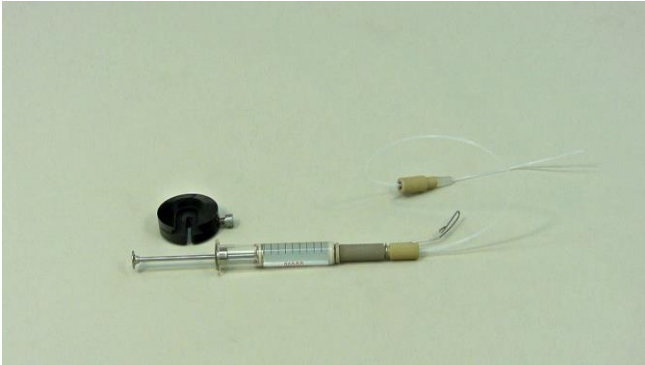


Figura 3.14-12 Coja o tome la jeringuilla preparada con el agente antiespumante y la tubería o manguera de PTFE para la aplicación del antiespumante con el soporte para esterilización.

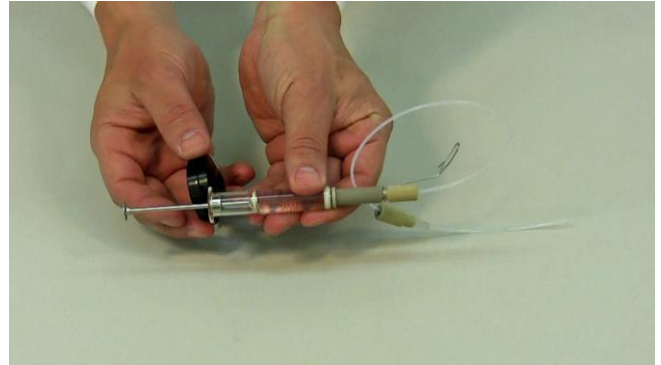


Figura 3.14-13 Inserte la base de la jeringuilla en el soporte negro de la jeringuilla



Figura 3.14-14 Gire o rote el soporte, en aras de fijar la jeringuilla en la posición de forma segura.

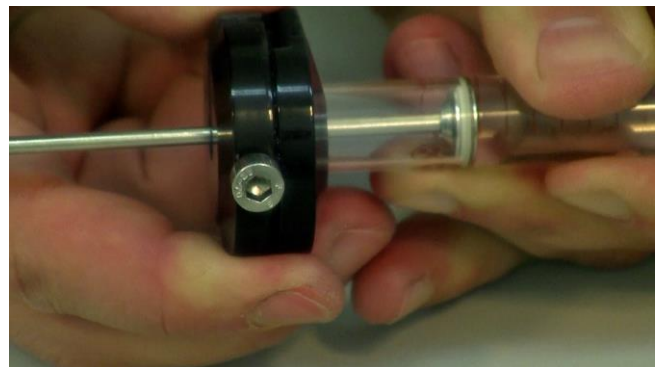


Figura 3.14-15 Apriete la jeringuilla fijada usando el tornillo de ajuste lateral del soporte negro de la jeringuilla.



Figura 3.14-16 Acople la jeringuilla, con la ayuda del soporte montado en la pieza o cabezal de PEEK, en una de las agujas / cánulas insertadas en el puerto.

3.14.2.3 Después de Esterilización: Fije o acople la jeringuilla en la bomba DOZITO

Después de la esterilización, la bomba de la jeringuilla tiene que ser retirada del soporte negro he insertada en el DOZITO (bomba de jeringuilla miniaturizada).



¡Nunca hale la varilla de empuje de la bomba DOZTIO en la dirección opuesta!



Figura 3.14-17 Tenga cuidado de no halar la varilla de acero de empuje hacia fuera de la estructura del DOZITO. Esto puede dañar la bomba del DOZITO.

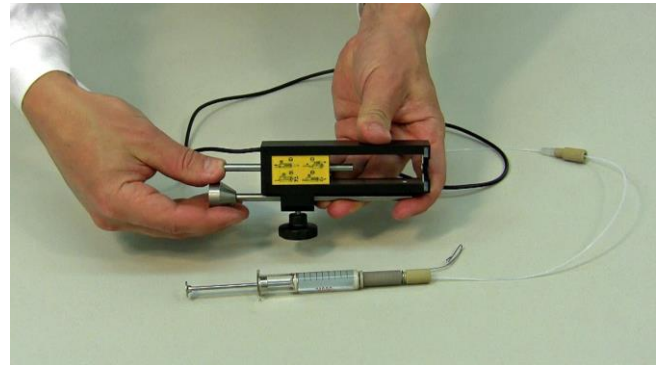


Figura 3.14-18 Siempre empuje la varilla de acero de empuje de a través del aparato DOZITO para quitarla.

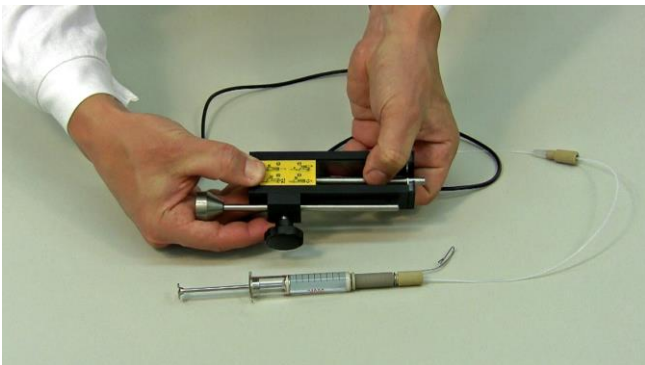


Figura 3.14-19 Después de empujar la varilla totalmente hacia la parte superior del DOZITO, sostenga la parte de abajo del DOZITO y hale la varilla de empuje desde arriba, como se muestra.

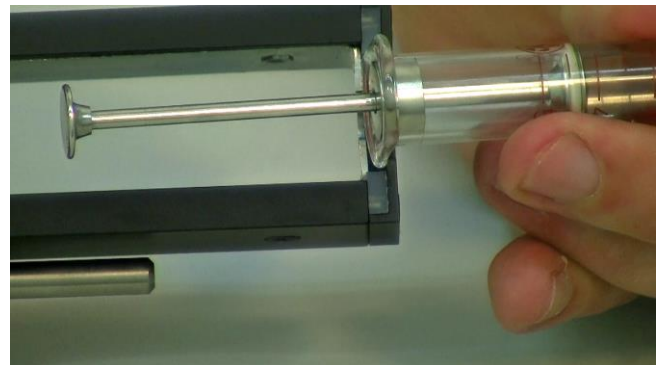


Figura 3.14-20 Coloque la parte inferior de la jeringuilla en la ranura de fijación de la bomba de la jeringuilla en la bomba DOZITO como se muestra. Gire la bomba DOZITO sujetando firmemente la jeringuilla, para hacer que la jeringuilla ajuste en su posición.

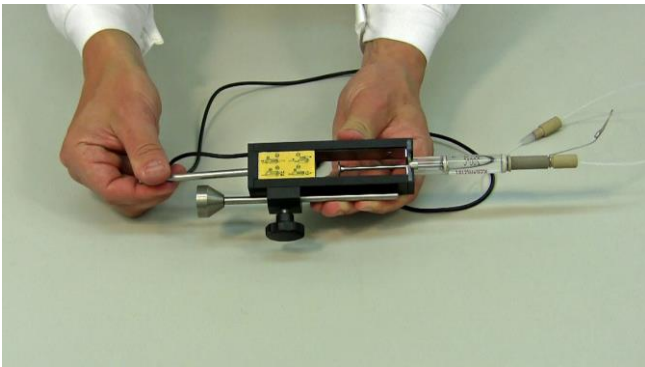


Figura 3.14-21 Introduzca la varilla de empuje a través de la bomba del DOZITO.

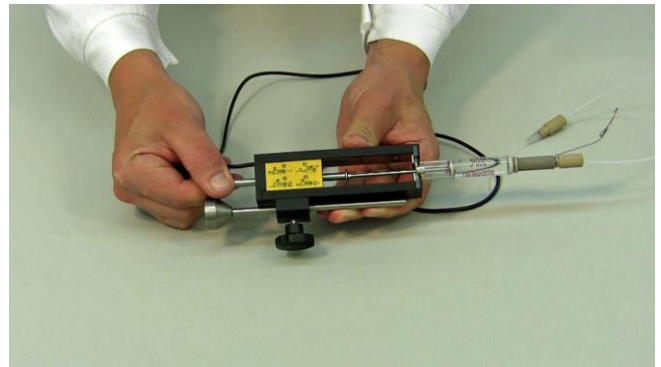


Figura 3.14-22 El émbolo de la jeringuilla para el antiespumante es empujado con la varilla de empuje hasta que el líquido antiespumante salga por punta de la tubería o manguera de PTFE.

3.14.3 Conectando el ANTIFO y el DOZITO

El DOZITO, bomba de jeringuilla miniturizada tiene que ser colocado en la unidad principal del MINIFOR y conectado con el ANTIFO.



Figura 3.14-23 Coloque el DOZITO en la unidad principal del MINIFOR con la ayuda del soporte magnético en el DOZITO.



Figura 3.14-24 Conecte el cable negro del DOZITO al cable negro del ANTIFO, como se muestra.



Figura 3.14-25 Conecte el cable del ANTIFO (8 polos) al enchufe o conector de la "bomba" ubicado en la parte posterior o trasera de la unidad principal de control del MINIFOR.



Figura 3.14-26 La tubería o manguera de PTFE para el antiespumante tiene que ser conectada a la cánula más corta para facilitar la adición de antiespumante por encima del nivel del líquido.

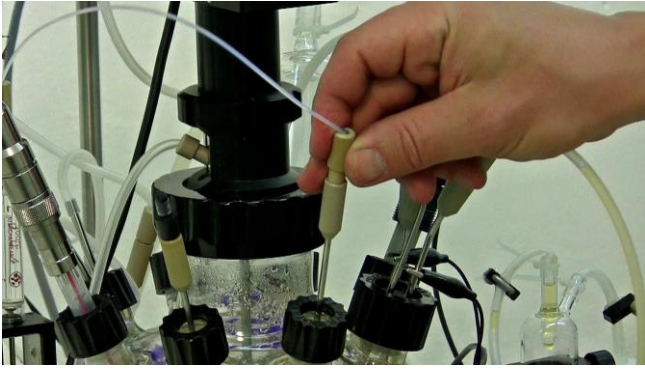


Figura 3.14-27 Inserte el conector de PEEK con la tubería o manguera de PTFE para el antiespumante en la cánula como se muestra y fijela firmemente a la cánula.

3.15 Conexiones de los cables

Todo está correctamente etiquetado para prevenir la confusión durante la conexión de los cables. Todas las conexiones tienen sus enchufes designados con etiquetas.



¡Nunca esterilice ningún cable o dispositivo eléctrico!



Use solo el **12 V (CD)** o la conexión remota para la bomba, Massflow y otras herramientas adicionales del MINIFOR.

3.15.1 Resumen de todas las conexiones del MINIFOR

Table 8 Conexiones del cable del MINIFOR

	PARAMETRO	DISPOSITIVO		Enchufe o conector / entrada en la unidad principal del MINIFOR				Otros enchufes o conectores / Entradas
				Frontal superior derecha	Frontal superior izquierda	Izquierda	Atrás	
1.1	Unidad de agitación	Cable de 8 polo del Vibromezclador				Enchufe del mezclador "Mixer"		
2.1	Temperatura	Sensor	Pt 100 incorporado con el electrodo de pH		Electrodo de pH (cable negro)			
2.2		Herramienta controlada	Calentador IR (infrarrojo)					Interno, conectado / listo para el uso
2.3		Herramienta adicional para el cambio en el intervalo de temperatura (bajo)	Peltier cooling finger for medium				Enchufe "PUMP"	

3.1	pH	Sensor	Electrodo de pH, Mettler		Electrodo de pH o(cable negro)			
3.2		Herramienta a controlar para el ácido	Bomba o MASSL FOW				Enchufe "ACID"	
3.3		Herramienta a controlar para la base	Bomba				Enchufe "BASE"	
4.1	Flujo de gas o gases	Enfriamiento del gas de salida	Dispositivo de enfriamiento del gas de salida tipo Peltier				Enchufe "PUMP"	
4.2							Conector de la tubería o manguera para el aire "AIR"	
5.1	pO ₂	Gas de entrada	Aire presurizado, < 0.2 MPa					
5.2		Sensor	Electrodo de pO ₂ = electrodo de OD	Cable del electrodo de pO ₂				
6.1	X	Sensor	Módulo de pesada			Enchufe "X"		
6.2		Herramienta controlada	Bomba peristáltica LAMBDA para cosecha o suministro de medio.				Enchufe "PUMP X"	
6.3		Herramienta adicional no controlada por "X"	Bomba peristáltica LAMBDA para cosecha o suministro de medio.				Enchufe "PUMP"	
7.1	Nivel de espuma	Sensor	2 pinzas tipo cocodrilo					Cánula larga y corta del puerto de muestreo cuádruple
7.2		Herramienta controlada	DOZITO					Conecte al cable negro del ANTIFO
7.3		Controlador	ANTIFO				Enchufe "PUMP"	
8	Conexión a tierra	Cable tipo cocodrilo					"GND"	Pinza tipo cocodrilo para la cánula larga del puerto de muestreo cuádruple.
9	Ordenador o computadora	Cable y convertidor					Enchufe "PC"	
10	Alarma	Interna y Externa					"ALARM" para exterior	Microprocesador interno

11		Suministro de energía principal del MINIFOR				Entrada de energía (100 - 240 V, 50 - 60 Hz, max. 1000 W)	
----	--	--	--	--	--	---	--

3.15.2 Unidad de Agitación

El acoplamiento magnético del vibromezclador con la unidad de agitación hace el ensamblaje muy manipulable. El desmontaje y el ensamblaje del vibromezclador con la unidad de agitación pueden ser realizados sin ninguna dificultad.



Figura 3.15-1 Coja o tome el vibromezclador con el cable y los accesorios o conexiones.

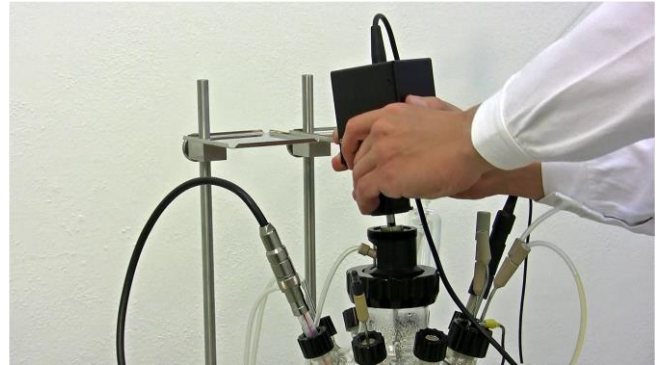


Figura 3.15-2 Con la tuerca de acoplamiento móvil de PEEK para el aire de entrada en la posición superior; coloque el vibromezclador en la cabeza (cabezal o parte superior) de la unidad principal de agitación como se muestra. Los imanes o magnetos se unirán firmemente sosteniendo el vibromezclador y la unidad de agitación en posición.



Figura 3.15-3 Toda vez que los imanes o magnetos estén correctamente funcionando, la entrada de aire con la tuerca de acoplamiento móvil de PEEK se desplaza hacia abajo. Asegure el vibromezclador firmemente enroscando la tapa.



Figura 3.15-4 Conecte el cable de la unidad de agitación al enchufe o conector para el mezclador "MIXER" ubicado en el lado izquierdo de la unidad principal del MINIFOR.

3.15.3 Electrodo de pH y temperatura

El electrodo de pH y temperatura se puede conectar con la ayuda del conector del electrodo de pH (cable negro) ubicado en la posición izquierda superior frontal de la unidad principal de control de la base del MINIFOR.



Los enchufes o conectores “hembras” de los cables no pueden ser limpiados por lo que deben mantenerse absolutamente limpios.



No toque las puntas del electrodo de pH-temperatura y del conector del electrodo.



Figura 3.15-5 Coja o tome el conector del electrodo de pH de la unidad principal del biorreactor MINIFOR. (Cable negro de la unidad). Retire la tapa protectora negra del sensor (parte superior) del cable.



Figura 3.15-6 Retire la tapa protectora roja del electrodo de pH.



Figura 3.15-7 Conecte el cable del conector del electrodo de pH de la unidad principal del MINIFOR con el electrodo de pH. Gire o rote o y ajuste el cable del conector para lograr un cierre exacto o completo .



Figura 3.15-8 Después de cerrar o unir el electrodo de pH y cable conector; apriete la conexión enroscando el cierre con rosca en el cable conector como se muestra.

3.15.4 Dedo de enfriamiento Peltier para el medio



El dispositivo es **más apropiado para vasos de 1 L ó 3 L como máximo.**



No instale el dispositivo de enfriamiento medio Peltier para vasos del MINIFOR de 7 L.

El dedo de enfriamiento Peltier opcional permite el enfriamiento del medio de trabajo sin utilizar líquido de enfriamiento y este tiene que ser conectado a cualquier enchufe o conector de la bomba ubicado en la parte posterior o trasera del biorreactor - fermentador MINIFOR o conectado a cualquier enchufe o conector de la caja de enchufe o conector cuádruple (art. no. 800202).



Figura 3.15-9 El dedo de refrigeración Peltier se puede conectar directamente al enchufe o conector de la bomba "PUMP" ubicado en la parte posterior o trasera de la unidad principal de control de la base del MINIFOR.



Figura 3.15-10 La caja de enchufe o conector cuádruple puede ser conectada al enchufe o conector de la bomba "PUMP" ubicado en la parte posterior o trasera de la unidad del MINIFOR. El dedo de refrigeración Peltier puede ser conectado a cualquiera de los cuatro enchufes o conectores en la caja de enchufe o conector cuádruple.



Para múltiples usos del conector de la bomba "PUMP", usted puede comprar la **caja de enchufe o conector cuádruple** (ver lista de precio de laboratorio LAMBDA).

3.15.5 Bomba peristáltica LAMBDA y Massflow

Las bombas peristálticas LAMBDA / Massflows pueden ser conectadas a la unidad principal de control del MINIFOR. La conexión de las bombas / Massflow con el suministro de energía principal del MINIFOR tiene que ser a través del cable de conexión de la bomba (art. No. 4810) con conectores en ambos extremos del cable. Esta conexión permite la conexión automática de la interface RS-485 al sistema.

Las bombas peristálticas LAMBDA / Massflow pueden ser usada independientemente con la ayuda del suministro de energía (art. N. 4820 ó 4821).



¡Cerciórese de no retirar el conector CD de 12 V antes de conectar las bombas/ Massflow con el MINIFOR!



Figura 3.15-11 El cable de control remoto de la bomba (analógico o digital), 8 polos (extremos abiertos) [Art. No 4810] debe ser usado para conectar las Bombas / Massflow y la unidad principal de control del MINIFOR.



Figura 3.15-12 Conecte un extremo del cable de control remoto al enchufe o conector correspondiente "REMOTE" de la parte posterior o trasera de la bomba peristáltica LAMBDA o Massflow.



Figura 3.15-13 Para el control automático del pH, conecte la bomba / Massflow que controla la adición de base a la reacción al enchufe o conector ubicado en la parte posterior o trasera de la unidad de control del MINIFOR.



Figura 3.15-14 Conecte la bomba peristáltica que regula la adición de ácido en la reacción al enchufe o conector "ACID" ubicado en la parte posterior o trasera de la unidad principal de control del MINIFOR.

3.15.6 Electrodo de pO_2

El electrodo de pO_2 se conecta con la ayuda del conector de dos vías del electrodo de pO_2 (OD). El conector del electrodo de pO_2 necesita ser conectado entre el electrodo de pO_2 y el enchufe o conector del electrodo de pO_2 (OD) ubicado en la parte superior frontal de la unidad principal de control del MINIFOR.



Figura 3.15-15 El conector del electrodo de pO_2 (OD) se conecta entre el electrodo de pO_2 y el enchufe o conector del electrodo de pO_2 (OD).



Figura 3.15-16 Ajuste la manga (cubierta del conector) del electrodo de pO_2 (OD) empujándolo hacia arriba como se muestra.



Figura 3.15-17 Coloque y ajuste el conector del electrodo de pO_2 (OD) girándolo o rotándolo para encontrar la posición para el cierre exacto o justo con el electrodo de pO_2 (OD).



Figura 3.15-18 Después de fijar el electrodo de pO_2 (OD) y el conector exactamente en la posición de cierre, empuje hacia abajo la manga (cubierta del conector) del electrodo pO_2 (OD) y asegúrela suficientemente enroscándola.



Figura 3.15-19 Retire la tapa protectora presionando y girando o rotando en el enchufe o conector del electrodo de (OD) ubicado en la unidad principal de control.



Figura 3.15-20 Asegure el conector del electrodo de pO_2 (OD) en el enchufe girándolo o rotándolo y presionando para unirlos.



¡No limpie el enchufe o conector “hembra” del cable del electrodo! (Este tiene que mantenerse absolutamente limpio).



No toque la punta del electrodo de pO_2 ni los puntos de conexión del cable.

3.15.7 Entrada del flujo de gas

El gas (aire, O_2 o la mezcla de gases) para la aireación tiene que ser conectado mediante la tubería o manguera para los gases de la parte posterior o trasera de la unidad principal de control del MINIFOR.



