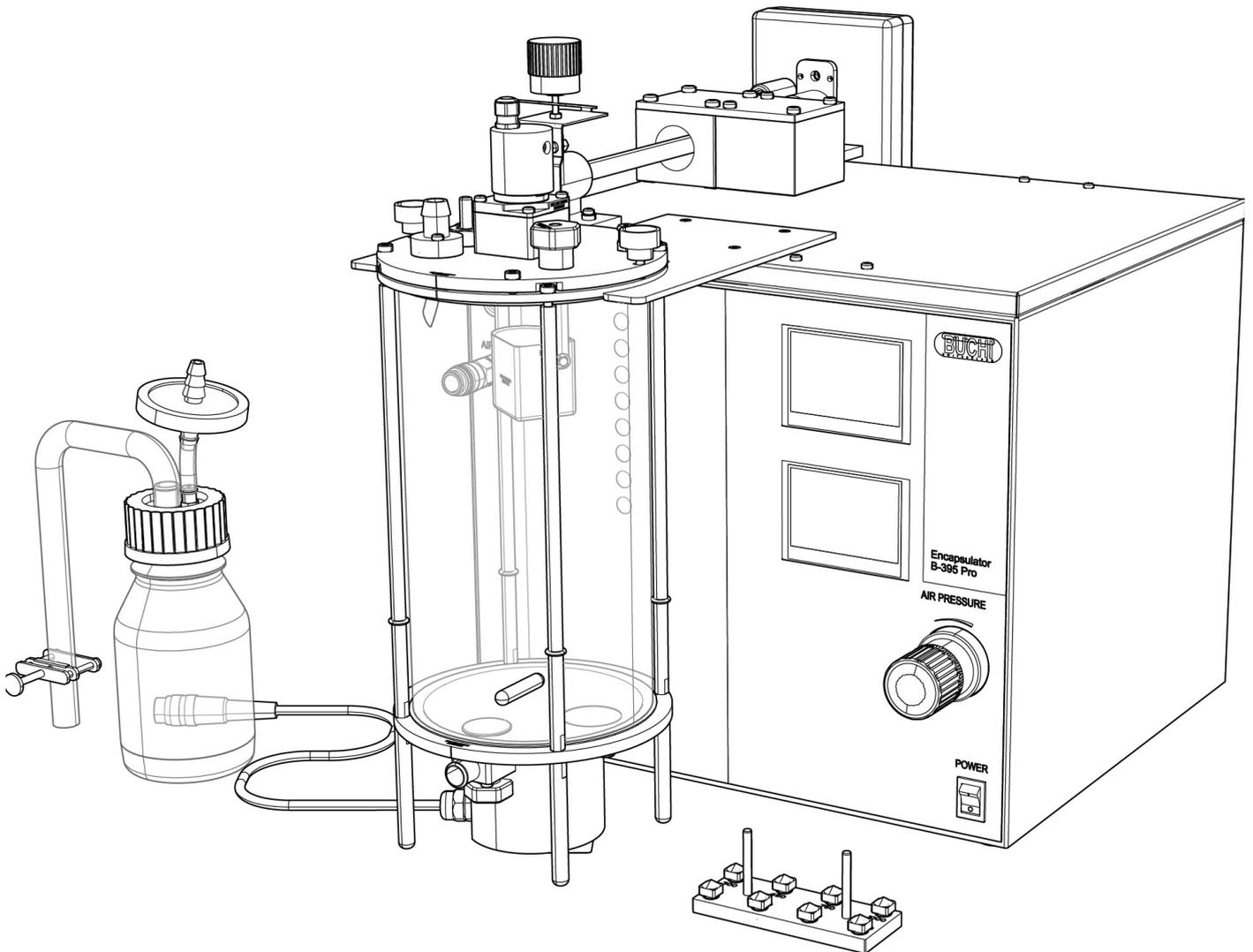




Encapsulator B-395 Pro

Manual de instrucciones



Pie de imprenta

Identificación del producto:

Manual de instrucciones (Original) Encapsulador B-395 Pro
11593488E es

Fecha de publicación: 05.2016

BÜCHI Labortechnik AG

Meierseggrasse 40

Postfach

CH-9230 Flawil 1

Correo electrónico: quality@buchi.com

BUCHI se reserva el derecho de modificar este manual cuando lo considere necesario, en particular en lo referente a la estructura, las imágenes y los detalles técnicos.

Este manual de instrucciones está sujeto a derechos de autor. Queda terminantemente prohibido reproducir la información que contiene, distribuirla, utilizarla para propósitos de competencia y ponerla a disposición de terceros.

También está prohibida la fabricación de componentes con la ayuda de este manual sin el consentimiento previo por escrito de BUCHI.

Table of contents

1	Sobre este manual	5
2	Seguridad	6
2.1	Calificación del usuario	6
2.2	Uso adecuado	6
2.3	Uso inadecuado	6
2.4	Advertencias y símbolos de seguridad usados en este manual	7
2.5	Seguridad del producto	9
2.5.1	Peligros generales	9
2.5.2	Medidas de seguridad	10
2.5.3	Elementos y medidas de seguridad incorporados	10
2.6	Normas generales de seguridad	11
2.7	Exención de responsabilidad	11
3	Datos técnicos	12
3.1	Ámbito de aplicación y suministro	12
3.1.1	Dispositivo estándar	12
3.1.2	Accesorios estándar	13
3.1.3	Accesorios opcionales	14
3.1.4	Piezas de recambio recomendadas	14
3.2	Datos técnicos	15
3.3	Materiales utilizados	16
4	Descripción del funcionamiento	17
4.1	Principio de funcionamiento	17
4.2	Conexiones del Encapsulador B-395 Pro	19
5	Puesta en marcha	20
5.1	Lugar de instalación	20
5.2	Instalación del Encapsulador B-395 Pro	21
5.3	Conexiones eléctricas	22
5.4	Montaje del recipiente de reacción	23
5.4.1	Tapa	24
5.4.2	Placa base	28
5.4.3	Frasco colector de perlas	30
5.5	Sistemas de bombeo	31
5.5.1	Bomba con jeringa	31

Lea este manual atentamente antes de instalar y poner en funcionamiento el sistema y tenga en cuenta las precauciones referentes a la seguridad, especialmente las recogidas en el capítulo 2. Guarde el manual cerca del dispositivo para que se pueda consultar en cualquier momento.

En el equipo no se pueden realizar modificaciones técnicas sin el consentimiento previo por escrito de BUCHI. Las modificaciones no autorizadas pueden afectar a la seguridad del sistema, la conformidad con la UE o causar accidentes.

Este manual está sujeto a derechos de autor. La información recogida en él no se puede poner a disposición de terceros ni reproducir, distribuir o usar para propósitos que representen competencia. Asimismo, queda prohibida la fabricación de cualquier componente con la ayuda de este manual sin acuerdo previo por escrito.

El idioma original del manual es el inglés y servirá de base para las traducciones en el resto de los idiomas.

5.5.2	Botella de presión	32
5.5.3	Instalación de la botella de presión	33
5.6	Opción: Sistema de boquillas concéntricas	34
5.6.1	Montaje de boquillas CN	36
5.7	Todas las piezas del Encapsulador B-395 Pro	37
5.8	Última comprobación de la instalación	37
6	Funcionamiento	38
6.1	Puesta en marcha del equipo	38
6.2	Pantallas principales.	38
6.3	Estructura del menú de la unidad de control	39
6.4	Funciones del menú de la pantalla táctil superior	40
6.5	Funciones del menú de la pantalla táctil inferior	42
6.5.1	Menú para la calibración de la bomba con jeringa.	43
6.5.2	Selección de una jeringa calibrada	44
6.6	Control manual de presión de aire.	45
6.7	Manejo de la bomba con jeringa	46
6.7.1	Calibración de la bomba con jeringa	46
6.7.2	Selección de una jeringa precalibrada	46
6.8	Practicar con el Encapsulador usando agua	47
6.8.1	Uso de la bomba con jeringa	47
6.8.2	Uso de la botella de presión.	50
6.9	Practicar con el Encapsulador usando solución de alginato no estéril	53
6.9.1	Preparación de solución de Na-alginato al 1,5 %	53
6.9.2	Cómo trabajar con la bomba con jeringa	54
6.9.3	Cómo trabajar con la botella de presión.	57
6.10	Practicar con el Encapsulador trabajando con el recipiente de reacción completo	59
6.11	Esterilización por calor del recipiente de reacción	61
6.12	Esterilización de la botella de presión	61
6.13	Procedimiento de encapsulación para la inmovilización de los microorganismos en las perlas de Ca-alginato	62
6.14	Protocolo de encapsulación de membranas de alginato-PLL-alginato.	64
6.15	Fundamentación teórica.	67
6.15.1	Productividad y densidad celular de las perlas	69
7	Mantenimiento y reparación	72
7.1	Servicio de asistencia al cliente	72
7.2	Estado del armazón	72
7.3	Estado de los sellos	72
7.4	Limpieza	73
7.4.1	Limpieza de la boquilla después de cada inmovilización.	73
7.4.2	Limpieza de una boquilla obstruida	74
7.4.3	Limpieza del recipiente de reacción y de los demás recipientes	74
8	Corrección de errores.	75
8.1	Anomalías en el funcionamiento y su solución.	75
9	Apagado, almacenaje, transporte y eliminación	76
9.1	Almacenaje y transporte.	76
9.2	Eliminación	77
10	Declaraciones y requerimientos	78
10.1	Requerimientos FCC (para EE.UU. y Canadá)	78
10.2	Formulario aclaratorio sobre salud y seguridad	79
10.3	Declaración de conformidad	80

1 Sobre este manual

En este manual se describe el Encapsulador B-395 Pro. Proporciona toda la información necesaria para un funcionamiento seguro y para mantenerlo en buenas condiciones de funcionamiento. Está especialmente dirigido al personal de laboratorio.

Si el equipo se usa de algún modo no especificado en este manual, podría verse perjudicada la protección que proporciona.

Abreviaturas

<i>EPDM</i>	Dimonómero de etileno propileno
<i>FEP</i>	Fluorelastómero
<i>PTFE</i>	Politetrafluoroetileno

2 Seguridad

Este capítulo detalla la seguridad del equipo y contiene normas generales de comportamiento y advertencias sobre peligros directos e indirectos relacionados con la utilización del producto. Por la propia seguridad del usuario se deben observar y seguir estrictamente todas las instrucciones y mensajes de seguridad de cada capítulo. Por este motivo, el manual ha de estar en todo momento disponible para todas las personas que realicen las tareas que aquí se describen.

2.1 Calificación del usuario

El equipo sólo debe ser utilizado por personal de laboratorio y otras personas que, gracias a su formación y experiencia profesional, conozcan los peligros que pueden surgir al manejarlo. El personal o las personas sin formación que estén recibiendo formación actualmente tienen que estar supervisados detenidamente por una persona calificada. Este manual de instrucciones sirve como base para la formación.

2.2 Uso adecuado

El Encapsulador B-395 se ha concebido y fabricado como un instrumento de laboratorio.

El Encapsulador B-395 es un equipo semiautomático que se utiliza para la encapsulación polimérica de sustancias químicas, biomoléculas, fármacos, sabores y fragancias, pigmentos, extractos, células y microorganismos en condiciones abiertas. La formación de perlas se produce cuando un chorro de líquido laminar controlado se deshace en perlas de igual tamaño si vibra a un frecuencia óptima.

El Encapsulador B-395 ofrece precisamente dichas condiciones de trabajo para generar perlas de entre 0,15 y 2 mm. El equipo es especialmente idóneo para encapsular partículas < 50 µm.

Si el equipo se utiliza con sustancias potencialmente tóxicas o peligrosas, se debe instalar dentro de una campana de extracción cerrada o una caja seca. En ese caso, el proceso completo y el tratamiento del sistema se deben realizar dentro de la caja ventilada para evitar la intoxicación u otras situaciones peligrosas para el usuario y el medio ambiente.

2.3 Uso inadecuado

Las aplicaciones no mencionadas en el apartado 2.2 se consideran inadecuadas. Las aplicaciones que no cumplan con las características técnicas (véase apartado 3 de este manual) también se consideran inadecuadas.

El usuario es el único responsable de cualquier daño o peligro causado por un uso inadecuado.

Quedan expresamente prohibidas las utilizaciones siguientes:

- Instalación o utilización del equipo en salas que precisan de dispositivos con protección Ex.

2.4 Advertencias y símbolos de seguridad usados en este manual

PELIGRO, ADVERTENCIA, PRECAUCIÓN y AVISO son palabras de señalización estandarizadas para identificar niveles de riesgos relacionados con lesiones personales y daños materiales. Todas las palabras de señalización relacionadas con lesiones al personal van acompañadas por la señal de seguridad general.

Por su seguridad, es importante que lea y comprenda en su totalidad la tabla que aparece a continuación con las diferentes palabras de señalización y sus definiciones.

Signo	Palabra de señalización	Definición	Nivel de riesgo
	PELIGRO	Indica la existencia de una situación peligrosa que de no evitarse provocará la muerte o lesiones graves.	★★★★
	ADVERTENCIA	Indica la existencia de una situación peligrosa que de no evitarse podría provocar la muerte o lesiones graves.	★★★☆☆
	PRECAUCIÓN	Indica la existencia de una situación peligrosa que de no evitarse podría provocar lesiones de poca importancia o moderadas.	★★☆☆☆
no	AVISO	Indica posibles daños materiales, pero no prácticas relacionadas con lesiones personales.	★☆☆☆☆ (sólo daños materiales)

Se pueden poner símbolos de información de seguridad complementarios en un panel rectangular a la izquierda de la palabra de señalización y el texto complementario (véase el ejemplo de abajo).

Espacio para símbolos de información de seguridad complementarios.	PALABRA DE SEÑALIZACIÓN
	<p>Texto complementario que describe el tipo y el nivel de gravedad del peligro/riesgo.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Lista de medidas para evitar el peligro o la situación de peligro aquí descrita. • ... • ...

Tabla de símbolos de información de seguridad complementarios

La lista de referencia que aparece a continuación incluye todos los símbolos de información de seguridad empleados en este manual y su significado.

Símbolo	Significado
	Advertencia general
	Peligro derivado de la electricidad

	Gases explosivos, ambiente explosivo
	Perjudicial para seres vivos
	Equipo dañado
	Aire/gas presurizado
	Lleve una bata de laboratorio
	Lleve gafas protectoras
	Lleve guantes protectores

Información adicional para el usuario

Los párrafos que empiezan con NOTA incluyen información útil para trabajar con el dispositivo/software o sus complementos. Las NOTAS no están relacionadas con ningún tipo de peligro o daño (véase el ejemplo de abajo).

NOTA

Consejos útiles para el fácil manejo del equipo/software.

2.5 Seguridad del producto

Las advertencias de seguridad de este manual (como se describen en el *apartado 2.4*) sirven para alertar al usuario y evitar situaciones peligrosas derivadas de peligros por sustancias residuales proporcionando las contramedidas adecuadas. Sin embargo, se pueden derivar riesgos para los usuarios, los inmuebles y el medio ambiente si el equipo está dañado o se usa sin cuidado o de forma incorrecta.

2.5.1 Peligros generales

Los mensajes de seguridad siguientes muestran riesgos de tipo general que pueden aparecer cuando se maneja el equipo. El usuario debe observar todas las contramedidas enumeradas para conseguir y mantener el nivel de peligro más bajo posible.

Se pueden encontrar mensajes de advertencia adicionales siempre que las acciones y situaciones descritas en este manual estén relacionadas con peligros situacionales.

 	 Advertencia
	<p>Muerte o lesiones graves por uso en ambientes explosivos.</p> <ul style="list-style-type: none"> • No maneje el equipo en ambientes explosivos. • No maneje el equipo con mezclas de gas explosivo. • Antes de la operación, compruebe la correcta instalación de todas las conexiones de gas. • Retire directamente los gases y sustancias gaseosas emitidas mediante una ventilación suficiente.

 	 Advertencia
	<p>Aumento de la presión en el sistema de entrada debido a boquillas obstruidas.</p> <p>Explosión del sistema de entrada.</p> <p>Muerte o envenenamiento grave por contacto o incorporación de sustancias perjudiciales durante el uso.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Limpie la boquilla inmediatamente después del uso; consulte el <i>apartado 7.4</i>.

	 Advertencia
	<p>Muerte o lesiones graves por contacto con alto voltaje.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Abra el armazón del producto solamente cuando el aparato esté apagado y desenchufado.

	Aviso
	<p>Riesgo en el equipo de cortocircuitos y daños causados por líquidos.</p> <ul style="list-style-type: none"> • No vierta líquidos sobre el equipo ni ninguna parte del mismo. • Seque cualquier líquido inmediatamente. • Cerciórese de que el recipiente para muestras esté en una posición segura. • No mueva el equipo cuando esté cargado de líquido. • Mantenga el equipo alejado de vibraciones exteriores.

 	Aviso
	<p>Riesgo de dañar el equipo por alimentación eléctrica errónea.</p> <ul style="list-style-type: none"> • La conexión a la red exterior tiene que cumplir el voltaje indicado en la placa de identificación del equipo. • Compruebe que haya suficiente toma a tierra.

	Aviso
	<p>Riesgo de daño de los recipientes de vidrio o utensilios de laboratorio al mover la unidad de la bomba con jeringa.</p> <ul style="list-style-type: none"> • No coloque ningún recipiente de vidrio ni otros utensilios de laboratorio sobre el Encapsulador.

2.5.2 Medidas de seguridad

Lleve siempre equipo de protección personal, como gafas, ropa y guantes de protección cuando trabaje con el equipo.

2.5.3 Elementos y medidas de seguridad incorporados

Alto voltaje y cargas electrostáticas

- Limitación actual de seguridad.
- Toma a tierra interna para detener las cargas electrostáticas.

Aire/gas

- Válvula de seguridad para exceso de presión (se abre a 1,5 bares).

2.6 Normas generales de seguridad

Responsabilidad del operador

El jefe del laboratorio es responsable de formar a su personal.

El operador debe informar al fabricante sin demora de cualquier incidente relacionado con la seguridad que se produjera durante el manejo del equipo. Hay que seguir de forma escrupulosa las regulaciones legales ya sean locales, estatales o nacionales que conciernen al equipo.

Obligaciones de mantenimiento y cuidado

El operador es responsable del estado adecuado del equipo en uso y de que las labores de mantenimiento, arreglo y reparación sean realizadas con cuidado y de forma oportuna exclusivamente por personal autorizado.

Piezas de recambio a emplear

Utilice sólo consumibles y piezas de recambio originales para el mantenimiento para asegurar el buen funcionamiento y la seguridad del sistema. Cualquier modificación de las piezas de recambio empleadas sólo se permite con el consentimiento previo por escrito del fabricante.

Modificaciones

Las modificaciones en el equipo sólo se permiten tras consulta previa y con la aprobación por escrito del fabricante. Las modificaciones y actualizaciones han de ser realizadas exclusivamente por ingenieros técnicos autorizados de BUCHI. El fabricante rechazará cualquier reclamación consecuencia de modificaciones no autorizadas.

2.7 Exención de responsabilidad

El uso y la comercialización de cualquier material producido con el Encapsulador son responsabilidad exclusiva del operador.

3 Datos técnicos

Este capítulo presenta el equipo y sus características al lector. Incluye las especificaciones de suministro, las características técnicas, los requisitos y los datos de rendimiento.

3.1 Ámbito de aplicación y suministro

El Encapsulador B-395 Pro está disponible

- para condiciones de trabajo estériles en un recipiente de reacción cerrado
- con jeringa integrada en el sistema.

Las especificaciones de suministro sólo se pueden comprobar según cada lista individual de entrega y los números de pedido indicados.

NOTA

Para más información sobre los productos enumerados, consulte www.buchi.com o póngase en contacto con su proveedor local.

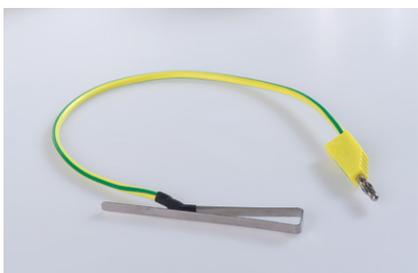
3.1.1 Dispositivo estándar



Tabla 3-1: Dispositivo estándar

Producto	N.º de pedido
Encapsulador B-395 Pro 50 – 60 Hz, 100 – 240 V	11058220
Encapsulador B-395 Pro 50 – 60 Hz, 100 – 240 V con documentación de buenas prácticas de fabricación	11058230
Sistema completo del Encapsulador B-395 Pro para procedimientos estériles con bomba con jeringa integrada, agitador magnético y recipiente de reacción cerrado.	

3.1.2 Accesorios estándar

**Tabla 3-2: Accesorios estándar**

Producto	N.º de pedido
Recipiente de reacción	11057890
Recipiente de reacción con documentación de buenas prácticas de fabricación	11057879
Reactor completamente esterilizable en el autoclave, fabricado con vidrio y acero inoxidable para la producción y obtención estériles de microcápsulas, con volumen de trabajo de 2 litros	
Conjunto de 8 boquillas individuales	11057918
Conjunto de 8 boquillas individuales con abertura de alta precisión de 0,08, 0,12, 0,15, 0,20, 0,30, 0,45, 0,75 y 1,00 mm, de acero inoxidable 316L, incluido el soporte para boquillas	
Botella de presión de 500 mL	11058190
Botella de presión de 1.000 mL	11058191
Botellas de cristal con adaptadores, tubos y filtro de aire, presión de trabajo hasta 1,5 bares, esterilizable en el autoclave	
Conjunto de toma a tierra	11058189
Manual de instrucciones en español	11593484

3.1.3 Accesorios opcionales



Tabla 3-3: Accesorios opcionales

Producto	N.º de pedido
Conjunto de boquillas concéntricas	11058051
Conjunto de 7 boquillas individuales con abertura de alta precisión de 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7 y 0,9 mm, de acero inoxidable, incluida la botella de presión de 1.000 mL	

3.1.4 Piezas de recambio recomendadas

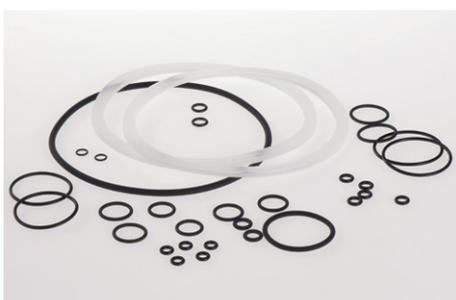


Tabla 3-4: Piezas de recambio recomendadas

Producto	N.º de pedido
Conjunto de juntas tóricas para boquilla individual	11057954
Conjunto de juntas tóricas para boquilla concéntrica	11057955
Conjunto de juntas tóricas para recipiente de reacción	11057970



Prefiltros para boquilla, diámetro 7 mm (10 piezas)	11057957
Filtros de purga para recipiente de reacción, diámetro 35 mm (10 unidades)	11057958

3.2 Datos técnicos

Tabla 3-5: Características técnicas del Encapsulador B-395 Pro

Consumo eléctrico	máx. 150 W
Voltaje de conexión	100 – 240 VAC
Fluctuaciones de voltaje de la conexión a red exterior	hasta un ± 10 % del voltaje nominal
Frecuencia	50/60 Hz
Fusible	3,15 A
Dimensiones (An×Al×Pr)	32×38×48 cm
Peso	11 kg
Diámetro de boquilla para boquillas individuales (= núcleo)	0,08, 0,12, 0,15, 0,20, 0,30, 0,45, 0,75 y 1,00 mm
Diámetro de boquilla para boquillas de cobertura	0,20, 0,30, 0,40, 0,50, 0,60, 0,70 y 0,90 mm
Gama de tamaños de microgotas	0,15 a 2,00 mm
Frecuencia de vibración	40 a 6.000 Hz
Tensión del electrodo	250 a 2.500 V
Velocidad de la bomba con jeringa	0,01 a 50 mL/min
Velocidad de bomba por presión de aire	0,5 a 200 mL/min
Presión de aire máxima permitida en el sistema	1,5 bares
Volumen total del reactor	4,5 litros
Volumen de trabajo del reactor	2 litros
Piezas en contacto con el medio	esterilizable en el autoclave
Condiciones de trabajo estériles	completo
Categoría de sobretensión	II
Grado de polución	2
Condiciones medioambientales:	
Temperatura	5 – 40 °C
Altitud	hasta 2.000 m
Humedad relativa máxima (parámetro de curva)	Humedad relativa máxima de un 80 % hasta 31 °C en descenso lineal hasta un 50 % de humedad relativa a 40 °C

Tabla 3-6: Material y aprobaciones

Material en contacto con la muestra	acero inoxidable, silicona, vidrio, FEP, PTFE
Aprobaciones	CE, CSA

3.3 Materiales utilizados

Tabla 3-7: Materiales utilizados

Componente	Descripción de los materiales
Reactor	Acero inoxidable, 3,3 vidrio de borosilicato, FEP, PTFE sellos: silicona, EPDM
Boquillas	Acero inoxidable, sellos: EPDM
Botella de presión	Acero inoxidable, 3,3 vidrio de borosilicato, FEP, PTFE sellos: silicona, EPDM

4 Descripción del funcionamiento

En este capítulo se explica el principio de trabajo básico del Encapsulador B-395 Pro. También muestra cómo está estructurado el equipo y ofrece una descripción funcional general de su montaje.

4.1 Principio de funcionamiento

El equipo ofrece las siguientes funciones clave:

Condiciones de trabajo estériles en un recipiente de reacción cerrado

- Contención estéril en un recipiente de reacción esterilizable en el autoclave.

Tamaño de perlas reproducible de una producción a la siguiente

- Los parámetros ajustables (tamaño de boquilla, velocidad de flujo de líquido y frecuencia de vibración) determinan el tamaño de las partículas.

Formación de perlas reproducibles

- Intervalo de 0,15 mm a 2,0 mm.

Gran uniformidad en el tamaño de las perlas

- Gracias a la unidad de dispersión electrostática integrada (*EDU*); aproximadamente un 5 % de desviación estándar relativa del tamaño de las perlas usando alginato puro.

Control inmediato del proceso

- Monitoreo visual a la luz de la lámpara estroboscópica.

Alta viabilidad celular

- La técnica de formación de perlas está a una tensión de cizallamiento baja y en condiciones fisiológicas, lo que da lugar a una supervivencia celular alta.

Tamaño de los lotes

- Al usar las jeringas, el tamaño del lote es de 2 mL a 60 mL, y el volumen muerto es de aproximadamente 0,5 mL. Al usar la presión de aire para el bombeo, el tamaño del lote es de 5 mL a 1.000 mL, y el volumen muerto es de aproximadamente 2 mL.

Conjunto de 8 boquillas individuales

- Los 8 tamaños de las boquillas de 0,08, 0,12, 0,15, 0,20, 0,30, 0,45, 0,75 y 1,0 mm cubren la gama de tamaños de las perlas de aproximadamente 0,15 mm a 2,0 mm.

Entrega de la mezcla de polímero

- Mediante la bomba con jeringa integrada o mediante presión de aire con velocidades de flujo de 70 mL/h (boquilla de 0,08 mm) a 2.500 mL/h (boquilla de 1,0 mm).

Alta producción de perlas

- Se producen hasta 6.000 perlas por segundo dependiendo de las condiciones de encapsulación y de la mezcla de polímeros.

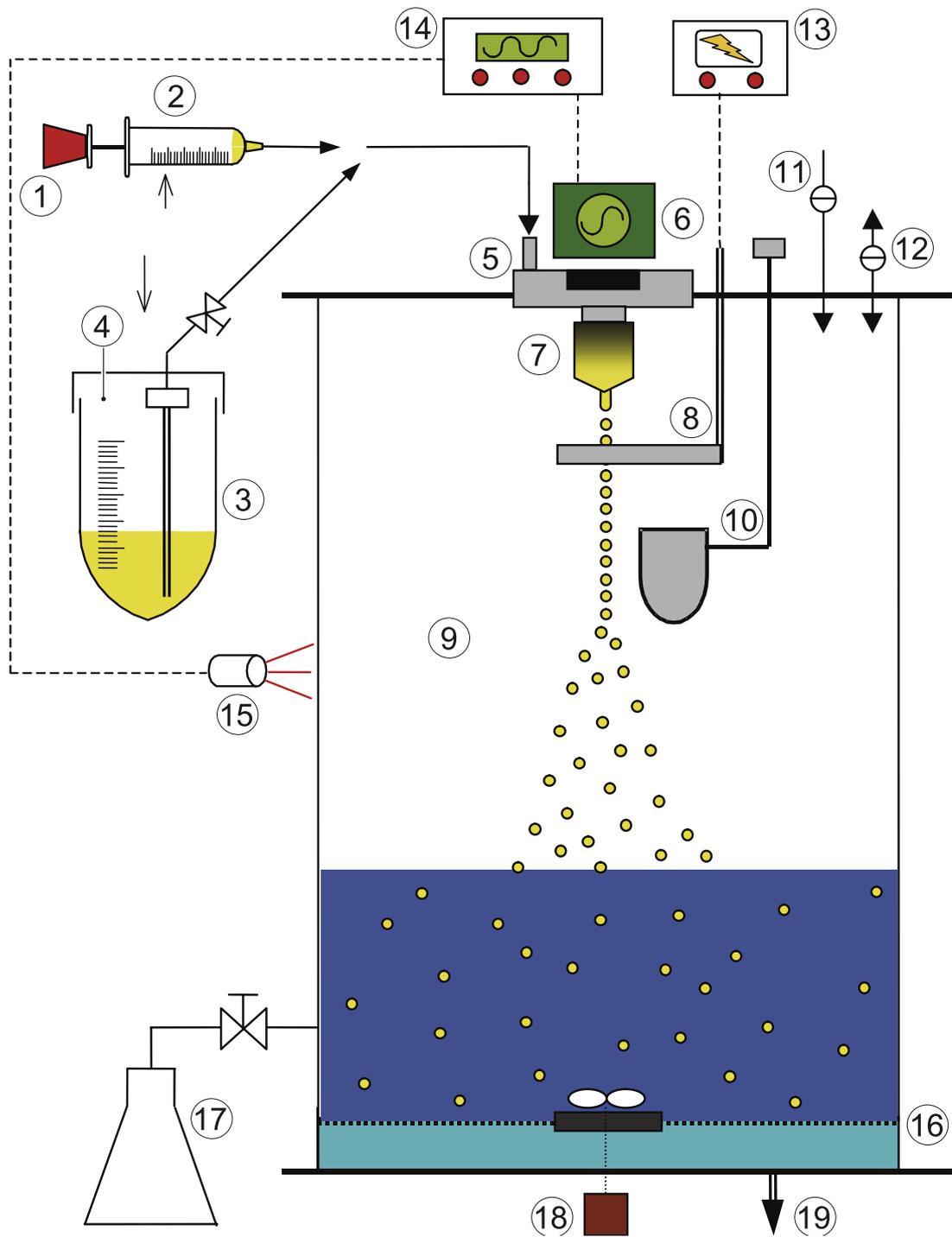


Figura 4-1: Representación esquemática del Encapsulador B-395 Pro

- | | |
|------------------------------|-------------------------------------|
| ① Bomba con jeringa | ⑪ Filtro de líquido |
| ② Jeringa | ⑫ Filtro de aire |
| ③ Botella de presión | ⑬ Generador de carga electrostática |
| ④ Control de presión de aire | ⑭ Generador de frecuencia |
| ⑤ Cámara de pulsación | ⑮ Lámpara estroboscópica |
| ⑥ Sistema de vibración | ⑯ Rejilla de filtración |
| ⑦ Boquilla | ⑰ Frasco colector de perlas |
| ⑧ Electrodo | ⑱ Agitador magnético |
| ⑨ Recipiente de reacción | ⑲ Puerto de residuos |
| ⑩ Capuchón de eliminación | |

Las piezas principales del Encapsulador B-395 Pro son la unidad de control, con la bomba con jeringa, los sistemas eléctricos y neumáticos, y el recipiente de reacción. Todas las piezas del equipo que están en contacto directo con las perlas pueden esterilizarse mediante autoclave.

El producto que se va a encapsular (células, microorganismos u otras sustancias biológicas y químicas) se mezcla con un polímero Encapsulador (normalmente alginato) y la mezcla se introduce en una jeringa ② o una botella de presión ③, consulte la *figura 4-1*. La mezcla de polímero y producto se introduce a la fuerza en la cámara de pulsación ⑤ mediante una bomba con jeringa ① o mediante presión de aire ④. El líquido pasa después a través de una boquilla perforada con precisión ⑦ y se separa en gotitas de igual tamaño en la boquilla existente. Estas gotitas pasan a través de un campo eléctrico entre la boquilla ⑦ y el electrodo, ⑧ produciendo la carga de la superficie. Las fuerzas de repulsión electrostáticas dispersan las perlas al caer en la solución endurecedora.

Tamaño de las perlas

El tamaño de las perlas se controla con varios parámetros, que incluyen la frecuencia de vibración, la amplitud, el tamaño de la boquilla, la velocidad de flujo y las propiedades físicas de la mezcla de polímero y producto. En general, el diámetro de las perlas de Ca-alginato es el doble del diámetro de la boquilla. Sin embargo, al variar la velocidad del chorro y la frecuencia de vibración, el intervalo se puede ajustar aproximadamente un $\pm 15\%$.

Los parámetros óptimos para la formación de perlas se señalan mediante la visualización de la formación de perlas en tiempo real a la luz de la lámpara estroboscópica ⑮. Una vez alcanzados los parámetros óptimos, aparece de forma claramente visible una cadena de gotitas. Una vez establecidos, los parámetros óptimos se pueden definir para las siguientes producciones de perlas con la misma mezcla de polímero y producto de encapsulación. El capuchón de eliminación intercepta las perlas mal formadas, que se producen al principio y al final de los procesos de producción ⑩. Dependiendo de una serie de variables, se generan de 50 a 5.000 perlas por segundo y se recogen en una solución endurecedora dentro del recipiente de reacción ⑨. Una barra agitadora magnética mezcla continuamente las soluciones dentro del recipiente de reacción ⑱ para evitar la formación de grumos en las perlas. Asimismo, el recipiente de reacción y/o la solución se deben conectar a la toma eléctrica a tierra. Al finalizar el proceso de producción, se drena la solución endurecedora (puerto de residuos ⑲), mientras que la rejilla de filtración retiene las perlas ⑯. Se añaden soluciones de lavado u otras soluciones reactivas de forma aséptica a través de un filtro estéril ⑪. Las perlas pueden procesarse posteriormente en microcápsulas o transferirse al frasco colector de perlas ⑰.

4.2 Conexiones del Encapsulador B-395 Pro

Conexiones frontales (véase la figura 5-2)

- Conmutador principal
- Salida de aire
- Voltaje
- Toma a tierra

Conexiones traseras (véase la figura 5-1)

- Suministro eléctrico
- Entrada de aire
- Agitador magnético
- Vibración
- Enchufe opcional

5 Puesta en marcha

En este capítulo se describe cómo debe instalarse el equipo. También se dan instrucciones para la puesta en marcha inicial.

NOTA

Compruebe que el equipo no presenta desperfectos mientras lo desembala. En caso de ser necesario, realice un informe del estado de inmediato para informar a la empresa de correos, de ferrocarril o de transportes. Guarde el embalaje original para un futuro transporte.

5.1 Lugar de instalación

Coloque el equipo en una superficie horizontal y estable. Considere las dimensiones máximas del producto y el peso. El equipo debe instalarse de tal modo que el conmutador principal y el enchufe a red exterior estén fácilmente accesibles en todo momento.

Infórmese de las condiciones medioambientales descritas en el *apartado 3.2 "Características técnicas"*.

 	 Advertencia
	<p>Muerte o lesiones graves por uso en ambientes explosivos.</p> <ul style="list-style-type: none"> No maneje el equipo en ambientes explosivos.

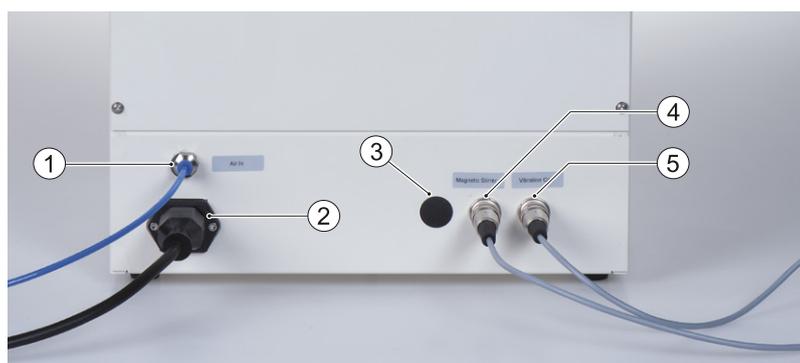
    	 Advertencia
	<p>Muerte o envenenamiento grave por contacto o incorporación de sustancias perjudiciales.</p> <ul style="list-style-type: none"> Lleve gafas protectoras. Lleve guantes protectores. Lleve una bata de laboratorio. Limpie a fondo el equipo y todos sus accesorios para eliminar posibles sustancias peligrosas. No limpie piezas con polvo con aire comprimido. Guarde el equipo y sus accesorios en un lugar seco.

5.2 Instalación del Encapsulador B-395 Pro

Coloque el equipo en la mesa de laboratorio con fácil acceso a una toma eléctrica de CA y de aire comprimido. Coloque el equipo de modo que sea posible en todo momento desconectarlo del enchufe de suministro eléctrico.

Instalación del agitador magnético, la unidad de vibración y el cable de toma a tierra

Conecte el agitador magnético, la unidad de vibración y el cable de toma a tierra como se muestra en las figuras 5-1 y 5-2.



- ① Entrada de aire (tubo azul de 2,6×4,0 mm)
- ② Toma de suministro eléctrico con fusible integrado
- ③ Toma opcional
- ④ Toma para el agitador magnético
- ⑤ Toma para la unidad de vibración

Figura 5-1: Vista trasera de la unidad de control

Todos los sistemas de control para la producción de perlas están incorporados en la unidad de control. La frecuencia de vibración, la velocidad de la bomba, la intensidad de la luz, la dispersión electrostática y la velocidad del agitador magnético se controlan en las dos pantallas táctiles. La presión de aire se regula con la válvula de regulación de presión. La lámpara estroboscópica integrada permite controlar la ruptura del chorro en tiempo real. La unidad de vibración se acopla a la unidad de control del panel trasero mediante un cable. El recipiente de reacción se acopla al soporte del reactor con dos tornillos.



- ① Bomba con jeringa
- ② Soporte del reactor
- ③ Unidad de vibración
- ④ Pantalla táctil superior (frecuencia de vibración y electrodo)
- ⑤ Pantalla táctil inferior (bomba con jeringa, control del agitador magnético e indicación de la presión)
- ⑥ Válvula de regulación de presión
- ⑦ Lámpara estroboscópica
- ⑧ Conmutador de red exterior
- ⑨ Agitador magnético
- ⑩ Salida de aire
- ⑪ EDU (salida de voltaje)
- ⑫ Enchufe para el cable de toma a tierra
- ⑬ Válvula de regulación de flujo de líquido

Figura 5-2: Vista frontal de la unidad de control

Instalación de la línea de aire

Se incluye un tubo de aire de 3 m (2,6×4,0 mm) con cada Encapsulador para conectarlo a aire comprimido o nitrógeno externos.

1. Introduzca el tubo de aire en el enchufe de entrada de aire.
2. Acople el otro lado del tubo de aire al suministro de gas externo.
3. Suministre al Encapsulador a una presión entre 1,5 y 2 bares (entre 23 y 30 psi) al manejar el equipo.

NOTA

El sistema neumático integrado (válvula y adaptadores) tolera hasta 7 bares (100 psi) a la entrada. Hay incorporada una válvula de seguridad de exceso de presión a 1,5 bares después de la válvula de regulación de presión para que la presión máxima del aire en la salida de aire sea de 1,5 bares. Sin embargo, el intervalo de trabajo es de 0 a 1 bar.

5.3 Conexiones eléctricas

Verifique que los requisitos eléctricos de la unidad, indicados en la placa de identificación de la unidad de control, correspondan con el voltaje de su red eléctrica local. Conecte el enchufe de electricidad del Encapsulador a la red exterior.

 	<p>Precaución</p> <p>Riesgo de dañar el equipo por alimentación eléctrica errónea.</p> <ul style="list-style-type: none"> • La conexión a la red exterior tiene que cumplir el voltaje indicado en la placa de identificación del equipo. • Compruebe que haya suficiente toma a tierra. • Pueden ser necesarias otras medidas de seguridad eléctrica como disyuntores de corriente residual para cumplir con las regulaciones y leyes locales. Las conexiones exteriores y las líneas de extensión se deben entregar con una toma de tierra (acoplamientos de 3 polos, cable o equipamiento de enchufe). Todos los cables de electricidad deberán llevar enchufes moldeados sólo para evitar los riesgos debidos al cableado defectuoso accidental.
--	--

5.4 Montaje del recipiente de reacción

El recipiente de reacción forma una unidad cerrada y esterilizable en el autoclave donde se forman las perlas en condiciones estériles y pueden ser procesadas posteriormente si es necesario.

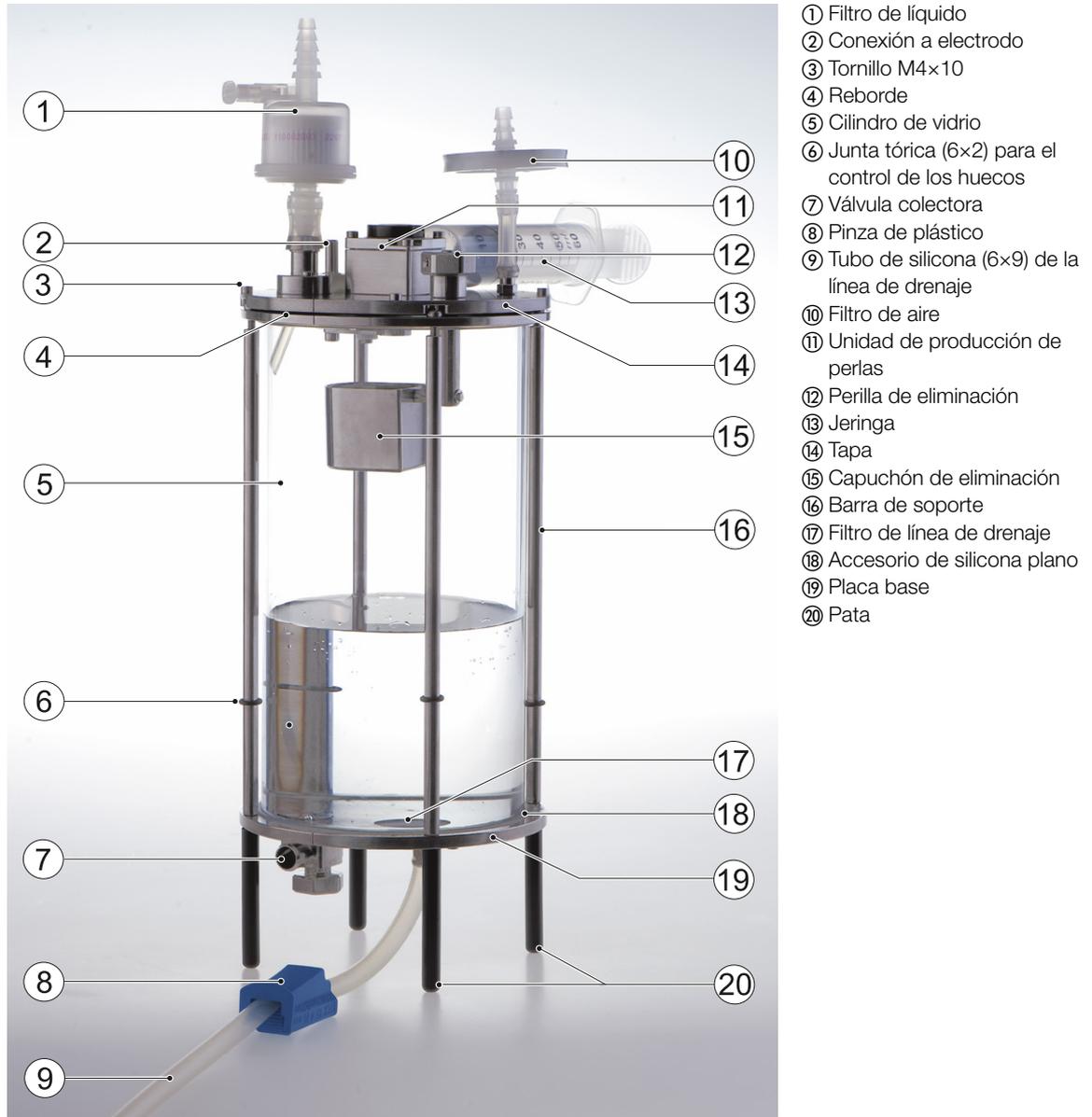


Figura 5-3: Vista general del recipiente de reacción

Las piezas principales del recipiente de reacción son las siguientes:

1. Tapa de acero inoxidable con electrodo, dispositivo de eliminación, entrada de líquido y filtro de intercambio de aire
2. Unidad de producción de perlas
3. Boquilla
4. Cilindro de vidrio
5. Placa base de acero inoxidable con perla y válvula de drenaje
6. Frasco colector de perlas

5.4.1 Tapa

La tapa se suministra con todas las piezas colocadas. Antes del uso, lávela cuidadosamente.

Después de cada uso, desmonte la unidad de producción de perlas y la boquilla. Lávelas con agua o un detergente o disolvente adecuados (de acuerdo con la naturaleza de la mezcla de inmovilización utilizada), enjuáguelas con agua y déjelas secar. Tenga cuidado de no dañar la membrana de PTFE al manejar la unidad de producción de perlas.

Las demás piezas sólo se deben desmontar cuando sea necesario. Lávelas con detergente, enjuáguelas con agua y déjelas secar.

Al volver a montarlas, compruebe la integridad de los accesorios planos y las juntas tóricas; reemplácelos si es necesario.