Asegúrese de **usar gas presurizado <0.2 MPa.**



Asegúrese de que la presión del **gas sea constante.**

La fluctuación de la presión puede ser reducida mediante una válvula para gases entre el cilindro o balón de gas y el MINIFOR o entre la tubería y el MINIFOR.



Es posible emplear el **compresor AEROSILENTO LAMBDA** para el suministro de gas.

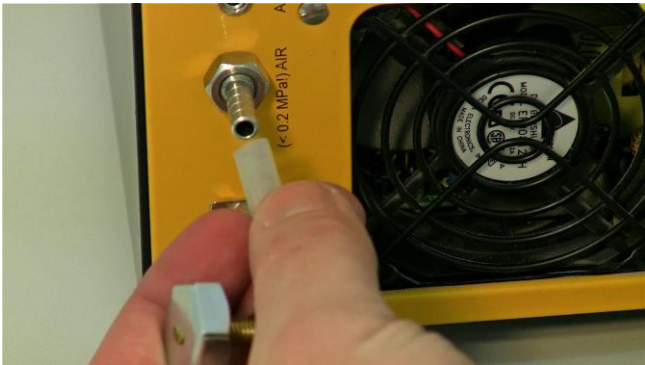


Figura 3.15-21 Conecte el conector de la tubería o manguera de aire, que proporciona gas a presión <0,2 MPa, ubicado en la parte posterior o trasera de la unidad de control del MINIFOR. La caja de conexión llevará una etiqueta denominada Aire (<0,2 MPa) para evitar confusiones.

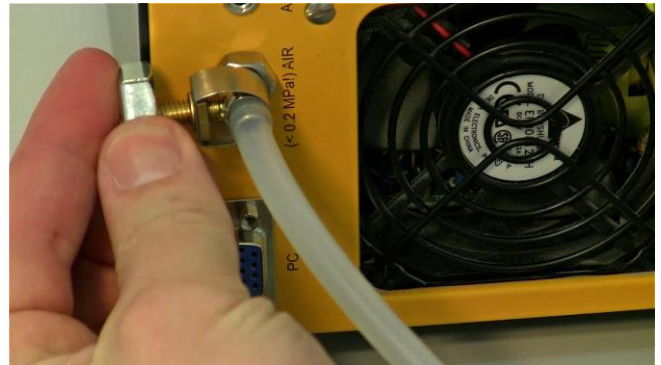


Figura 3.15-22 Asegure la conexión usando la válvula.

3.15.8 Salida del flujo de gas

El flujo de gas de salida necesita ser condensado usando el condensador de vidrio disponible tanto en el kit avanzado como en el listo para el uso. El condensador de cristal o vidrio usado para condensar los gases de salida empleando líquido de enfriamiento.

El condensador electrónico del gas de salida Peltier opcional usado sin líquido de enfriamiento o refrigeración basado en el efecto termoeléctrico de la celda Peltier tiene que ser conectado a cualquier enchufe o conector de la bomba ubicado en la parte posterior o trasera del biorreactor - fermentador MINIFOR o conectado a cualquier enchufe o conector de la caja de enchufe o conector cuádruple (art. no. 800202).



Para el uso múltiple del conector de la bomba, puede comprar la **caja de enchufe o conector cuádruple** (ver la lista de precios de Laboratorios LAMBDA).



Figura 3.15-23 El condensador del gas de salida Peltier puede ser conectado directamente al enchufe o conector ubicado en la parte posterior o trasera de la unidad principal de control del MINIFOR.



Figura 3.15-24 La caja de enchufe o conector cuádruple puede ser conectada al enchufe o conector de la bomba "PUMP" ubicado en la parte posterior o trasera de la unidad principal del MINIFOR. El condensador del gas de salida Peltier puede ser conectado a cualquiera de los cuatro enchufes o conectores en la caja de enchufe o conector cuádruple.

3.15.9 Parámetro X

El módulo de pesada opcional para la fermentación en modo continuo tiene que ser conectado en el enchufe o conector "X" ubicado en el lado izquierdo de la unidad principal de control del MINIFOR (próximo al enchufe o conector de la unidad de agitación ("MIXER").



Figura 3.15-25 Conecte el cable de conexión del módulo de pesada en el enchufe o conector "X", al lado del mezclador "MIXER" ubicado en el lado izquierdo de la unidad principal de control del MINIFOR.



Figura 3.15-26 Conecte la bomba correspondiente (para la adición o eliminación de medio) al enchufe o conector de la bomba "PUMP X" ubicado en la parte posterior o trasera del biorreactor MINIFOR.

3.15.10 ANTIFO y DOZITO

La bomba de la jeringuilla (miniaturizada) del DOZITO tiene que ser conectada con el controlador del agente antiespumante ANTIFO. El enchufe o conector de 8 polos del ANTIFO necesita ser conectado al enchufe o conector de la bomba "PUMP" en la parte posterior o trasera de la unidad principal de control del MINIFOR.



Para un uso múltiple del conector de la bomba PUMP, compre una caja de **enchufe o conector cuádruple** (vea lista de precio de Laboratorios LAMBDA).



Figura 3.15-27 Las dos pinzas de tipo cocodrilo del ANTIFO necesitan ser conectadas con las cánulas del puerto de muestreo cuádruple para la detección de nivel de espuma en el vaso de reacción.

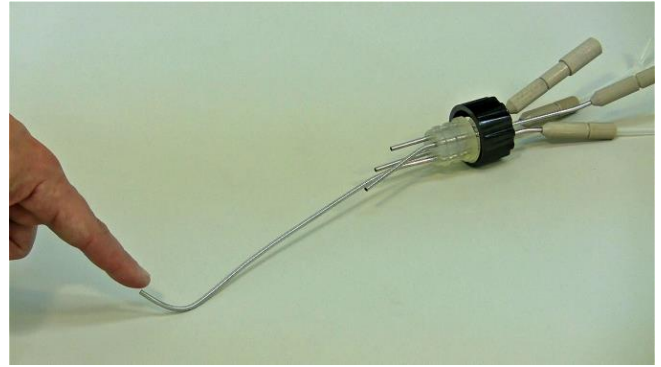


Figure 3.15-28 La aguja para la cosecha del puerto de muestreo cuádruple (que llega hasta el fondo del vaso) se utiliza para hacer contacto con el medio de cultivo.



Figure 3.15-29 Conecte una de las pinzas tipo cocodrilo a la aguja para la cosecha del puerto cuádruple de muestreo.



Figura 3.15-30 La segunda pinza tipo cocodrilo (espuma) puede ser conectada a cualquiera de las 3 agujas cortas del puerto de muestreo cuádruple.



Figura 3.15-31 Ajuste la posición de la punta de la aguja "espuma" justo arriba del nivel del medio, donde la espuma debe ser controlada. Conecte la segunda pinza tipo cocodrilo a la aguja corta seleccionada.



Figura 3.15-32. Conecte el cable negro del DOZITO al cable negro del ANTIFO, como se muestra.



Figura 3.15-33 Conecte el cable gris (de 8 polos) del ANTIFO al enchufe o conector de la bomba “PUMP” ubicado en la parte posterior o trasera de la unidad principal de control del MINIFOR.

3.15.11 Conexión a tierra del MINIFOR

La conexión a tierra del MINIFOR tiene que ser realizada para prevenir la acumulación cargas eléctricas estáticas y también para asegurar la manipulación del instrumento.



Figura 3.15-34 El cable negro con la pinza tipo cocodrilo amarilla se utiliza para hacer la conexión a tierra.



Figura 3.15-35 Conecte el cable negro con el conector verde al “GND” ubicado en la parte posterior o trasera de la unidad principal del MINIFOR para hacer la conexión a tierra.



Figura 3.15-36 El cable para hacer la conexión a tierra tiene que ser conectado en la cánula más larga en el puerto de muestra cuádruple.



Figura 3.15-37 Coloque la pinza en la otra cara del cable de conexión a tierra con la pinza de tipo cocodrilo amarilla en la cánula más extensa del puerto de muestra cuádruple.



Si es posible, conecte el **cable de hacer tierra a la aguja en el puerto de muestreo** inmersa en el medio. Esto estabilizará las lecturas o mediciones del electrodo de pH y de pO_2 . Ambos tienen amplificadores de alta impedancia y por lo tanto los electrodos pueden funcionar como antenas y recoger toda clase de ruido (perturbaciones) electromagnético en el laboratorio.

3.15.12 Conexión del ordenador o computadora

El ordenador se conecta en la parte posterior o trasera de la unidad principal de control del MINIFOR con un conector DB9. Todos los parámetros necesarios pueden ser controlados por el ordenador o computadora usando el programa de control de la fermentación FNet o el SIAM. Esto permite la adquisición de los datos y la visualización en tiempo real de los diferentes parámetros.

Debido a que muchos de los ordenadores o computadoras tienen una salida en serie de la interface RS-232, se hace necesario un convertidor RS-232/485. El RS-485 permite la conexión de docenas de instrumentos diferentes a través de la misma línea, mientras que con el RS-232, solo un instrumento puede ser controlado. El convertidor correspondiente es parte del programa FNet y el SIAM para el control de la fermentación.

LAMBDA MINIFOR puede ser conectado a la computadora a través de un puerto de serie convertidor RS-232/485.



Figura 3.15-38 Kit de conexión del ordenador o computadora con convertidor de RS-232 a R-485 y la conexión USB.



Figura 3.15-39 Conecte el cable de conexión del ordenador o computadora al conector DB 9 ubicado en la parte posterior o trasera de la unidad principal de control.

3.15.13 Alarma

Cada parámetro tiene su alarma individual basada en los valores de alarmas altas y bajas preestablecidos o prefijados.

Cuando la alarma se activa, una señal de 12 V continua se establece como alarma de salida. Esto es muy útil para direccionar la alarma hacia otros lugares, por ejemplo el teléfono o la activación de una colección de muestras con la ayuda del colector de muestra OMNICOLL. Tales muestras pueden contribuir al esclarecimiento de las alarmas durante una fermentación sin vigilancia.



Figura 3.15-40 Cable conector de la alarma que puede ser usado para dirigir la alarma a otros lugares o dispositivos Ej. Teléfonos.



Figura 3.15-41 El extremo del cable conector de la alarma tiene que estar conectado dentro del enchufe de la alarma en la parte trasera de la unidad principal de control. El otro extremo del cable puede ser conectado a los dispositivos deseados.

3.15.14 Fuente de energía principal

El cable de la fuente de la energía principal del MINIFOR tiene que ser conectado a la entrada de energía ubicada en la parte posterior o trasera de la unidad principal de control del MINIFOR (100-230V/50-60 Hz) y el sistema puede ser encendido o apagado usando un interruptor negro pequeño ubicado justo debajo de la conexión de energía principal.



No enchufe o conecte en la fuente o suministro de energía, a menos que haya terminado con las otras conexiones.

Chequee la siguiente lista antes de encender el MINIFOR biorreactor - fermentador:

- Entrada de aire
- Bombas, Massflow, Módulo de pesada, ANTIFO
- Electrodo de pH y pO₂
- Conexión del ordenador o computadora
- Conexión a tierra
- En caso de que la aireación sea la superficie:
 - ➔ Los discos de agitación en forma de mariposa para el volumen mínimo de trabajo, no debe usar distribuidor de burbujas.
 - ➔ Desconecte la entrada de aire (Aire presurizado <0.2 MPa).
 - ➔ Chequee o compruebe la instalación de aireación superficial o en la superficie, pince la tubería o manguera que se conecta con el distribuidor de burbujas.
 - ➔ Haga el control del flujo de aire = 0, toda vez que esté encendido.



Asegúrese de que las Bombas / Controladores de gas Massflow no estén siendo energizados por un suministro de energía externo separadamente!

El voltaje de 12 V empleado del suministro de energía externo y del suministro de energía del MINIFOR puede no ser exactamente el mismo, por lo cual la corriente puede pasar de un instrumento a otro. Esto puede generar problemas y daños en los instrumentos. Si tal forma de conexión es inevitable, un diodo en la línea de suministro de energía podría ser necesario.



Figura 3.15-42 Cable para la fuente o suministro de la energía principal (la figura muestra el cable con el enchufe o conector para la energía según la norma europea). El conector para la energía se suministrará según el país.



Figura 3.15-43 Conecte el cable para la fuente o suministro de energía al enchufe o conector de (100-240 V / 50-60 Hz) ubicado en la parte posterior o trasera de la unidad principal de control de la base MINIFOR.



Figura 3.15-44 Cuando las conexiones e instalaciones hayan sido realizadas, encienda el MINIFOR usando el interruptor para el suministro de energía ubicado debajo de la entrada de energía o corriente. (Interruptor de encendido: I = On; O = Off).



Figura 3.15-45 Cuando se enciende el MINIFOR, este empieza con un silbido y la pantalla LED o indicadora de color amarillo en el panel de control. Esto representa el modo de espera o reposo del biorreactor - fermentador MINIFOR.

3.16 Instalación de la bombas peristálticas

Cuando el MINIFOR esté encendido, las bombas conectadas a la unidad principal de control de la base del MINIFOR se encenderán por la fuente de suministro de energía central.

¡Asegúrese de que las bombas no están siendo energizadas por ningún suministro de energía externo separadamente!



El voltaje de 12V usado de la fuente de energía externa y la fuente de suministro de energía del MINIFOR pueden no ser exactamente la misma por lo que la corriente puede fluir de un instrumento a otro. Esto puede generar problemas y daños en los instrumentos. Si tal forma de conexión es inevitable, un diodo en la línea de suministro de energía podría ser necesario.

3.16.1 Instalación de las tuberías o mangueras



Figura 3.16-1 Para la instalación de las tuberías o mangueras en la bomba peristáltica, gire o rote la cubierta de PVC transparente, ya sea en la dirección o en contra de las manecillas del reloj, o sea hacia la derecha o hacia la izquierda para quitarla.

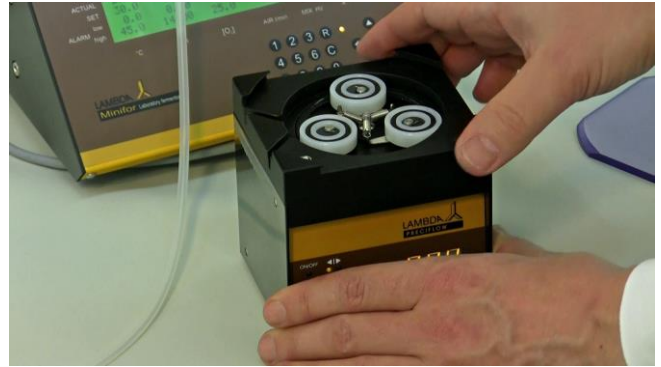


Figura 3.16-2 Retire o quite la cubierta transparente de PVC. La velocidad de rotación tiene que ser aumentada usando las flechas "▲ ▲ ▲" ubicadas debajo de la pantalla LED o indicadora.



Figura 3.16-3 Ajuste la velocidad de la bomba a 700. Utilice un intervalo de velocidades de 300 a 700 para insertar o introducir la tubería o manguera.

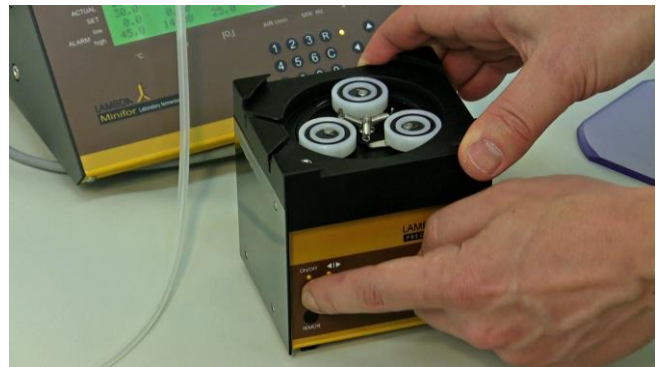


Figura 3.16-4 Pulse o presione el botón ON / OFF y seleccione el sentido del giro de la bomba presionando el botón ◀ | ▶.

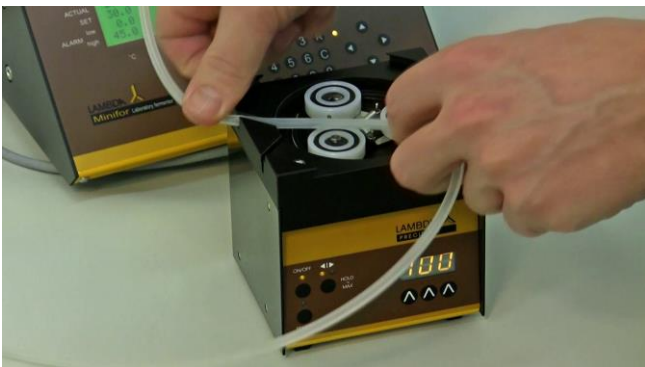


Figura 3.16-5 Presione la tubería o manguera en la ranura o cavidad posterior en la parte superior o cabezal de la bomba peristáltica. La tubería o manguera fina debe ser empujada completamente hacia la parte inferior de la ranura o cavidad.

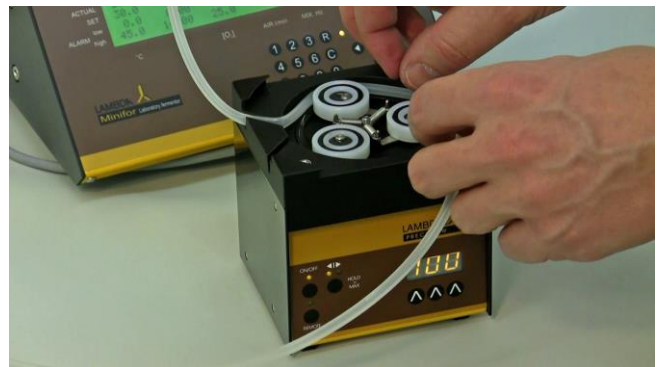


Figura 3.16-6 Guíe la tubería o manguera alrededor de los cojinetes o rodamientos de plástico girando suavemente hacia la ranura o muesca frontal.



Figura 3.16-7 Presione la tubería o manguera en la ranura o muesca frontal para asegurarla.

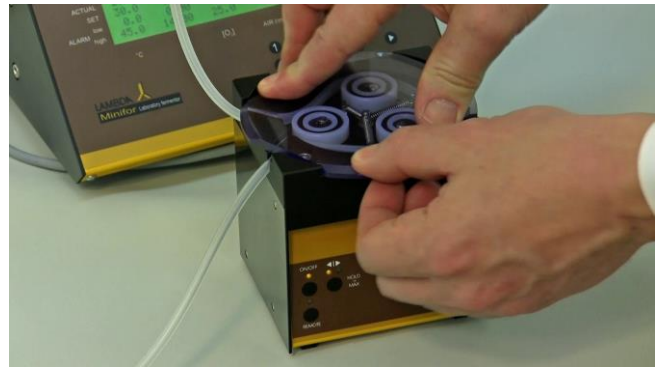


Figura 3.16-8 Coloque de nuevo la cubierta transparente de PVC y gírela suavemente para asegurarla.



Figura 3.16-9 Asegúrese de que la bolita de acero integrada o ubicada en la esquina frontal izquierda encaje en la muesca o ranura correspondiente en la tapa o cubierta transparente de PVC.



Si el LED o indicador ubicado encima del botón remoto “REMOTE” está encendido, **entonces la bomba está controlada remotamente por el MINIFOR o el FNet.**



Asegúrese de no encender el **control REMOTO sin chequear o comprobar la tubería o manguera** de la bomba y la configuración del **MINIFOR / FNet**. Esto evitará errores y accidentes.

Para el control remoto o a distancia de una bomba (como la bomba para la adición de ácido o base) por el MINIFOR, la bomba tiene que estar conectada correctamente y por lo tanto:



- El **LED** o indicador de remoto “**REMOTE**” y el de **ENCENDIDO / APAGADO** deben estar de color amarillo.

- Si el indicador de la bomba **ENCENDIDO / APAGADO** = amarillo y el LED o indicador de remoto “**REMOTE**” no están iluminados, la bomba tendrá que ser controlada localmente a través de la pantalla o monitor.

- Asegúrese o tenga cuidado de que nada esté siendo bombeado si la bomba está apagada (**ENCENDIDO / APAGADO = oscuro**) y el **CONTROL REMOTO** está encendido (**LED o indicador amarillo**).

3.16.2 Ajuste de la velocidad o flujo.

Los flujos ofrecidos por las bombas peristálticas dependen del diámetro interior de la tubería o manguera y de la velocidad de rotación de la bomba. La velocidad de rotación se puede

seleccionar mediante los botones $\wedge \wedge \wedge$ ubicados debajo de la pantalla de LED o indicadores.

Con los botones de control $\wedge \wedge \wedge$ ubicados debajo de la pantalla de LED o indicadores se selecciona la velocidad del motor. El ajuste de velocidad de 0 a 999 corresponde a la velocidad del movimiento del motor. La mejor manera de correlacionar el flujo o caudal obtenido con la tubería o manguera respectiva es hacer una calibración preliminar, en la cual la bomba bombea líquido durante cierto tiempo con una velocidad seleccionada (por ejemplo, durante 1 minuto con el ajuste de velocidad en 500). A continuación, mida el peso o el volumen de la muestra bombeada. Usando esta información, el ajuste de la velocidad correspondiente a la velocidad de flujo deseada se podrá calcular fácilmente (regla de tres).



Figura 3.16-10 Los botones $\wedge \wedge \wedge$ pueden ser utilizados para ajustar el flujo o velocidad deseado.