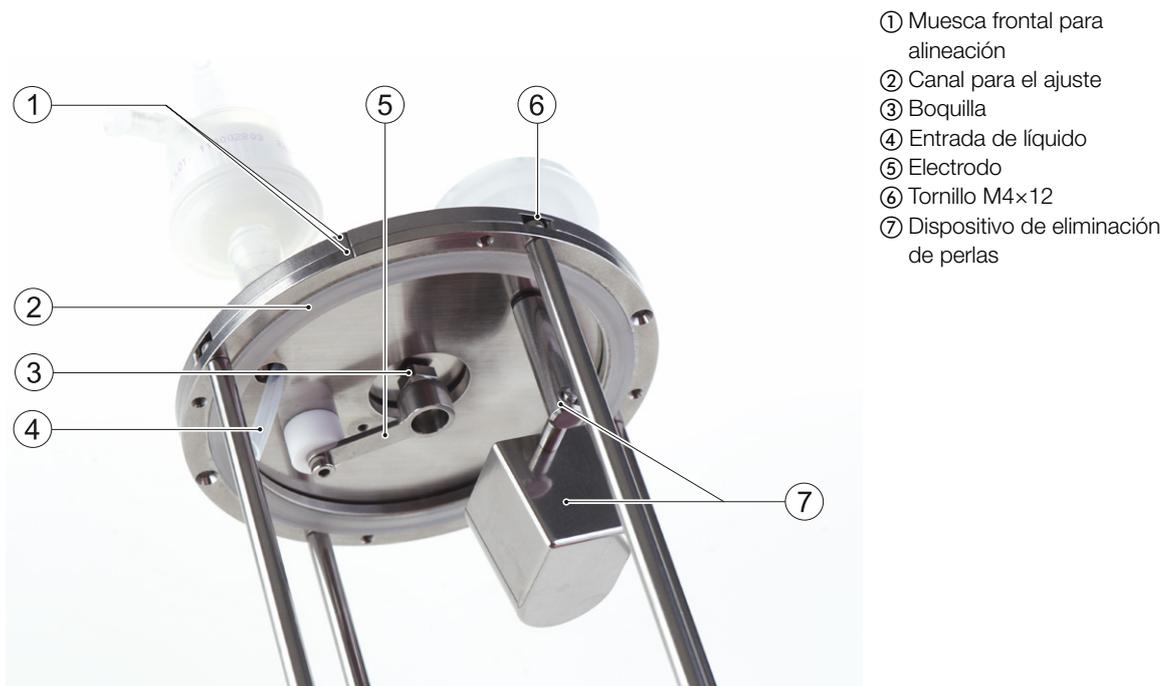


Figura 5-4: Vista inferior de la tapa montada

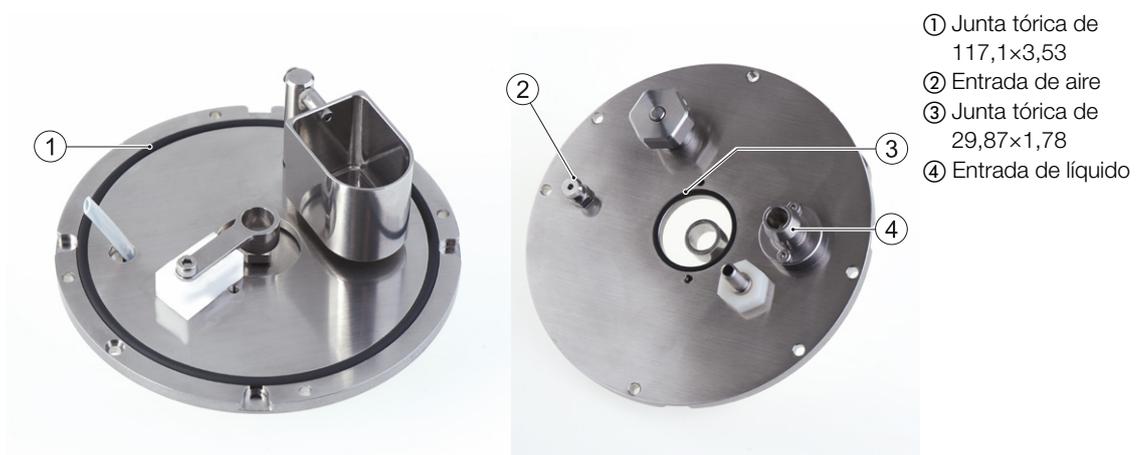
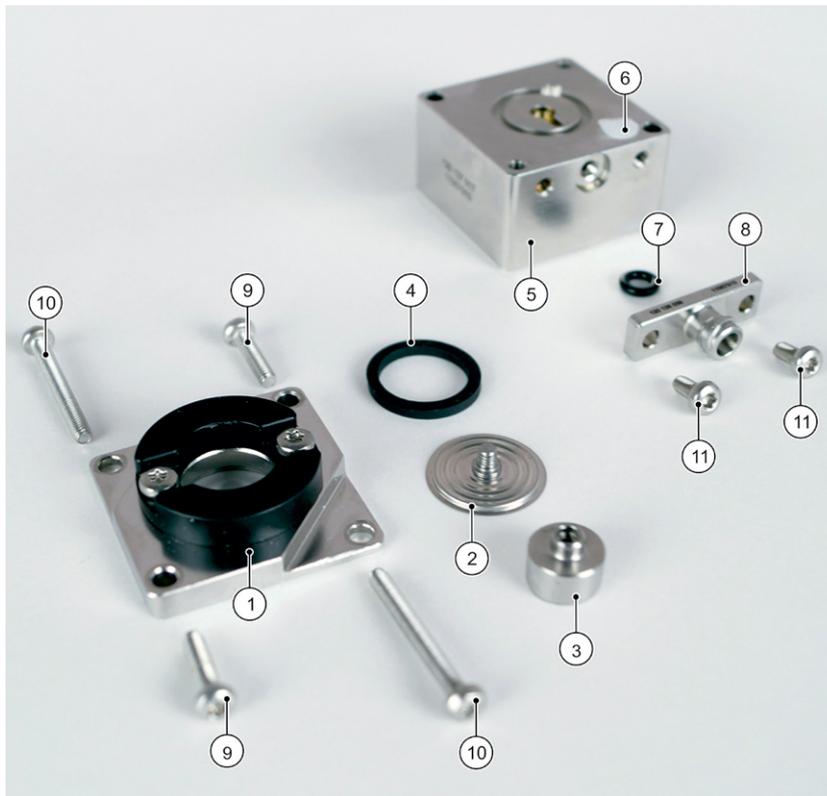


Figura 5-5: Vista inferior (izquierda) y vista superior (derecha) de la tapa

5.4.1.1 Unidad de producción de perlas y boquillas



- ① Soporte magnético *
- ② Membrana
- ③ Imán
- ④ Junta tórica (14×1,78)
- ⑤ Cámara de pulsación
- ⑥ Prefiltro con malla de 50 µm
- ⑦ Junta tórica (3,68×1,78)
- ⑧ Luer lock
- ⑨ Tornillo M3×8
- ⑩ Tornillo M3×25
- ⑪ Tornillo M3×6

*con anillo de fijación acoplado y tornillos M3×5. Puede retirar el anillo de fijación para la limpieza.

Figura 5-6: Piezas de la unidad de producción de perlas

Una boquilla de alta calidad es fundamental para una producción homogénea de perlas. Los orificios de las boquillas del Encapsulador han sido perforados con precisión utilizando la tecnología más reciente. Cada Encapsulador B-395 Pro se suministra con un conjunto de 8 boquillas; los tamaños de apertura de las boquillas son de 80, 120, 150, 200, 300, 450, 750 µm y 1,0 mm. Están fabricados por completo con acero inoxidable.



Figura 5-7: Conjunto de 8 boquillas en el soporte para boquillas

El soporte para boquillas contiene 8 boquillas (de 80, 120, 150, 200, 300, 450, 750 µm y 1,0 mm). El tamaño de la junta tórica es de 4,47×1,78.

5.4.1.2 Electrodo



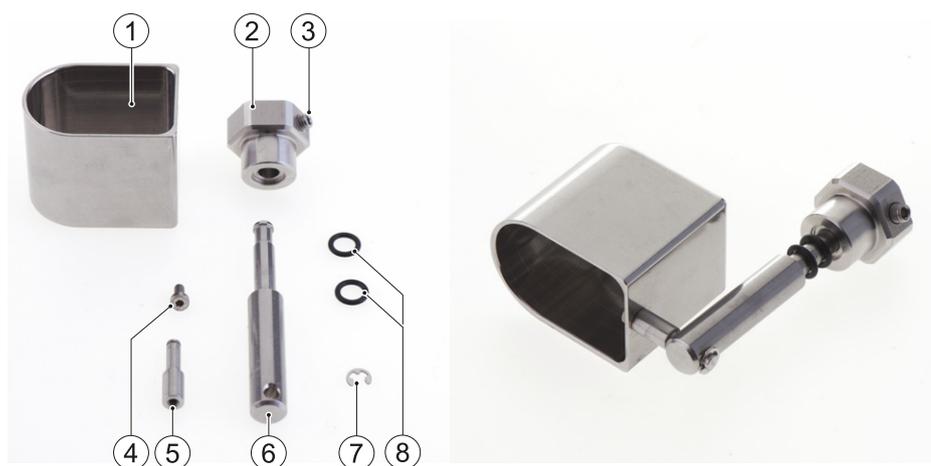
- ① Tuerca M10 (poliamida)
- ② Junta tórica (10,82x1,78)
- ③ Aislante
- ④ Electrodo
- ⑤ Pieza conectora
- ⑥ Tornillo M4x12

Figura 5-8: Electrodo con elementos conectores

El electrodo se acopla al anillo alargado mostrado hacia abajo o hacia arriba para poder variar la distancia entre la boquilla y el electrodo. Se recomienda la distancia corta entre la boquilla y el electrodo durante la producción de perlas pequeñas y si se utilizan soluciones de viscosidad baja. La distancia larga se recomienda durante la producción de perlas grandes (aproximadamente $> 800 \mu\text{m}$). La separación de la perla del chorro de líquido debe producirse dentro del anillo del electrodo, donde el campo electrostático es mayor, o secundariamente, en el espacio comprendido entre el electrodo y la boquilla, dependiendo de las propiedades del material.

5.4.1.3 Sistema de eliminación de perlas

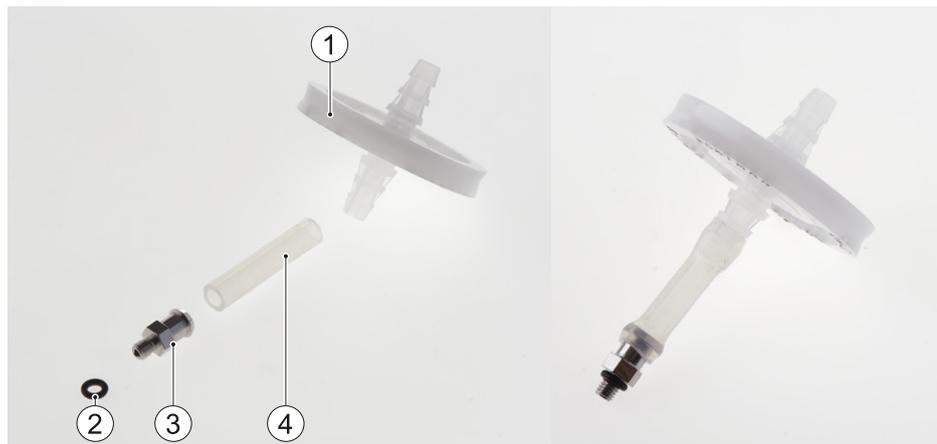
El sistema de eliminación de perlas se utiliza al principio y al final del proceso de encapsulación para eliminar las perlas no deseadas producidas por un chorro inestable.



- ① Capuchón
- ② Perilla
- ③ Tornillo M5x8
- ④ Tornillo M3x6
- ⑤ Eje lateral
- ⑥ Eje principal
- ⑦ Clip
- ⑧ Junta tórica (6,1x1,6)

Figura 5-9: Sistema de eliminación de perlas – vista de piezas separadas (izquierda), vista de piezas montadas (derecha)

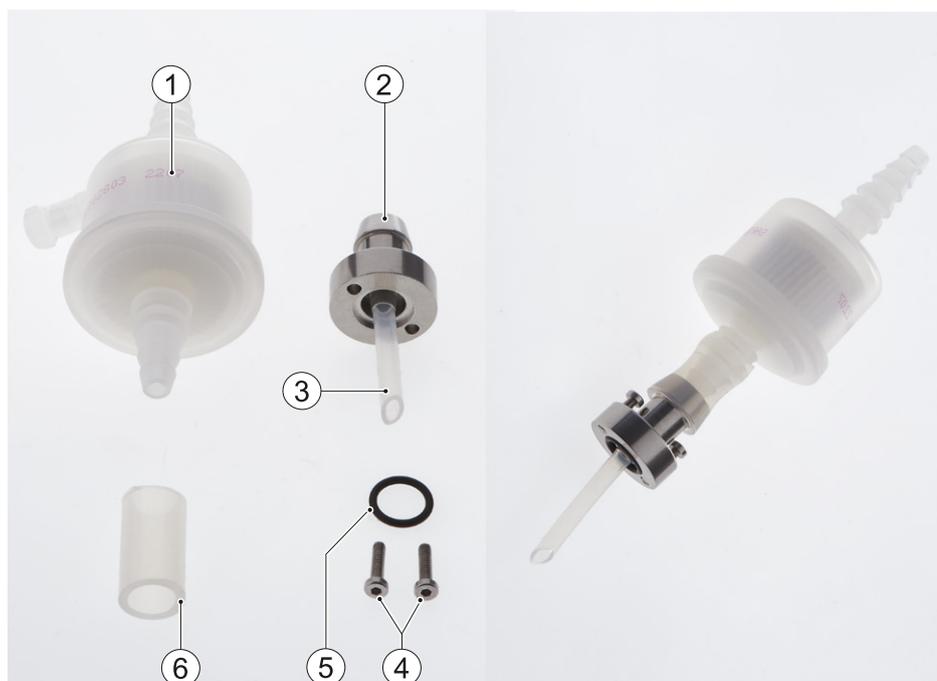
5.4.1.4 Filtro de aire



- ① Filtro de aire HEPA
- ② Junta tórica
3,68×1,78
- ③ Manguito
- ④ Tubo de silicona
5×8 mm

Figura 5-10: Filtro de aire – vista de piezas separadas (izquierda), vista de piezas montadas (derecha)

5.4.1.5 Filtro de líquido



- ① Filtro de líquido
(p. ej.:
Sartobran 150)
- ② Entrada de líquido
- ③ Tubo de silicona
(3×5) de 35 mm de
longitud
- ④ Tornillo M3×12
- ⑤ Junta tórica
(10,82×1,78)
- ⑥ Tubo de silicona
(10×14), 40 mm de
longitud

Figura 5-11: Filtro de líquido – vista de piezas separadas (izquierda), vista de piezas montadas (derecha)

5.4.2 Placa base

La placa base tiene una función doble, con dos puertos de evacuación. Uno tiene un filtro para retener las perlas en el recipiente de reacción al tiempo que se intercambian los reactivos de encapsulación; y el otro es una válvula de drenaje para recoger las perlas sin perjudicar la esterilidad.

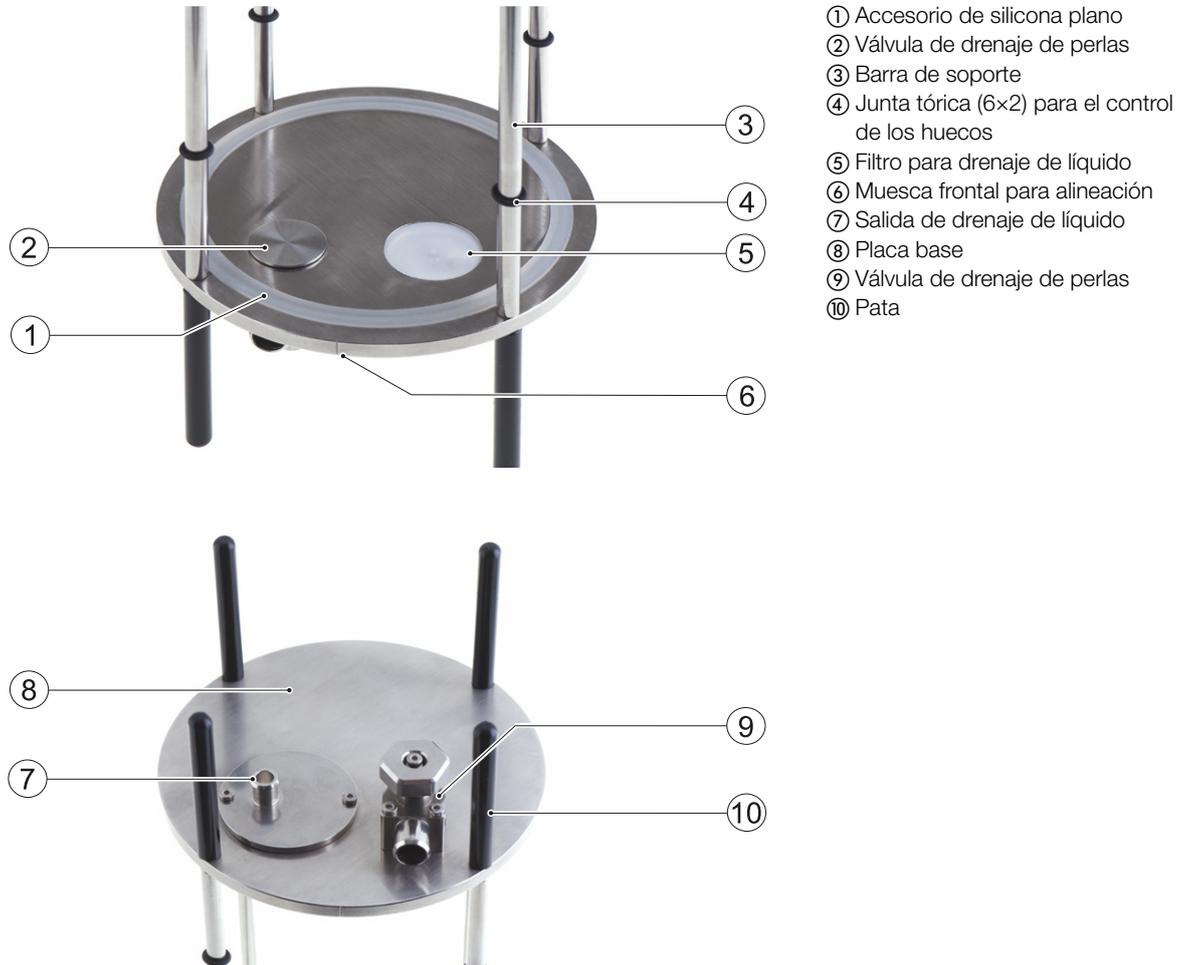


Figura 5-12: Placa base, vista superior (arriba) y vista inferior (abajo)

5.4.2.1 Válvula de drenaje de perlas

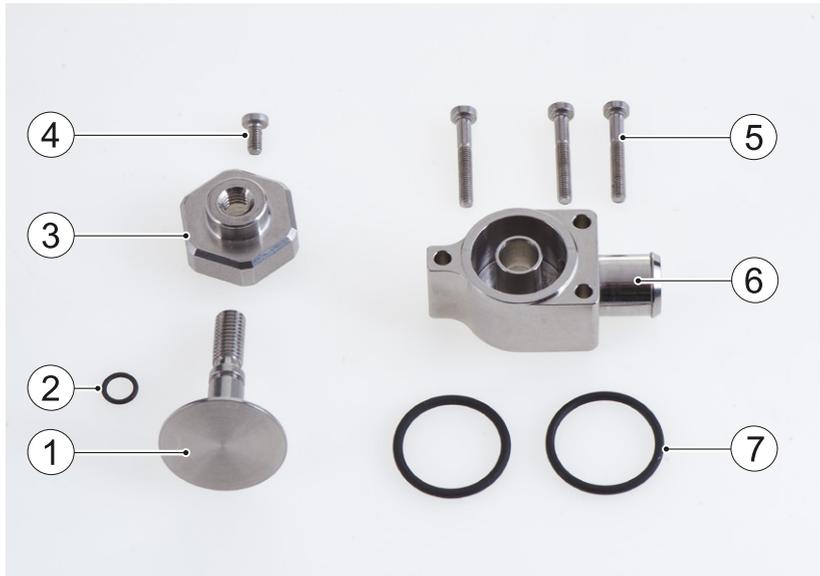


Figura 5-13: Piezas de la válvula de drenaje de perlas

- ① Émbolo
- ② Junta tórica (5x1)
- ③ Perilla para válvula
- ④ Tornillo M3x6
- ⑤ Tornillo M3x20
- ⑥ Válvula colectora (BT 14)
- ⑦ Junta tórica (18,77x1,78)

5.4.2.2 Sistema de drenaje de líquido



Figura 5-14: Piezas del sistema de drenaje de líquido

- ① Placa de drenaje de líquido
- ② Junta tórica (34,65x1,78)
- ③ Tornillo M3x6
- ④ Rejilla de filtro, diámetro de 35 mm, malla de 100 µm

NOTA

La rejilla de filtro encoje entre un 1 % y un 2 % durante la primera esterilización en el autoclave. Por lo tanto, sus dimensiones permanecen estables.

5.4.3 Frasco colector de perlas

Después de terminar la producción de perlas y su procesamiento, se transfieren directamente al interior del frasco colector de perlas a través de la *válvula colectora de perlas*. Las perlas se pueden pasar de forma aséptica a cualquier otro recipiente. La *figura 5-15* muestra el frasco colector de perlas desmontado y montado.



Figura 5-15: Frasco colector de perlas para recoger y transportar en condiciones estériles las perlas y cápsulas producidas. El frasco colector de perlas se acopla a la válvula colectora de perlas del recipiente de reacción.

- | | |
|---|-----------------------------|
| ① Frasco de 250 mL | ⑤ Placa del frasco colector |
| ② Filtro de aire, consulte la figura 5-10 | ⑥ Junta tórica (31,42x2,62) |
| ③ Pinza del tubo | ⑦ Capuchón con orificio |
| ④ Tubo de silicona de 10x14 | |

5.5 Sistemas de bombeo

El Encapsulador B-395 Pro ofrece dos sistemas para bombear la mezcla de inmovilización:

- la bomba con jeringa volumétrica
- la presión de aire de las botellas de presión

La bomba con jeringa se utiliza principalmente para lo siguiente:

1. Para volúmenes pequeños (< 60 mL).
2. Donde la velocidad de flujo del líquido tiene que controlarse con mucha precisión en cada proceso.
3. Cuando se necesita un volumen muerto muy bajo (aproximadamente 0,5 mL).

El bombeo con presión de aire se recomienda:

1. Cuando se necesitan volúmenes grandes (> 60 mL).
2. Cuando es preciso usar velocidades del flujo altas para producir perlas grandes, como sería el caso cuando se utilizan boquillas > 300 μm .

Ambos sistemas pueden utilizarse con el sistema de boquillas concéntricas. El líquido del núcleo se bombea con la bomba con jeringa y el líquido de cobertura se bombea con presión de aire. Evidentemente, también se pueden usar dos botellas de presión de aire separando la línea de aire que va hasta las botellas con un conector "T" o "Y".

5.5.1 Bomba con jeringa

La bomba con jeringa se usa con un sistema de administración volumétrico. Se trata de una bomba que administra con gran precisión la mezcla de inmovilización. Se pueden usar la mayoría de marcas de jeringas de plástico. (No se recomienda utilizar jeringas de vidrio.) Cada tipo de jeringa puede calibrarse individualmente mediante el sistema de calibración integrado (consulte el capítulo 6 "Manejo"). La disponibilidad de jeringas pre-esterilizadas hace más cómodo el manejo en condiciones asépticas. La velocidad de bombeo puede variar entre 0,01 mL/min y 50 mL/min, dependiendo del tamaño de la jeringa.



Figura 5-16: Bomba con jeringa

La jeringa se acopla a la unidad de producción de perlas con el accesorio luer lock. El brazo móvil de la bomba con jeringa impulsa el pistón de la jeringa ①.

5.5.2 Botella de presión

La botella de presión es un recipiente esterilizable en el autoclave usado para bombear la mezcla de inmovilización mediante presión de aire. La *figura 5-17* muestra las distintas piezas de la botella de presión.



Figura 5-17: Botella de presión con filtro HEPA para bombeo estéril de la mezcla de inmovilización con presión de aire

- | | |
|---|---|
| ① Frasco con presión estable de 500 mL o 1.000 mL | ⑥ Luer lock macho, 4,8 mm DI |
| ② Filtro de aire HEPA | ⑦ Manguito para acoplamiento rápido |
| ③ Tubo de PTFE (4x6) | ⑧ Capuchón con dos puertos |
| ④ Tubo de silicona para líquido (4x7) | ⑨ Capuchón con accesorio de PTFE para tubos de 6 mm |
| ⑤ Tubo de silicona para líquido (5x8) | |

El **aire** pasa a través del tubo de silicona con un diámetro interno de 5 mm (5x8 mm). El filtro Hepa previene la contaminación de la mezcla de inmovilización estéril y se debe reemplazar de acuerdo con las instrucciones del fabricante o en caso de haber signos notables de reducción del paso del aire.

El **líquido** pasa desde el interior de la botella a través de un tubo de PTFE (3x6 mm) hasta el tubo de silicona ④ fuera de la botella. Este tubo de silicona se acopla a la unidad de producción de perlas con el luer lock macho ⑥.

5.5.3 Instalación de la botella de presión



Figura 5-18: Botella de presión instalada

1. Monte y, si es necesario, ponga en el autoclave la botella de presión.
2. Llene la botella con la mezcla de inmovilización.
3. Acople el tubo de silicona de la botella de presión a la entrada luer lock de la unidad productora de perlas.
4. Pase el tubo de silicona por la válvula de flujo reguladora de líquido. Apriétela para que no pueda pasar líquido.
5. Inserte el manguito g del tubo de aire en el acoplamiento rápido de la salida de aire que se encuentra en la unidad de control.

5.6 Opción: Sistema de boquillas concéntricas

El sistema de boquillas concéntricas (sistema CN) es un kit opcional a la unidad de la unidad de boquilla individual. Sirve para la producción de cápsulas en un procedimiento de un paso. El sistema consta de una unidad productora de perlas de CN, un conjunto de 7 boquillas de cobertura (0,20, 0,30, 0,40, 0,50, 0,60, 0,70 y 0,90 mm) y una botella de presión de 1.000 mL. El líquido de cobertura es bombeado con presión de aire usando la botella de presión.



Figura 5-19: Formación de cápsulas

Las piezas principales de la unidad de boquillas concéntricas son (consulte la *figura 5-20*):

- el par de boquillas con boquilla de cubierta ① y núcleo ②.
- La unidad de producción de perlas de CN con cuerpo de pulsación de CN ③ y soporte magnético ④.

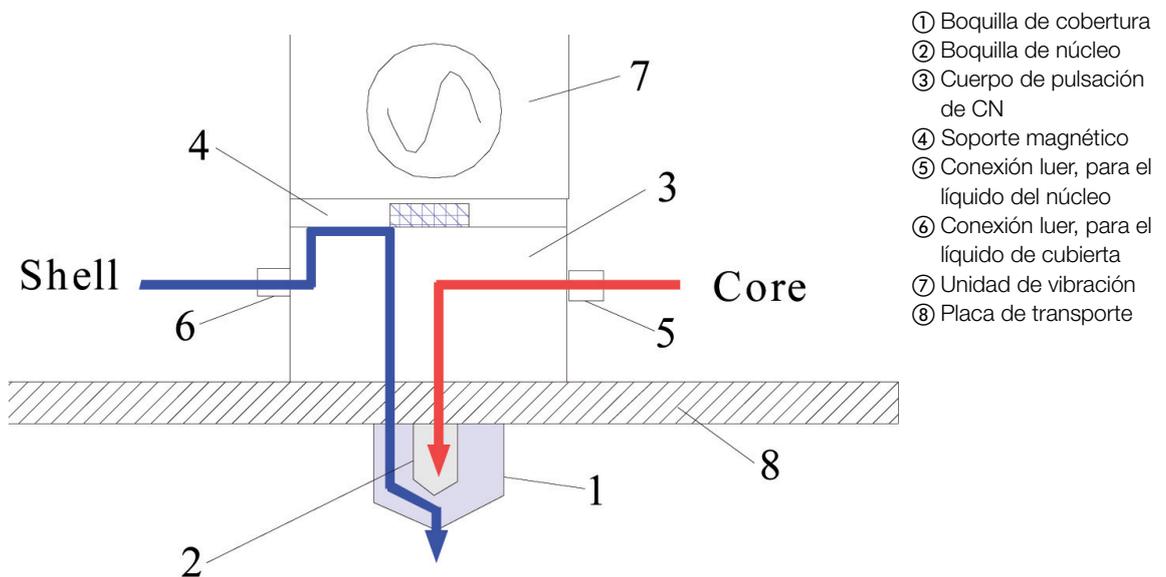


Figura 5-20: Descripción esquemática del sistema de boquillas concéntricas



Figura 5-21: Unidad de producción de perlas de CN con conjunto de 7 boquillas de cobertura. Las siguientes aperturas de las boquillas son estándar: 0,20, 0,30, 0,4, 0,50, 0,60, 0,70 y 0,90 mm.

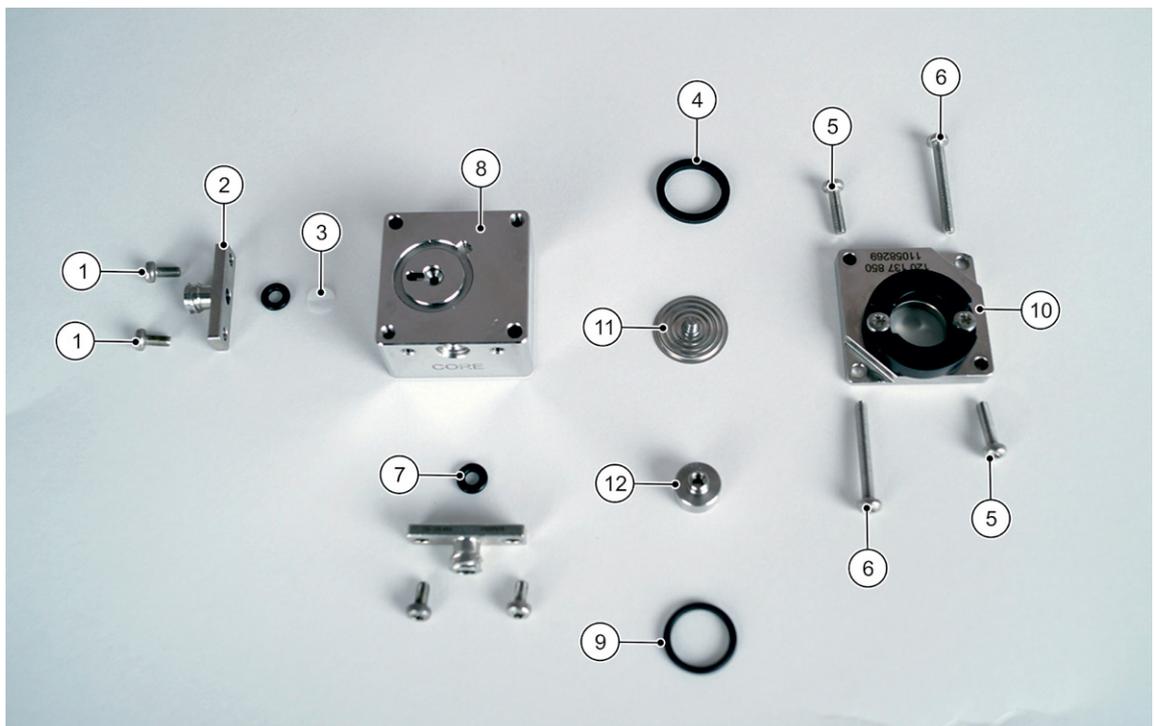
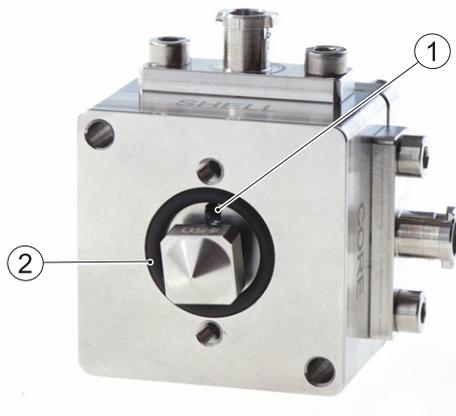


Figura 5-22: Piezas individuales de la unidad productora de CN

- | | |
|---|------------------------------|
| ① Tornillo M3×6 | ⑦ Junta tórica de 3,68×1,78 |
| ② Luer lock hembra | ⑧ Cuerpo de pulsación de CN |
| ③ Rejilla de prefiltro, malla de 50 µm, D= 7 mm | ⑨ Junta tórica de 12,42×1,78 |
| ④ Junta tórica de 14,0×1,78 | ⑩ Soporte de membrana de CN |
| ⑤ Tornillo M3×8 | ⑪ Membrana |
| ⑥ Tornillo M3×25 | ⑫ Iman |

5.6.1 Montaje de boquillas CN



Coloque la junta tórica de 12,42×1,78 en la ranura de la unidad productora de perlas de CN. Introduzca la boquilla interna (con la junta tórica acoplada) en el orificio de la unidad productora de perlas de CN. No tiene rosca. La boquilla interna se centra y se fija con la boquilla de cobertura.

- ① Salida del líquido de cobertura
- ② Junta tórica de 12,42×1,78

Figura 5-23: Montaje de la boquilla interna



Ponga cuidadosamente la boquilla de cobertura sobre la boquilla interna. Acople la boquilla de cobertura con dos tornillos (M3×6). La boquilla de cobertura centra y fija la boquilla interna.

Figura 5-24: Montaje de la boquilla de cobertura



Figura 5-25: Instalación del sistema de CN con una bomba con jeringa y una botella de presión

5.7 Todas las piezas del Encapsulador B-395 Pro



Figura 5-26: Imagen de todas las piezas del Encapsulador B-395 Pro

5.8 Última comprobación de la instalación

Esta comprobación debe realizarse después de cada instalación y antes del primer proceso de encapsulación. Todos los medios de suministro conectados (p. ej.: voltaje de la red exterior y presión de gas) deben coincidir con las características técnicas del sistema instalado o de la configuración del sistema.

- Inspeccione todos los componentes de vidrio por si presentan daños.
- Compruebe todas las demás conexiones eléctricas para ver si su estado es adecuado, como los componentes opcionales o externos; p. ej.: el agitador magnético, la unidad de vibración, el cable de la bomba con jeringa.

6 Funcionamiento

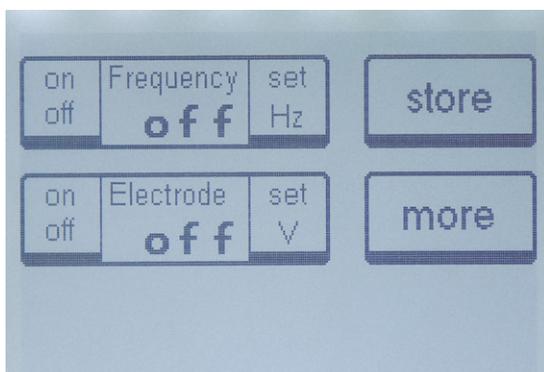
Este capítulo proporciona ejemplos de aplicaciones típicas del equipo e instrucciones sobre cómo manejarlo de forma adecuada y segura. Consulte también la *sección 2.5 "Seguridad del producto"* para ver las advertencias generales.

6.1 Puesta en marcha del equipo

- Asegúrese de que el Encapsulador B-395 Pro esté conectado adecuadamente al suministro de la red exterior.
- Realice una comprobación final de la instalación (consulte la *sección 5.8*) antes de cada producción de perlas.
- Encienda el Encapsulador B-395 Pro. El sistema realiza una comprobación interna.

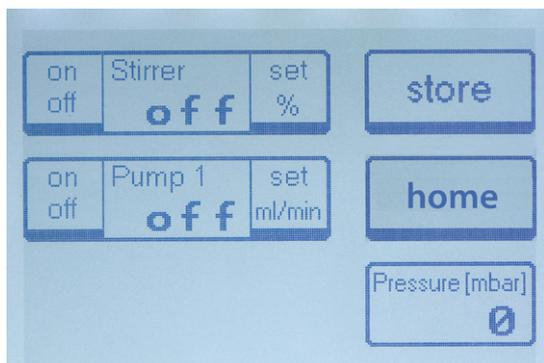
6.2 Pantallas principales

Todos los sistemas de control para la producción de perlas están incorporados en la unidad de control. La vibración, la velocidad de la bomba, la intensidad de la luz y la dispersión electrostática se controlan en las dos pantallas táctiles. La presión de aire se regula con la válvula de regulación de presión. La lámpara estroboscópica integrada permite controlar la ruptura del chorro en tiempo real. Después de la comprobación interna del sistema, las dos pantallas táctiles muestran las siguientes pantallas principales:



La pantalla táctil superior sirve para controlar la frecuencia de vibración y la tensión de los electrodos.

Pantalla 6-1: Pantalla táctil superior



La pantalla táctil inferior sirve para controlar la bomba con jeringa y la velocidad del agitador magnético. La presión de aire también se indica en esta pantalla, pero se controla manualmente a través de la válvula de regulación de presión.

Pantalla 6-2: Pantalla táctil inferior

NOTA

Los iconos con una barra gruesa en la parte inferior, como por ejemplo,  activan/detienen un proceso o llevan a otra pantalla.

6.3 Estructura del menú de la unidad de control

En la siguiente figura se muestra una visión general esquemática de todos los menús del Encapsulador B-395 Pro, cada uno con sus funciones disponibles.

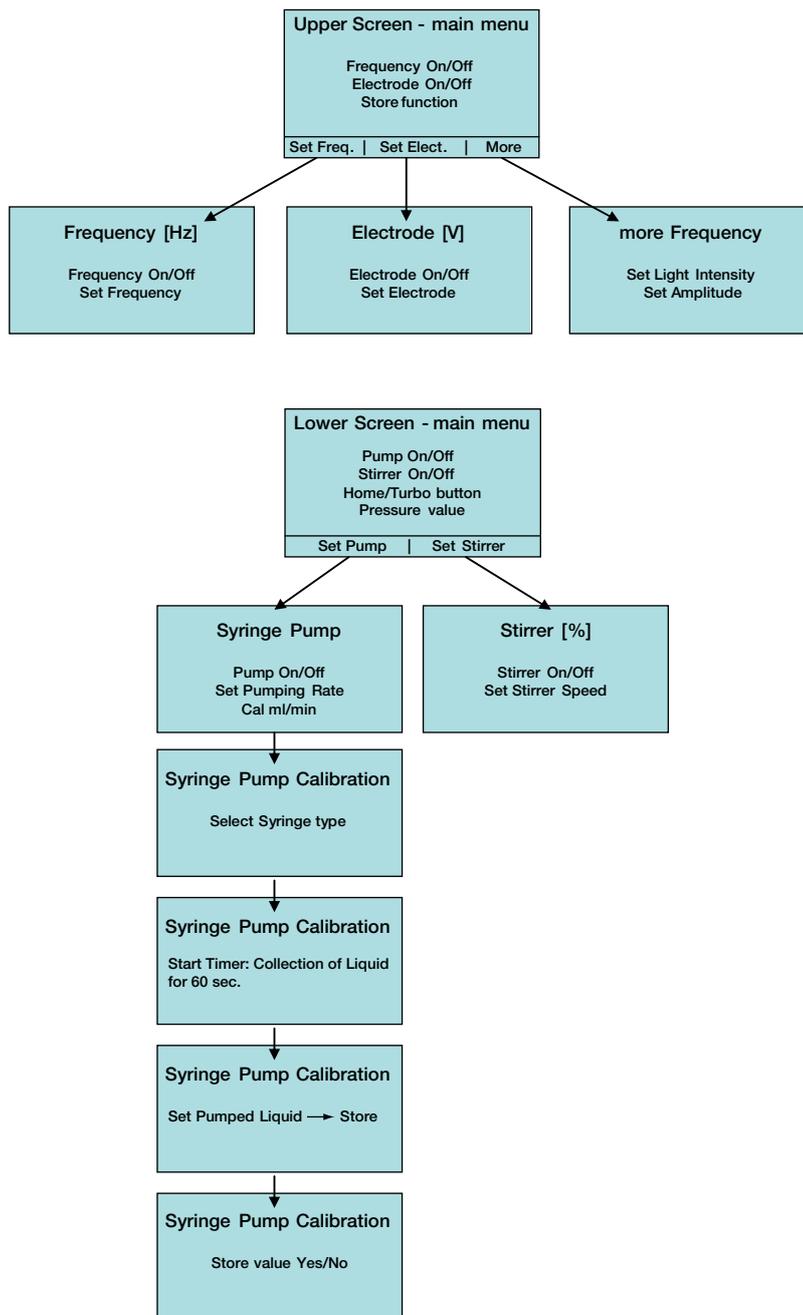
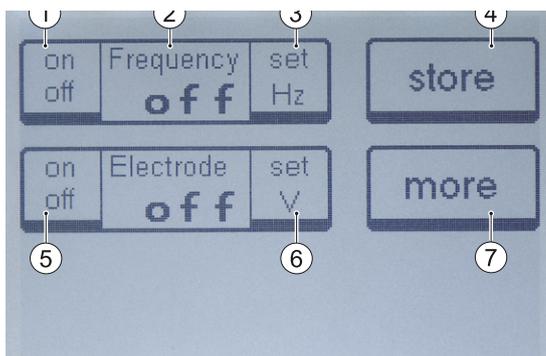


Figura 6-1: Estructura del menú de la unidad de control

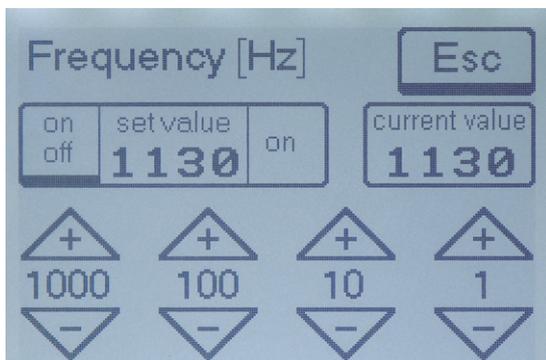
6.4 Funciones del menú de la pantalla táctil superior

La vibración (frecuencia y amplitud), la dispersión electrostática (voltaje) y la intensidad de la luz de la lámpara estroboscópica se controlan en la pantalla táctil superior. Cuando se enciende el Encapsulador, la pantalla táctil ejecuta un programa de inicialización durante unos segundos. Después, la pantalla muestra el menú de inicio (*pantalla 6.3*) con tres subpartes (consulte las *pantallas 6-4 a 6-6*) para la frecuencia, los electrodos y otras opciones relacionadas con la frecuencia y la intensidad de la luz.



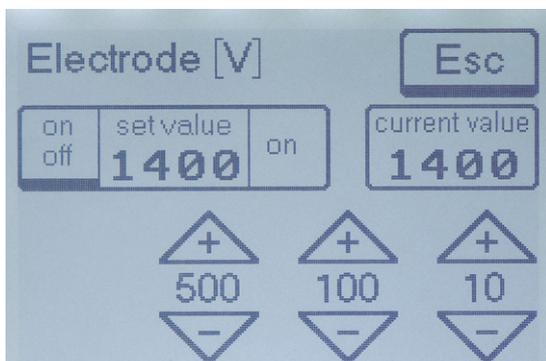
Pantalla 6-3: Menú de inicio de la pantalla táctil superior

- ① Botón de encendido/apagado para el control de la frecuencia.
- ② Indicación del parámetro de control y del estado del control (valor o apagado).
- ③ Botón para pasar a la pantalla 6-4 para establecer los parámetros de la frecuencia.
- ④ Botón para guardar los valores establecidos: pulse dos veces en un segundo. Un sonido indica que los valores se han guardado.
- ⑤ Botón de encendido/apagado para el control del electrodo.
- ⑥ Botón para pasar a la pantalla 6-5 para establecer los parámetros de los electrodos.
- ⑦ Botón para pasar a la pantalla 6-6 para establecer otros parámetros de la frecuencia.



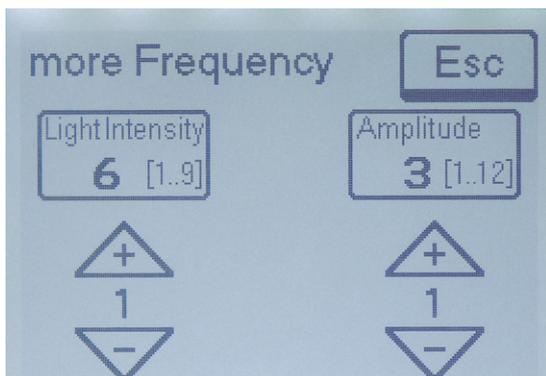
Pantalla 6-4: Regulación de la frecuencia

La regulación de la frecuencia genera la oscilación eléctrica apropiada en la unidad de vibración. Al apretar los botones (+) y (-), cambia la frecuencia. Al pulsar el botón "on/off", se activa o desactiva la frecuencia. Al pulsar "Esc", se vuelve al menú inicial y se mantiene el valor fijado.



Pantalla 6-5: Unidad de dispersión electrostática

La unidad de dispersión electrostática se usa para cargar la superficie de las perlas. Las fuerzas de repulsión inducidas por las superficies con la misma carga impiden que las perlas choquen entre sí en el vuelo y al entrar en la solución endurecedora. El voltaje aplicado oscila a menudo entre 500 y 2.000 V, dependiendo principalmente del tamaño de las perlas y de la velocidad del flujo de líquido. De este modo, el Encapsulador B-395 Pro puede generar de forma rutinaria lotes con una homogeneidad superior al 95 %. Al pulsar los botones (+) y (-), cambia el parámetro de dispersión electrostático. El sistema necesita unos momentos para alcanzar el valor establecido. Al pulsar "Esc", se vuelve al menú inicial y se mantiene el valor fijado.

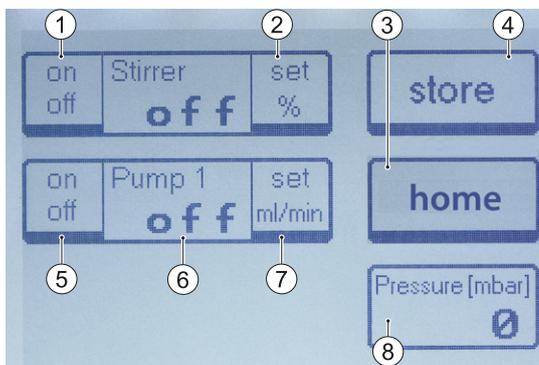


Pantalla 6-6: Otras opciones relacionadas con la amplitud de vibración y la intensidad de la luz de la lámpara estroboscópica.

La intensidad de la luz de la lámpara estroboscópica y la amplitud (= intensidad) de la vibración se pueden establecer con valores comprendidos entre 1 y 9. Por encima de una frecuencia de 1.500 Hz, la amplitud puede fijarse de 1 a 12. Al aumentar la amplitud, la vibración se vuelve más fuerte. Los valores superiores a 3 son principalmente para soluciones con una viscosidad > 100 mPa s. Al pulsar los botones (+) y (-), cambian inmediatamente los parámetros. Al pulsar el botón "Esc", se vuelve al menú inicial y se mantiene el valor fijado.

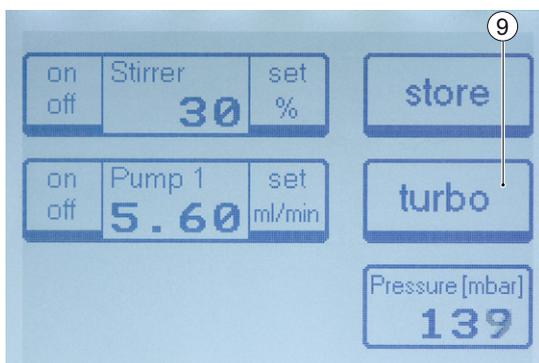
6.5 Funciones del menú de la pantalla táctil inferior

La bomba con jeringa (velocidad y calibración de la bomba) y el agitador magnético se controlan en la pantalla táctil inferior. Cuando se enciende el Encapsulador, la pantalla táctil ejecuta un programa de inicialización durante unos segundos. Después, la pantalla muestra el menú de inicio con dos subpartes (consulte las *figuras 6-7 a 6-10*).