Figura 3.16-11 Cada flecha $\wedge \wedge \wedge$ puede ser utilizada para cambiar el dígito correspondiente sobre el flujo o velocidad.

Si necesita saber el volumen de líquido añadido sin una balanza o si se desea medir el flujo o velocidad, entonces tendrá que calibrar el flujo o la velocidad de la bomba LAMBDA.



Sin embargo, el diámetro interior de la tubería o manguera de silicona puede cambiar debido al calor de la esterilización. La primera esterilización tiene el mayor impacto sobre el material. **Utilice sólo tuberías o mangueras autoclaveadas durante la calibración y use la misma tubería o manguera que se va a utilizar en la fermentación.**



Mientras que la bomba esté conectada al MINIFOR o al FNet, la velocidad o flujo de la bomba puede ser controlada en la pantalla de LED o indicadores de la bomba. Por lo tanto, asegúrese de que el control remoto está apagado: El LED o indicador del remoto "REMOTE" no debe estar iluminado (puede apagarlo con el botón REMOTE en la bomba peristáltica LAMBDA).

3.16.3 Selecciónado la dirección del flujo

La dirección de la rotación de la bomba puede ser cambiada mediante los botones $\blacktriangleleft \blacktriangleright$, hacia la derecha o la izquierda. El diodo LED de la dirección correspondiente estará encendida.



Si es posible emplee la **rotación en el sentido de las manecillas** del reloj o hacia la derecha de la bomba de la tubería o manguera. Esto resultará en una **menor fricción y presión del líquido** (aproximadamente 0,1 MPa). Si se requiere una presión mayor (hasta 0,15 MPa), utilice la rotación en el **sentido contrario de las manecillas del reloj** o hacia la izquierda.

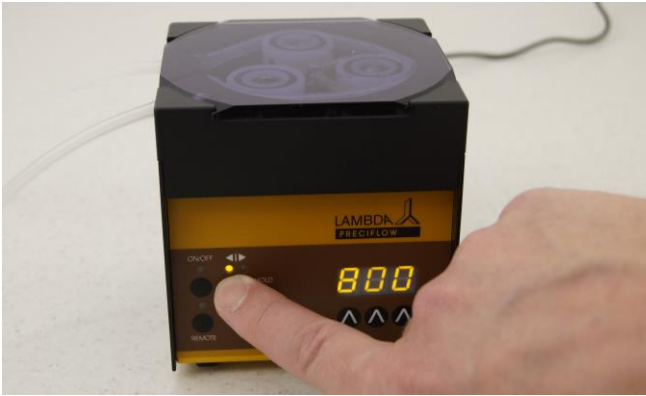


Figura 3.16-12 El LED o indicador de iluminación señalando la dirección ◀ significa rotación en el sentido de las manecillas del reloj.



Figura 3.16-13 El LED o indicador de iluminación señalando la dirección ▶ significa rotación en la dirección contraria a las manecillas del reloj.

3.16.4 Llenado o vaciado rápido de la línea

Si el botón de dirección ◀▶ es presionado de forma continua durante 2 segundos, la bomba rotará al máximo de velocidad en la dirección de rotación indicada por el LED o indicador “HOLD” = Máxima”

Después de liberar el botón de dirección, la bomba parará el bombeo. Este factor puede ser empleado para llenar la tubería o manguera antes de comenzar o para vaciarla al final de la operación.

La calibración del flujo de la bomba con velocidad puede realizarse para conocer el volumen de líquido adicionado en el vaso de reacción. Para calibrarla, refiérase a 5.4 Calibración de la bomba.

3.16.5 Conexión de las bombas peristálticas

La bomba para la adición del ácido y la base (Kit avanzado del MINIFOR) empleada para el mantenimiento del pH debe ser conectada al enchufe o conector para el ácido “Acid” o la base “Base” ubicado en la parte posterior o trasera de la unidad principal de control del MINIFOR. La bomba de “suministro de medio” o cosecha del módulo de pesada tiene que ser conectada al enchufe o conector de la bomba X “Pump X”. Otras bombas pueden ser conectadas al enchufe o conector de la bomba.

¡Asegúrese de que las bombas no estén energizadas por ningún suministro de energía separadamente!



El voltaje de 12 V de la fuente de energía externa empleada y del suministro de energía del MINIFOR pueden no ser exactamente el mismo y la corriente o energía puede pasar de un equipo a otro. Esto puede generar problemas y daños en los instrumentos. Si tal forma de conexión es inevitable, un diodo en la línea de suministro de energía podría ser necesario.



Figura 3.16-14 Conecte el cable de control remoto de la bomba de 8 polos en el enchufe o conector "Remote" ubicado en la parte posterior o trasera de la bomba peristáltica.



Figura 3.16-15 Las bombas tienen que ser conectadas en los respectivos enchufes o conectores ubicados en la parte posterior o trasera o de la unidad principal de control del MINIFOR.



Figura 3.16-16 Conecte el cable de la bomba peristáltica para la adición de base en el enchufe o conector "BASE" ubicado en la unidad principal de control del MINIFOR.



Figura 3.16-17 Conecte el cable de control remoto de la bomba peristáltica para la adición de ácido en el enchufe o conector para el ácido "ACID" ubicado en la unidad principal de control del MINIFOR.



Figura 3.16-18 La bomba de suministro de medio o de cosecha de sobrenadante del módulo de pesada debe ser conectada al enchufe o conector de la bomba X "PUMP X".



Figura 3.16-19 Otras bombas adicionales pueden ser conectadas al enchufe o conector de la bomba PUMP.



Para el uso múltiple del conector de la bomba, compre la caja de enchufe o conector cuádruple (ver lista de precio de Laboratorios LAMBDA).

3.16.6 Colocación de las bombas peristálticas

Las bombas peristálticas pueden ser colocadas en los soportes para las bombas, que se instalan en las varillas de soporte de la unidad principal de control del MINIFOR. De esta manera, serán accesibles y no ocuparán un espacio valioso en la mesa de trabajo.

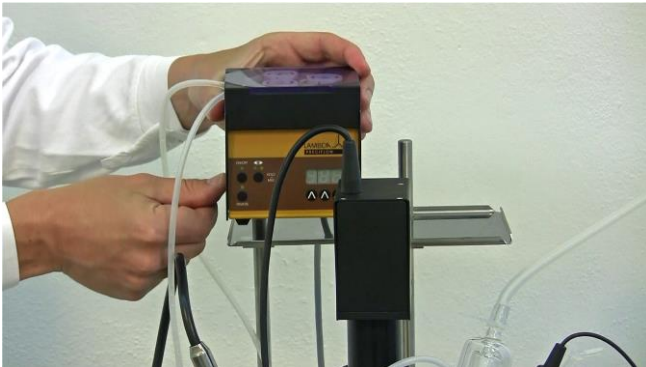


Figura 3.16-20 La bomba peristáltica puede ser colocada en los soportes para las bombas, los cuales se instalan en las varillas de soporte de la unidad principal de control del MINIFOR.

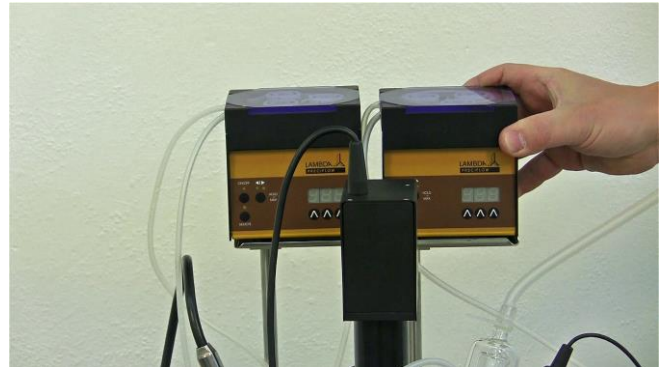
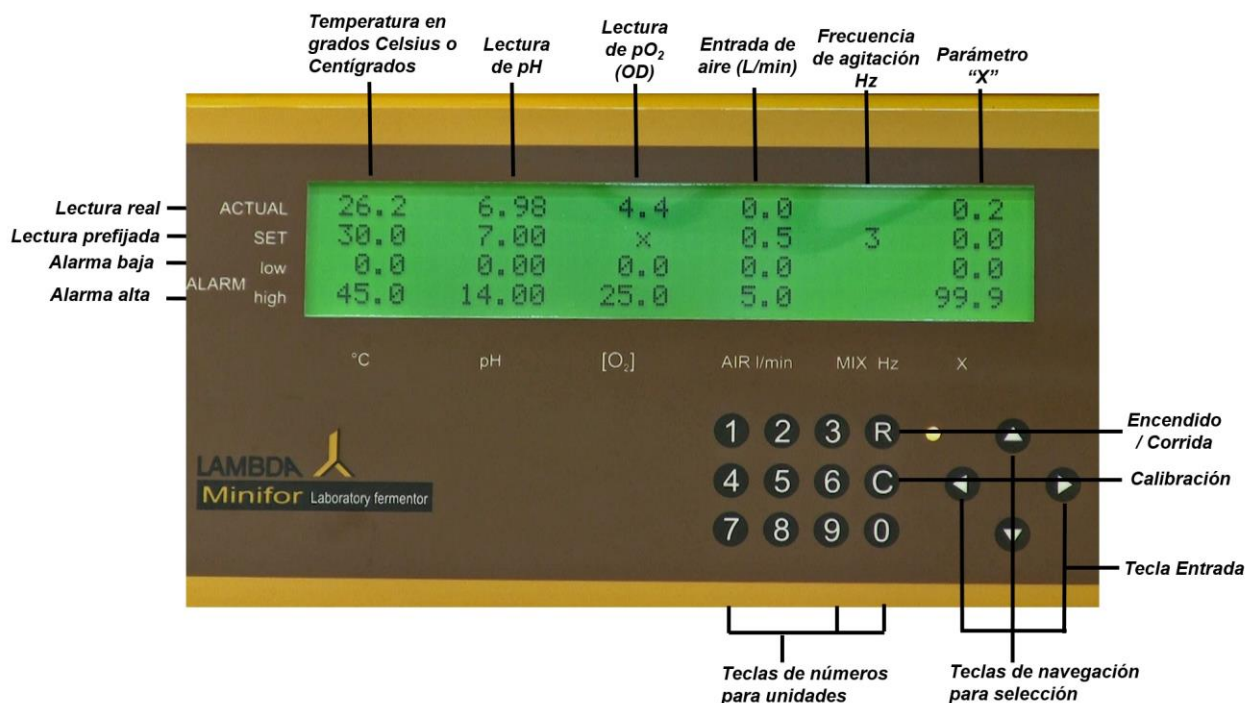


Figura 3.16-21 Colocación de las otras bombas peristálticas sobre el soporte de la bomba.

4 Panel de control y pantalla o monitor

El panel de control de la unidad principal de control de la base del MINIFOR consta de pantalla o monitor con teclado.



Teclas y pantalla o monitor (modo de espera o reposo) todos los valores pueden ser vistos en la pantalla o monitor sin necesidad de desplazar el cursor.

Existen tres categoría de teclas:

- Teclas de funciones

- Teclas de navegación
- Teclas de números

La pantalla muestra 3 modos diferentes (estados de operación del MINIFOR):

- Espera o reposo
- Regulación (Operación)
- Calibración

Cuando se cambia el modo de operación en el MINIFOR, entonces la pantalla o monitor será empleada para ese modo de operación. Todos los valores del modo de operación en uso son mostrados en la pantalla. Para lo cual es necesario desplazar el cursor hacia arriba o hacia abajo.

Modificación de la Entrada:

Coloque el cursor sobre el parámetro deseado usando la tecla de entrada "ENTER KEY". Introduzca el valor con las teclas de números. El valor debe ser introducido sin ningún valor decimal. Por ejemplo 9,00 tiene que ser introducido como 900. Después de introducir el valor empelando las teclas de números, presione la tecla de entrada. La tecla de entrada mostrará el valor real con los puntos decimales en la pantalla y el valor será guardado.

La modificación de la entrada es siempre la misma, independientemente del modo de operación del fermentador.

4.1 Teclas

La pantalla del MINIFOR está equipada con un teclado que contiene teclas de números, teclas de navegación, C (calibración) y R (corrida o encendido).

Table 9 Teclas del MINIFOR en el panel frontal y sus funciones

Teclas del panel frontal del MINIFOR			
Teclas de Funciones	Calibraciones seguras	C	<ul style="list-style-type: none"> ○ Cambia de espera reposo a calibración / Modo de configuración ○ Guarda o salva la calibración de cada parámetro a ser utilizado
	Cambio entre estados o modos (Espera o Reposo, Calibración, Regulación)	R	<ul style="list-style-type: none"> ○ Cambia de calibración a modo de espera o reposo ○ Cambia entre la configuración de espera y la regulación (Corrida con regulación)
Teclas de navegación	Cursor	Teclas de flechas: <, >, Λ, V	<ul style="list-style-type: none"> ○ Activan y desplazan o mueven el cursor
	Borrar valor	<	<ul style="list-style-type: none"> ○ Borra el valor (valor de ajuste, preestablecido o preestablecido, valor de calibración) permitiendo la corrección
	Salvar el valor (Entrada)	>, Λ, V	<ul style="list-style-type: none"> ○ Guarda o salva el valor introducido (valor de ajuste, preestablecido o prefijado y de calibración)
Teclas de números	Escribir los valores	0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	<ul style="list-style-type: none"> ○ Introduce o entra valores

4.1.1 Teclas de función (C, R)

Table 10 Teclas de función del MINIFOR

C	<ul style="list-style-type: none"> ○ Cambia de espera reposo a calibración / Modo de configuración ○ Guarda o salva la calibración de cada parámetro a ser utilizado
R	<ul style="list-style-type: none"> ○ Cambia de calibración a modo de espera o reposo ○ Cambia entre la configuración de espera y la regulación (Corrida con regulación)

COMIENZO / PARADA- o Tecla de ESPERA "R", activa y desactiva la regulación y las alarmas. Los valores medidos no son influenciados por esto, mostrándose los valores reales. Esta opción es útil durante la calibración de los electrodos y la preparación del fermentador. En el modo de espera o reposo, el LED o indicador es de color amarillo. En el modo de operación este es de color verde.

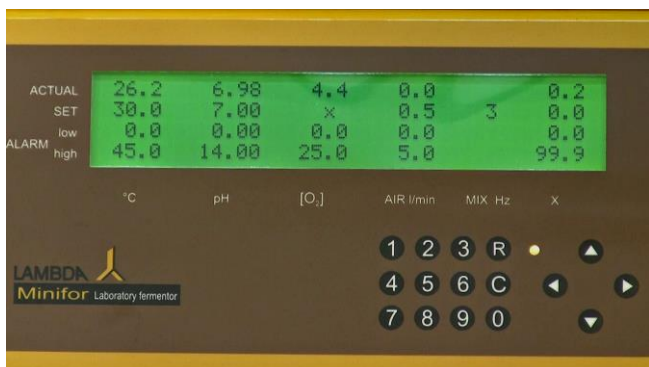


Figura 4.1-1 Modo de espera del MINIFOR. La tecla "R" se utiliza para cambiar entre el modo de espera o reposo y el estado o modo de regulación (Corrida con el Regulación).



Figura 4.1-2 Pulse o presione la tecla "C" para pasar del modo de espera o reposo al modo de calibración.



Figura 4.1-3 Modo de calibración.

4.1.2 Teclas de Navegación (Teclas de flechas)

- Pulsando o presionando **se activará el cursor** en la pantalla o monitor. El cursor está representado por un campo parpadeante bajo el dígito activado.
- Si el cursor está ya activado, al pulsar o presionar las flechas **moverán el cursor** hacia la dirección correspondiente.

- Si un valor está siendo editado (por ejemplo, valor de calibración) la flecha izquierda **borra el valor** permitiendo la corrección, mientras que **las otras flechas guardan o salvan el valor introducido** y mueven el cursor en la dirección correspondiente.
- Si el cursor sale del campo (flecha derecha, arriba o abajo) el valor modificado se guardará o salvará automáticamente.



Figura 4.1-4 Presione o pulse la tecla "C" de calibración continuamente para activar el cursor.



Figura 4.1-5 El cursor está representado por el parpadeo del dígito activado.



Figura 4.1-6 Una vez que el cursor se active después de la pulsación larga de la tecla "C", al pulsar las flechas, el cursor se moverá en la dirección correspondiente.

Table 11 Teclas de navegación del MINIFOR

Cursor	Teclas de Flechas: <, >, ▲, ▼	Activan y desplazan o mueven el cursor
Borrar valor	<	Borra el valor (valor de ajuste, prefijado o preestablecido, valor de calibración) permitiendo la corrección
Salvar o Guardar el valor (Entrada)	>, ▲, ▼	Guarda o salva el valor introducido (valor de ajuste, preestablecido o prefijado y de calibración)



El cursor se desactivará automáticamente si ningún cambio ha sido realizado con las teclas de números o de flechas en el intervalo de tiempo de 15 segundos.

4.1.3 Teclas de números

Las teclas de números 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 0 se utilizan para cambiar los valores (valores = valores de ajuste, preestablecidos o prefijados, límites de alerta, valores de calibración, etc).

Si no aparece el cursor, las teclas de números serán bloqueadas para entrar los valores, para evitar errores de entrada.



Figura 4.1-7 La tecla de números se utiliza para cambiar el valor del cursor parpadeante.



Figura 4.1-8 Cambiar el valor del parámetro seleccionado usando las teclas de números.

4.2 Modos (estados) del MINIFOR

MINIFOR tiene tres estados (modos de operación):



Figura 4.2-1 Modo de espera o reposo – es el estado del fermentador después de la conexión. La pantalla o monitor muestra los últimos parámetros introducidos. En esta configuración, se muestran todas las lecturas de las mediciones, pero la regulación se apaga y las teclas de números se bloquean. El LED o indicador es de color amarillo y todos los números de la pantalla o monitor están estáticos.



Figura 4.2-2 Modo de regulación / operación - La regulación se activa pulsando la tecla "R" y el LED o indicador cambiará a verde. La pantalla o monitor mostrará la medición de todos los parámetros.



Figura 4.2-3 Modo de calibración – la tecla "C" inicia la calibración del pH, pO₂, y el parámetro X o el ajuste de la dirección para el control del ordenador o computadora (dependiendo de la elección con el cursor). El LED o indicador está amarillo y la regulación está apagada. (Sólo la agitación es activada para permitir la calibración precisa del electrodo de pO₂).

El estado real del MINIFOR puede ser reconocido en el panel de control del MINIFOR y por los LED o indicadores.

Tabla 12 Estados (Modos) del MINIFOR en el panel de control

Estado (Modo)	Tecla de activación	LED	Calibración del parámetro	Medición del parámetro	Control del parámetro	Teclas de números
Espera o reposo	R	amarillo	-	Todos los parámetros: °C, pH, [O ₂], AIR l/min, MIX Hz, X	Apagado	Bloqueado hasta que las teclas de flechas activen el cursor
Operación	R	verde	-		Encendido	
Calibración	C	amarillo	Connexión pH, pO ₂ , X, del ordenador o computadora		Agitación encendida, todos los demás apagado	Activado



¡Los modos del MINIFOR no tienen influencia en el enfriamiento (lazos de refrigeración, así como el dedo de enfriamiento o refrigeración Peltier)!

Las configuraciones (modos) pueden ser cambiadas con la ayuda de las teclas de función en la pantalla del MINIFOR.

4.3 Puntos de ajuste y ALARMA

Para cada parámetro en la pantalla o monitor del MINIFOR, el punto de ajuste o preestablecido, así como los límites de alarmas pueden ser elegidos o seleccionados. Los puntos de ajustes o preestablecidos, así como los límites de alarmas (bajo y alto) se pueden cambiar en el modo de regulación y en el modo de espera o reposo.

- **Punto de ajuste o preestablecido** El **valor REAL** que debe alcanzar el control automático de parámetros.
- **ALARMA BAJA** El **valor REAL mínimo** que le es permitido alcanzar al control automático de parámetros.
Si el valor REAL del parámetro es menor que el valor introducido como ALARMA BAJA entonces un * se producirá junto al valor de la alarma y se activará una advertencia acústica dependiendo de su configuración.
- **ALARMA ALTA** El **valor REAL máximo** que le es permitido alcanzar al control automático de parámetros.
Si el valor REAL del parámetro es mayor que el valor introducido como ALARMA ALTA entonces un * se producirá junto al valor de la alarma y se activará una advertencia acústica dependiendo de su configuración.

LA ALARMA BAJA y la ALARMA ALTA no están activadas (* visual o acústica) si el valor correspondiente de ALARMA BAJA se ha ajustado o preestablecido en 0,0 ó 0,00 previamente. Esto evita las alarmas de funciones no utilizadas, por ejemplo, parámetro X.



¡Para todos los valores diferente a cero la alarma será activada! (por ejemplo 0,01).



Cuando la alarma es activada, una señal continua de 12 V se establece en la salida de alarma. Esta señal es útil para dirigir la alarma a otros lugares, por ejemplo, el teléfono o para la activación de una colección de muestras utilizando el colector OMNICOLL. Estas muestras pueden contribuir al esclarecimiento de las alarmas durante una fermentación no vigilada.



¡Si la alarma se activa (significa que un valor superior a 0,00 se ha introducido en ALARMA BAJA), entonces la alerta de alarma se mostrará en el modo de **espera o reposo y el modo de regulación** – pero no en el modo de calibración!

4.3.1 Ajuste de temperatura



Figura 4.3-1 Mueva el cursor usando las flechas en el campo para el ajuste de temperatura (SET °C, segunda fila, primera columna).