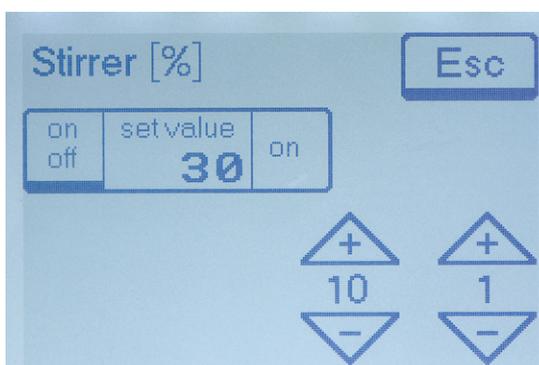
Pantalla 6-7: Menú de inicio de la pantalla táctil inferior

- ① Botón de encendido/apagado para el control del agitador magnético.
- ② Botón para pasar a la *pantalla 6-9* para establecer la velocidad del el agitador magnético.
- ③ Botón para hacer retroceder el brazo de la bomba con jeringa.
Este botón sólo está visible si el brazo no está todavía en la "posición inicial". Cuando la bomba avanza, este botón se convierte en el botón de "turbo"; consulte la *pantalla 6-8*.
- ④ Botón para guardar los valores establecidos: pulse dos veces en un segundo. Un sonido indica que los valores se han guardado.
- ⑤ Botón de encendido/apagado para el control de la bomba con jeringa.
- ⑥ Indicación del parámetro de control y del estado del control (valor o apagado).
- ⑦ Botón para pasar a la *pantalla 6-10* para establecer los parámetros de la bomba con jeringa.
- ⑧ Indicación del valor de la presión a la salida de aire de 0 a 1.000 mbares.



Pantalla 6-8: Pantalla táctil inferior con botón de turbo

- ⑨ Al pulsar el botón "turbo", se duplicará la velocidad de bombeo actual.

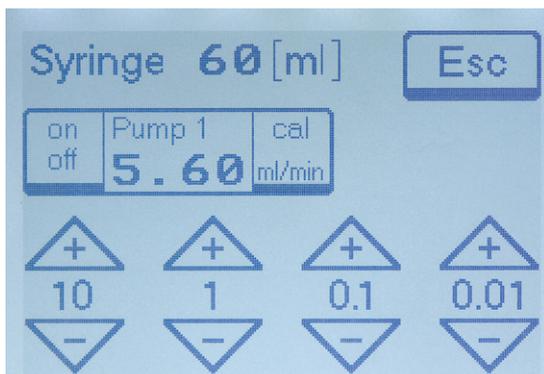


Pantalla 6-9: Regulación de la velocidad del agitador magnético

Al apretar los botones (+) y (-), cambia la velocidad del agitador. Al pulsar "Esc", se vuelve al menú inicial y se mantiene el valor fijado.

NOTA

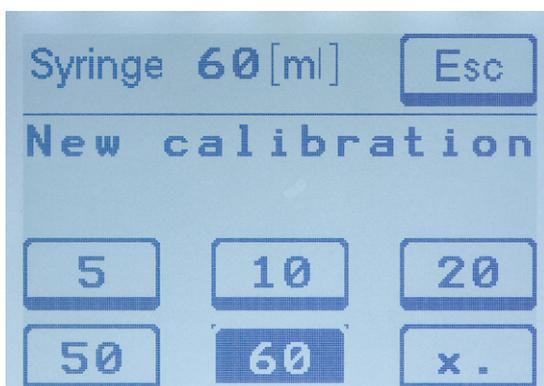
Los valores son arbitrarios, pero reproducibles y no corresponden a rpm.



Pantalla 6-10: Regulación de la velocidad de la bomba con jeringa

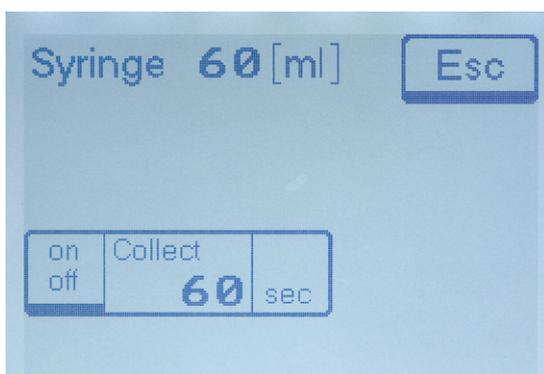
Al apretar los botones (+) y (-), cambia la velocidad de bombeo. Al pulsar "Esc", se vuelve al menú inicial y se mantiene el valor fijado. Al pulsar el botón "cal mL/min" mientras la bomba está en funcionamiento, se abre la *pantalla 6-11* que permite calibrar la jeringa actual. Si la bomba se detiene, la pantalla le pedirá que seleccione una jeringa calibrada.

6.5.1 Menú para la calibración de la bomba con jeringa



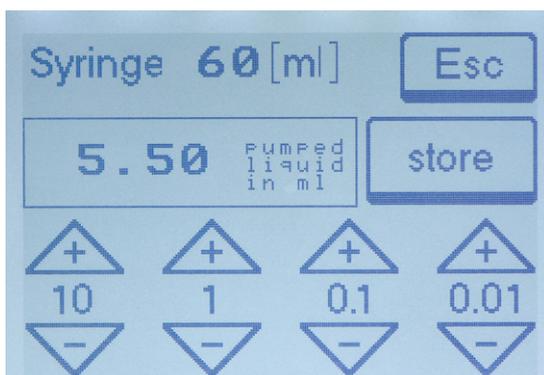
Pantalla 6-11: Calibración de la bomba con jeringa – selección del tipo de jeringa

Seleccione el volumen de la jeringa adecuada apretando el botón correspondiente. Se le remite a la *pantalla 6-12* (si la bomba está en funcionamiento) o a la pantalla principal (si la bomba está parada).



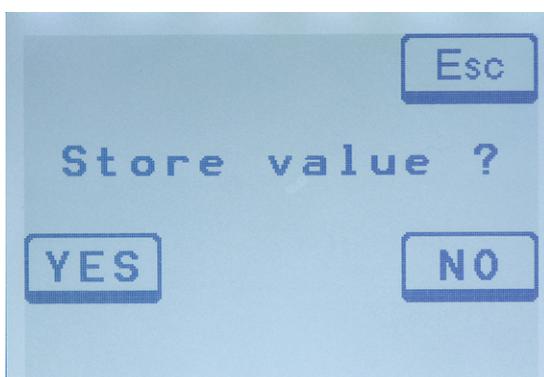
Pantalla 6-12: Calibración de la bomba con jeringa – temporizador

Al apretar el botón "on", se enciende el temporizador. El temporizador realiza una cuenta atrás de 1 minuto, de 60 segundos a 0 segundos. Durante este tiempo, se recoge el líquido del chorro en un recipiente previamente pesado. Los tres últimos segundos se indican mediante un sonido de corta duración. Un segundo después, se detiene la bomba con jeringa y se le remite a la *pantalla 6-13*.



Pantalla 6-13: Calibración de la bomba con jeringa – establecimiento del líquido bombeado

Pulse los botones (+) y (-) para introducir el líquido bombeado durante 1 min. Después, pulse el botón “store”. Se le remitirá a la *pantalla 6-14*.

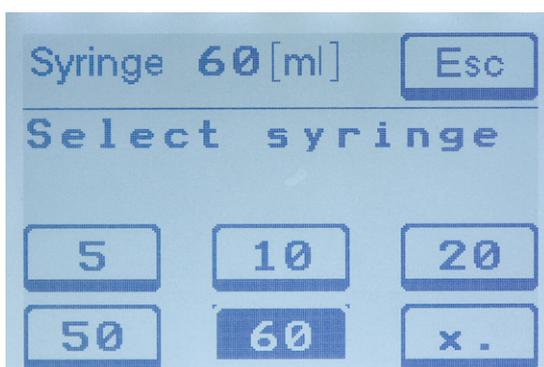


Pantalla 6-14: Calibración de la bomba con jeringa – cómo guardar un valor

Pulse “Yes” para guardar los valores. Se le remitirá al menú de inicio. La bomba con jeringa funcionará entonces a con la nueva calibración después de pulsar el botón “on” del control de la bomba.

6.5.2 Selección de una jeringa calibrada

Detenga la bomba. En la *pantalla 6-10*, pulse el botón “cal mL/min”. Se le remitirá a la *pantalla 6-15*.



Pantalla 6-15: Selección del tamaño de la jeringa

Seleccione la jeringa correspondiente apretando el ítem correspondiente. La jeringa se guarda y se le remite al menú de inicio.

NOTA

Esta pantalla sólo está accesible a partir del menú de inicio, si la bomba se detiene.

6.6 Control manual de presión de aire

En la unidad de control, la presión se controla manualmente con la válvula de regulación de presión, integrada en el panel frontal de la unidad de control (véase la *figura 6-2*). Fije la presión del aire a un valor de 0,2 a 0,3 bares superior a la presión máxima de aire necesaria durante el procedimiento de encapsulación; pero no superior a 1 bar. Al girar la perilla de la válvula de regulación de presión en el sentido de las agujas del reloj, aumenta la presión; y al girarlo en el sentido contrario al de las agujas del reloj, disminuye. La perilla de la válvula reguladora de presión tiene dos posiciones. Si se mete hacia dentro, se cierra; si se saca hacia afuera, se abre. Al girar la perilla en el sentido contrario al de las agujas del reloj, se reduce la presión por medio del sistema de autoventilación de la válvula. La presión se indica en la pantalla táctil (consulte la *pantalla 6-7*).

NOTA

- *La presión del aire o del nitrógeno que entran en la unidad de control del panel trasero del Encapsulador debe ser inferior a 7 bares (100 psi). El intervalo preferido está entre 1,5 y 2 bares (20 y 30 psi).*
- *Sea consciente de que el sistema de regulación de presión reacciona de forma relativamente lenta, ya que el desplazamiento del aire al interior o exterior a través de la válvula de constricción se retrasa.*
- *No deje la línea de suministro de gas puesta cuando no se esté usando el Encapsulador. El sistema de autoventilación de la válvula vaciaría el depósito de gas.*
- *La presión máxima en la entrada de aire es de 1,5 bares (20 psi). Esta válvula está controlada por una válvula de seguridad de exceso de presión, que se abre a 1,5 bares. Sin embargo, el intervalo de trabajo es de 0 a 1 bar.*



Figura 6-2: Sistema de regulación de la presión de aire para el control manual de la presión del aire – al girar la válvula de regulación de la presión en el sentido de las agujas del reloj, **aumenta** la presión.

6.7 Manejo de la bomba con jeringa

Cuando la bomba con jeringa se usa por primera vez después de encender la unidad de control, pulse el botón “home” de la pantalla táctil inferior para desplazar hacia atrás el brazo de la bomba. Deje que el brazo se desplace por completo hacia atrás hasta que toque el microconmutador del extremo (consulte la *figura 6-3*), donde se detendrá. De este modo, el ordenador de la unidad de control reconocerá la posición exacta del brazo de la jeringa. Acople la jeringa llena (recomendamos usar jeringas de plástico con sistema luer lock) a la unidad de producción de perlas. Deje que el brazo de la jeringa se desplace hacia adelante al encender la bomba (consulte la *pantalla 6-10*). Al apretar el botón “turbo”, el brazo se mueve al doble de la velocidad. Puede aumentar la velocidad de desplazamiento hacia adelante estableciendo una velocidad de bombeo superior de forma temporal. Reduzca la velocidad a medida que el brazo de la bomba se acerque al émbolo de la jeringa. Detenga la bomba cuando el brazo toque el émbolo de la jeringa. Fije la velocidad de flujo del líquido deseada (consulte la *pantalla 6-10*). Inicie el bombeo pulsando el botón “on/off”. Para cebar el sistema, pulse el botón “turbo”. La bomba se desplazará al doble de velocidad, hasta que se forme un chorro de líquido continuo en la boquilla. Después, pulse de nuevo el botón “turbo” para volver al valor preconfigurado. Si es necesario, ajuste la velocidad de bombeo para obtener perlas claramente separadas en el estroboscopio.

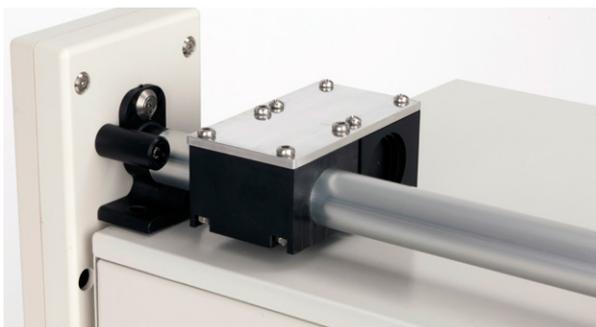


Figura 6-3: Perilla del extremo de la bomba con jeringa

6.7.1 Calibración de la bomba con jeringa

Llene la jeringa con agua o con la mezcla de inmovilización y acóplela a la unidad de producción de perlas. Pese un recipiente para recoger el líquido bombeado durante 1 minuto e inicie el bombeo. Establezca la velocidad de bombeo para conseguir que la formación de perlas sea óptima. Inicie el procedimiento de calibración apretando el botón “cal mL/min” (consulte la *pantalla 6-10*). Elija el tamaño adecuado de la jeringa (consulte la *pantalla 6-11*).

Pulse el botón “on/off” (consulte la *pantalla 6-12*) y recoja el líquido proveniente de la boquilla en el recipiente previamente pesado durante 60 segundos. Los tres últimos segundos se indican mediante un sonido. La bomba se detiene automáticamente un segundo después del último sonido. Pese el líquido bombeado. Inserte la válvula (consulte la *pantalla 6-13*) y guarde el valor. Este tipo de jeringa ya habrá quedado calibrado.

6.7.2 Selección de una jeringa precalibrada

Los tipos de jeringas calibradas pueden recuperarse según sea necesario. Detenga la bomba, pulse el botón “cal mL/min” (consulte la *pantalla 6-10*) y se le remitirá a la *pantalla 6-15*. Seleccione la jeringa correspondiente y se le remitirá al menú de inicio. La selección se habrá completado.

6.8 Practicar con el Encapsulador usando agua

Antes de trabajar con los polímeros de encapsulación, use agua para practicar con el Encapsulador y familiarizarse con los efectos de los controles. Tome la tapa del recipiente de reacción, acople la unidad de producción de perlas y una boquilla de 200 μm o 300 μm a ella. Coloque la placa de cubierta montada sobre la unidad de control. Acóplela con los dos tornillos de pulgar. Coloque la unidad de vibración en la unidad de producción de perlas. Coloque el matraz grande (aprox. 600 mL) bajo la boquilla. Conecte el electrodo con el cable rojo a la unidad de dispersión electrostática (EDU).

6.8.1 Uso de la bomba con jeringa

1. Llene una jeringa de 60 mL con agua destilada e instálela como se describe en la *sección 5.5*. Fije la velocidad de la bomba con jeringa a 4 mL/min. Active el sistema de control de vibración y fije la vibración a 1.500 Hz. Active la bomba con jeringa. El agua fluirá en gotas grandes por la boquilla. Aumente la velocidad de bombeo hasta que se forme un chorro de líquido continuo. Cambie la velocidad de bombeo y observe la cadena de perlas a la luz del estroboscopio. Las condiciones de trabajo adecuadas se dan cuando las perlas dentro de la cadena de perlas están claramente separadas varios centímetros, de 3 a 5 mm por debajo de la boquilla. Observe los ajustes de la vibración, el voltaje y la bomba con jeringa antes de detener la bomba.

NOTA

Si tiene dificultades para ver la cadena de perlas, reduzca la cantidad de luz alrededor del Encapsulador y mire desde una distancia de 20 a 30 cm (8" a 12") en el chorro de líquido para que el marco negro del estroboscopio quede directamente detrás del chorro.

2. Inicie el la bomba de nuevo y suelte el botón "turbo". La bomba duplicará su velocidad y se formará un chorro de líquido continuo. Suelte el botón "turbo" y el chorro se estabilizará pronto a la velocidad de flujo preseleccionada. El botón "turbo" es muy útil para cebar el sistema cuando se usan soluciones poliméricas viscosas y para eliminar obstrucciones pequeñas que impidan el flujo.
3. Aumente la frecuencia de vibración hasta que la cadena de perlas se vuelva inestable y después aumente la velocidad de bombeo hasta que se restablezca una cadena de perlas óptima. Repita este procedimiento en la dirección opuesta disminuyendo la velocidad de bombeo y reduciendo después la frecuencia de vibración. Tras realizar este ejercicio una serie de veces, se familiarizará con la relación entre estos dos parámetros. Introduzca los valores que ha determinado para la cadena de perlas óptima en la *tabla 6-1*.

NOTA

La velocidad de flujo del líquido y la velocidad de vibración influyen entre sí dentro de un intervalo de trabajo determinado. El intervalo de trabajo mismo queda determinado principalmente por el diámetro de la boquilla y la viscosidad de la mezcla de polímeros.

Reglas generales:

- **Las frecuencias más altas generan tamaños de perlas más pequeños.**
- **Las velocidades de flujo más bajas generan unos tamaños de perlas más pequeños.**
- **Cuanto más pequeñas sean las perlas, menor será el voltaje electrostático necesario para separar el chorro de perlas.**
- **Las boquillas más pequeñas generan tamaños de perlas más pequeños. El diámetro final de las perlas será de aproximadamente el doble del tamaño de la boquilla.**

4. Fije la velocidad de bombeo y la frecuencia de vibración con los valores que ha determinado que generan una cadena de perlas clara y óptima. Active la unidad de dispersión electrostática a 300 V y aumente el voltaje en incrementos de 100 V hasta que el chorro de líquido unidimensional se transforme en un chorro lineal tipo embudo. Cuanto más alta sea la carga electrostática, antes se separará la cadena de perlas. Así se evita que las perlas choquen entre sí en el vuelo y al entrar en la solución endurecedora, puesto que son entonces similares a partículas cargadas que se repelen entre sí. Gracias a esta característica exclusiva, el Encapsulador puede generar de forma rutinaria lotes de perlas con una homogeneidad superior al 95 %.
5. Cambie la frecuencia de vibración y la velocidad de bombeo y observe su influencia en el voltaje electrostático necesario para generar la separación del chorro de perlas. El uso de la unidad de dispersión electrostática aumenta el intervalo de trabajo.
Puede suceder que, después de algún tiempo, las perlas dejen de entrar en el matraz receptor o que salten fuera del mismo. Esto se debe al hecho de que las cargas electrostáticas se han acumulado en el matraz aislado eléctricamente. Para evitar este fenómeno, coloque el clip de acero inoxidable suministrado del cable de toma a tierra sobre el extremo del matraz, de modo que se extienda hasta el líquido receptor y conecte el cable verde-amarillo al enchufe de toma a tierra del panel frontal de la unidad de control (consulte la figura 6-4). Si trabaja con el recipiente de reacción entero, las cargas electrostáticas se eliminarán automáticamente sin necesidad de usar el cable de toma a tierra.



Figura 6-4: Toma a tierra del baño de polimerización

6. Cambie la amplitud de la vibración y observará solamente algunos pequeños cambios en la cadena de perlas. En general, los valores entre 1 y 3 son óptimos para soluciones de viscosidad baja. Si se usan mezclas de inmovilización con una viscosidad relativamente alta (> 150 mPa s), unos valores superiores a 3 podrían ser más adecuados.
7. Repita este experimento con otro tamaño de boquilla.

6.8.2 Uso de la botella de presión

1. Monte la unidad de producción de perlas, enrosque la boquilla individual de 0,30 mm a la unidad de producción de perlas y acople todo a la tapa con el tornillo (M3×25). Coloque la unidad de vibración sobre la unidad productora de perlas. Conecte el electrodo con el cable rojo a la unidad de dispersión electrostática (EDU).
2. Llene la botella de presión con 200 a 300 mL de agua destilada y atornille el capuchón ensamblado. Pase el tubo de silicona (4×7 mm) entre las cuchillas de la válvula reguladora de flujo y acople el accesorio luer lock macho al tubo de silicona al luer lock hembra de la unidad productora de perlas. Apriete la válvula girando la perilla en el sentido de las agujas del reloj para que se cierre el tubo de silicona.
3. Abra el suministro de aire presurizado externo. La presión de la entrada de aire es óptima a entre 1,5 y 2 bares (20 a 30 psi). Sin embargo, el sistema tolera presión de entrada de aire de hasta 7 bares (100 psi).
4. Fije la presión de salida de aire a 0,2 bares con la válvula de regulación de presión. Compruebe la lectura periódicamente para verificar si la presión de aire sigue correspondiéndose con el valor fijado. Active el sistema de control de vibración y establezca la frecuencia a 800 Hz.
5. Abra la válvula de regulación de flujo girando la perilla en el sentido contrario al de las agujas del reloj hasta que el agua fluya por el tubo de silicona y la unidad productora de perlas hasta la boquilla donde forma un chorro de líquido continuo. Ajuste el flujo de líquido y/o la frecuencia para obtener una buena cadena de perlas a la luz de la lámpara estroboscópica. El ajuste deseado se consigue cuando las perlas dentro de la cadena de perlas están visiblemente separadas varios centímetros, entre 3 y 5 mm por debajo de la boquilla. Registre la posición de la válvula de regulación de presión para este ajuste deseado.
6. Aumente la frecuencia de vibración hasta que la cadena de perlas se vuelva inestable. Después, aumente la velocidad del flujo de líquido incrementando lentamente la presión de aire hasta restablecer una cadena de perlas uniforme. Repita esto en la dirección opuesta disminuyendo la velocidad del flujo y compensándola al reducir la frecuencia de vibración. Puede hacer esto hasta familiarizarse con la relación entre estos dos ajustes. Registre los valores en la *tabla 6-2*.

NOTA

- *La velocidad del flujo de líquido y la velocidad de vibración influyen entre sí dentro de un intervalo de trabajo determinado. El intervalo de trabajo mismo queda determinado principalmente por el diámetro de la boquilla y la viscosidad de la mezcla de polímeros.*
- *Un ajuste de presión de aire de entre 0,05 y 0,15 bares es suficiente para bombear agua destilada. **Unas presiones de trabajo superiores indican problemas, como una boquilla obstruida.***

Reglas generales:

- **Las frecuencias más altas generan tamaños de perlas más pequeños.**
- **Las velocidades de flujo más bajas generan unos tamaños de perlas más pequeños.**

7. Fije la velocidad del flujo de líquido y la frecuencia de vibración a un valor donde se obtenga una cadena de perlas clara. Active la unidad de dispersión electrostática a 300 V y aumente la tensión paso a paso en 100 V hasta que el chorro de líquido unidimensional se transforme en un chorro multilinear tipo embudo. Cuanto más alta sea la carga electrostática, antes se separará la cadena de perlas. Así se evita que las perlas choquen entre sí en el vuelo y al entrar en la solución endurecedora. Por lo tanto, el Encapsulador puede generar de forma rutinaria lotes con una homogeneidad superior al 95 %. Si no sucede nada, compruebe si el electrodo está conectado a la unidad de control.
8. Cambie la frecuencia de vibración y la velocidad de flujo y observe su influencia en la tensión electrostática necesaria para generar una separación del chorro. El uso de la tensión electrostática aumenta el intervalo de trabajo.
Puede suceder que, después de algún tiempo, las perlas dejen de entrar o que salten fuera del matraz. Esto se debe al hecho de que las cargas electrostáticas se han acumulado en el matraz aislado eléctricamente. Para evitar este fenómeno, coloque el clip de acero inoxidable suministrado del cable de toma a tierra sobre el extremo del matraz, de modo que extienda en el líquido receptor y conecte el cable verde-amarillo al enchufe de toma a tierra del panel frontal de la unidad de control. Si trabaja con el recipiente de reacción entero, las cargas electrostáticas se eliminarán automáticamente sin necesidad de usar el cable de toma a tierra.

Regla general:

Cuanto más grandes sean las perlas, mayor será el voltaje electrostático necesario para separar el chorro.