Figura 4.3-2 Introduzca el valor de temperatura deseado (el valor que se muestra en la primera línea y la primera columna corresponde a la temperatura medida y no puede ser cambiado).



Figura 4.3-3 Mueva el cursor sobre el campo de la temperatura mínima (ALARMA BAJA). Introduzca el valor deseado. Si la temperatura cae por debajo de este valor, se activará una alarma y aparecerá un asterisco a la izquierda del valor correspondiente.



Figura 4.3-4 Mueva el cursor sobre el campo de la temperatura máxima (ALARMA ALTA). Introduzca el valor deseado. Si la temperatura es superior a este valor, se activará una alarma y el valor superado aparecerá resaltado en la pantalla.



El cursor será desactivado automáticamente, si ningún cambio es realizado o ejecutado empleando las teclas de números en el intervalo de tiempo de 15 segundos.

4.3.2 Ajuste del pH, pO₂, flujo de aire, agitador y X

Los parámetros pH, pO₂, flujo de aire, agitación y X se ajustan o fijan analógicamente de igual manera que la temperatura (ver capítulo 4.3.1 Ajuste de la temperatura).



Elija ya sea el control automático de la pO₂ o el flujo de aire automático. Dado que el MASSFLOW interno controla ambos parámetros, estos no pueden ser controlados simultáneamente.

Si desea controlar ambos parámetros simultáneamente, entonces un MASSFLOW externo adicional puede ser utilizado, así como las herramientas de control adicionales mediante un programa de computación opcional.

Para más información, comuníquese con Instrumentos de Laboratorios LAMBDA.



Figura 4.3-5 Mueva el cursor usando la tecla de navegación y colóquelo sobre la columna del MIX Hz. Ajuste la frecuencia deseada de la agitación con las teclas de números y presione o pulse la flecha de la derecha para guardar o salvar el valor introducido.

No trate de introducir los límites de alarma para el parámetro MIX (frecuencia de agitación), ya que no existe esa opción.



Para la función de agitación (MIX), sólo el valor deseado puede ser introducido. El valor real se corresponde automáticamente al valor del punto, debido a que la frecuencia de la mezcla se controla precisamente a través de la electrónica y por lo tanto la desviación o modificación de los mismos no es posible.

La concentración de oxígeno disuelto (pO₂) está regulada por variación continua del flujo de aire. Esta regulación se activa mediante la introducción de un valor de pO₂ en el campo del valor de pO₂ deseado. El símbolo "x" aparece en la pantalla en la ubicación del flujo de aire deseado para señalar que el flujo de aire se determina por el controlador de la pO₂ solamente. El valor de flujo de aire medido se muestra y las alarmas correspondientes (ALARMA ALTA, ALARMA BAJA) podrán ser ajustadas. Para volver al modo de regulación del flujo de aire, mueva el cursor en la columna del flujo de aire e introduzca el valor deseado. El símbolo "x" se mostrará ahora en la ubicación de la pO₂ deseada.

4.3.3 Alerta de (des)activación

La alarma se puede desactivar mediante la introducción del valor bajo de la ALARMA BAJA correspondiente en la columna del parámetro adecuado.

Por ejemplo: La activación y desactivación de las alarmas alta y baja de la temperatura.



Figura 4.3-6 La alarma alta se activa. * La señal puede ser vista con el valor de alarma alta.



Figura 4.3-7 La alarma se puede desactivar cambiando el valor de alarma alta y tomando las precauciones necesarias para mantener la temperatura.



Cada parámetro tiene su propia alarma. Si necesita que sea indicado con más de una alarma, tiene que introducir 0,00 ALARMA baja para el parámetro correspondiente.

La alarma de un parámetro no está activada, si el valor correspondiente de ALARMA baja se ha preestablecido o prefijado como 0,0 ó 0,00 previamente. Esto evita alarmas de funciones no utilizadas, por ejemplo, parámetro X.



¡La alarma es activada para todos los valores distintos de cero! (por ejemplo 0,01)



Para alarma de temperatura baja y alta, no introduzca ninguna alarma cerca de 0,3 °C del valor preestablecido o prefijado, ya que la precisión es de $\pm 0,2$ °C (0 a 60 °C)

5 Calibraciones

5.1 Agitador, Temperatura, Flujo o Velocidad: No calibración

El electrodo de temperatura, medidor de flujo y la frecuencia del agitador no pueden ser calibrados. Los valores reales son garantizados y controlados electrónicamente.

Si quisiera cambiar estos parámetros, entonces contacte por favor a Instrumentos de Laboratorios LAMBDA, (www.bioreactors.eu o www.lambda-instruments.com).

5.2 Calibración del electrodo de pH

La calibración del electrodo de pH tiene un sistema de calibración de dos puntos con dos tampones estándares. El modo de calibración necesita ser empleado, presionado la tecla "C" en el panel de visualización o control (Consulte 4.2 Modos (Estados) del MINIFOR)

Consulte el folleto "InPro ® 325X, InPro ® 325X (ISM), InPro ® 325X i" suministrado junto con el electrodo de pH para obtener más información.



¡La calibración del electrodo de pH tiene que ser realizada antes de la ESTERILIZACIÓN!



Seleccione los tampones de acuerdo al intervalo de pH de la fermentación. Para las fermentaciones estándares con un intervalo de pH que oscila entre 6,2 y 7,0, se recomienda elegir el tampón pH 7,0 y el tampón pH 4,0 para la calibración.



¡Para la manipulación de sustancias corrosivas, utilice espejuelos de protección y guantes; y siga las instrucciones de seguridad del laboratorio!

5.2.1 Lista de gastables

- 2 tampones para la calibración del pH:
Tampón pH 7.0
Tampón pH 4.0 u otro tampón cualquiera
- Vaso de precipitado de vidrio
- Agua de lavado o enjuague (agua desionizada)
- Papel secante para secar el electrodo

5.2.2 Calibración paso a paso del electrodo de pH

La siguiente calibración paso a paso del electrodo de pH es un ejemplo del intervalo de pH elegido. La calibración tiene que hacerse en el intervalo adecuado de pH necesarios para la reacción. Los pasos serán los mismos, pero las soluciones de pH / tampones pueden ser diferentes.



Para calibrar el electrodo correctamente, es estrictamente necesario que **la secuencia de pasos se haya ejecutado exactamente a como se describe.**



La calibración podrá detenerse en cualquier instante presionando la **tecla de regulación "R"**. Si la calibración es interrumpida, los valores de la primera calibración se mantendrán invariables. (Para la verificación o comprobación cruzada, los electrodos pueden ser introducidos en las soluciones de verificación y los valores correctos deberán ser mostrados en el modo de espera o reposo).



¡Chequee siempre la conexión del electrodo del pH con el MINIFOR antes de la calibración!

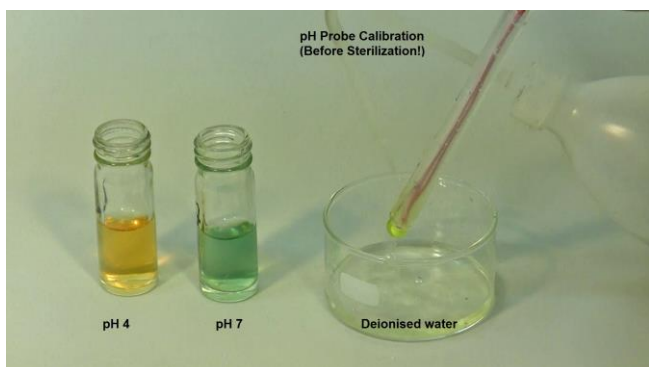


Figura 5.2-1 Prepare los tampones necesarios y lave el electrodo con agua desionizada. Seque el electrodo con papel secante.

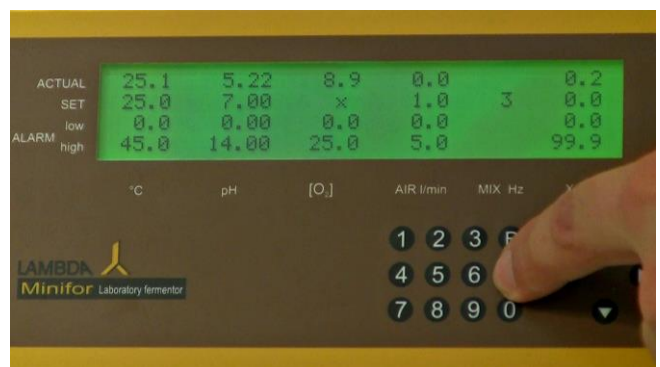


Figura 5.2-2 Cambie de modo del espera o reposo al modo de calibración pulsando o presionado la tecla de calibración "C".



Figura 5.2-3 La presión continua sobre la tecla "C" activa el cursor del valor de pH preestablecido o prefijado.



Figura 5.2-4 Para empezar la calibración del primer valor de pH, introduzca el valor deseado preestablecido o prefijado usando las teclas de números.

Por ejemplo: entre 400 para calibrar o verificar el pH 4.0.



Figura 5.2-5 Presione la flecha derecha ">" para ajustar el valor parpadeante. Tenga en cuenta que después de presionar o pulsar la flecha derecha, el valor 400 cambia a 4.00.



Figura 5.2-6 Sumerja el electrodo en la solución de calibración (solución tampón de pH 4,0) y agítelo suavemente mientras mide el pH.



Figura 5.2-7 El pH del tampón se mostrará en el valor REAL del pH (por encima del valor preestablecido o prefijado). Espere hasta que el valor real del pH sea estable.



Figura 5.2-8 Cuando el valor real del pH sea estable, presione la tecla de calibración "C" con el fin de guardar o salvar la calibración. El valor calibrado se mostrará como valor de pH del TAMPÓN 1.



Figura 5.2-9 Lave el electrodo con agua desionizada y séquelo con papel secante.



Figura 5.2-10 Inicie o comience la calibración de la segunda solución de calibración, introduciendo el siguiente valor de pH y entonces presione la tecla de la flecha derecha ">" para ajustar el valor de pH necesario.

Por ejemplo: introduzca 700 para pH 7.0.



Figura 5.2-11 Después de presionar o pulsar la tecla de la flecha derecha ">", el valor introducido (700) se establecerá como pH 7,00.

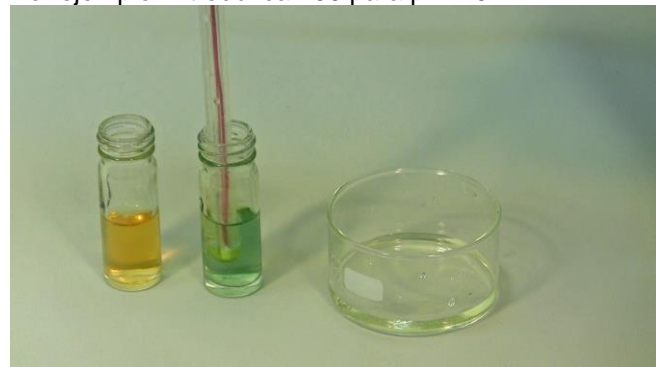


Figura 5.2-12 Sumerja el electrodo en la solución de verificación o calibración (solución tampón de pH 7,0) y agítelo suavemente mientras se mide el pH.



Figura 5.2-13 Espere el valor REAL, cuando la medición en la solución de calibración se estabilice.



Figura 5.2-14 Cuando el valor se estabilice, presione o pulse la tecla de calibración "C". El valor calibrado se guarda o salva y se muestra como valor de pH del TAMPÓN 2.



Figura 5.2-15 Si la calibración se realizó correctamente, aparecerá el mensaje OK.



Figura 5.2-16 Mensajes que pueden aparecer:
 OK- Calibración exitosa
 ERR0 – significa que la solución de calibración se usó dos veces
 ERR1 – Significa que el mismo valor se introdujo dos veces
 Si aparece el mensaje de error, la calibración tiene que ser repetida nuevamente desde el principio.

5.2.3 Comprobación cruzada de la calibración de pH

Para verificar si el electrodo de pH está calibrado, utilice los mismos tampones de pH utilizados para la calibración. Pulse la tecla de regulación "R", cuando la calibración muestre el mensaje OK.



Figura 5.2-17 Después de presionar la tecla de regulación "R", el MINIFOR cambiará del modo de calibración al modo de espera o reposo. Note que el MINIFOR en modo de espera o reposo o en el modo de operación sin bombas se activa.



Figura 5.2-18 Enjuague el electrodo con agua desionizada y séquelo con papel secante.

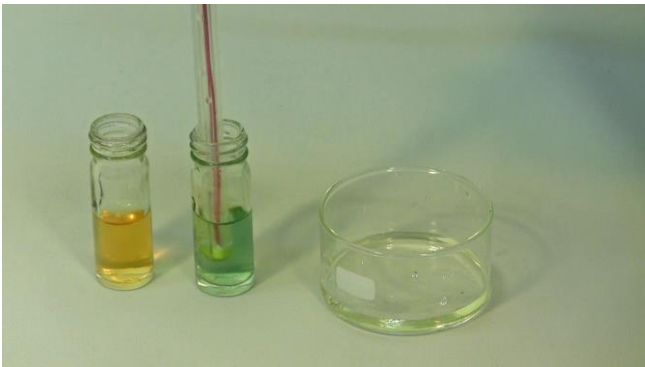


Figura 5.2-19 Compruebe la medición del pH introduciendo el electrodo en la solución tampón de pH 7.



Figura 5.2-20 El valor REAL de pH del parámetro deberá ser 7,00 (Puede variar entre 6,95 a 7,04).

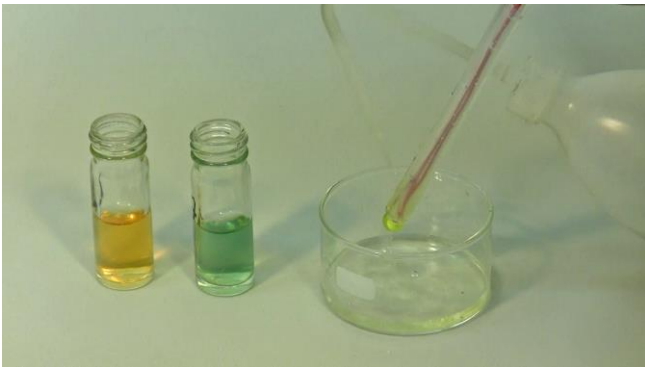


Figura 5.2-21 Enjuague electrodo nuevamente y séquelo con papel secante.



Figura 5.2-22 Compruebe la medición de pH 4 introduciendo el electrodo en la solución tampón de pH 4.



Figura 5.2-23 El valor REAL de pH del parámetro en la pantalla o monitor debe ser 4,00 (Puede variar entre 3,96 a 4,04)

Si la medición del pH 4 y del pH 7 durante la comprobación o verificación cruzada muestra un valor REAL incorrecto, entonces la calibración tiene que ser repetida nuevamente.

5.3 Calibración del electrodo de pO_2

¿Tiene un electrodo de pO_2 ?

El electrodo de pO_2 (electrodo de OD) está incluido en el KIT avanzado del MINIFOR. El Kit listo para el uso del MINIFOR puede ser mejorado con un electrodo de pO_2 opcional, si es necesario.

Información básica sobre la medición de la pO_2 :

La concentración de saturación de oxígeno en agua pura varía con la temperatura, la presión del aire y la concentración de sustancias disueltas en el medio.

La variación de la temperatura es compensada automáticamente. (Sin embargo, es preferible calibrar el electrodo a la temperatura que se utilizará en la corrida). La calibración se realiza por lo general después de la esterilización con la agitación adecuada (aproximadamente 10 Hz). Consulte la Tabla de concentraciones máximas de oxígeno disuelto en función de la temperatura para encontrar el valor correspondiente (capítulo 5.3.4 Saturación de oxígeno en agua).

Otros factores, tales como la presión atmosférica y la salinidad son insignificantes.

La calibración del electrodo de pO_2 (electrodo de OD, electrodo de oxígeno disuelto) es una medición de dos puntos con dos estándares.



La calibración y la medición no pueden hacerse sin agitación, debido al consumo de oxígeno por el proceso electroquímico, este está agotado en la proximidad de la membrana y la señal medida disminuye



En caso de que la calibración se haga en un recipiente externo, asegúrese de que las burbujas de gas se mezclen bien en la solución.



¡La calibración de la pO_2 (OD) tiene que realizarse **ANTES** y **DESPUÉS** de la **ESTERILIZACIÓN!**



Haga la calibración del electrodo también **antes de la esterilización**. Esta será la mejor prueba para demostrar, si el electrodo funciona correctamente o si se necesita el cambio de la membrana y / o de electrolito.



¡El electrodo tiene que ser polarizado antes de la medición y de la calibración – esto también significa que la **polarización** del electrodo de pO_2 (OD) es necesaria antes de cada calibración!

5.3.1 Lista de gastables

- Calibración del punto cero:
 - Solución acuosa al 5% de Na_2SO_3 o
 - Agua saturada de N_2 o
 - Gel para el control del punto cero de Conductividad (Mettler Toledo) o
- Calibración de la pendiente:
 - Agua saturada de aire
 - Tampón saturado de aire
 - Medio estéril saturado de aire (después de la esterilización)
- Vaso de precipitado de vidrio
- Agua de enjuague (agua desionizada)
- Tejido o papel secante para secar el electrodo
- MINIFOR con electrodo de temperatura y pH
- MINIFOR con electrodo de pO_2
- Calibración del electrodo de pO_2 / Temperatura (Tabla 13)

5.3.2 Inspección del electrodo



El electrolito pO_2 es una solución alcalina (pH 13).

Evite el contacto con la piel, especialmente con las mucosas y los ojos. Debido a que es muy probable que el contacto con el electrolito que se produzca durante el intercambio de electrolito o módulo de membrana. Se recomienda encarecidamente el uso de guantes protectores.

En caso de contacto, el lugar de contacto debe ser lavado con abundante agua fría y acuda al médico si aparecen signos adversos.



Debe tenerse cuidado durante la manipulación de las partes interiores de vidrio, ya que cualquier grieta resultante de golpes afectará negativamente el funcionamiento del electrodo.

Antes de cada calibración, compruebe siempre el electrodo de pO_2 (electrodo de OD):

- **Chequee la membrana ópticamente o visualmente:**
 - Examinar la membrana para detectar señales de daños.
 - Si está dañado, entonces el módulo de membrana del electrodo de pO_2 necesitará ser cambiado.
- **¿El tiempo de respuesta es demasiado largo?**
 - Si el tiempo de respuesta es demasiado largo, entonces cambie el electrolito en el electrodo de pO_2 .
- **¿Respuesta lenta?**
 - Puede ser debido a la formación de depósitos en la membrana. Es posible limpiar la membrana con un papel suave húmedo y una pequeña cantidad de detergente suave. Finalmente lavar la membrana con agua destilada.
 - Si la limpieza no ayuda, puede ser necesario sustituir la membrana.
- **¿Reacción rápida, pero señal inestable?**
 - Esto puede deberse a la perforación de la membrana, lo cual también requiere el reemplazo de la membrana.



¡El electrodo de oxígeno tiene que ser reemplazado o sustituido si comienza a mostrar signos de insuficiencia o fallos (tiempo de respuesta largo, daños mecánicos, aumento de la corriente residual en un medio libre de oxígeno, etc)!

5.3.3 Polarización

La polarización del electrodo de pO_2 es absolutamente necesaria para la correcta calibración y medición de la pO_2 .

Si el electrodo de oxígeno no ha sido conectado al potencial de polarización, se necesitará de cierto tiempo para alcanzar una señal estable. Este tiempo se denomina tiempo de polarización. Este puede tomar una hora o más, dependiendo de las condiciones y el tiempo sin potencial. El electrodo LAMBDA tiene un tiempo de polarización corto.

Para la polarización, el electrodo de pO_2 sólo tiene que estar conectado al MINIFOR encendido.



Cuide **de no desconectar el electrodo de pO_2 durante más de un minuto**, de lo contrario la polarización del electrodo se perderá.



La polarización debe hacerse de nuevo después de la esterilización u otras actividades que ocasionan la desconexión del electrodo de pO_2 más de 1 minuto.



Con el fin de disponer de o ahorrar tiempo para la polarización, es aconsejable mantener el electrodo conectado al MINIFOR en la configuración de espera o reposo.



El tiempo de polarización puede ser inferior a 6 h. Esto depende de la utilización. En el caso de que esté limitado en tiempo, entonces observe la señal durante 1 h de polarización y comience con el trabajo tan pronto como sea posible mientras la señal se mantenga estable durante 1 h.

5.3.4 Saturación del oxígeno en el agua

Información teórica básica para la calibración de pO_2 .

Cálculo de la concentración de saturación de oxígeno en agua:

- ✓ Agite y airee el medio en el vaso
- ✓ Mida o lea la temperatura (después de estabilizado el valor)
- ✓ Averigüe la altitud del lugar de trabajo sobre el nivel del mar
- ✓ Averigüe el valor de presión relativa del aire (meteorología) (Si no, utilice el valor 1013)

Emplee la siguiente ecuación:

$$C = S \times K \times L$$

Donde,

- C = Valor de calibración
- S = Valor estándar de saturación de oxígeno a la temperatura deseada, consulte la tabla a continuación
- K = factor de corrección de la altitud a partir de la tabla a continuación
- L = La relación = presión relativa del aire / 1013

Ejemplo:

Temperatura de calibración = 18°C

El laboratorio o lugar de trabajo se encuentra localizado a un altitud = 500 m

Presión atmosférica = 1022 hPa

Por lo tanto,

S = 9.45 mg/L,

K = 0.943,

L = 1.0089

Valor de calibración = 8.99 o 9.0 mg DO/L

Tabla 13 Saturación del oxígeno en el agua a varias temperaturas expresada como mg O₂ / L a una presión estándar de aire de 1013 hPa (valor de S)

°C	mg O ₂ /L	°C	mg O ₂ /L	°C	mg O ₂ /L	°C	mg O ₂ /L
0	14,64	10,5	11,12	21	8,90	31,5	7,36
0,5	14,43	11	10,99	21,5	8,82	32	7,30
1	14,23	11,5	10,87	22	8,73	32,5	7,24
1,5	14,03	12	10,75	22,5	8,65	33	7,18
2	13,83	12,5	10,63	23	8,57	33,5	7,12
2,5	13,64	13	10,51	23,5	8,49	34	7,06
3	13,45	13,5	10,39	24	8,41	34,5	7,00
3,5	13,27	14	10,28	24,5	8,33	35	6,94
4	13,09	14,5	10,17	25	8,25	35,5	6,89
4,5	12,92	15	10,06	25,5	8,18	36	6,83
5	12,75	15,5	9,95	26	8,11	36,5	6,78
5,5	12,58	16	9,85	26,5	8,03	37	6,72
6	12,42	16,5	9,74	27	7,96	37,5	6,67
6,5	12,26	17	9,64	27,5	7,89	38	6,61
7	12,11	17,5	9,54	28	7,82	38,5	6,56
7,5	11,96	18	9,45	28,5	7,75	39	6,51
8	11,81	18,5	9,35	29	7,69	39,5	6,46
8,5	11,67	19	9,26	29,5	7,62	40	6,41
9	11,53	19,5	9,17	30	7,55	40,5	6,36
9,5	11,39	20	9,08	30,5	7,49		
10	11,25	20,5	8,99	31	7,42		

Tabla 14 Corrección de la elevación sobre el nivel del mar (valor de K)

elevación [m]	K	elevación [m]	K	elevación [m]	K	elevación [m]	K
0	1,000	360	0,959	720	0,919	1160	0,873
20	0,998	380	0,957	740	0,917	1200	0,869
40	0,995	400	0,954	760	0,915	1240	0,865
60	0,993	420	0,952	780	0,913	1280	0,861
80	0,991	440	0,950	800	0,911	1320	0,857
100	0,988	460	0,948	820	0,909	1360	0,853
120	0,986	480	0,946	840	0,907	1400	0,849
140	0,984	500	0,943	860	0,904	1440	0,845
160	0,981	520	0,941	880	0,902	1480	0,841
180	0,979	540	0,939	900	0,900	1520	0,837
200	0,977	560	0,937	920	0,898	1560	0,833
220	0,975	580	0,935	940	0,896	1600	0,830
240	0,972	600	0,932	960	0,894	1700	0,820
260	0,970	620	0,930	980	0,892	1800	0,810
280	0,968	640	0,928	1000	0,890	1900	0,801
300	0,966	660	0,926	1040	0,886	2000	0,792
320	0,963	680	0,924	1080	0,882		
340	0,961	700	0,922	1120	0,877		

5.3.5 Calibración del electrodo de pO₂

La calibración del electrodo de pO₂ (electrodo de OD, electrodo de oxígeno disuelto) es una medición en dos puntos con dos estándares:

- A) Medición de la pO₂ máxima (punto de la pendiente) y
- B) Calibración del cero (0) (punto cero)

En la calibración de dos puntos, empiece siempre por la calibración del punto cero antes de calibrar la pendiente.

La punta del electrodo debe ser colocada alrededor de 1 cm del borde del disco de agitación más cercano. Esto asegurará un buen intercambio del líquido "saturado" que fluye hacia la membrana. Al mismo tiempo, esto también ayudará a desplazar las burbujas de aire, que pueden formarse accidentalmente en la membrana.



¡Para el vaso de 0,3 L: Si tiene montado el disco de agitación tipo mariposa en vez del micro-distribuidor de burbujas, entonces asegúrese de NO USAR NINGÚN DISTRIBUIDOR DE PARTÍCULAS O BURBUJAS!



Si usa disco de agitación tipo mariposa en el vaso de menor volumen (0,3 mL), entonces asegúrese de que no pasen burbujas a través del disco de agitación. Por lo tanto pince o cierre la tubería o manguera del eje del agitador. La saturación máxima de aire con un esfuerzo mínimo será alcanzada, sin embargo esto puede tomarle más tiempo.



No utilice medio contaminado para la calibración del valor máximo de pO_2 o para el control del valor máximo de pO_2 , la contaminación puede consumir el oxígeno disuelto y falsear el resultado.



Para la calibración y la comprobación o chequeo cruzado de a calibración del pO_2 , para los vasos del MINIFOR con discos de agitación normal o con discos de agitación tipo mariposa, puede usar un vaso diferente al del MINIFOR.

Discos de agitación en forma de mariposa: no necesita burbujeo en el vaso

Discos de agitación normal: vaso debe estar saturado de gas

Esto puede ahorrar tiempo de preparación para la saturación del líquido con gas.

Asegúrese de que no solo el electrodo pO_2 sino también el electrodo de temperatura (incorporado con el electrodo de pH) estén sumergidos en el líquido.



El O_2 disuelto "saturado" puede variar de acuerdo a la altitud (sobre el nivel del mar) del laboratorio / instalaciones.

La calibración la pO_2 paso a paso dada o explicada es solo un ejemplo. Trate de seguir estos pasos o seleccione una opción similar de los estándares. Pero lo pasos deben mantenerse

Calibración del punto de la pendiente (pO_2 máximo):

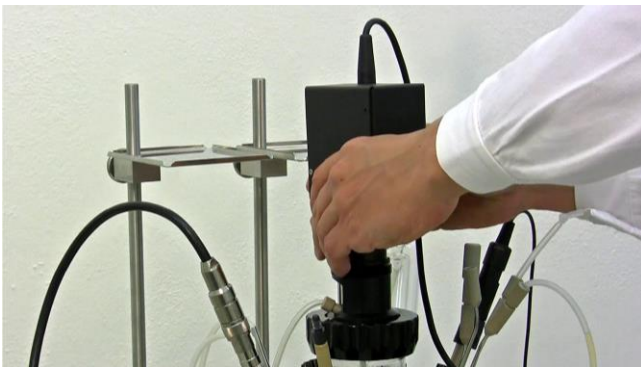


Figura 5.3-1 Después de la polarización, el electrodo de pO_2 tiene que ser calibrado antes y después de la esterilización. El electrodo de pH / Pt 100 debe ser insertado durante la calibración.

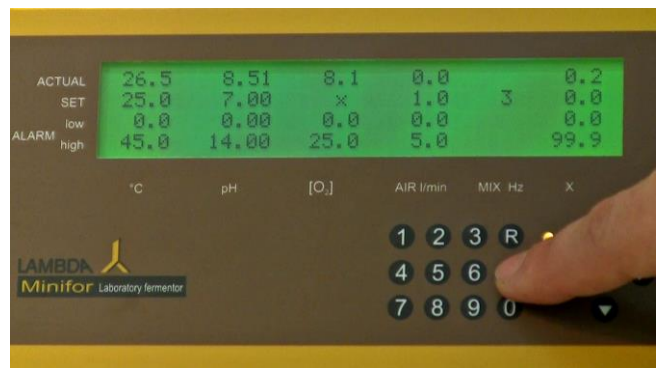


Figura 5.3-2 Asegúrese de que el valor de la agitación haya sido introducido como valor preestablecido o prefijado. Pulse la tecla de calibración "C". (Note que la agitación del medio tenga lugar incluso en el modo de calibración).



Figura 5.3-3 Mueva el cursor hacia el valor de [O₂] utilizando la tecla de navegación derecha (>).

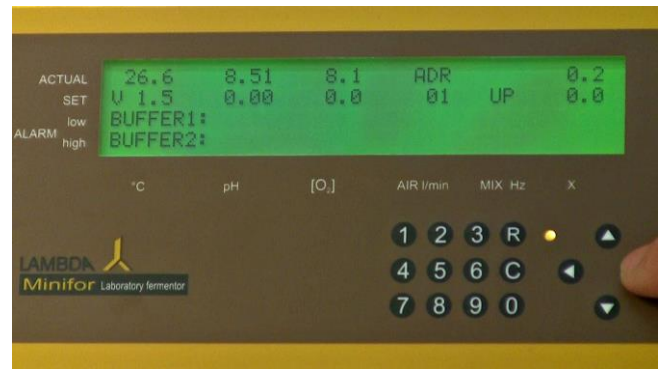


Figura 5.3-4 Verifique o compruebe el valor real resaltado de la temperatura (este debe ser el valor de temperatura deseado para la corrida). Consulte el valor de saturación de oxígeno correspondiente para la temperatura dado en la Tabla 5.3.4 Saturación de oxígeno en agua [por ejemplo, la saturación de oxígeno en agua a 26,5 °C = 8,0 mg O₂ / L]



Figura 5.3-5 Introduzca el valor de la Tabla en el valor preestablecido o prefijado para [O₂] y luego presione la tecla de la flecha derecha (>) (ej., 80)



Figura 5.3-6 Cuando la tecla de la flecha derecha (>) haya sido presionada, se guardará o salvará el valor (ej., 8.0).



Figura 5.3-7 Presione la tecla de calibración "C". El valor calibrado se mostrará como valor de [O₂] del Tampón 1.

Calibración del punto cero:



Figura 5.3-8 Para la calibración del punto cero, desconecte el electrodo de pO₂ (OD).



Figura 5.3-9 El electrodo de OD no deber ser retirado o desconectado por más de 1 min, ya que esto ocasionará la pérdida de la polarización. Si esto ocurriese por un tiempo mayor a 1 min, las mediciones podrán ser imprecisas.



Figura 5.3-10 Cuando electrodo está desconectado, la lectura real de oxígeno disuelto debe ser siempre '0'. (Si este no es el caso, entonces el electrodo puede estar defectuoso y deberá revisar en el capítulo Polarización, cambio de la membrana de pO₂ / líquido, limpieza o contacte el servicio de ayuda de LAMBDA).



Figura 5.3-11 Introduzca el valor [O₂] preestablecido o prefijado 00 usando las teclas de números y presione o pulse la flecha derecha para guardar o salvar el valor. El valor se mostrará como 0,0 en el valor preestablecido o prefijado.



Figura 5.3-12 Presione o pulse la tecla de calibración "C". El valor calibrado se guardará o salvará y se mostrará como valor de [O₂] del Tampón 2. Se visualizará el mensaje de OK si la calibración se realizó correctamente.



Figura 5.3-13 Reconecte del electrodo de pO₂ (OD).

La calibración del punto de la pendiente y del cero tiene que ser repetida después de la esterilización. De lo contrario, esto puede afectar las mediciones.

5.3.6 Mensajes / Errores

MENSAJES que pueden ocurrir o aparecer:

OK - calibración exitosa

ERR0 - misma solución de calibración usada dos veces

ERR1 - mismo valor introducido dos veces

¡Si recibe cualquier mensaje de error, entonces tendrá que hacer la calibración nuevamente!

5.3.7 Verificación o comprobación cruzada de la calibración de la pO₂

Los siguientes pasos tiene que ser realizados antes y después de la esterilización y de la polarización para hacer la verificación o comprobación cruzada de la calibración y prueba del electrodo de pO₂.

- ✓ Punto máximo (Pendiente): medio saturado de aire utilizado para la calibración
- ✓ Punto mínimo (Cero): 5% de la solución de Na₂SO₃



¡La comprobación y prueba del electrodo de pO₂ con una solución al 5% de Na₂SO₃ debe hacerse después de la polarización y antes de las calibraciones y la esterilización!



La verificación o comprobación cruzada puede realizarse en el modo de espera o reposo para ahorrar tiempo.

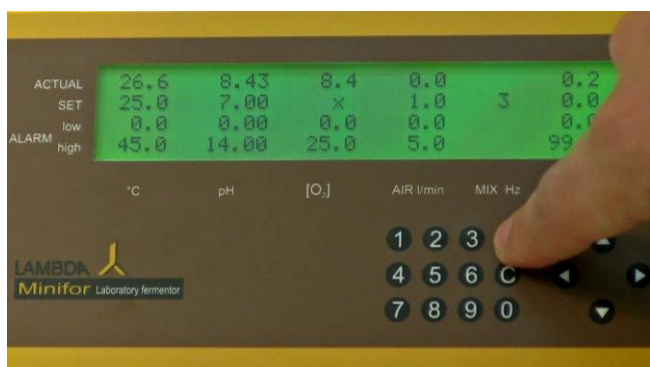


Figura 5.3-14 Presione la tecla regulación "R" para cambiar del modo de calibración al modo de espera o reposo. Dado que la calibración ha sido completada, el electrodo de pO₂ se mantendrá sumergido en el medio / líquido saturado de O₂.



Figura 5.3-15 La medición del O₂ en el medio / líquido saturado se mostrarán en el valor real del parámetro [O₂].

Si no se muestra el valor máximo, entonces asegúrese de que:

- La polarización fue realizada.
 - El cable está conectado.
 - El medio / líquido empleado está todavía saturado de aire.
 - En caso de usar medio: cheque si está contaminado.
- Si estos chequeos no le permiten encontrar la causa (s) entonces repita la calibración.

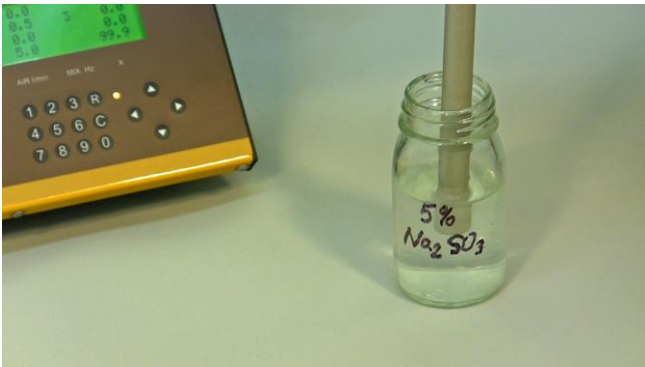


Figura 5.3-16 Punto cero: Se puede hacer solo antes de la esterilización (opcional), usando una solución al 5% de Na_2SO_3 . Sumerja el electrodo en la solución de Na_2SO_3 al 5% y revise si se visualiza el valor real del parámetro $[\text{O}_2]$ en la pantalla o monitor.



Figura 5.3-17 La lectura "REAL" después de la estabilización debe ser "0".

Esta foto es el resultado de un resultado en modo "acelerado" mientras se chequea el electrodo con una solución al 5% de Na_2SO_3 .

Si el electrodo no mide el valor mínimo = 0, a continuación, repita la calibración del electrodo de pO_2 . Si ya lo ha repetido anteriormente, entonces consulte el capítulo 5.3.2.

5.4 Calibración del flujo de la bomba

Si se necesita saber el volumen de líquido adicionado sin una balanza o si se desea medir el flujo, entonces se necesitará calibrar la velocidad / flujo de la bomba LAMBDA.



Sin embargo, el diámetro interno de la tubería o manguera de silicona puede cambiar debido a la esterilización por calor. **La primera esterilización tiene el mayor impacto sobre el material. Use solo tuberías o mangueras autoclaveadas para la calibración** y use la misma tubería o manguera que se pretende usar durante la fermentación.

La calibración del flujo de la bomba con velocidad puede realizarse para conocer el volumen de líquido adicionado al vaso de reacción.

5.4.1 Calibración volumétrica

En la calibración volumétrica, se debe calcular el volumen de líquido bombeado a una velocidad dada en 1 minuto.



Figura 5.4-1 Conecte la tubería o manguera al líquido en la botella y ajuste la velocidad deseada (por ejemplo, 600). Mantenga la probeta de medición lista.



Figura 5.4-2 Encienda la bomba y tenga el otro extremo de la tubería o manguera listo o cerca de la probeta de medición. Recoja cuidadosamente el líquido que se bombea en la probeta de medición durante 60 segundos.

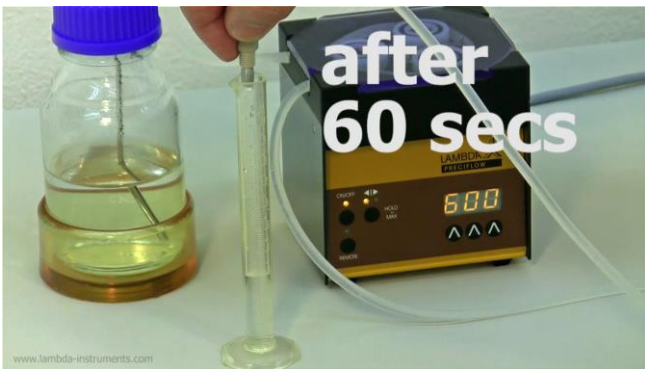


Figura 5.4-3 Colecte el líquido en la probeta de medición durante 60 segundos.



Figura 5.4-4 Apague la bomba exactamente a los 60 segundos.



Figura 5.4-5 Mida el volumen del líquido colectado en 1 minuto.

A la velocidad de 600, se recogerán 3,2 mL/min. Calcule el flujo para otro intervalo de velocidad utilizando este valor.

5.4.2 Calibración por peso

En la calibración por peso, se calcula el peso del líquido bombeado en 1 minuto.



Figura 5.4-6 Pese un vaso de precipitado vacío usando una escala de pesada sensible. Para la medición exacta del líquido colectado, tare la escala de pesada con el vaso de precipitado (por ejemplo: 0.000 g).

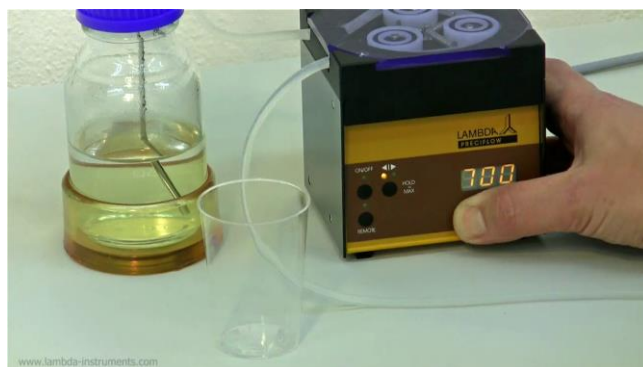


Figura 5.4-7 Conecte el extremo de la tubería o manguera con el líquido en la botella y fije la velocidad de la bomba por ejemplo: 700.



Figura 5.4-8 Encienda la bomba y tenga el otro extremo de la tubería o manguera listo o cerca del vaso de precipitado tarado previamente.



Figura 5.4-9 Colecte cuidadosamente el líquido bombeado en el vaso de precipitado por aproximadamente 60 segundos.

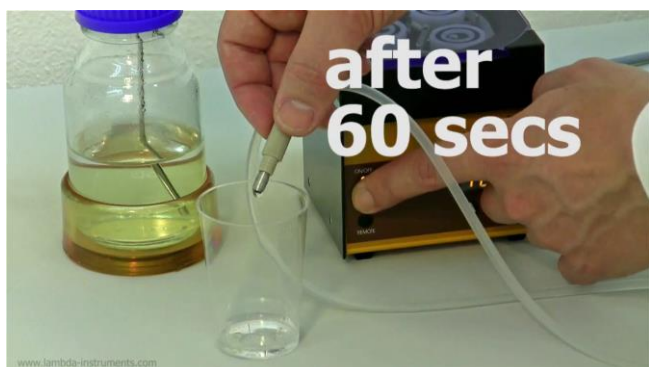


Figura 5.4-10 Después de 60 segundos exactamente, apague la bomba.

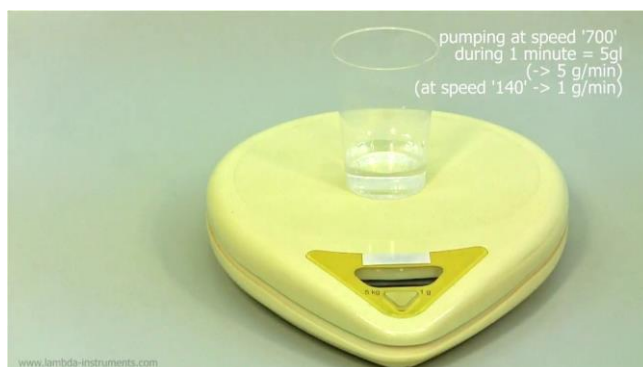


Figura 5.4-11 Pese el vaso de precipitado con el líquido recogido o colectado en los últimos 60 segundos.

Por ejemplo: A la velocidad de bombeo de 700, el peso del líquido recogido o colectado es de 5 g/min. Con este cálculo, se podrá entonces calcular el peso del líquido recogido o colectado cuando se aplique otra velocidad de la bomba.

5.5 Calibración del canal X: Ejemplo para el módulo de pesada

5.5.1 Introducción general del canal-X

El canal "X" tiene la posibilidad de activar la bomba "X", por encima o por debajo del valor preestablecido o prefijado utilizando la opción ARRIBA O ABAJO en la calibración del canal-X.

El nivel aceptable de la señal del canal "X" es de 0 a 10 V CD.

- Si esta señal está por debajo de 0 V (ej. polaridad incorrecta), una indicación (señal subrayada) aparecerá a la izquierda de valor actual del parámetro "X".
- Si el voltaje excede los 10 V, entonces una señal [^] (Signo o marca de intercalación o una seña flecha arriba) aparecerá.
- No existe indicación especial para cuando la señal está en el intervalo correcto o sea de 0 a 10 V.