9. Cambie la amplitud de la vibración. Observará solamente algunos pequeños cambios en la cadena de perlas. Muy a menudo los valores entre 1 y 3 son óptimos para soluciones viscosas bajas. Si se usan mezclas de inmovilización con una viscosidad relativamente alta (> 150 mPa s), unos valores superiores a 3 podrían ser más adecuados.
10. Repita este procedimiento con otro tamaño de boquilla.

Regla general:

- ***Las boquillas más pequeñas generan tamaños de perlas más pequeños.***
- ***El diámetro final de las perlas será de aproximadamente el doble del tamaño de la boquilla.***

6.9 Practicar con el Encapsulador usando solución de alginato no estéril

Después de familiarizarse con los controles de formación de perlas, realice pruebas con soluciones de alginatos no estériles. El alginato de sodio es el polímero usado más frecuentemente, pero hay otros en uso con propiedades diversas. Recomendamos el alginato de grado de viscosidad bajo. La concentración del alginato influye mucho en la viscosidad y esto, a su vez, influye en la gota de presión en la boquilla. Por lo tanto, la concentración de la solución de alginato es una función del diámetro de la boquilla (consulte la siguiente tabla).

Tabla 6-3: Concentraciones de alginatos recomendadas (basadas en el peso seco) para distintos diámetros de boquilla

Diámetro de boquilla	Concentración de alginato de grado de viscosidad bajo	
	Intervalo de trabajo	Concentración recomendada
80 a 120 μm	0,75 a 1,4 %	1,1 a 1,2 %
120 a 200 μm	1,0 a 1,6 %	1,3 a 1,4 %
200 a 300 μm	1,2 a 1,8 %	1,5 a 1,6 %
300 a 500 μm	1,5 a 2,5 %	1,8 a 2,0 %

NOTA

En condiciones de almacenamiento normales, el polvo de alginato contiene un 10 – 12 % de agua. Por lo tanto, nos referimos a la concentración de alginato en una base de peso seco.

6.9.1 Preparación de solución de Na-alginato al 1,5 %

1. Tome un matraz de 400 mL y pese 3,3 g de polvo de Na-alginato de grado de viscosidad bajo.
2. Añada 200 mL de agua desionizada y mézclelo enérgicamente con un mezclador de laboratorio durante 1 a 2 minutos.
3. El alginato tiene tendencia a formar grumos. Retire los grumos del alginato del matraz y las cuchillas del mezclador con una espátula y mézclelo de nuevo durante 1 a 2 minutos. Si quedan grumos en el líquido, repita la mezcla.
4. Después, deje en reposo la mezcla para que las burbujas de aire atrapadas salgan del líquido.
5. Si es necesario, retire el gas de la mezcla bajo presión reducida.
6. La disolución del alginato con un agitador magnético lleva mucho más tiempo y debe hacerse por la noche.

NOTA

Las soluciones de alginato soportan el crecimiento de microorganismos y permanecen estables durante unas 2 semanas en una nevera. Una indicación de contaminación microbiana es la reducción de la viscosidad de la mezcla. Las soluciones de alginato se pueden almacenar durante un periodo de tiempo mucho más largo, incluso a temperatura ambiente, si se esterilizan o se añaden conservadores, como NaN_3 al 0,05 %.

6.9.2 Cómo trabajar con la bomba con jeringa

1. Acople una boquilla de 200 μm o 300 μm a la unidad productora de perlas. Coloque la placa de cubierta montada sobre la unidad de control. Acóplela con los dos tornillos de pulgar. Coloque la unidad de vibración en la unidad de producción de perlas. Conecte el electrodo con el cable rojo a la unidad de dispersión electrostática (EDU). Ponga el agitador magnético debajo de la boquilla y un matraz grande sobre el agitador. Llene el matraz con 100 mM de CaCl_2 para que al menos 2 cm (aproximadamente $\frac{3}{4}$ ") se llenen de líquido de polimerización. Ponga una barra agitadora magnética en el matraz y ajuste el agitador de modo que haya un pequeño vértice visible. Un vértice dentro del líquido creará fuerzas de cizallamiento que podrían deformar las perlas. Es mejor usar una barra agitadora sin anillo giratorio (suministrada) porque el anillo giratorio elevará la barra agitadora y podría triturar las perlas que se encuentran debajo. Además, coloque el clip de toma a tierra en el borde del matraz y dentro del líquido. En este momento, cubra el matraz con una placa (placa de Petri) o déjelo a un lado junto con el agitador y meta otro matraz con agua (y el clip de toma a tierra) bajo la boquilla colocada en su lugar.
2. Llene a una jeringa de 60 mL con solución de alginato al 1,5 % anterior e instálela en el Encapsulador.
3. Active el sistema de control de vibración y fije la frecuencia de vibración a 1.200 Hz para la boquilla de 200 μm o a 900 Hz para la boquilla de 300 μm . Active la bomba con jeringa y fije la velocidad de bombeo a 5 mL/min para la boquilla de 200 μm o 8 mL/min para la boquilla de 300 μm . Apriete el botón "turbo" hasta que se forme un chorro de líquido continuo. Suelte el botón "turbo" y el chorro se estabilizará pronto a la velocidad de flujo preseleccionada. Ajuste la velocidad de bombeo y/o la frecuencia para obtener una cadena de perlas clara debajo del electrodo.
4. Active la unidad de dispersión electrostática a 500 V. Aumente el voltaje en incrementos de 100 V para conseguir una dispersión circular del chorro de perlas de 3 a 10 cm (1" a 4") después del electrodo. Una distancia óptima es aproximadamente 5 cm (unos 2") por debajo del electrodo. Si no sucede nada, verifique si el electrodo está conectado a la unidad de control.

NOTA

Cuanto más fuerte sea la dispersión circular del chorro de perlas, mejor será la homogeneidad de las mismas. Esto no depende únicamente de la tensión electrostática, sino que la velocidad de flujo del líquido y la frecuencia de vibración también son factores que influyen. Influyen en el modo en que la perla se separe del chorro de líquido dentro del campo electrostático entre la boquilla y el extremo del electrodo. Las perlas más pequeñas se separan a menudo del chorro de líquido más próximo a la boquilla que las perlas más grandes.

5. En cuanto se obtenga un patrón de dispersión estable y simétrico, cambie el matraz por el matraz que contiene la solución de polimerización. Recoja las perlas durante aproximadamente 1 minuto. Registre los parámetros del proceso en la *tabla 6-4* mientras se acumulan las perlas. Cubra el matraz (o cámbielo por el matraz anterior que contiene los residuos) y detenga la producción de perlas apagando la bomba con jeringa, el control de vibración y el voltaje electrostático.

NOTA

Limpie la boquilla minuciosamente inmediatamente después de cada uso empleando agua destilada para evitar la obstrucción de la misma o una oclusión parcial que se produce cuando la mezcla de polímeros se quede seca.

Tabla 6-4: Ficha de trabajo de prueba del Encapsulador (bomba con jeringa)

Tamaño de la jeringa [mL]					
Tamaño de la boquilla [μm]					
Concentración del alginato [%]					
Velocidad de bombeo [mL/min]					
Frecuencia de vibración [Hz]					
Amplitud					
Tamaño aproximado de las perlas [μm]					
Homogeneidad [%]					
Comentarios					

- Inspeccione las perlas en un microscopio con un dispositivo ocular con escala micrométrica y registre sus observaciones sobre el diámetro, la uniformidad y la forma en la *tabla 6-4*.
- Repita este procedimiento para cada cambio en los parámetros del proceso.

NOTA

Al producirse perlas pequeñas con un diámetro $< 500 \mu\text{m}$, puede suceder que su forma no sea esférica, sino más bien ovalada. Esto se debe principalmente a la tensión de la superficie de la solución de polimerización. Un punto muy crítico de la perla es su entrada en la solución de polimerización. Si la tensión de la superficie es elevada, la perla se queda parcialmente en la superficie y la polimerización comienza antes de que la perla pueda recuperar una forma redonda. Este problema puede eliminarse añadiendo una cantidad pequeña de surfactante como Tween 20 a la mezcla de polimerización.

- Compare la influencia de la unidad de dispersión electrostática recogiendo las perlas a la misma frecuencia de vibración y velocidad de bombeo con la función electrostática encendida y apagada.
- Determine el campo de trabajo por pasos cambiando la velocidad de bombeo desde la velocidad de flujo del líquido más baja, que genera un chorro de líquido continuo, hasta la una velocidad del flujo con la cual la cadena de perlas deje de estar visible a cualquier frecuencia de vibración. Observe las frecuencias más bajas y más altas correspondientes en la *tabla 6-5*.

6.9.3 Cómo trabajar con la botella de presión

1. Acople una boquilla de 200 μm o 300 μm a la unidad productora de perlas. Coloque la placa de cubierta montada sobre la unidad de control. Acóplela con los dos tornillos de pulgar. Coloque la unidad de vibración en la unidad de producción de perlas. Conecte el electrodo con el cable rojo a la unidad de dispersión electrostática (EDU). Ponga el agitador magnético debajo de la boquilla y un matraz grande sobre el agitador. Llene el matraz con 100 mM de CaCl_2 para que al menos 2 cm (aproximadamente $\frac{3}{4}$ ") se llenen de líquido de polimerización. Ponga una barra agitadora magnética en el matraz y ajuste el agitador de modo que haya un pequeño vértice visible. Además, coloque el clip de toma a tierra en el borde del matraz y dentro del líquido. En este momento, cubra el matraz con una placa (placa de Petri) o déjelo a un lado junto con el agitador y meta otro matraz con agua (y el clip de toma a tierra) bajo la boquilla colocada en su lugar.
2. Llene la botella de presión con la solución de alginato al 1,5 % anteriormente descrita y ponga el capuchón montando enroscándolo. Pase el tubo de silicona (4x7 mm) entre las cuchillas de la válvula de regulación del flujo y acople el accesorio luer lock macho del tubo de silicona al accesorio luer lock hembra de la unidad productora de perlas. Apriete la válvula girando la perilla en el sentido de las agujas del reloj para que se cierre el tubo de silicona.
3. Abra el suministro de aire presurizado externo. La presión de la entrada de aire es óptima entre 1,5 y 2 bares (20 a 30 psi). Sin embargo, el sistema tolera presión de entrada de aire de hasta 7 bares (100 psi).
4. Fije la presión del aire a 0,4 bares en el sistema de regulación de presión. Compruebe la lectura periódicamente para verificar si la presión de aire sigue correspondiéndose con el valor fijado. Active el sistema de control de vibración y fije la frecuencia de vibración a 1.100 Hz para la boquilla de 200 μm o a 800 Hz para la boquilla de 300 μm .
5. Abra la válvula de regulación de flujo girando la perilla en el sentido contrario al de las agujas del reloj hasta que el líquido fluya por el tubo de silicona y la unidad productora de perlas hasta la boquilla donde forma un chorro de líquido continuo. Ajuste el flujo de líquido y/o la frecuencia para obtener una buena cadena de perlas a la luz de la lámpara estroboscópica. El ajuste deseado es cuando las perlas dentro de la cadena de perlas están visiblemente separadas varios centímetros, empezado entre 3 y 5 mm por debajo de la boquilla. Registre la posición de la válvula de regulación de presión para este ajuste deseado.
6. Aumente la frecuencia de vibración hasta que la cadena de perlas se vuelva inestable. Después, aumente la velocidad del flujo de líquido incrementando lentamente la presión de aire o abriendo despacio la válvula de regulación del flujo hasta restablecer una cadena de perlas uniforme. Repita esto en la dirección opuesta disminuyendo la velocidad del flujo y compensándola al reducir la frecuencia de vibración. Puede hacer esto hasta familiarizarse con la relación entre estos dos ajustes. Registre los valores en la *tabla 6-5*.

NOTA

Un ajuste de presión de aire de entre 0,1 y 0,8 bares es generalmente suficiente para bombear la mezcla de polímeros. Deben evitarse presiones de trabajo superiores a 1,0 bares, ya que indican problemas como:

- *Una boquilla obstruida,*
 - *Una mezcla de polímeros excesivamente viscosa,*
 - *Una boquilla de tamaño inferior al necesario para la mezcla de polímeros en uso.*
7. Active la unidad de dispersión electrostática a 500 V. Aumente el voltaje en incrementos de 100 V para conseguir una dispersión circular del chorro de perlas de 3 a 10 cm (1" a 4") después del electrodo. Una distancia óptima es aproximadamente 5 cm (aprox. 2") por debajo del electrodo.

NOTA

Cuanto más fuerte sea la dispersión circular del chorro de perlas, mejor será la homogeneidad de las mismas. Esto no depende únicamente de la tensión electrostática, sino de la velocidad de flujo del líquido y la frecuencia de vibración también son factores que influyen. Lo ideal es que la perla se separe del chorro de líquido dentro del campo electrostático entre la boquilla y el extremo del electrodo.

- En cuanto se obtenga una dispersión estable y simétrica, retire la placa del matraz que contiene la solución de polimerización o reemplace el matraz de agua por el matraz con la solución de polimerización y la placa agitadora (y el fórceps de toma a tierra), y recoja las perlas durante aproximadamente 1 minuto. Registre los parámetros del proceso en la *tabla 6-5* mientras se acumulan las perlas. Cubra o cambie el matraz y detenga la producción de perlas apagando el voltaje electrostático, el control de presión de aire y el control de vibración.

NOTA

Limpie la boquilla minuciosamente inmediatamente después de cada uso empleando agua destilada para evitar la obstrucción de la misma o una oclusión parcial que se produce cuando la mezcla de polímeros se quede seca.

- Compruebe las perlas en un microscopio con un dispositivo ocular con escala micrométrica y registre sus observaciones sobre el diámetro, la uniformidad y la forma en la *tabla 6-6*.
- Repita este proceso para cada cambio en los parámetros del proceso.

Tabla 6-6: Ficha de trabajo de prueba del Encapsulador (botella de presión)

Tamaño de la boquilla [μm]					
Concentración del alginato [%]					
Posición de la válvula de regulación del flujo					
Frecuencia de vibración [Hz]					
Amplitud					
Tamaño aproximado de las perlas [μm]					
Homogeneidad [%]					
Comentarios					

NOTA

Al producirse perlas pequeñas con un diámetro $< 500 \mu\text{m}$, puede suceder que su forma no sea esférica, sino más bien ovalada. Esto se debe principalmente a la tensión de la superficie de la solución de polimerización. Un punto muy crítico de la perla es su entrada en la solución de polimerización. Si la tensión de la superficie es elevada, la perla se queda parcialmente en la superficie y la polimerización comienza antes de que la perla pueda recuperar una forma redonda. Este problema puede eliminarse añadiendo una cantidad pequeña de surfactante como Tween 20 a la mezcla de polimerización.

- Compare la influencia de la unidad de dispersión electrostática recogiendo las perlas a la misma frecuencia de vibración y velocidad de bombeo con la función de tensión electrostática encendida y apagada.

6.10 Practicar con el Encapsulador trabajando con el recipiente de reacción completo

Una vez conforme con la formación de perlas de Ca-alginato, realice pruebas con el recipiente de reacción entero para simular las condiciones de trabajo estériles, pero utilizando solución de alginato no estéril.

Las condiciones de trabajo estériles conllevan la dificultad adicional de que a menudo resulta imposible modificar el contenido del recipiente de reacción esterilizado en el autoclave sin perder la esterilidad, como una pieza olvidada o mal montada. Por lo tanto, es importante que el recipiente de reacción se prepare correctamente antes de la esterilización. Siga la *sección 5* para saber cómo montar y esterilizar el recipiente de reacción. Si cambia algo, anótelos en un procedimiento distinto.

1. Prepare todos los reactivos de encapsulación necesarios (como por ejemplo, para la encapsulación de células animales; consulte la *sección 6.14*).

Para este proceso:

60 mL	solución de alginato al 1,5 %
500 mL	100 mM de solución de polimerización CaCl_2
600 mL	NaCl al 0,9 % + 10 mM de solución de lavado CaCl_2

Monte una botella de presión.

2. Tome el recipiente de reacción esterilizado en el autoclave y acóplelo a la unidad de control. Compruebe si el tubo de silicona del puerto de drenaje de líquido de la placa base del reactor está cerrado con una pinza. Asegúrese de que la válvula colectora de perlas del recipiente de reacción esté cerrada, el agitador magnético esté debajo del reactor y la barra agitadora esté encima del agitador magnético.
 - Conecte la unidad de dispersión electrostática al cable rojo del recipiente de reacción.
 - Mueva el capuchón colector del dispositivo de eliminación de perlas para situarlo debajo de la boquilla.
3. Meta la solución de polimerización de 500 mL en la botella de presión. Acople el tubo de silicona al filtro de membrana de líquido. Conecte la botella de presión a la salida de aire de la unidad de control. Encienda la unidad de control. Fije la presión de aire a entre 0,3 y 0,7 bares (4 a 10 psi). Cuando se bombee la cantidad de líquido deseada, libere la presión de aire.

NOTA

La cantidad de solución endurecedora debe ser de 8 a 10 veces mayor que el volumen de la mezcla polimérica. La solución de polimerización debe alcanzar una altura de al menos 2 cm (aprox. 3/4") dentro del recipiente de reacción (como mínimo 200 mL).

4. Fije la frecuencia de vibración, la tensión electrostática y, si se usa la bomba con jeringa, la velocidad de bombeo con los valores adecuados determinados anteriormente. Fije la velocidad del agitador magnético para que quede un vértice visible.
5. Llene a una jeringa de 60 mL con solución de alginato/muestra y acóplela al Encapsulador. Active el sistema de control de vibración y fije la frecuencia de vibración con los valores predeterminados en la *sección 6-9*. Active la bomba con jeringa y fije la velocidad de bombeo tal y como se ha determinado anteriormente. Apriete el botón "turbo" hasta que se forme un chorro de líquido continuo. Active el sistema de dispersión electrostática. Si es necesario, ajuste la velocidad de bombeo y/o la frecuencia para obtener una cadena de perlas clara debajo del capuchón colector.

6. En cuanto la cadena de perlas esté estable, quite de en medio el capuchón colector para que comience el proceso real de producción de perlas. El chorro de perlas debe dispersarse a entre 3 y 10 cm (aproximadamente 1" a 4") por debajo del electrodo. Una distancia óptima es aproximadamente 5 cm (2") por debajo del electrodo. Para conseguir este objetivo, tendrá que ajustar la tensión electrostática y posiblemente adaptar la frecuencia de vibración y la velocidad de bombeo.
7. Observe y registre los parámetros exactos del proceso. Inspeccione la producción de perlas real a la luz de la lámpara estroboscópica para verificar los ajustes.
8. Poco antes de soltar por completo el émbolo de la jeringa, mueva de nuevo el capuchón colector del dispositivo de eliminación al chorro de perlas. Así se evitará que las gotitas "grandes" que se forman al final del proceso de producción, contaminen las perlas homogéneas recogidas. Detenga la bomba. Apague la unidad de dispersión electrostática y el sistema de control de vibración. O pulse el botón "home" para desplazar hacia atrás el brazo de la bomba con jeringa. Así se desactivarán también la unidad de dispersión electrostática y la vibración.
9. Deje que las perlas se endurezcan durante 5 minutos.
10. Para drenar la solución endurecedora del recipiente de reacción, abra lentamente la pinza de drenaje para que se tarden de 1 a 2 minutos en drenar 500 mL. Apague el agitador magnético cuando se hayan drenado aproximadamente $\frac{3}{4}$ del líquido. Cierre la pinza de drenaje en cuanto el nivel de líquido alcance las perlas asentadas.

NOTA

Deje siempre las perlas ligeramente cubiertas con solución para evitar la formación de grumos.

11. Llene la botella del conjunto de transferencia de líquidos con 400 mL de la solución de lavado y bombéela al interior del recipiente de reacción. Reinicie el agitador magnético en cuanto la barra agitadora magnética quede cubierta con líquido para que las perlas no se dañen. Lave las perlas durante 5 minutos y después drene el líquido como se ha descrito antes (ítem 10).
12. Bombee los últimos 200 mL de la solución de lavado al interior del recipiente de reacción. Vuelva a suspender las perlas encendiendo el agitador magnético.
13. Abra la válvula colector de perlas y deje que las perlas fluyan al interior del frasco colector de perlas. Si quedan perlas en el recipiente de reacción, deje que el líquido fluya desde el frasco colector de perlas al recipiente de reacción elevando el frasco colector de perlas por encima del drenaje del recipiente de reacción. Vuelva a suspender las perlas restantes con este líquido y transfíralo de nuevo al frasco colector de perlas situándolo por debajo del recipiente de reacción.
14. Cierre el tubo de silicona que va del recipiente de reacción al frasco colector de perlas con la pinza. Desconecte el frasco colector de perlas del recipiente de reacción y compruebe la calidad de las perlas al microscopio.
15. Inmediatamente después de terminar el proceso de producción de perlas, llene una jeringa con agua destilada, acóplela a la unidad de producción de perlas e irrigue la boquilla para evitar que se seque el polímero y obstruya el sistema, creando así un problema de mantenimiento. Limpie el recipiente de reacción minuciosamente, incluidos los distintos puertos de entrada y salida.

6.11 Esterilización por calor del recipiente de reacción

1. Prepare el recipiente de reacción de acuerdo con la sección 5.4.
2. Añada de 2 a 5 mL de agua en el recipiente de reacción.
3. Compruebe si las siguientes piezas están conectadas o preparadas correctamente:
 - La boquilla del tamaño adecuado
 - El electrodo centrado debajo de la boquilla
 - ¿Cierra el tapón luer lock la unidad de producción de perlas?
 - ¿Están acoplados los filtros de aire y de líquido?
 - ¿Está la barra agitadora magnética dentro del recipiente de reacción?
 - ¿Está acoplado el frasco colector de perlas?
 - ¿Está abierto el paso desde el recipiente de reacción hasta el frasco colector de perlas (válvula de drenaje de perlas abierta)?
 - ¿Está cerrado con una pinza el tubo de drenaje?
 - ¿Está cerrado el luer lock de la unidad de producción de perlas con un tapón luer lock?
4. Ponga el recipiente de reacción montado en el autoclave y esterilícelo por vapor a 121 °C durante 20 minutos o de acuerdo con su protocolo.
5. Después de esterilizarlo en el autoclave, retire el recipiente de reacción caliente del autoclave lo antes posible para evitar la condensación de agua en el filtro de aire. Como un filtro de aire completamente húmedo dejará de permitir el paso del aire, será difícil drenar los líquidos del recipiente de reacción, debido a la presión negativa creada en el mismo. Para comprobar el estado del filtro de aire, acople una jeringa de 60 mL al filtro. Al mover el pistón de la jeringa de un lado a otro, debería notar sólo una leve resistencia.
6. Cierre la válvula colectora de perlas sólo cuando el recipiente de reacción se haya enfriado y haya alcanzado la temperatura ambiente.

6.12 Esterilización de la botella de presión

1. Monte la botella de presión y cierre el accesorio luer lock con un tapón luer lock.
2. Añada de 1 a 2 mL de agua en la botella de presión. Ponga la botella de presión montada en el autoclave y esterilícela por vapor a 121 °C durante 20 minutos o de acuerdo con su protocolo.

6.13 Procedimiento de encapsulación para la inmovilización de los microorganismos en las perlas de Ca-alginato

En esta sección, se describe un método sencillo pero bien establecido para inmovilizar los microorganismos de las perlas de Ca-alginato. La estabilidad de estas perlas depende no sólo del tipo de alginato usado, sino también de las futuras condiciones de cultivo. Los iones de Ca de la solución endurecedora sustituyen a los iones de Na de las gotitas, lo que provoca el endurecimiento de las perlas (esta reacción es reversible). Si se necesitan perlas más resistentes, ya que algunos medios de cultivo contienen ingredientes que disuelven lentamente las perlas, los iones de Ca podrían reemplazarse por iones de Ba, que tienen una mayor afinidad con el alginato que los iones de Ca, y las perlas de Ba-alginato serán más estables.