El canal X puede ser usado para el control del módulo de escala para el modo de operación continuo, electrodos de conductividad y CO₂.

Por ejemplo: El módulo de pesada permite el ajuste del valor deseado, el cual es mantenido constante. La bomba "X se activará cuando el peso preestablecido es excedido.

5.5.2 Calibración del módulo de pesada



El módulo de escala contiene un sensor sensible. ¡Evite cualquier choque con el sensor y manipúlelo cuidadosamente.



No trate de utilizar el módulo de pesada como balanza. El módulo de pesada sólo se utiliza para detectar cambios de pesos y no para la medición de la masa absoluta.



No aplique ninguna fuerza sobre la MINIFOR mientras esté utilizando el módulo de pesada - en especial sobre la parte delantera donde se encuentra ubicado el módulo de pesada. Aquí, las fuerzas verticales tienen impacto sobre el cambio del peso detectado, lo cual activará la bomba.



La calibración tiene que realizarse o ejecutarse con el vaso lleno. La calibración podría hacerse estableciendo o ajustando el peso inicial como cero. Sin embargo, es más práctico establecer el peso inicial con un cierto valor. De esta manera, un peso menor o inferior a cero puede ser reconocido fácilmente.

Por favor, consulte el capítulo 3.13.3, Selección del intervalo, antes de calibrar el módulo de pesada.

La colocación o posicionamiento óptimo de la punta de pesada en el módulo de escala será indicada por la luz del LED o indicador de color amarillo. La calibración tiene que iniciarse cuando el módulo de escala se encuentre bien posicionado.



Figura 5.5-1 Cuando el vaso esté bien posicionado en el módulo de escala, presione la tecla de calibración "C" para cambiar del modo de espera o reposo al modo de calibración.



Figura 5.5-2 Una pulsación duradera de la tecla de calibración "C" activará los valores preestablecidos o prefijados en la pantalla o monitor.



Figura 5.5-3 Cuando el cursor se active, utilice la tecla de navegación derecha (>) para elegir el parámetro "X".



Figura 5.5-4 La calibración puede hacerse fijando el peso inicial como cero. Sin embargo, es más práctico establecer como peso inicial cierto valor. De esta manera, un valor de pesada inferior a cero (negativo) puede ser reconocido fácilmente.

Escriba, por ejemplo 100 en el valor preestablecido o prefijado del parámetro "X" y presione o pulse la tecla de flecha derecha.



Figura 5.5-5 El valor introducido de 100 aparecerá como 10,0 en la pantalla (en la fila de valores SET) después de presionar la tecla de flecha derecha.



Figura 5.5-6 Coloque un peso conocido sobre la unidad principal de control del MINIFOR. Por ejemplo, coloque una botella de vidrio vacía.



Figura 5.5-7 Observe el valor real del peso medido. Cuando la lectura sea estable, espere hasta que aparezca el mensaje "HOLD". A continuación, presione o pulse la tecla de calibración "C" para calibrar el valor inicial.



Figura 5.5-8 Una vez calibrado, el valor inicial aparecerá como valor del Tampón 1 del parámetro "X".



Figure 5.5-9 A continuación, coloque un peso conocido o añada un volumen conocido de líquido a la botella de vidrio. Digamos 100 g o mL.



Figure 5.5-10 Introduzca el valor final a ser detectado y controlado por el módulo de escala. Por ejemplo: introduzca 200 y presione la tecla de flecha derecha (>) para guardar o salvar el valor.



Figura 5.5-11 El valor introducido 200 aparecerá como 20,0 en el valor preestablecido o prefijado después de presionar la tecla de flecha derecha (>).



Figura 5.5-12 Espere hasta que aparezca el mensaje "HOLD" y luego presione la tecla de calibración "C". El mensaje "OK" aparecerá indicando que la calibración ha sido aceptada por la unidad del fermentador MINIFOR. Ahora, la escala está calibrada en g o mL. Las calibraciones del peso deben realizarse de acuerdo al peso a ser medido por Ud.



Figura 5.5-13 Presione o pulse la tecla de regulación "R" para salir del modo de calibración.

5.5.3 Puesta en marcha de la regulación de la bomba

El peso puede ser controlado ya sea por

- * **Adición (modo -"Up")** o
- * **Extracción (modo -"Down")** de la solución del medio.

Esta función permite seleccionar el sentido de la regulación de la función de la bomba "X":
O bien puede

- * **Encienda la bomba "X" después que se alcance el valor preestablecido o prefijado** o alternativamente
- * **Apague la bomba "X"**



Figura 5.5-14 Para cambiar la regulación de la bomba, presione la tecla de calibración "C" para cambiar del modo de espera o reposo al modo de calibración.



Figura 5.5-15 Presione la tecla de navegación flecha derecha (>) para seleccionar el valor preestablecido o prefijado "UP" en la columna antes del parámetro "X".



Figura 5.5-16 Utilice la tecla de navegación abajo para cambiar a la opción de abajo (DOWN).



Figura 5.5-17 Utilice la tecla de navegación flecha hacia arriba para cambiar de abajo (DOWN) hacia arriba (UP).



Figura 5.5-18 Presione o pulse la tecla de navegación flecha derecha para guardar o salvar el valor, toda vez que la regulación de la bomba es seleccionada.



Figura 5.5-19 Presione o pulse la tecla de regulación "R" para salir del modo de calibración.

5.6 Sistema Antiespumante

Para el mejor control del antiespumante, el ANTIFO y el DOZITO necesitan estar calibrados de acuerdo a:

- ✓ ANTIFO: ajuste de la sensibilidad del detector de espuma
- ✓ DOZITO: ajuste del volumen del antiespumante agregado por intervalo de tiempo

5.6.1 Ajuste de la sensibilidad en ANTIFO

Cada medio de cultivo, dependiendo de su contenido de sales, posee una determinada conductividad de fondo. Esta conductividad se producirá incluso sin la formación de la espuma y debe ser tenida en cuenta preestableciendo o prefijando un valor umbral de conductividad específica del medio.

Establezca o fije y comience la agitación optimizada para la condición de proceso planificada y espere alrededor de 1 minuto, hasta que una fina capa de medio cubra las paredes interiores del vaso del reactor.

Para ajustar el umbral o valor mínimo de sensibilidad para el medio a utilizar o un medio dado, gire o rote el botón en la dirección de las manecillas del reloj o hacia la derecha en el ANTIFO hasta que la luz del diodo LED o indicador preestablecido o prefijado cambie de amarillo a verde.



Figura 5.6-1 Una vez realizadas las conexiones, el LED o indicador del ANTIFO se iluminará como verde.



Figura 5.6-2 Gire o rote gentilmente el botón del ANTIFO en el sentido de las manecillas del reloj para encontrar un punto en el que el LED o indicador verde se ponga en amarillo como se muestra.



Figura 5.6-3 Ahora gire el botón en el sentido contrario a las manecillas del reloj (aproximadamente 1 mm) para fijar el punto de sensibilidad y el LED o indicador se iluminará de color verde es decir, el punto en el que el amarillo pasa a verde.



Figura 5.6-4 La sensibilidad del ANTIFO para un cultivo particular está ahora configurada. EL LED o indicador pasará de verde a amarillo, cuando este controle el DOZITO para la adición de antiespumante.

5.6.2 Ajuste del intervalo o paso de volumen en el DOZITO

La adición excesiva del agente antiespumante (sobredosis del antiespumante) es perjudicial para la transferencia de oxígeno desde las burbujas de aire hacia el medio de cultivo. Esto es eliminado mediante un intervalo de espera de 20 segundos después de la adición de cada dosis de antiespumante. El siguiente agente antiespumante deberá ser dosificado solo si la espuma no desaparece durante el este intervalo de tiempo de espera transcurrido.

Adicionalmente, la dosificación del anti-espumante puede ser controlada mediante el intervalo o paso de adición volumétrica preestablecido o prefijado en la bomba de la jeringuilla miniaturizada DOZITO LAMBDA.

El volumen de agente antiespumante añadido o adicionado puede variar de una docena de microlitros hasta aproximadamente 0,3 mL.



El enroscado para la configuración de volumen en el DOZITO tiene que ser hecho cuidadosamente; de lo contrario el sensor del extremo puede ser dañado.



¡Nunca hale la varilla de empuje de la bomba DOZITO en la dirección opuesta!



Figura 5.6-5 Utilice la llave entregada con el kit ANTIFO y DOZITO para ajustar el volumen añadido o adicionado del agente antiespumante.



Figura 5.6-6 Inserte la llave en el punto de inserción al lado de la varilla de empuje.



Figura 5.6-7 Enroscado = rotación a favor de las manecillas del reloj = decremento o disminución del volumen del antiespumante / intervalo.



Figura 5.6-8 Desenroscado = rotación en contra de las manecillas del reloj = incremento o aumento del volumen del antiespumante / intervalo.



Este tornillo de ajuste del volumen está protegido para que no sea completamente desenroscado

El estado de funcionamiento de la bomba de la jeringuilla miniaturiza DOZITO (adición de antiespumante y el intervalo de espera) puede ser mostrada por el LED o indicador en el DOZITO.



Figura 5.6-9 Cuando el DOZITO recibe la señal del ANTIFO, el LED o indicador se iluminará en amarillo y la varilla de empuje empujará el émbolo de la jeringuilla y por lo tanto libera el volumen preestablecido o prefijado del agente antiespumante.



Figura 5.6-10 Cuando la dosis preestablecida o prefijada ha sido entregada, el LED o indicador cambiará a rojo. Entonces la comunicación con el ANTIFO se interrumpe durante 20 segundos y el LED o indicador se apaga.

6 Conexión al ordenador o computadora y programa de fermentación

Aparte del control directo de los parámetros en la pantalla o monitor, un sistema de control de procesos (PCS) para el control totalmente automático de la reacción y de almacenamiento de datos está disponible.

Nuestra experiencia demuestra que es una gran ventaja controlar cualquier cultivo y medir todos los parámetros disponibles de forma continua. Los cultivos son muy complejos y un registro de los parámetros puede mostrar la cinética de reacción y, por ejemplo, la comparación entre diferentes experimentos.

El trabajo realizado con el biorreactor – fermentador MINIFOR es mucho más importante y los resultados son mucho más valiosos que la inversión en un sistema de control. El MINIFOR se puede utilizar sin un software adicional, ya que todos los sistemas electrónicos de control están incluidos en el MINIFOR. Y es posible actualizar o mejorar el programa de la fermentación en una etapa posterior o siguiente.

Programas disponibles para la fermentación:

- ✓ Programa FNet de fácil de usar para la fermentación
- ✓ SIAM Programa para fermentación industrial
- ✓ Programa para el módulo de mezclado automático de gases (MINI-4-gas automatic Gas-Mixing module).

6.1 *FNet programa fácil de usar para fermentaciones*

FNet es un programa fácil de usar, que cumple con las altas exigencias del control y registro de la mayoría de las fermentaciones o cultivos celulares. Hasta 6 fermentadores se pueden controlar simultáneamente con un solo ordenador o computadora (preferible para los cultivos normales de laboratorio).

6.1.1 Programa listo para el uso

- Fácil de instalar y usar.
- El programa reconoce los fermentadores conectados al inicio. Hasta 6 fermentadores, 12 integradores y 6 bombas peristálticas pueden ser conectados y controlados con un solo ordenador o computadora.
- No se necesitan conocimientos de programación para la instalación y uso del programa.
- Los cables son fáciles de conectar y tienen conectores estándares.
- No se necesita comprar un complemento o licencia especial para para la conexión de nuevos fermentadores y otros instrumentos.

6.1.2 Archivo de datos

Los datos de proceso (temperatura, pH,...) son almacenados en un archivo de texto. Este archivo puede ser exportado a la mayoría de los programas en el mercado para análisis estadísticos o presentación de reportes o informes. Un número mayor de procesos de fermentación pueden ser comparados para la optimización de procesos.

6.1.3 Control de Procesos

- Visualiza los valores reales y los valores preestablecidos o prefijados de temperatura, pH, pO_2 , flujo de aire y un parámetro X adicional que podría ser, por ejemplo, el peso del cultivo para procesos continuos, densidad óptica o una medición continua de la concentración de biomasa en una sola ventana.
- Posibilidad de conocer el volumen de ácido o base adicionado al fermentador.
- Perfiles preprogramados en todos los parámetros preestablecidos o prefijados, como la temperatura, pH, pO_2 , flujo de aire, agitación, parámetro X o incrementos pueden hacerse con una bomba peristáltica.
- Gestión de alarmas: El usuario puede activar las alarmas de temperatura, pH, pO_2 , flujo de aire, agitación, parámetro X.
- El programa también muestra cuando se ha producido alguna alarma.
- Diferentes parámetros pueden ser observados y comparados utilizando la opción gráfica con respecto al tiempo.

6.2 *SIAM Programa para fermentación industrial*

SIAM es un programa industrial y de laboratorio de alta calidad para los profesionales con posibilidades casi ilimitadas para un máximo de 99 fermentadores y funciones ampliadas. Es fácil de usar, amigable con el usuario y económico (el precio es bajo y la fase aprendizaje es corta). Fue desarrollado especialmente para laboratorios de investigación, pero también es una herramienta para plantas piloto y pequeñas unidades de producción. El usuario puede crear su propia aplicación en pocos minutos.

6.2.1 Programa muy sofisticado

- Posibilidad de crear una interface visual específica, rápida y fácilmente.
- Dispositivo fácil (balanzas, controladores, etc) conexión y configuración.
- Visualización en tiempo real la evolución de los parámetros (como temperatura, pH, etc).
- Los valores de los parámetros (entradas analógicas, por ejemplo) pueden ser visualizados y comparados usando gráficos con respecto al tiempo.
- El usuario puede elegir el aspecto de la visualización gráfica:

- Los parámetros a ser mostrados, color de la curva, intervalo de la escala de visualización.
 - Hasta 8 curvas pueden ser visualizadas en el mismo gráfico.
 - La función de ampliación o acercamiento está también disponible para reducir o aumentar el tamaño del gráfico. El usuario puede leer un valor particular en el gráfico utilizando la regla.
 - Hasta 4 ejes “y” pueden ser visualizados.
 - Los valores de los canales de las curvas son almacenados permanentemente.
- Alerta y Ventana de reporte o informe:
- La ventana de reportes o informes permite la creación de un informe sobre el proceso automatizado: activación de alarmas, intervenciones del usuario y observaciones. El contenido del reporte o informe puede ser archivado en una carpeta y visualizado con un programa de procesamiento de textos (Word). Con esta ventana es posible rastrear el experimento (restablecer la balanza, controlador o el perfil de inicio y parada, etc...).
- Posibilidad de conectar un gran número de dispositivos utilizando un único programa.
 - Posibilidad de realizar o desarrollar estrategias control complejas.
 - Muy buena relación precio / desempeño.
 - Está disponible en Inglés, Francés y Alemán.

6.2.2 Dispositivos o instrumentos analizados utilizando SIAM

- Fermentadores-Biorreactores MINIFOR
- Bombas peristálticas: PRECIFLOW, MULTIFLOW, HiFLOW, MAXIFLOW
- Sistema dosificador de polvos: DOSER
- INTEGRATOR
- Sistema de medición del flujo de gas: MASSFLOW
- Bomba jeringuilla (jeringa) miniaturizada: VIT-FIT
- Tarjetas de interface de otros fabricantes
- Balanzas
- Registradores (procesadores) de datos
- Controladores de temperatura, controladores de pH, controladores de flujo, etc...

6.2.3 Aplicaciones

Lista de ejemplos del uso de SIAM en aplicaciones:

- Control del fermentador en la industria farmacéutica (3 -150 L).
- Control del fermentador en la investigación universitaria (0,3 - 300 L).

- Medición y control de cámaras climatizadas (temperatura, humedad, intensidad de luz, concentración de CO₂).
- Medición y control en un canal de viento (temperatura, velocidad del aire).
- Medición y control en la industria del queso para la investigación y el desarrollo (temperatura del vaso, coagulación, fuerza de la prensa, bodega).
- Medición y control de reactores químicos, instalación de procesos de destilación en investigación y desarrollo.
- Otras aplicaciones en la investigación y el desarrollo, la producción o como herramienta educativa.

6.3 Programa para el módulo de mezclado automático de gases MINI-4 gas

El módulo de mezclado de gases LAMBDA permite un suministro controlado del flujo de masa flexible para diferentes gases con sus rutas individuales del flujo de gas. El sistema de gasificación puede mezclar automáticamente hasta cuatro gases según el sistema de cultivo celular. El sistema de aireación controlado automáticamente proporciona una difusión del gas avanzada mediante burbujeo y / o formación de gases del espacio superior. La extensión del programa SIAM permite un control automático total de la mezcla de los gases para un máximo de 4 reactores MINIFOR en paralelos (Controlador de flujo de gas de 4 x 4).

6.3.1 Tipos de sistemas de mezcla de gases (Gas-Mix)

- Mezcla de 4 gases (4-gas-mix) para el cultivo de células de mamíferos y células madres.
- Mezcla de 3 gases (3-gas-mix) para fermentación anaeróbica.
- Enriquecimiento de O₂ para sistemas microbianos & desarrollo de biocombustibles.

6.3.2 Control de Procesos

- Representación & Almacenamiento de datos.
- Adquisición de datos, cálculos y tasas de transferencia de gases.
- Visualización de gráficos de tendencias.
- No hay conflictos de licencia del programa para la incorporación de las unidades adicionales e instrumentos de laboratorio.
- Más de 4 unidades MINIFOR pueden ser conectadas, incluso si se opera sin el módulo de control de los 4 gases.
- Ayuda al control de los parámetros críticos del proceso para optimizar la velocidad de crecimiento, y alcanzar los títulos más altos durante el procesamiento de la proteína y la producción de hormonas.

6.4 Conexión al ordenador o computadora

El kit de conexión al ordenador o computadora incluye el convertidor RS 232-485, cables, conexión USB, CD con programa y un manual de operación.

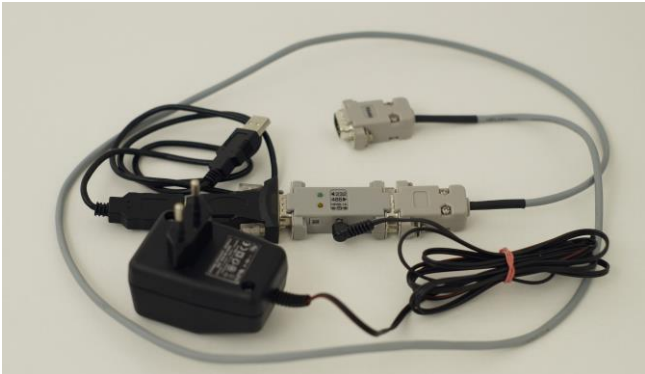


Figura 6.4—1 Kit de conexión al ordenador o computadora con un convertidor de RS-232 a RS-485 y la conexión USB.



Figura 6.4—2 Conecte el cable de conexión del ordenador o computadora al conector DB 9 en la parte posterior o trasera de unidad principal de control.



Figura 6.4—3 Conecte el convertidor de RS-485 a RS-232 al otro extremo del cable de conexión del ordenador o computadora.



Figura 6.4—4 Enchufe o conecte la fuente de energía para el convertidor de RS-232 a RS-485.



Figura 6.4—5 El LED o indicador iluminado indica que el convertidor está listo para funcionar u operar.



Figura 6.4—6 El cable de conexión al ordenador o computadora junto con el convertidor RS es conectado al ordenador o computadora con la ayuda del conector USB.

7 Estrilización & Reinstalación

La esterilización del vaso de reacción del MINIFOR, botellas de almacenamiento y tuberías o mangueras puede hacerse en autoclaves, por lo que la esterilización in situ o en el lugar no es necesaria.



¡Nunca introduzca ningún cable en la autoclave, de lo contrario estos serán destruidos!



¡Siempre llene el vaso del MINIFOR antes de la esterilización! ¡Pero nunca con más de 2/3 del volumen del vaso!

7.1 Preparación para la esterilización

El vaso de reacción junto con las partes que estarán en contacto con el medio de trabajo estéril, cultivo celular y el flujo de gas estéril interno o interior tienen que ser autoclaveados para mantener las condiciones de trabajo estériles.

Antes de la esterilización:

- ✓ El vaso de reacción tiene que ser llenado con tampón o medio.
- ✓ Para el caso del vaso de 0,3 L, autoclavee el vaso SOLO con líquido en la camiseta doble.
- ✓ La válvula de sobrepresión debe estar insertada en el vaso.
- ✓ Todos los “cuellos” laterales no utilizados deben mantenerse cerrados con un tapón, arandela de metal y una tapa con rosca.
- ✓ Los conectores de los electrodos tienen que ser protegidos con una tapa, a excepción del tipo VarioPin, el cual no necesita protección.
- ✓ Todos los electrodos (pH, pO₂, X) que van a ser usados en la fermentación tienen que estar calibrados.
- ✓ Asegúrese de que todas las tuberías o mangueras que están conectados al extremo con el medio líquido estén cerradas.
- ✓ Las líneas de ventilación o venteo deben quedar abiertas para la compensación de la presión. Si no, una explosión o una implosión pueden ocurrir durante la esterilización en el autoclave.

Durante la esterilización, al menos un grupo de tuberías o mangueras tiene que ser utilizado para la **ventilación**. ¡Esto significa, **que al menos la que tiene acceso al espacio superior del fermentador no puede estar cerrada!** Esto es para la compensación de la sobrepresión que puede ocurrir durante el proceso de esterilización.