La esterilización de las soluciones de alginato se consigue mejor con la filtración de membrana estéril (0,2 μm). La esterilización por calor tiende a degradar parcialmente el alginato y cambia impredeciblemente la viscosidad y la capacidad de polimerización.

Para la encapsulación de células animales, se recomienda usar otro protocolo porque la estructura tridimensional del Ca-alginato impide la formación de nuevas membranas celulares durante la división celular. Para dividir las células, son más adecuadas las cápsulas. En la *sección 6-14* se describe un procedimiento para la producción de cápsulas de alginato-PLL.

1. Prepare todos los materiales necesarios tal y como se ha descrito en la *sección 6-10*; recipiente de reacción, botella de presión, jeringa de 60 mL, matraces, cilindros graduados, etc. Esterilice en el autoclave el recipiente de reacción.
2. Prepare todos los reactivos de encapsulación necesarios.

Para este proceso:	50 mL	Solución de alginato al 1,5 %, grado de viscosidad bajo, filtrado de forma estéril
	500 mL	100 mM de solución de polimerización CaCl_2 (no estéril)
	600 mL	NaCl al 0,9 % + 10 mM de solución de lavado) CaCl_2 (no estéril)
3. Encienda la unidad de control. Fije la frecuencia de vibración, la tensión electrostática y la velocidad de bombeo con los valores adecuados determinados anteriormente.
4. Meta la solución de polimerización de 500 mL en la botella de presión y ciérrela. Acople el tubo de silicona al filtro de membrana de líquido. Bombeo la solución de polimerización al interior del recipiente de reacción.
5. Desacople el tubo de silicona del filtro de la membrana y meta el recipiente de reacción en una bolsa biológica.
6. Prepare 10 mL de suspensión de microorganismos concentrada. La suspensión no debe contener cationes bivalentes ni trivalentes (p. ej.: Ca, Mg, Al, Fe) ni contenerlos a una concentración muy baja, para evitar reacciones de polimerización preliminares con el alginato. Seleccione la concentración de microorganismos deseada de la forma que esté en la mezcla polimérica final < 1.010 células/mL (para células animales < 10⁷ células/mL). Mezcle cuidadosamente los 10 mL de la suspensión de microorganismos con los 50 mL de solución de alginato estéril al 1,5 % para reducir la formación de burbujas de aire.

7. Llene una jeringa de 60 mL estéril con la mezcla de polímero y producto de forma aséptica. Acople la jeringa a la unidad de producción de perlas. Acople el recipiente de reacción (con la jeringa instalada) a la unidad de control. Haga avanzar el brazo de la bomba con jeringa de modo que toque el émbolo. inicie el agitador magnético de forma que haya un pequeño vértice visible. Active la vibración y la bomba con jeringa. Apriete el botón "turbo" hasta que se forme un chorro de líquido continuo. Active la unidad de dispersión electrostática. Si es necesario, modifique la velocidad de bombeo y/o la frecuencia para obtener una cadena de perlas clara debajo del capuchón colector.
8. En cuanto la cadena de perlas esté estable, quite de en medio el capuchón colector para que comience el proceso real de producción de perlas. Verifique si el chorro de perlas se dispersa de 3 a 10 cm (aproximadamente 1" a 4") por debajo del electrodo. Una distancia óptima es aproximadamente 5 cm (2") por debajo del electrodo. Ajuste el voltaje electrostático para conseguir este objetivo.
9. Registre los parámetros exactos del proceso mientras supervisa la producción de perlas.
10. Poco antes de soltar por completo el émbolo de la jeringa, mueva de nuevo el capuchón colector al chorro de perlas. Detenga la bomba. Apague la unidad de dispersión electrostática y el sistema de control de vibración.
11. Deje que las perlas se endurezcan durante 5 minutos.
12. Para drenar la solución endurecedora del recipiente de reacción, abra lentamente la pinza de drenaje para que se tarden de 1 a 2 minutos en drenar 500 mL. Apague el agitador magnético cuando se hayan drenado aproximadamente $\frac{3}{4}$ del líquido. Cierre la pinza de drenaje en cuanto el nivel de líquido alcance las perlas asentadas.

NOTA

Deje siempre las perlas ligeramente cubiertas con solución para evitar la formación de grumos.

13. Llene la botella de presión con 400 mL de la solución de lavado y bombéela al interior del recipiente de reacción. Reinicie el agitador magnético en cuanto la barra agitadora magnética quede cubierta con líquido para que las perlas no se dañen. Lave las perlas durante 5 minutos y después drene el líquido como se ha descrito antes (ítem 12).
14. Bombee los últimos 200 mL de la solución de lavado al interior del recipiente de reacción. Vuelva a suspender las perlas encendiendo el agitador magnético.
15. Abra la válvula colectora de perlas y deje que las perlas fluyan al interior del frasco colector de perlas.
16. Cierre el tubo de silicona que va del recipiente de reacción al frasco colector de perlas con la pinza. Desconecte el frasco colector de perlas del recipiente de reacción y compruebe la calidad de las perlas al microscopio.
17. Inmediatamente después de terminar el proceso de producción de perlas, llene una jeringa con agua destilada, acóplela a la unidad de producción de perlas e irrigue la boquilla para evitar que se seque el polímero y obstruya el sistema, creando así un problema de mantenimiento. Limpie el recipiente de reacción.

6.14 Protocolo de encapsulación de membranas de alginato-PLL-alginato

La membrana de alginato-polilisina-alginato es un sistema de encapsulación de células animales bien establecido que describieron por primera vez Lim y Sun¹. A continuación se describe un protocolo ampliamente probado.

Soluciones requeridas

1. Solución de alginato al 1,5 %: Alginato de viscosidad baja al 1,5 % en tampón de lavado MOPS
Ajuste el pH a 7,0 a 25 °C
Filtración estéril a través de un filtro de 0,2 µm
2. Solución de polimerización: 10 mM de MOPS (ácido morfolinopropanosulfónico)
100 mM de CaCl₂
pH = 7,2 a 25 °C
3. Solución de PLL: Poli-L-lisina MG 15.000-30.000 al 0,05 % en tampón de lavado MOPS
4. Tampón de lavado MOPS: 10 mM de MOPS (ácido morfolinopropanosulfónico)
NaCl al 0,85 %
pH = 7,2 a 25 °C
5. Solución de alginato al 0,03 %: 2 mL de solución de alginato al 1,5 %.
+ 98 mL de tampón de lavado MOPS.
6. Solución de despolimerización: 50 mM de Na₃-citrato
NaCl al 0,45 %
10 mM de MOPS
pH = 7,2 a 25 °C

Para una encapsulación de 12 mL de mezcla de polímero y producto se necesita lo siguiente:

- 12 mL Solución de alginato al 1,5 % (filtrada de forma estéril)
- 100 mL Solución de alginato al 0,03 % (no estéril)
- 225 mL Solución de polimerización (no estéril)
- 75 mL Solución de PLL (no estéril)
- 900 mL Tampón de lavado MOPS (no estéril)
- 200 mL Solución de despolimerización (no estéril)

¹Lim F. and Sun A.M. 1980. Microencapsulated Islets as Bioartificial Pancreas. Science 210: p.908-910.

Procedimiento

1. Prepare el recipiente de reacción y esterilícelo en el autoclave como se describe en las secciones 6.10 y 6.11.
2. Prepare todas las soluciones y los materiales de laboratorio.
3. Llene el recipiente de reacción esterilizado en el autoclave con 225 mL de solución de polimerización.
4. Se centrifuga un cultivo celular con aproximadamente 6×10^6 células (o de acuerdo con las necesidades personales) y las perlas se vuelven a suspender en 2 mL de tampón de lavado MOPS estéril y se mezclan con 10 mL de solución de alginato de sodio al 1,5 %. Tenga cuidado de no introducir o de que sólo entren unas pocas burbujas de aire durante la mezcla.
5. Llene una jeringa de 20 mL con la suspensión de células-alginato y acóplela al recipiente de reacción en una bolsa de aire laminar.
6. Fije el recipiente de reacción a la unidad de control del Encapsulador, que está colocado sobre el banco.
7. Inicie la formación de perlas con los parámetros anteriormente establecidos.
8. Permita la formación de perlas durante 5 minutos; después, interrumpa el agitador y drene la solución de polimerización.

NOTA

Las perlas y después las cápsulas deben cubrirse siempre con una cantidad pequeña de líquido para evitar la formación de grumos. Si no, la resuspensión de las perlas y las cápsulas resultaría difícil y la membrana podría quedar dañada.

9. Bombee 75 mL de solución de PLL al 0,05 % y déjela que forme la membrana de PLL-alginato durante 10 minutos.
10. Drene la solución de PLL al 0,05 %.
11. Bombee 150 mL de tampón de lavado MOPS, agítelo durante 1 minuto y después drénelo.
12. Bombee otros 150 mL de tampón de lavado MOPS, agítelo durante 5 minutos y después drénelo.
13. Bombee 100 mL de solución de alginato al 0,03 % y remuévalo durante 5 minutos para que se forme la membrana exterior de alginato; después, drene la solución de alginato.
14. Bombee 150 mL de tampón de lavado MOPS, agítelo durante 1 minuto y después drene el tampón.
15. Bombee 150 mL de solución de despolimerización y agítelo durante aprox. 10 minutos para disolver el alginato del núcleo de la perla. El tiempo de disolución adecuado depende del peso molecular y la pureza del alginato, así como también de la susceptibilidad del producto de encapsulación con respecto a la solución de despolimerización.
16. Drene la solución de despolimerización.
17. Bombee 150 mL de tampón de lavado MOPS, vuelva a suspender las cápsulas y transfíralas al frasco colector de perlas.
18. Transfiera las cápsulas al medio de cultivo y cultívelas.

NOTA

El alginato disuelto se difunde lentamente. Dependiendo del alginato usado y del grosor de la membrana de la cápsula, se pueden tardar hasta 2 h en que salgan de la cápsula unas cantidades sustanciales. Para maximizar la eliminación del núcleo, se puede hacer lo siguiente:

- *Prolongar el tiempo de extracción en MOPS o en un medio de cultivo sin iones bivalentes.*
- *Cultivar las células en un medio que contenga < 50 mg/l de iones de Ca.*
- *Cultivar las células en un medio con un cociente de iones monovalentes (Na^+ , K^+) frente a iones bivalentes (Ca^{2+} , Mg^{2+}) de entre 20:1 y 50:1.*

Recomendaciones especiales para las células

Para dividir las células – disuelva el alginato del núcleo; después, mantenga el cociente de $\text{Na}/\text{Ca} > 20:1$ en el medio de cultivo para que el núcleo no se vuelva a solidificar.

Para restablecer las células – puede mantener la estructura del núcleo del alginato como gel y puede usar incluso Ba^{2+} , un ión gelificador más potente que Ca^{2+} . El Ba-alginato es sumamente estable y soporta la disolución de 50 mM de solución de citrato durante días.

Consulte también: Gröhn P. et al. 1994. Large-scale production of Ba^{2+} alginate-coated islets of Langerhans for immunoisolation. *Exp. Clin. Endocrinol.* 102: p.380-387.

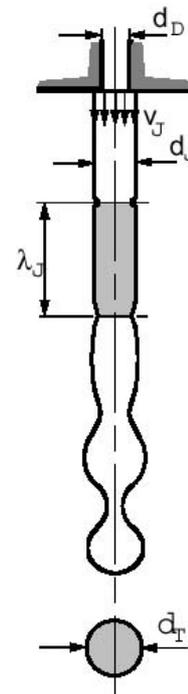
6.15 Fundamentación teórica

Ecuación 1:
$$f = \frac{v}{\lambda} [Hz]$$

Cuando un chorro laminar es alterado mecánicamente a una frecuencia f , se forman perlas de tamaño uniforme¹. La longitud de onda óptima λ_{opt} para la ruptura, de acuerdo con Weber² se consigue como se explica a continuación:

Ecuación 2:
$$\lambda_{opt} = \pi \sqrt{2} D \cdot \sqrt{1 + \frac{3\eta}{\sqrt{\rho\sigma D}}} [m]$$

donde: D = diámetro de la boquilla
 η = viscosidad dinámica [Pa s]
 ρ = densidad [kg/m³]
 (aproximadamente 1.000 kg/m³ para soluciones de alginatos)
 σ = tensión de la superficie [N/m]
 (aproximadamente 55×10^{-3} N/m para soluciones de alginatos)



λ_{opt} es la longitud de onda próxima para conseguir la mejor formación de perlas para el diámetro de la boquilla dado y la viscosidad de la mezcla de encapsulación. Es posible un cambio del λ_{opt} 30 % y seguir obteniendo una buena formación de perlas.

El diámetro de una perla = d [m] puede calcularse con la velocidad de flujo = V' [m³/s] y la frecuencia de la pulsación f de acuerdo con:

Ecuación 3:
$$d = \sqrt[3]{\frac{6V'}{\pi f}} [m]$$

La velocidad del chorro = v [m/s] y el diámetro de la boquilla = D [m] se correlacionan con la velocidad de flujo (V') de acuerdo con:

Ecuación 4:
$$V' = \frac{\pi v D^2}{4} [m^3/s]$$

La figura 6-5 muestra la relación entre la velocidad del flujo y la velocidad del chorro, y el diámetro de la boquilla, de acuerdo con la ecuación 4. Puesto que el líquido debe fluir laminarmente, el intervalo de trabajo de la velocidad del chorro será normalmente de entre 1,5 y 2,5 m/s, dependiendo de la viscosidad del líquido y del diámetro de la boquilla.

¹Lord Rayleigh 1878. Proc. London Math. Soc. 10:4.

²Weber C. 1936. Zeitschrift für angewandte Mathematik und Mechanik. 11:136.

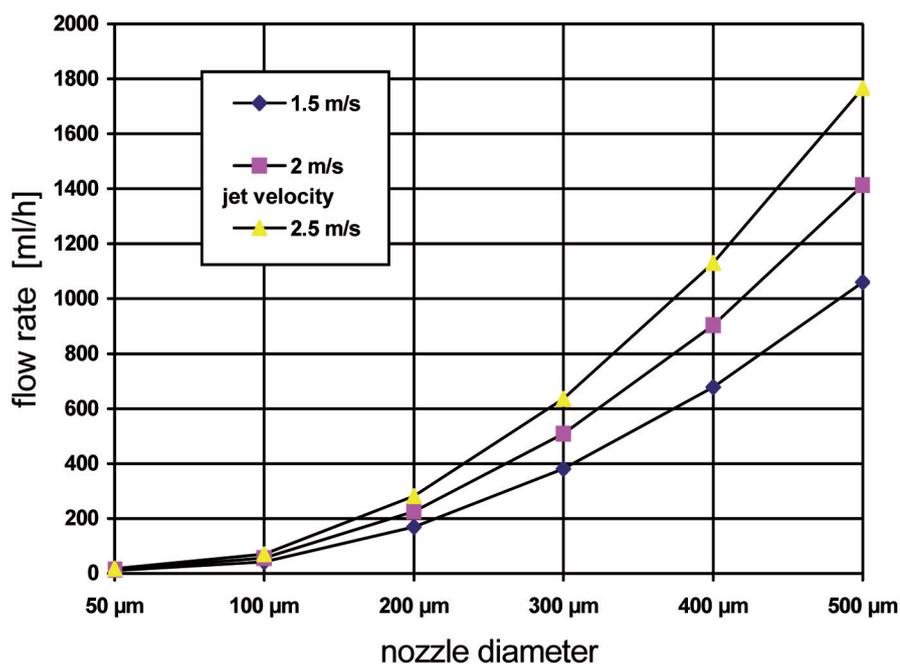


Figura 6-5: Influencia de la velocidad del chorro de líquido y del diámetro de la boquilla sobre la velocidad del flujo, calculada mediante la ecuación 4.

La figura 6-6 muestra la correlación entre la frecuencia de vibración y el diámetro de la perla con cinco velocidades de flujo distintas, calculada con la ecuación 4. Las velocidades de flujo inferiores, que corresponden a velocidades de bombeo menores, producen unas perlas más pequeñas. Unas frecuencias de vibración más altas también producen perlas más pequeñas.

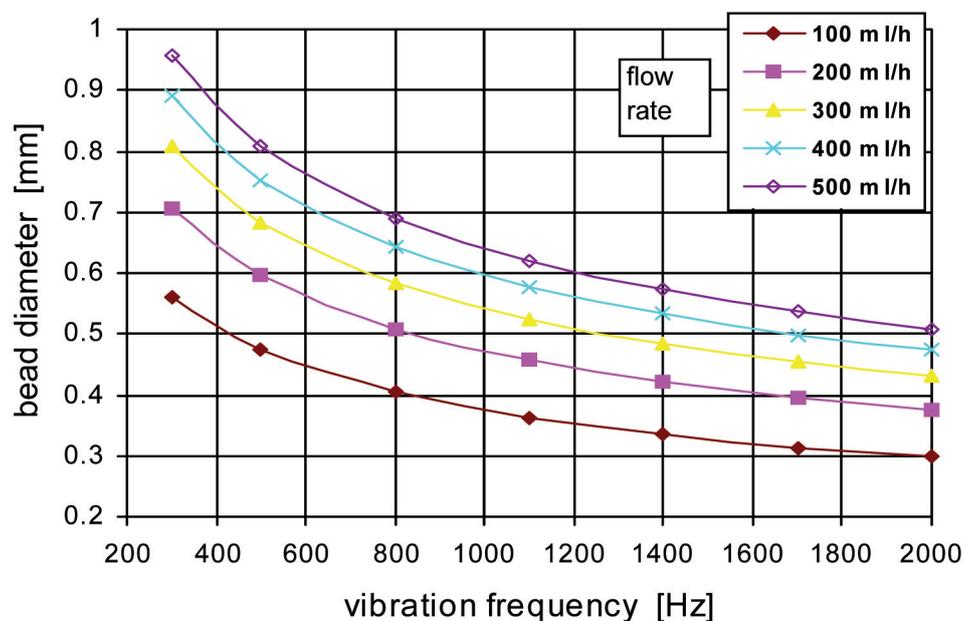


Figura 6-6: Influencia de la frecuencia de vibración y de la velocidad del flujo en el diámetro de la perla, calculada mediante la ecuación 4.

Tabla 6-7: Condiciones de trabajo óptimas para el Encapsulador, determinadas con la solución de alginato

Diámetro de la boquilla [μm]	Velocidad del flujo * [mL/min]	Intervalo de frecuencia **	Amplitud	Presión del aire [bares]
1,0 mm	30 a 40	40 a 220 Hz	2 a 6	0,3 a 0,6
750 μm	19 a 25	40 a 300 Hz	2 a 5	0,3 a 0,5
450 μm	9 a 14	150 a 450 Hz	2 a 5	0,3 a 0,5
300 μm	5,5 a 7	400 a 800 Hz	1 a 3	0,3 a 0,5
200 μm	3,5 a 4,5	600 a 1.200 Hz	1 a 3	0,4 a 0,6
150 μm	2,3 a 2,8	800 a 1.800 Hz	1 a 3	0,4 a 0,6
120 μm	1,5 a 1,8	1.000 a 2.500 Hz	1 a 4	0,5 a 0,7
80 μm	1,1 a 1,3	1.300 a 3.000 Hz	1 a 4	0,5 a 0,7

* Pruebas realizadas con una solución de alginato de grado de viscosidad bajo al 2 % para una boquilla de 750 μm y 1,0 mm, con solución de alginato al 1,5 % para una boquilla de 150 a 500 μm y con solución de alginato al 1,2 % para las boquillas de 80 y 120 μm.

**Valores superiores con aplicación de alto voltaje.

NOTA

Para soluciones con una viscosidad distinta a la que se ha probado, se puede afirmar lo siguiente:

- *cuanto mayor sea la viscosidad, mayor será la velocidad mínima del chorro*
- *cuanto mayor sea la viscosidad, mayor será la velocidad del flujo de trabajo*
- *cuanto mayor sea la viscosidad, menor será la frecuencia óptima*
- *cuanto mayor sea la viscosidad, mayor será el tamaño de las perlas*

6.15.1 Productividad y densidad celular de las perlas

Las *figuras 6-7 y 6-8* indican la cantidad de perlas formadas a partir de 1 mL de líquido. Se formarán aproximadamente 30.000 perlas con un diámetro de 0,4 mm, pero sólo 2.000 con un diámetro de 1 mm.

Las *figuras 6-9 y 6-10* indican el número de células que se encapsulan en una perla con una densidad celular y un diámetro de perla determinados. Estas figuras podrían ayudarle a seleccionar la densidad celular adecuada en la mezcla de inmovilización. Por ejemplo, si la mezcla de inmovilización contiene 1×10^6 células por mL, habrá 33 células, por término medio, en cada 0,4 mm de la perla, pero unas 520 células en cada 1 mm de la perla.

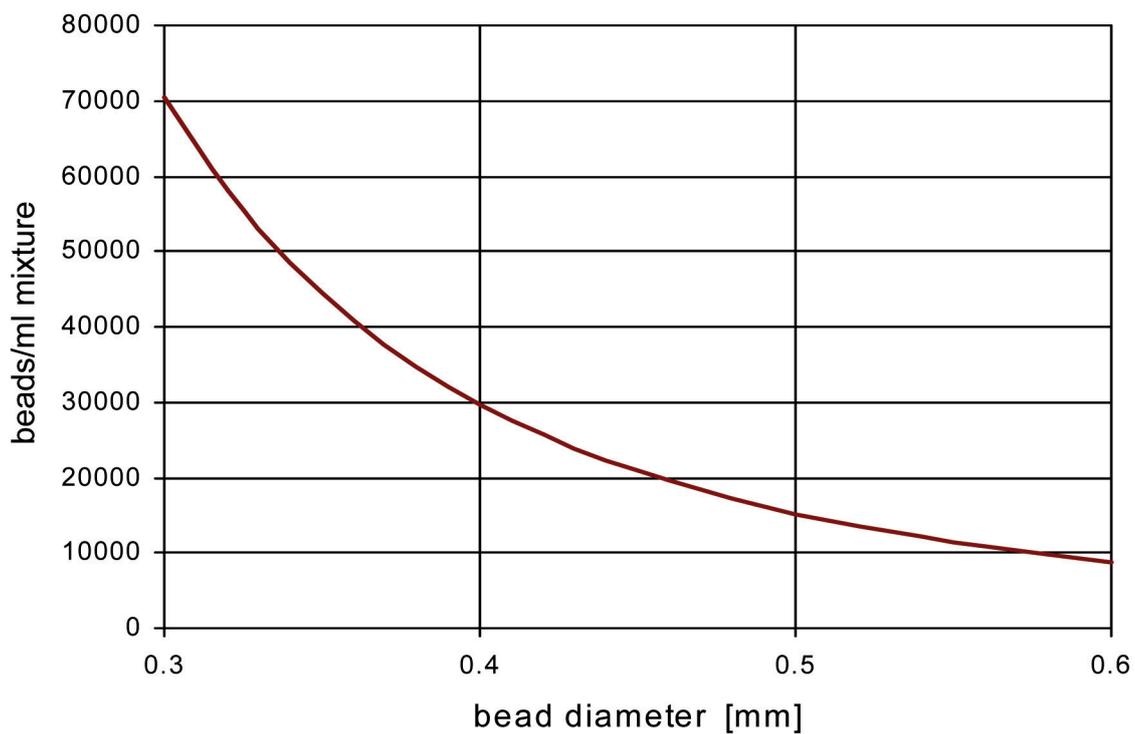


Figura 6-7: Cantidad de perlas con un diámetro de 0,3 a 0,6 mm formadas a partir de 1 mL de mezcla de inmovilización.