En la mayoría de los casos, **la salida de gas es la mejor ventilación**, ya que la tubería o manguera tiene un diámetro grande. Esta debe estar **equipada con un filtro de ventilación o venteo para la esterilidad** y el otro extremo de la línea debe estar en el espacio superior del vaso del MINIFOR y no en el medio.

¡Revise el filtro de gas en la línea que se utilizará para la ventilación, antes de cada esterilización! **¡Un filtro no obstruido impedirá que el vaso estalle durante las diferencias de presión!**



Asegúrese de que el filtro de gas de ventilación o venteo no esté obstruido, pruébelo haciendo pasar gas a presión a través de él (por ejemplo, mediante la línea de gas que está conectada al MINIFOR).



Para reducir el riesgo de contaminación, puede hacer todas las conexiones necesarias con el MINIFOR antes de la esterilización e incluso esterilizar las botellas con la solución correcta. Las tuberías o mangueras deben estar cerradas para evitar el flujo del medio y líquidos.



¡El conector del cable “hembra” sin un electrodo de pH debe estar siempre protegido con una tapa o cualquier otro medio contra la contaminación! No lo deje abierto nunca.



Figura 7.1—1 Llene 3/4 del vaso de reacción con tampón o medio de cultivo.

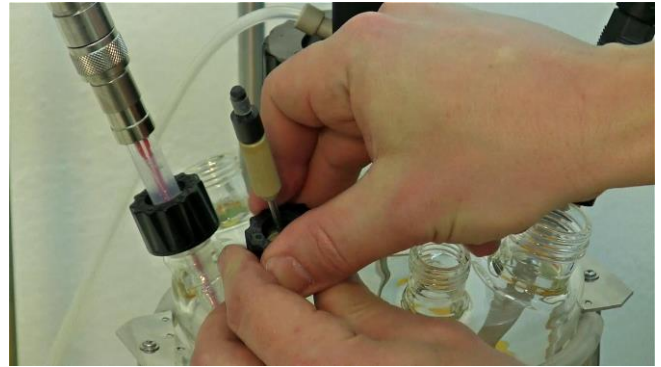


Figura 7.1—2 Compruebe si la válvula de sobrepresión ha sido insertada en el vaso.



Figura 7.1—3 Coloque el tapón cerrado o de cierre con la arandela de metal y una tapa con rosca en los cuellos laterales no utilizados del vaso.



Figura 7.1—4 Quite el cable de conexión a tierra de la cánula del vaso de reacción.



Figura 7.1—5 Retire el agitador de la unidad de agitación. Incline con cuidado el agitador de un lado al otro para sacarlo con mayor facilidad.



Figura 7.1—6 Desconecte el cable conector del electrodo de pO₂ del electrodo de pO₂.



Figura 7.1—7 Desconecte el conector del cable del electrodo de pH del electrodo de pH.



Figura 7.1—8 Proteja el conector del cable “hembra”: usando una tapa contra contaminación.

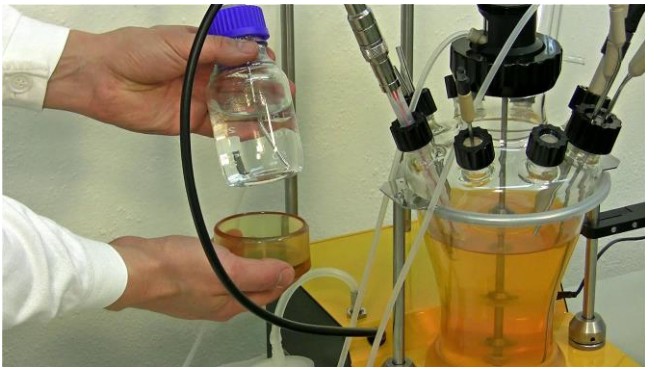


Figura 7.1—9 Retire los soportes magnéticos para botellas de las botellas de almacenamiento.



Figura 7.1—10 Almacene o guarde los soportes magnéticos de las botellas en la parte posterior de la unidad principal de control de la base.



Figura 7.1—11 Retire la jeringuilla del dispositivo de muestreo estéril. Cierre todas las pinzas de las tuberías o mangueras. Si el dispositivo de muestreo es empleado, entonces retírelo y desconéctelo de la cánula y la jeringuilla.



Figura 7.1—12 Pince todas las tuberías o mangueras y la línea de entrada de aire, excepto la línea de salida de aire con el condensador del gas de salida y el filtro de salida.



Figura 7.1—13 Retire las tuberías o mangueras para el ácido y la base de las bombas peristálticas.

7.2 Esterilización de las botellas de almacenamiento y de las líneas de tuberías o mangueras de las bombas

Puntos a tener en cuenta durante la preparación de las botellas de almacenamiento y las tuberías o mangueras de las bombas para la esterilización:

- ✓ Retire las tuberías o mangueras de las bombas peristálticas.
- ✓ Llene la autoclave, no use soluciones peligrosas dentro de la botella directamente para la esterilización.
- ✓ Llene la botella **hasta un máximo de 2/3** con líquidos / soluciones.
- ✓ Por razones de seguridad, se recomienda encarecidamente autoclavear las botellas de almacenamiento con algunas gotas de agua en lugar de ácido / base. Después de la esterilización, el ácido / base estéril puede ser llenado en los recipientes de almacenamiento estériles - aplicando las normas o reglas de la manipulación estéril.
- ✓ Pince o cierre la tubería o manguera entre la botella de almacenamiento y el vaso del fermentador. La línea de ventilación o venteo (la línea con filtro de gas sobre la botella) tiene que quedar abierta.



Figura 7.2—1 Soportes de las botellas de almacenamiento durante la esterilización.



Figura 7.2—2 Pince o cierre la tubería o manguera y compruebe que el filtro no esté obstruido o tupidó. Coloque las botellas en el soporte de las botellas de almacenamiento durante la esterilización.



Coloque la pinza de la tubería o manguera hacia el lado de la botella (más cercano posible). Esto evitará que el líquido almacenado entre en la tubería o manguera durante la esterilización en la autoclave.



¡No esterilice en la autoclave las botellas de almacenamiento con agentes peligrosos o corrosivos!

- Autoclavee o esterilice la botellas de almacenamiento vacías.
- Esterilice los líquidos corrosivos y peligrosos independientemente.
- Agregue o adicione los agentes corrosivos / peligrosos en las botellas de almacenamiento estéril después de la esterilización siguiendo las normas de manipulación estérilmente.



¡Utilice espejuelos de protección y guantes y siga las instrucciones de seguridad del laboratorio mientras manipule sustancias corrosivas u otros agentes peligrosos!



No utilice HCl como ácido para la reacción de fermentación, emplee en la medida de lo posible otros tales como H_3PO_4 o H_2SO_4 .

7.3 Esterilización del electrodo de pH-temperatura

Ningún cable “sobrevive” las condiciones de esterilización. El electrodo de pH (y todos los demás electrodos) tiene que ser desconectados de sus cables durante el proceso de esterilización en la autoclave.

El cabezal de Variopin del electrodo de pH (conector “macho”) está construido de manera tal que este puede ser esterilizado en un autoclave sin tapa de cubierta. En caso de contaminación, se puede limpiar fácilmente con agua destilada y secar con un papel limpio.

¡El electrodo de pH contaminado no debe ser conectado al cable conector del electrodo! El **conector “hembra” del cable sin un electrodo de pH debe estar siempre protegido por una tapa** u otro medio contra la contaminación! No lo deje nunca abierto en la mesa de trabajo.

Si la presión al final de la esterilización es liberada muy rápido, el agua de autoclave puede hervir y contaminar el conector del electrodo de pH. Ya que el agua de la autoclave se ensucia con frecuencia y que puede contener sales, medio y otros contaminantes que podrían contaminar electrodo pH. Por lo tanto, siempre **preste atención a la limpieza del conector del electrodo de pH antes de insertar electrodo en el cable conector.**

7.4 Lista de chequeo antes de la esterilización

Dado que el sistema biorreactor - fermentador MINIFOR tiene diferentes tamaños y permite distintos complementos o aditivos de acuerdo con la aplicación deseada, una lista de control general es entregada. Esta lista de control puede ser adaptada de acuerdo con el sistema utilizado.

Calibración:

- ✓ Electrodo de pH calibrado.
- ✓ Compruebe el electrodo de pH y su precalibrado.
- ✓ Precalibrado el electrodo “X” o del módulo de pesada.

Cables:

- ✓ Desconecte todos los cables.
- ✓ Extremos de los cables protegidos de líquidos con sales y polvo o suciedad.
- ✓ Protección de los conectores de cable “hembra” con tapas protectoras.

Vaso de reacción:

- ✓ Monte el vaso de reacción del MINIFOR en el sostenedor del vaso para autoclavarlo o esterilizarlo.
- ✓ Llene el MINIFOR hasta 2/3 del volumen con medio / tampón.
- ✓ Válvula de sobrepresión insertada.
- ✓ Acceso preparado para la inoculación (septum o tabique o botella de conexión o uniones por soldaduras de plástico o...).

Filtros de gas autoclaveables o esterilizables:

- ✓ Filtro de entrada de gas (direccionado dentro del tubo del o distribuidor de burbujas y / o aireación de la superficie opcional).
- ✓ Filtro de salida de gas (en el condensador de gas de salida).

Botellas de almacenamiento, tuberías o mangueras y pinzas:

- ✓ Tuberías o mangueras quitadas o retiradas de las bombas.
- ✓ Pince las tuberías o mangueras que están conectados con el medio líquido en el vaso de reacción.
- ✓ Coloque la pinza en la tubería o manguera lo más cercano posible a la botella.
- ✓ La tubería o manguera sin pinza debe terminar con un filtro para gases autoclaveable para la ventilación.
- ✓ Botellas de almacenamiento vacías para líquidos corrosivos / peligrosos se preparan con filtro de ventilación y una tubería o manguera.
- ✓ Los líquidos corrosivos y peligrosos deben ser envasados en botellas extras para la esterilización.
- ✓ En el caso de la filtración de líquidos no autoclaveables: prepare botellas de almacenamiento vacías y tuberías o mangueras para conexión al vaso del fermentador.
- ✓ Retire los soportes magnéticos de las botellas o frascos de almacenamiento.
- ✓ Ponga filtro de venteo en las botellas de almacenamiento.
- ✓ La línea de alimentación o suministro (s) y / o cosecha de medio se monta (con botellas de almacenamiento (vacías o llenas), conexión de botella, o uniones por soldaduras de plástico o.....).



La señal de ambos electrodos de pH y pO₂ es de muy alta impedancia. Por lo tanto cualquier **suciedad, solución salina u otra contaminación pueden afectar negativamente la precisión de la medición**. Estos contactos deben mantenerse **limpios**. (Evitar el exceso de ebullición al final de la esterilización).

Los conectores de los electrodos de pH y pO₂ se pueden limpiar con agua destilada y secarse con toallas de papel limpias.

Los enchufes o conectores "hembras" de los cables no se pueden limpiar y, por tanto, deben mantenerse absolutamente limpios.

7.5 Espacio en el autoclave y ciclo de esterilización

Esterilización del vaso del MINIFOR LAMBDA					
	Tipo de vaso (L)	0.3	0.4	1	3
Dimensiones					

del vaso montado para el autoclave					
Altura H [cm]	34	22	34	37	50
Diámetro D [cm]	22	23	25	34	30
Volumen de líquido / medio en el vaso para esterilización en autoclave	Llene de agua la doble cámara y ciérrela por el tubo de silicona.	Llene un máximo de 2/3 de la altura del depósito.			

El tiempo de esterilización varía según las características de la autoclave, ajustes de la temperatura, tamaño de los recipientes y los contenidos (es decir, propiedades de los medios). Si no hay ningún requisito específico para la esterilización, entonces, comience con las condiciones de autoclave a 121 °C y una presión de 15 a 20 psi y con un tiempo de esterilización de 15 a 20 minutos.

Elija el **programa de autoclave** para la **esterilización** de líquido o cualquier otro programa / manejo manual con fase de **enfriamiento lento** / **muy buena compensación de la presión**.



Asegúrese de que la **temperatura registrada en la cámara de la autoclave** es uniforme en toda la cámara.



No sobrecargue la cámara de esterilización en la autoclave. Esto puede conducir a una esterilización deficiente.



Asegúrese de que la **autoclave no tiene fuga de presión**, ya que esto afectará el proceso de esterilización.



Si es posible esterilice todas las tuberías o mangueras que están conectados a las botellas de repuesto y a las botellas de almacenamiento con las soluciones de corrección.

7.6 Reinstalación

Después de la esterilización, compruebe si las tuberías o mangueras y conexiones permanecen aseguradas y los filtros secos.

Si las reglas de manipulación estéril son cumplidas para las partes autoclaveadas, entonces la reinstalación del MINIFOR puede ser llevada a cabo. De lo contrario, la esterilización tiene que ser realizada nuevamente.

Consulte el capítulo 3.15 Conexiones de cables para reinstalación y conexiones de cables.

7.7 Prueba de esterilidad

La regla de oro para la prueba de esterilidad:

- La fermentación en modo de lote (batch) o volumen constante con bacterias / levaduras (hasta 3 días) = uso de medios baratos & corto períodos de tiempos. En este caso, la prueba de esterilidad podría costar más de lo que se ahorra en términos de tiempo y dinero.
- La fermentación en modo de operación continuo con células de mamíferos = uso de medios caros & largos períodos de tiempo. En este caso, la prueba de esterilidad podría ahorrar mucho tiempo y dinero

La prueba de esterilidad se tiene que hacer con las condiciones optimizadas, pero sin inoculación.

- Utilice el medio / tampón esterilizado en el vaso y fije los parámetros del proceso.
- Cambie el MINIFOR al modo de corrida y déjelo trabajar sin inoculación.
- Duración mínima de la prueba de esterilidad para la fermentación de bacterias y levaduras: entre toda la noche (8-12 h) y 24 h.
- Duración mínima de la prueba de esterilidad para el cultivo de células de mamíferos, células de plantas y hongos: 2,5 días ó 60 horas.
- Compruebe la esterilidad del medio utilizando las prácticas de laboratorio estándares para el control de la contaminación.
 - Si existe contaminación, entonces el equipo tiene que ser limpiado y esterilizado.
 - Si no, la inoculación / siembra puede ser ejecutada.



Si se debe hacer un HACCP (manejo de riesgos o análisis de riesgos) este debe ser hecho contra la contaminación conocida y si este se basa en esporas de bacterias: fije la mejor condición para ese tipo de contaminación durante la próxima prueba de esterilidad.

Ejemplo: Su fase de crecimiento a 37°C fue perfecta pero Ud tuvo contaminación con *Bacillus subtilis* durante su fase de producción a 30°C. Entonces Ud pondrá en su próxima prueba de esterilidad a 30°C para asegurarse de que todas las esporas murieron o fueron eliminadas y la contaminación no podrá ser detectada nuevamente.

8 Inoculación

Antes de la inoculación chequee o verifique los parámetros necesarios para el cultivo y las conexiones necesarias. Asegúrese de que todos los dispositivos de control están conectados y funcionan bien. Además, el medio debe ser acondicionado de acuerdo a la especificación para la fase de crecimiento del cultivo.



Si la temperatura de trabajo necesaria es **menor que 4°C** o si Ud necesita enfriamiento debido a la reacción exotérmica, entonces Ud puede cambiar el intervalo de control de temperatura mediante la adición del **dispositivo adicional de enfriamiento de Peltier**.



Si Ud **no necesita el control automático de un parámetro en particular**, entonces incluya **0 como valor prefijado o preestablecido de ese parámetro (SET POINT)**.



Si Ud **no necesita alertas ni acústicas ni visuales de un parámetro en particular**, entonces incluya **0.00 como valor de ALARMA BAJA** de ese parámetro.



Mientras trabaja en **ambientes húmedos** con medio enfriado o frío, un condensado puede formarse en la pared externa del vaso del MINIFOR y puede desplazarse hacia abajo y alcanzar el Sistema de calentamiento (o espiral de calentamiento). Con el objetivo de prevenir que el condensado alcance el interior del espiral de calentamiento y por debajo del vaso MINIFOR **coloque o ponga un parafilm** alrededor del vaso en su sitio de unión con el reservorio o enchufe donde va el vaso. Si Ud **duda de la medición de la temperatura** que ofrece el electrodo de temperatura, puede verificarlo mediante **la instalación de un termómetro** dentro del vaso y comparar los valores de ambos sensores al mismo tiempo o simultáneamente.



8.1 Lista de verificación o chequeo antes de la inoculación

Dado que el Sistema Fermentador-Biorreactor posee tamaños variados y cada uno tiene dispositivos de acuerdo a la aplicación deseada, aquí le suministramos una lista de chequeo o verificación. Esta lista puede ser adaptada de acuerdo al sistema utilizado.



Si la prueba de esterilidad fue hecha en el mismo medio que será empleado para la inoculación, tomará algún tiempo para el acondicionamiento del medio para la siembra / inoculación.

Electrodos:

- ✓ Conectado los electrodos con el cable conector.
- ✓ Los electrodos u otros dispositivos no deben tocar los discos agitadores durante la agitación.
- ✓ Polarización del electrodo de pO_2
- ✓ Recalibración del electrodo de pO_2
- ✓ ¿En caso de usar el módulo de pesada: precalibrado el módulo de pesada y todo puesto en el mejor lugar? ¿Está la bomba desconectada cuando el modo de operación discontinuo es necesario?

Botellas de almacenamiento, tuberías o mangueras y pinzas:

- ✓ Botellas de almacenamiento llenas con líquidos dentro.
- ✓ Reinserte las tuberías o mangueras en las bombas.
- ✓ Conecte las botellas de almacenamiento a los puertos del vaso MINIFOR.
- ✓ Retire las pinzas de las tuberías o mangueras.
- ✓ Retire las pinzas de la tubería o manguera del gas (burbujeador).
- ✓ Verifique todas las tuberías y pinzas.

Para el vaso del MINIFOR de 0.3L:

- ✓ Si se utiliza el disco agitador en forma de mariposa para el vaso de 0,3 L: el tubo o manguera de entrada de aire se fija (cierra con pinzas) de manera que no exista burbujeo.

Entrada de aire:

- ✓ Gas presurizado conectado a la parte posterior o trasera de la unidad principal del MINIFOR.

Control de parámetros:

- ✓ Fije los parámetros (valores preestablecidos, límites de alarma) de acuerdo con el requerimiento de la fase inicial del experimento.

Adaptadores del septum o tabique e inóculo:

- ✓ Buen acceso al septum o tabique u otro dispositivo para la inoculación / siembra.
- ✓ Inóculo preparado.

Cuando todo esté como debe ser, entonces cambie el modo de espera del MINIFOR a modo de regulación / corrida presionando **la tecla R**.

- ✓ Inicie la inoculación



Si es necesario, puede eliminar parcialmente el conjunto de cánulas del puerto cuádruple y cada aguja, electrodos y otras partes externas del vaso (ej., para el ajuste de nivel en el vaso). No hay prácticamente ningún riesgo de contaminación en este caso.



No empuje las agujas más allá del medio en interior del vaso. El peligro de contaminación es considerable en este caso. Si hay que hacerlo, tienes que usar un desinfectante conveniente. El tradicional flameo o esterilización con quemadores de aire caliente también es posible en algunos casos. Esto se reserva para las conexiones en recipientes abiertos, pero sólo cuando es inevitable. Las conexiones de PEEK con sello doble soportan temperaturas hasta 300 °C (pero se funden o derriten a 340 °C).

8.2 Proceso de inoculación



Figura 8.2—1 Como primer paso, afloje o libere la tapa de protección del septum o tabique.



Figura 8.2—2 Retire la tapa de protección del septum o tabique completamente y prepárese para la inoculación.



Figura 8.2—3 Inserte la jeringuilla cargada con el inóculo junto con la aguja de la jeringuilla dentro del cuerpo del adaptador del septum o tabique.



Figura 8.2—4 Inocule el medio líquido.



Figura 8.2—5 Retire la jeringuilla junto con la aguja del cuerpo del adaptador del septum o tabique.



Figura 8.2—6 Coloque nuevamente la tapa de protección del septum o tabique en forma segura.

9 Muestreo Estéril



Lave la tubería, manguera o línea antes de cada muestreo para mantener las condiciones de esterilidad. El procedimiento es el mismo al empleado para la toma de la muestra.



¡Nunca llene el dispositivo de muestreo completamente, evite que el medio toque la parte interior del tubo o manguera de entrada! (Si Ud necesita tomar un volumen mayor de la muestra, tómelo dos veces).

El dispositivo de muestreo tiene que ser esterilizado para mantener la esterilidad. La línea tiene que ser lavada antes de la toma de la muestra.

Lavado de la línea:



Figura 8.2—1 Abra la pinza de la tubería o manguera que se conecta con la jeringuilla.



Figura 8.2—2 Abra la pinza en la entrada del puerto de muestreo (es decir, entre el MINIFOR y el dispositivo de toma de muestra).



Figura 8.2—3 Hale el émbolo de la jeringuilla para llenar el dispositivo de toma de muestras de vidrio con la muestra del vaso de reacción. Nunca llene el dispositivo de vidrio completamente.



Figura 8.2—4 Cierre la pinza en la tubería o manguera de entrada para evitar la circulación inversa de la muestra en el vaso de reacción.



Figura 8.2—5 Retire el recipiente con Etanol al 70% dentro del cual la tubería o manguera de salida es sumergida.