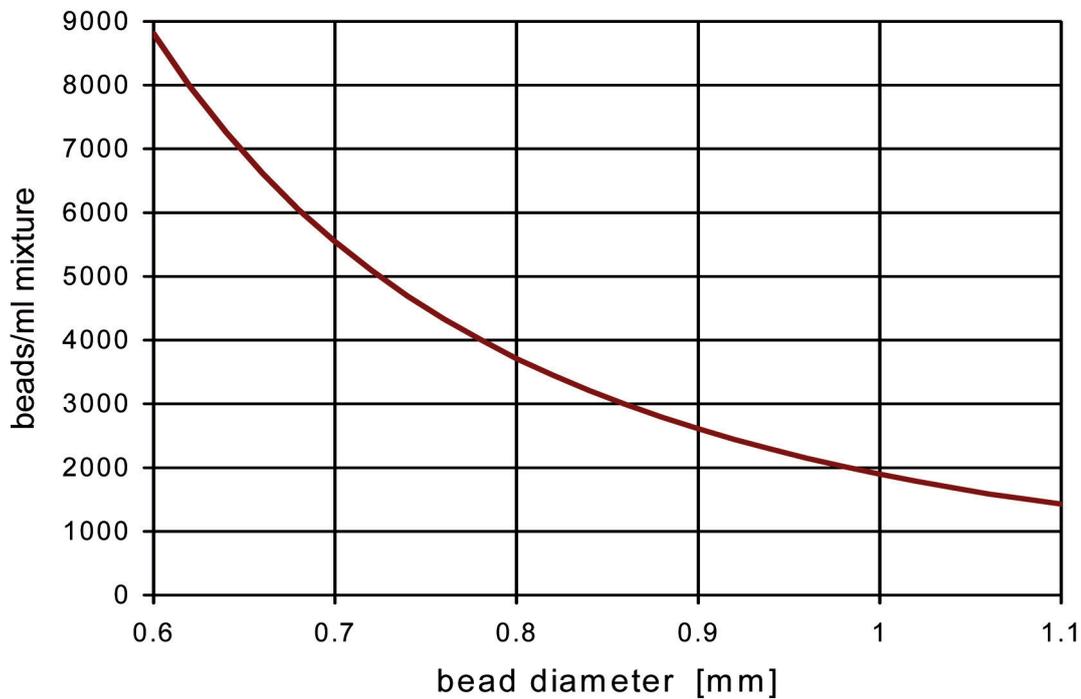


Figura 6-8: Cantidad de perlas con un diámetro de 0,6 a 1,1 mm formadas a partir de 1 mL de mezcla de inmovilización.

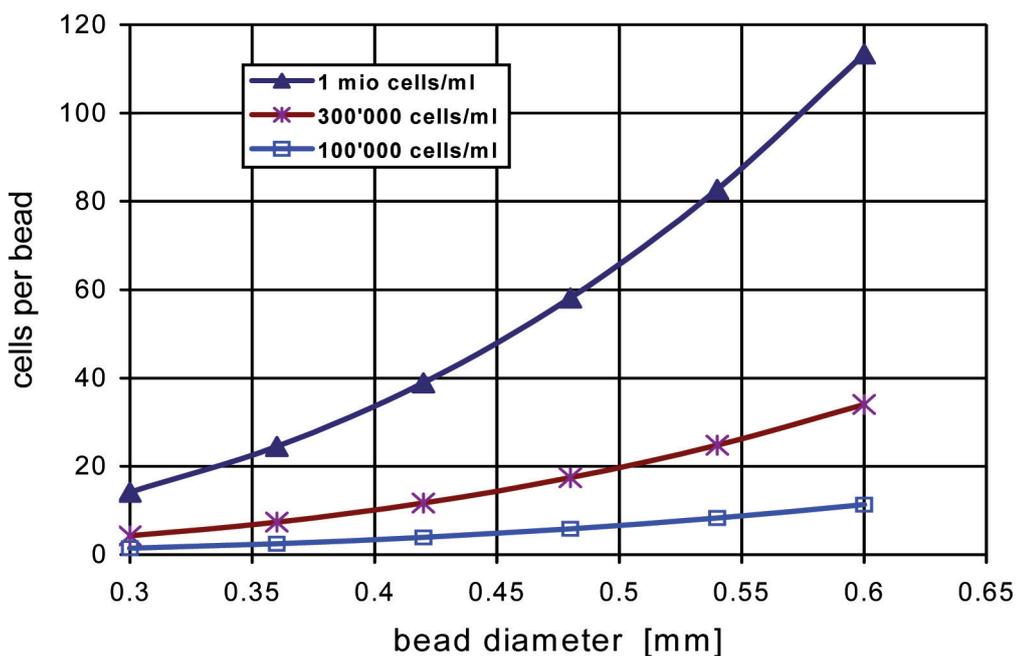


Figura 6-9: Cantidad de células por perla generada a partir de concentraciones celulares diferentes para diámetros de perlas de entre 0,3 y 0,6 mm.

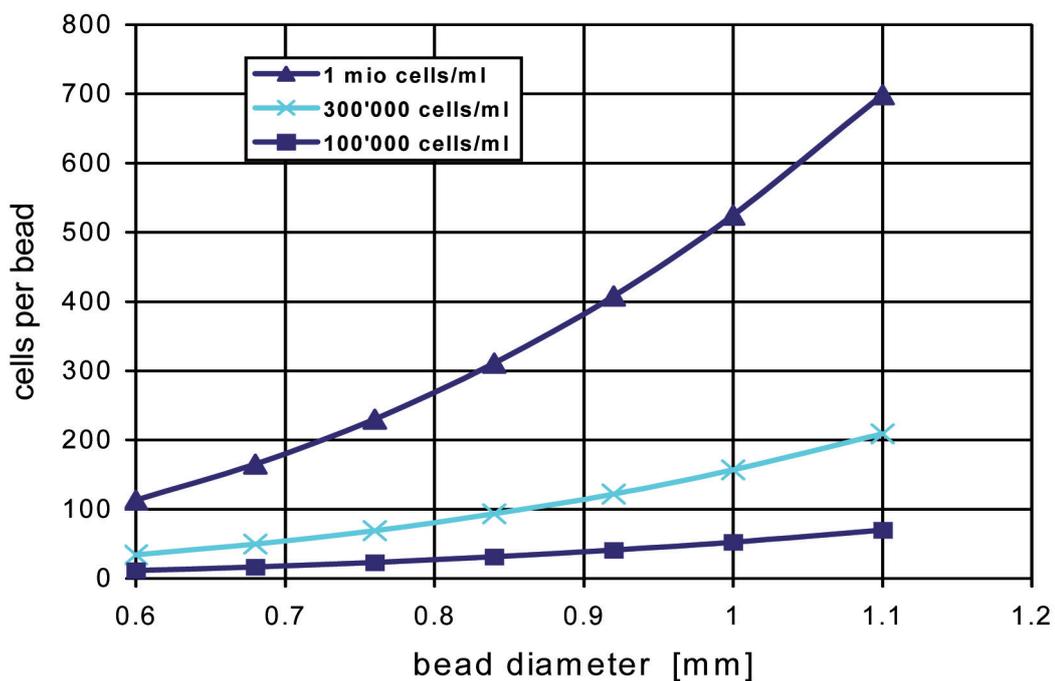


Figura 6-10: Cantidad de células por perla generadas a partir de concentraciones celulares diferentes para diámetros de perlas de entre 0,6 y 1,1 mm.

7 Mantenimiento y reparación

En este capítulo se dan instrucciones sobre el trabajo de mantenimiento que ha de llevarse a cabo para mantener el equipo en condiciones de funcionamiento buenas y seguras. Todo trabajo de mantenimiento y reparación que requiera la apertura o retirada del armazón del equipo debe realizarlo personal con formación y solamente con los instrumentos proporcionados para este fin.

NOTA

Utilice sólo consumibles y piezas de recambio originales para cualquier trabajo de mantenimiento y reparación con el fin de garantizar la validez de la garantía y el funcionamiento continuo del sistema. Cualquier modificación del Encapsulador B-395 Pro o las piezas del mismo necesitan un permiso escrito previo del fabricante.

7.1 Servicio de asistencia al cliente

Sólo se permite llevar a cabo trabajos de reparación en el equipo a personal de asistencia autorizado. La autorización exige una profunda formación técnica y conocimientos sobre los posibles peligros que pueden presentarse al trabajar con el equipo. Dicha formación y conocimientos sólo los puede ofrecer BUCHI.

Podrá encontrar las direcciones de las oficinas oficiales del servicio de asistencia al cliente en la página de Internet de BUCHI:

www.buchi.com. Si se producen anomalías en el funcionamiento de su equipo o si tiene algún tipo de consulta técnica o problemas de aplicación, póngase en contacto con una de estas oficinas.

El servicio de asistencia al cliente ofrece lo siguiente:

- Suministro de piezas de recambio
- Reparaciones
- Asesoramiento técnico

7.2 Estado del armazón

Compruebe que el armazón no presente defectos visibles (conmutadores, enchufes, grietas) y límpielo con regularidad con un paño húmedo.

La unidad de control del Encapsulador debe manejarse como cualquier otra pieza de un equipo electrónico. El panel frontal está cubierto con una lámina de poliamida para que pueda limpiarse con una solución de detergente suave o con alcohol.

7.3 Estado de los sellos

Es recomendable comprobar la integridad de los sellos regularmente. Las juntas, las juntas tóricas y los tubos de silicona deben ser reemplazados periódicamente (aproximadamente una vez al año). Compruebe todas las piezas antes del uso y reemplácelas si es necesario.

7.4 Limpieza

	<p>⚠ Advertencia</p> <p>Aumento de la presión en el sistema de entrada debido a la obstrucción de las boquillas. Explosión del sistema de entrada.</p> <p>Muerte o envenenamiento grave por contacto o incorporación de sustancias perjudiciales durante el uso.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Limpie la boquilla inmediatamente después del uso; consulte el siguiente apartado.
---	--

	<p>Lleve una bata de laboratorio</p>
	<p>Lleve gafas protectoras</p>
	<p>Lleve guantes protectores</p>

7.4.1 Limpieza de la boquilla después de cada inmovilización

Es fundamental limpiar la boquilla inmediatamente después de que se haya utilizado con el fin de evitar que el medio de encapsulación (alginato, etc.) no se seque y obstruya el sistema.

1. Deje la boquilla en su sitio sobre la unidad productora de perlas.
2. Acople una jeringa de 20 mL o 60 mL a la unidad productora de perlas e inyecte entre 20 y 60 mL de agua destilada o del disolvente usado para el polímero de encapsulación.
3. Si es necesario desenroscar la boquilla de la unidad de producción de perlas, enjuáguela con agua desionizada (consulte la *figura 7-1*) o con un disolvente adecuado y seque la boquilla con un chorro de aire.

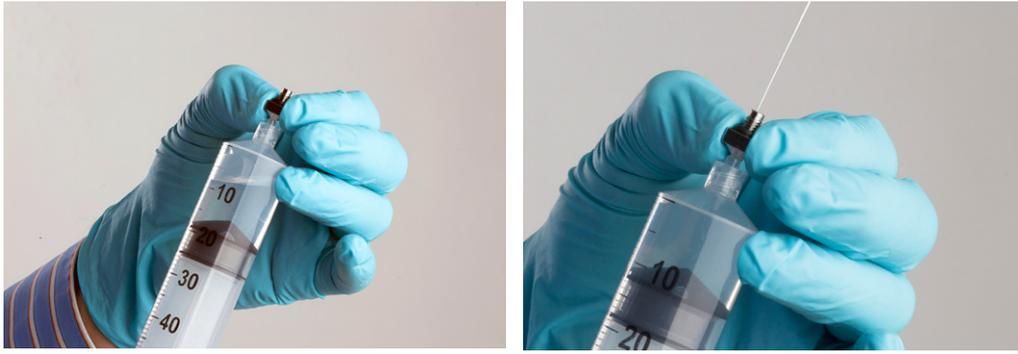


Figura 7-1: Procedimiento de limpieza de la boquilla

- Tome una jeringa que contenga aire en la parte superior y agua en la parte inferior.
- Empuje el aire a través de la boquilla (figura izquierda).
- Empuje el agua a través de la boquilla inmediatamente después (figura derecha).
- Examine la punta de la boquilla con un microscopio estereoscópico para asegurarse de que el paso esté libre y limpio.

NOTA

Si se han utilizado soluciones de inmovilización lipofílicas, use disolventes adecuados para la limpieza. No use una solución ácida para el alginato, ya que se produciría la precipitación.

7.4.2 Limpieza de una boquilla obstruida

Desenrosque la boquilla. Haga pasar aire o agua a través de la boquilla, como se muestra en la figura 7-1.

Si la punta de la boquilla no está limpia, sumérgala la boquilla en agua, el disolvente adecuado, 1N de NaOH o ácido sulfúrico 1N (no use nunca HCl), de acuerdo con la mezcla de encapsulación, durante 1 hora a temperatura ambiente, agitándolo periódicamente. La limpieza sónica de boquillas de acero inoxidable también es un procedimiento útil. Lleve puesto un equipo protector adecuado. Enjuague con agua destilada, aire, y déjela secar.

Examine la punta de la boquilla con un microscopio estereoscópico para asegurarse de que el paso esté libre y limpio.

NOTA

Si se han utilizado soluciones de inmovilización lipofílicas, use disolventes adecuados para la limpieza. No use una solución ácida para el alginato, ya que se produciría la precipitación.

7.4.3 Limpieza del recipiente de reacción y de los demás recipientes

Desmonte el recipiente de reacción. Sin embargo, el soporte magnético no debe montarse. Desmonte el sistema de transferencia de líquido.

Lave todas las partes, excepto los filtros de aire, con una solución de detergente suave, 0,01N de NaOH o 0,01N de ácido sulfúrico (no use nunca HCl), como proceda.

Enjuague bien con agua caliente y luego con agua destilada, y déjela secar.

8 Corrección de errores

8.1 Anomalías en el funcionamiento y su solución

En la siguiente tabla se muestra una lista de los posibles errores de funcionamiento y su causa. Como solución, fije el parámetro paso a paso en la dirección opuesta o arregle la pieza que falte.

Tabla 8-1: Causa posible

Problema	Causa posible
Chorro de líquido inestable	La velocidad de flujo del líquido es demasiado baja.
	La boquilla no se ha limpiado adecuadamente (causa frecuente).
	La frecuencia es demasiado alta.
	La amplitud es demasiado alta.
Cadena de perlas inestable	La frecuencia es demasiado alta o demasiado baja.
	La velocidad de flujo del líquido es demasiado alta o demasiado baja.
	La boquilla no se ha limpiado adecuadamente.
	La amplitud es demasiado alta o demasiado baja.
Distribución del tamaño de las perlas no homogénea	La velocidad de flujo del líquido es demasiado alta.
	La frecuencia es demasiado alta.
	La tensión electrostática es demasiado baja.
	La mezcla de inmovilización es un líquido no Newtoniano, lo que dificulta la extrusión o la compresión.
La cadena de perlas no se separa	El electrodo no está conectado a la unidad de control.
	La tensión electrostática es demasiado baja.
	El electrodo no está puesto.
Las perlas no están visibles con luz estroboscópica	La unidad de vibración no está activada.
	La unidad de vibración no está puesta en la unidad de producción de perlas.
	La frecuencia de vibración es demasiado baja o demasiado alta.
	La viscosidad de la mezcla de inmovilización es demasiado alta.

9 Apagado, almacenaje, transporte y eliminación

En este capítulo se dan instrucciones sobre el apagado y empaquetado del equipo para su almacenaje o transporte. Las características de las condiciones de almacenaje y transporte también aparecen enumeradas aquí.

9.1 Almacenaje y transporte

Apague el equipo y retire el cable de alimentación. Para desmontar el Encapsulador B-395 Pro, siga las instrucciones de instalación que figuran en la sección 5 en orden inverso. Elimine todos los líquidos y residuos de polvo antes de empaquetar el equipo.

	<p>Advertencia</p>
	<p>Muerte o envenenamiento grave por contacto o incorporación de sustancias perjudiciales.</p>
	<ul style="list-style-type: none"> • Lleve gafas protectoras • Lleve guantes protectores • Lleve una bata de laboratorio • Limpie a fondo el equipo y todos sus accesorios para eliminar posibles sustancias peligrosas • No limpie piezas con polvo con aire comprimido • Guarde el equipo y sus accesorios en un lugar seco dentro de su embalaje original

9.2 Eliminación

Para eliminar el equipo de forma que no dañe el medio ambiente, se facilita una lista de materiales en el capítulo 3.3. Esto ayuda a garantizar que los componentes puedan separarse y reciclarse correctamente.

Debe seguir la legislación local y regional vigente referente a la eliminación de residuos. Si necesita ayuda, póngase en contacto con las autoridades locales.

NOTA

Cuando devuelva el equipo al fabricante para que lo reparen, copie y complete el formulario aclaratorio sobre salud y seguridad de la sección 10.2 y adjúntelo con el equipo.

10 Declaraciones y requerimientos

10.1 Requerimientos FCC (para EE.UU. y Canadá)

English:

This equipment has been tested and found to comply with the limits for a Class A digital device, pursuant to both Part 15 of the FCC Rules and the radio interference regulations of the Canadian Department of Communications. These limits are designed to provide reasonable protection against harmful interference when the equipment is operated in a commercial environment.

This equipment generates, uses and can radiate radio frecuencia energy and, if not installed and used in accordance with the instruction manual, may cause harmful interference to radio communications. Operation of this equipment in a residential area is likely to cause harmful interference in which case the user will be required to correct the interference at his own expense.

Français:

Cet appareil a été testé et s'est avéré conforme aux limites prévues pour les appareils numériques de classe A et à la partie 15 des réglementations FCC ainsi qu'à la réglementation des interférences radio du Canadian Department of Communications. Ces limites sont destinées à fournir une protection adéquate contre les interférences néfastes lorsque l'appareil est utilisé dans un environnement commercial.

Cet appareil génère, utilise et peut irradier une énergie à fréquence radioélectrique, il est en outre susceptible d'engendrer des interférences avec les communications radio, s'il n'est pas installé et utilisé conformément aux instructions du mode d'emploi. L'utilisation de cet appareil dans les zones résidentielles peut causer des interférences néfastes, auquel cas l'exploitant sera amené à prendre les dispositions utiles pour palier aux interférences à ses propres frais.

Health and Safety Clearance

Declaration concerning safety, potential hazards and safe disposal of waste.

For the safety and health of our staff, laws and regulations regarding the handling of dangerous goods, occupational health and safety regulations, safety at work laws and regulations regarding safe disposal of waste, e.g. chemical waste, chemical residue or solvent, require that this form must be duly completed and signed when equipment or defective parts were delivered to our premises.

Instruments or parts will not be accepted if this declaration is not present.

Equipment

Model:

Part/Instrument no.:

1.A Declaration for non dangerous goods

We assure that the returned equipment

- has not been used in the laboratory and is new
- was not in contact with toxic, corrosive, biologically active, explosive, radioactive or other dangerous matters.
- is free of contamination. The solvents or residues of pumped media have been drained.

1.B Declaration for dangerous goods

List of dangerous substances in contact with the equipment:

Chemical, substance	Danger classification

We assure for the returned equipment that

- all substances, toxic, corrosive, biologically active, explosive, radioactive or dangerous in any way which have pumped or been in contact with the equipment are listed above.
- the equipment has been cleaned, decontaminated, sterilized inside and outside and all inlet and outlet ports of the equipment have been sealed.

2. Final Declaration

We hereby declare that

- we know all about the substances which have been in contact with the equipment and all questions have been answered correctly
- we have taken all measures to prevent any potential risks with the delivered equipment.

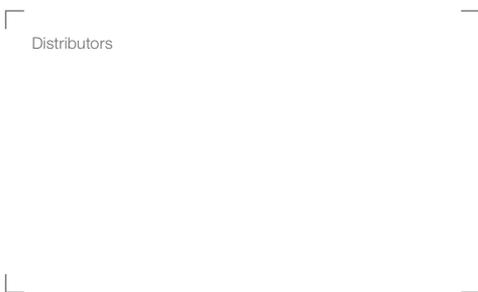
Company name or stamp: _____

Place, date: _____

Name (print), job title (print): _____

Signature: _____





Distributors

Quality in your hands

Filiales de BUCHI:

BÜCHI Labortechnik AG

CH – 9230 Flawil 1
T +41 71 394 63 63
F +41 71 394 65 65
buchi@buchi.com
www.buchi.com

BUCHI Italia s.r.l.

IT – 20010 Cornaredo (MI)
T +39 02 824 50 11
F +39 02 57 51 28 55
italia@buchi.com
www.buchi.it

BUCHI Russia/CIS

United Machinery AG
RU – 127787 Moscow
T +7 495 36 36 495
F +7 495 981 05 20
russia@buchi.com
www.buchi.ru

Nihon BUCHI K.K.

JP – Tokyo 110-0008
T +81 3 3821 4777
F +81 3 3821 4555
nihon@buchi.com
www.nihon-buchi.jp

BUCHI Korea Inc

KR – Seoul 153-782
T +82 2 6718 7500
F +82 2 6718 7599
korea@buchi.com
www.buchi.kr

BÜCHI Labortechnik GmbH

DE – 45127 Essen
FreeCall 0800 414 0 414
T +49 201 747 490
F +49 201 747 492 0
deutschland@buchi.com
www.buechigmbh.de

BÜCHI Labortechnik GmbH

Branch Office Benelux
NL – 3342 GT
Hendrik-Ido-Ambacht
T +31 78 684 94 29
F +31 78 684 94 30
benelux@buchi.com
www.buchi.be

BUCHI China

CN – 200052 Shanghai
T +86 21 6280 3366
F +86 21 5230 8821
china@buchi.com
www.buchi.com.cn

BUCHI India Private Ltd.

IN – Mumbai 400 055
T +91 22 667 75400
F +91 22 667 18986
india@buchi.com
www.buchi.in

BUCHI Corporation

US – New Castle,
Delaware 19720
Toll Free: +1 877 692 8244
T +1 302 652 3000
F +1 302 652 8777
us-sales@buchi.com
www.mybuchi.com

BUCHI Sarl

FR – 94656 Rungis Cedex
T +33 1 56 70 62 50
F +33 1 46 86 00 31
france@buchi.com
www.buchi.fr

BUCHI UK Ltd.

GB – Oldham OL9 9QL
T +44 161 633 1000
F +44 161 633 1007
uk@buchi.com
www.buchi.co.uk

BUCHI (Thailand) Ltd.

TH – Bangkok 10600
T +66 2 862 08 51
F +66 2 862 08 54
thailand@buchi.com
www.buchi.co.th

PT. BUCHI Indonesia

ID – Tangerang 15321
T +62 21 537 62 16
F +62 21 537 62 17
indonesia@buchi.com
www.buchi.co.id

BUCHI Brasil Ltda.

BR – Valinhos SP 13271-570
T +55 19 3849 1201
F +41 71 394 65 65
latinoamerica@buchi.com
www.buchi.com

Centros de Asistencia Técnica de BUCHI:

South East Asia

BUCHI (Thailand) Ltd.
TH-Bangkok 10600
T +66 2 862 08 51
F +66 2 862 08 54
bacc@buchi.com
www.buchi.com

Latin America

BUCHI Latinoamérica Ltda.
BR – Valinhos SP 13271-570
T +55 19 3849 1201
F +41 71 394 65 65
latinoamerica@buchi.com
www.buchi.com

Middle East

BUCHI Labortechnik AG
UAE – Dubai
T +971 4 313 2860
F +971 4 313 2861
middleeast@buchi.com
www.buchi.com

BÜCHI NIR-Online

DE – 69190 Walldorf
T +49 6227 73 26 60
F +49 6227 73 26 70
nir-online@buchi.com
www.nir-online.de

Estamos representados por más de 100 distribuidores en todo el mundo.
Encuentre su representante más cercano en: www.buchi.com