Figura 8.2—6 Abra la pinza de la manguera de salida.



Figura 8.2—7 Utilice un recipiente para coleccionar la muestra del lavado. Presione el embolo de la jeringuilla para pasar el aire hacia el dispositivo de muestreo y por lo tanto provocar el paso del líquido de lavado desde el dispositivo de muestreo hacia la botella de desecho.

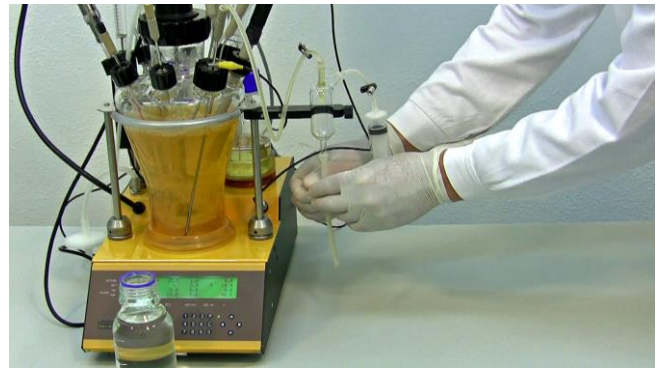


Figura 8.2—8 Cierre la pinza en la tubería o manguera de salida y si es necesario, colóquela en una solución de Etanol al 70% hasta que la muestra vuelva a ser tomada.

Muestreo:

Después de lavar la línea de muestreo, esta puede ser tomada dentro de un recipiente estéril.



Figura 8.2—9 Abra la pinza en la entrada del puerto de muestreo (es decir, entre el MINIFOR y el dispositivo de toma de muestra).



Figura 8.2—10 Hale el émbolo de la jeringuilla para llenar el dispositivo de muestreo de vidrio con la muestra proveniente del vaso de reacción. Nunca llene el dispositivo de vidrio completamente. Muestree dos veces si se requiere gran cantidad o volumen de muestra. Cierre la pinza de la entrada el puerto de muestreo. Abra la pinza en la salida.

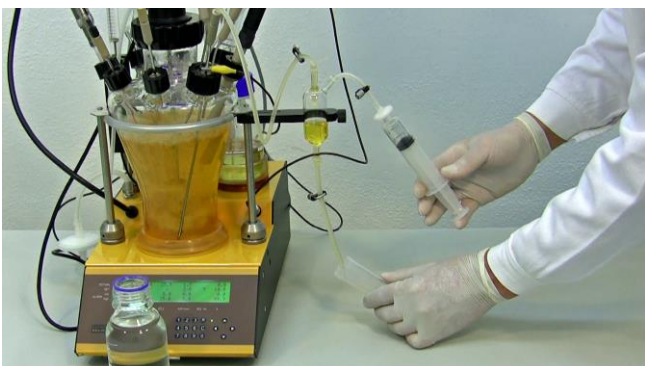


Figura 8.2—11 Empuje el émbolo de la jeringuilla para hacer pasar el aire al dispositivo de muestreo y por lo tanto provocar que fluya el líquido desde el dispositivo de muestro hacia el tubo de muestreo estéril. Asegure el tubo de muestreo con una tapa.



Figura 8.2—12 Cierre la pinza del tubo de salida.



Figura 8.2—13 Toda vez que el muestreo haya terminado, coloque la tubería o manguera de salida en una solución de Etanol al 70% y cierre todas las pinzas en el dispositivo de muestreo.



Es posible regresar el medio presente en la línea de muestreo hacia el vaso de reacción. **Aunque nosotros no recomendamos esto** normalmente, pues en caso de contaminación en la trampa de muestreo, se puede contaminar también el medio de reacción.

10 Mantenimiento

Es esencial limpiar y hacer el mantenimiento preventivo para mantener el sistema en la condición apropiada del trabajo.



Para la eliminación de los tapones y los electrodos, añada algunas gotas de agua destilada entre el tapón y la pared de vidrio. Inclínelos de un lado al otro mientras va halándolos hacia fuera.



Utilice cepillos con detergentes suaves para eliminar la suciedad y soluciones ácidas (ácido acético, ácido cítrico, o ácido hidroclicórico para eliminar los depósitos de sales).



El material elástico del microdistribuidor de burbujas no requiere limpieza. Si este es bloqueado, el cuerpo elástico del distribuidor de burbujas se inflará y el depósito bloqueador será liberado.

10.1 *Mantenimiento de la válvula de seguridad de sobrepresión.*

La válvula de seguridad debe estar perfectamente limpia y la tubería o manguera de silicona debe ser reemplazada o sustituida después de cada evento de sobrepresión. De lo contrario, la tubería o manguera puede pegarse y provocar la operación incorrecta de la válvula de sobrepresión.

10.2 *Mantenimiento y almacenamiento del electrodo de pH*

Todos los electrodos de pH envían una señal eléctrica de muy alta impedancia. Esta muy débil señal puede verse afectada por muchos efectos externos

El sudor de los dedos contiene al menos la concentración fisiológica de sales. Si el sudor contamina la región de contacto de vidrio y el electrodo de referencia, esto puede cambiar

drásticamente el valor del pH medido. Lo mismo ocurre si los contactos están o son contaminados por una solución tampón.

La medición de pH se vuelve prácticamente imposible, si una solución salada (o incluso el agua destilada o la humedad) penetra en el conector “hembra” del cable de conexión del electrodo de pH. Valores inexplicables de pH pueden ser detectados cuando la humedad y las sales afectan la señal de pH o incluso provocan potenciales electroquímicos. La señal de pH podría entonces dar un valor de pH 0 o 14, o permanecer constante alrededor de pH 7 debido un cortocircuito en el electrodo de vidrio.

En tal caso, normalmente es necesario cambiar el cable completo con el conector. Por tanto, es necesario llevar a cabo un trabajo absolutamente limpio con el electrodo de pH. Ni LAMBDA, ni ningún otro productor pueden cambiar las leyes de la química y la física por lo que los electrodos tienen que ser tratados con sumo cuidado.



El cabezal de Variopin del electrodo de pH (conector “macho”) se construye de manera tal que se pueda **esterilizar en la autoclave sin la cubierta**. En caso de contaminación, se puede limpiar fácilmente con agua destilada y secarlo con papel limpio y secante.



¡En ningún caso debe colocarse un electrodo de pH contaminado dentro del conector del cable! **¡El conector del cable (“hembra”) sin el electrodo de pH debe estar siempre protegido por una tapa o por otros medios** contra la contaminación! Nunca lo deje abierto en la mesa de trabajo.

10.2.1 Limpieza del electrodo de pH

Limpie el electrodo de pH con agua destilada y séquelo con papel secante antes de su almacenamiento.

En caso de contaminación, los siguientes procedimientos pueden ser útiles para proteger el electrodo. Sin embargo, estos tratamientos pueden conducir a la pérdida de la garantía.

Contaminación por lípidos o grasas:

Utilice detergentes, o solventes como el etanol, acetona y éter dietílico, estrictamente por un corto tiempo. Después, lave con agua destilada.

Contaminación con carbonatos e hidróxidos metálicos:

Agite la parte inferior del electrodo en una solución al 10% de HCl y lave con agua.

Contaminación con sulfuros:

Agite la parte inferior del electrodo en 10% de HCl saturado con tiourea y lave con agua.

Contaminación con proteínas:

Deje el electrodo en HCl 0,1M con 10 mg de pepsina/mL durante varias horas y lávelo con agua



Si nada ayuda, intente el viejo estilo de limpieza con ácido cromosulfúrico (mezcla sulfocrómica) durante 10 minutos y lave con agua destilada, además de con KCl. ¡El ácido cromosulfúrico (mezcla sulfocrómica) es muy peligroso!



El electrodo de pH no debe ser expuesto a por largos períodos de tiempo al agua destilada, esto puede provocar lentitud en la medición. Las zonas de intercambio de iones en el cristal, necesaria para la generación de la señal de pH pueden ser perturbadas.

10.2.2 Almacenamiento del electrodo de pH

El electrodo debe ser almacenado en posición vertical, con la punta del electrodo sumergido en una solución de 3 M de KCl o una solución tampón con pH neutro o agua del grifo o corriente. (Esto mantiene la zona de medición del intercambio de iones del cristal equilibrado). Si es posible, no sumerja el diafragma en el líquido.

Para el almacenamiento por un tiempo superior a 10 días, se recomienda lavar la parte inferior del electrodo con agua destilada y mantenerla seca. Evite la contaminación del bulbo de cristal con grasas, solventes orgánicos, ácido y bases fuertes.

10.3 Mantenimiento y almacenamiento del electrodo de pO_2

El electrodo de pO_2 puede ser lavado con un papel o tejido suave.

Una respuesta lenta del electrodo de pO_2 puede ser debido a la formación de depósitos sobre la membrana. Es posible limpiar la membrana con un papel suave y húmedo y una pequeña cantidad de detergente suave. Finalmente, la membrana debe ser lavada con agua destilada.

10.3.1 Mantenimiento y limpieza de la membrana pO_2



El electrolito para medir la pO_2 es una solución alcalina ($pH = 13$). Evite el contacto con la piel, especialmente con las mucosas o los ojos. El contacto con el electrolito es muy probable durante el intercambio de electrolitos o el módulo de membrana. Se recomienda el uso de guantes protectores. En caso de contacto, el área de contacto debe ser bien lavada con abundante agua fría. Reciba atención médica especializada si aparecen efectos o síntomas adversos.



Manipule cuidadosamente las partes o cuerpos interiores de vidrio, ya que cualquier grieta como resultado de golpes puede afectar de forma negativa el rendimiento del electrodo.



La membrana del electrodo de OD es muy delgada y por lo tanto muy sensible al contacto mecánico. Manipúlela con cuidado.

Cuando el electrodo de OD comience a mostrar señales de fallos (largo tiempo de respuesta, daños mecánicos, aumento de la corriente residual en un medio libre de oxígeno, etc), tiene que ser reemplazado o sustituido.

Si la reacción es rápida pero la señal es inestable, esto puede ser debido a la perforación de la membrana. Lo cual requiere también reemplazo o sustitución.

Al sustituir el módulo de membrana y el electrolito, siga estrictamente las instrucciones que se muestran a continuación:

1. Sostenga el electrodo o sensor en posición vertical (con la membrana hacia abajo) y desenrosque la membrana vieja.
2. Enjuague el cuerpo interior del electrodo con agua destilada y séquelo cuidadosamente con una tela o paño suave y libre de pelusas. Seque el cátodo (del círculo de platino con 1 mm de diámetro en la punta de la parte de vidrio) con una tela o paño suave y libre de pelusas.

3. Inspeccione visualmente la junta tórica por defectos mecánicos y reemplácela si es necesario.
4. Llene el módulo de membrana aproximadamente a la mitad con el electrolito O₂ (aproximadamente 30 gotas de electrolito OD (art. no 800097: Solución del electrodo del OD)). Agite el electrolito hacia abajo en la dirección de la punta y empuje el nuevo módulo de membrana en el cuerpo ligeramente inclinado de modo que los conectores con rosca doble exterior de silicona del interior del módulo de la membrana ajusten en las ranuras correspondientes en el electrodo de OD. Elimine el exceso de electrolito con un papel secante. Ajuste la cubierta o (manga) del módulo de membrana en el electrodo de OD. La cubierta aprieta fácilmente sobre la junta tórica.
5. Después de cada cambio del electrolito o el módulo de membrana, el electrodo o sensor de OD tiene que ser repolarizado y recalibrado (vea la sección correspondiente del manual del MINIFOR LAMBDA).

10.4 Limpieza del vaso de reacción

Después de cada reacción, el vaso y los componentes del vaso deben ser limpiados cuidadosamente. Si fuese necesario, descontamine el vaso mediante autoclaveo o esterilización.



Llene siempre el vaso del MINIFOR antes de autoclavarlo o esterilizarlo. ¡Pero asegúrese de no usar más de 2/3 de volumen del vaso!

Método 1:

Use un detergente suave y un cepillo para tubos de ensayo para limpiar el vaso y los cuellos laterales. Lave todos los componentes con agua corriente o del grifo. Enjuáguelos con agua desionizada o destilada y séquelos bien antes de colocarlos en el soporte del recipiente.

Método 2:

Vacíe el vaso. Llene el vaso hasta aproximadamente el volumen de trabajo máximo con agua. Ensamble el vaso y sus componentes y encienda la agitación. Después de 10-15 minutos, deseche el agua. Desensamble el vaso y sus componentes, y lávelos con detergente suave.

10.5 Mantenimiento de las entradas estériles y los filtros de salida

No aplique limpieza. Las membranas de los filtros que están bloqueadas por la humedad se pueden secar gasificando los filtros cuidadosamente con aire seco, limpio y presurizado o a presión. Si el medio de cultivo o la espuma entran en los filtros, entonces deben sustituirlos.

Los filtros pueden ser esterilizados varias veces en la autoclave. Sin embargo, los mismos deberán ser sustituidos o reemplazados si son dañados o están bloqueados completamente.

Limpie las tuberías o mangueras utilizadas, y verifique cuidadosamente el daño en estas. La tubería o manguera tiene que ser sustituida o reemplazada, si está dañada.

11 Solución de problemas

Cuando una señal de error ' _ ' aparece debajo de los valores del agitador (mix Hz)

La señal de alerta y de error significa que hay agua en la parte del calentamiento (bajo el vaso) y por lo tanto el sistema de seguridad apaga el sistema de calentamiento.

Desconecte el Fermentador y seque el Sistema de calentamiento debajo del vaso y también la región externa del fondo del vaso de reacción. El agua puede entrar en estas áreas del fermentador debido a condensaciones. La mejor solución es colocar una capa de parafilm sobre el vaso de reacción en su región de unión con el borde del su reservorio en el sistema de calentamiento-esta solución al problema, aísla la espiral de calentamiento del agua.

¿Cómo suministrar aire presurizado de entrada?

El aire presurizado de entrada puede ser suministrado al fermentador mediante el AeroSilento (compresor de aire libre de aceite y una bomba de vacío).

O los gases provenientes de cualquier suministro de aire siempre y cuando la presión esté entre 0.05 y 0.2 MPa. Esto puede ser a partir de los cilindros o bombonas de gases o el aire presurizado que pasa a través de válvulas de gases ubicadas en el laboratorio.

Fluctuación en la medición de la pO_2

Burbujas que se pueden formar accidentalmente sobre la membrana pueden causar variación en la señal. Debido a la rápida respuesta del electrodo, es posible que esto sea visto o se interprete como variaciones en la señal, especialmente a concentraciones bajas de OD.

Largo tiempo de respuesta del electrodo de pO_2

Si el tiempo de respuesta del electrodo de OD es largo, entonces esto es una señal de que debe cambiar el:

- Electrolito de OD
- Módulo de membrana

Cuando no existe flujo de aire

La entrada de aire está en la parte posterior o trasera del MINIFOR. Desde allí, el aire pasa a través de la unidad Massflow y luego a través de la válvula electrónica de aguja. El aire saldrá por la abertura ubicada en la parte superior izquierda de la unidad principal de control. Por favor, no lo use en la secuencia contraria u opuesta.

Cuando el cultivo tiene que ser aireado, asegúrese de emplear un suministro de aire de buena calidad, el cual pueda entregar un flujo de aire en el intervalo de presión de 0,1 a 0,2 MPa, pero no más.

¿Cuáles procesos necesitan un control automático del antiespumante?

Muy recomendable para el uso del control automático del antiespumante para los procesos que incluyen:

- Medio con albúmina sérica bovina (BSA).
- Formación de alta concentración de proteínas.
- Cultivo incrementado o volumen variable, con suministro de C y alta densidad de células de *E. coli* o levaduras.

Si tiene más preguntas, por favor contáctenos a través support@lambda-instruments.com

12 Especificaciones Técnicas

Biorreactor – fermentador MINIFOR compacto a escala de banco (cabe en una mesa de laboratorio) controlado por un microprocesador.

Energía	Fuente de energía universal para 100-245 V AC/50 -60 Hz, 560 W, conforme con la CE.
Pantalla o monitor	LCD de 4 x 40 dígitos con iluminación de fondo.
Dimensiones	22 x 40 x 38 cm (A x D x H)
Vasos de reacción del fermentador	Vasos de 0,3, 0,4, 1,3, y 6 L de vidrio de borosilicato Pyrex con 6-8 cuellos con roscas
Control de la Temperatura	Fuente de calor mediante radiaciones infrarrojas (IR) de alta eficiencia de 150 W con reflector parabólico dorado. Desde 5°C sobre la temperatura ambiente hasta 70°C
Regulación	Desde 5°C sobre la temperatura ambiente hasta 70°C
Medición	Desde 0 hasta 99.9°C en pasos de 0.1°C
Precisión	+/- 0.2°C (0 hasta 60°C)
Sensor	Pt 100 incorporada en el electrodo de vidrio del electrodo de pH.
pH control	Un electrodo de pH 0 - 14 esterilizable, con corrección automática de la temperatura, calibración semiautomática de dos puntos y conector Variopin.
Resolución	0.01 unidades de pH
Precisión	+/- 0.02 unidades de pH
pO₂ control	El electrodo o sensor de oxígeno tipo Clark esterilizable con una respuesta rápida, corrección automática de la temperatura, calibración semiautomática de dos puntos, y control de oxígeno disuelto (OD) a través de la regulación del flujo de aire.
Intervalo	0 hasta 25 mg de oxígeno/ L, en pasos de 0.1 mg/L
Flujo de aire	De 0 a 5 L/min en intervalos o pasos de 0,01 L/min, medido por un medidor preciso de flujo de masa, linealidad + / - 3%, reproducibilidad + / - 0,5%.
Control	Válvula proporcional controlada por microprocesador

Presión del aire suministrado	0.05 – 0.2 MPa (0.5 - 2 atm)
Agitación	Vibromezclador de 50 W de 0 a 20 Hz (de 0 a 1200 rpm) en intervalos o pasos de 0,1 Hz (6 rpm) con 1 o más discos de agitación; esterilidad similar al acoplamiento magnético.
Parámetro seleccionable	Un parámetro adicional puede ser controlado por el instrumento (control de la formación de espuma, el peso (para cultivos continuos), pCO ₂ , potencial redox, conductividad, densidad óptica, etc); con normas o estándares de salida de 0-10V o 0-20mA.
Puertos	Un puerto de muestreo cuádruple grande o puerto para adiciones con cuatro agujas con conexiones de PEEK con doble sello LAMBDA utilizados para el muestreo, inoculación, anti-espumante, suministro de medio, cosecha, adición de soluciones de corrección, etc, puertos adicionales dobles existen también disponibles.
Bombas	Hasta 4 bombas independientes (PRECIFLOW, MULTIFLOW, HIFLOW o MAXIFLOW) con variación de la velocidad de 0 a 100% pueden ser utilizadas con el biorreactor - fermentador de laboratorio MINIFOR.
Control del flujo de gas	Además de las bombas, varios controladores electrónicos de flujo con intervalos de flujo de 0 - 5 L/min (MASSFLOW 5000) ó 0 - 500 mL/min (MASSFLOW 500) puede ser utilizados para la adición regulada de los gases (por ejemplo, N ₂ , O ₂ , aire, CO ₂) en cultivos celulares; módulo de estación de gases de configuración libre.
Temperatura de trabajo	0 - 40 °C
Humedad de trabajo	0 - 90 % Humedad relativa, sin condensación
Seguridad	IEC 1010/1
Peso	7.5 kg
Control del ordenador o computadora	Control completo mediante el ordenador o computadora y el procesamiento de datos de la fermentación utilizando el programa FNet (para un máximo de 6 fermentadores MINIFOR) o SIAM (para un número aún mayor de instrumentos).

13 Declaración de la CE

LAMBDA, declara por la presente que el equipo que se describe a continuación se ajusta a los requerimientos fundamentales de seguridad y salud de las directivas pertinentes de la CE, tanto en su diseño básico y la construcción, como en la versión comercializada por nosotros.

Esta declaración dejará de ser válida si se realiza cualquier modificación al equipo sin nuestra debida aprobación.

Producto: Fermentador-Biorreactor de Laboratorio
Modelo: MINIFOR
No. de Catálogo: 800010

Directivas correspondientes de la CE:

- Directiva de Equipo de Bajo - Voltaje de EC, 73/23/EEC
Revisado de acuerdo a 93/68/EEC

- Directiva de la CE sobre compatibilidad electromagnética
(EMC) 89/336/EEC

modificada por 91/263/EEC; 92/31/EEC; 93/68/EEC

Normas o estándares armonizadas aplicadas:

EN 60950 (IEC 950:1991)
EN 50081-1, (EN 55022)
EN 50082-1, (EN 55024)
EN 61000-3-2 y EN 61000-3-3

Este instrumento fue probado en una condición típica.

14 Garantía

LAMBDA brinda dos años de garantía sobre los defectos del material y manufactura, sólo si el instrumento fue utilizado de acuerdo al manual de operación

Condiciones de Garantía:

- El instrumento debe ser devuelto junto con una descripción completa del problema o defecto encontrado. Para devolver el equipo para su reparación, usted necesitará un número de autorización de reparación y regreso de LAMBDA.
- El cliente podrá enviar el instrumento hacia nuestra oficina de servicio.
- Daños o pérdidas de los elementos o partes durante la transportación no serán compensados por LAMBDA.
- Fallas en el cumplimiento de estos requerimientos excluirá al cliente de la compensación.

Número de serie: _____

Garantía desde: _____