

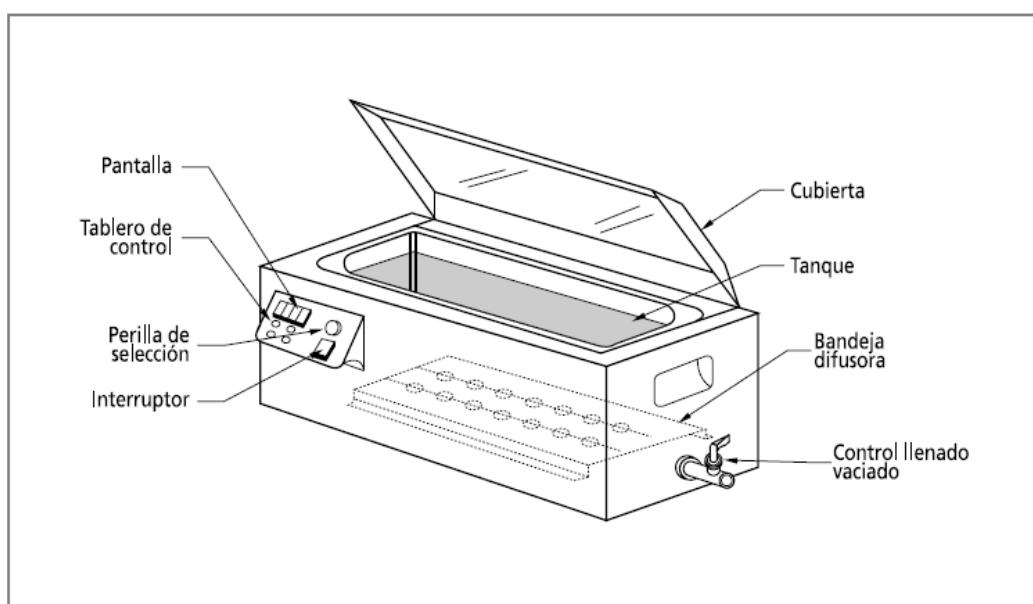
## GUIA DE USO Y MANTENIMIENTO PARA EQUIPOS DE LABORATORIO CLINICO

### BAÑO DE MARIA

El baño de María es un equipo que se utiliza en el laboratorio para realizar pruebas serológicas y procedimientos de incubación, aglutinación, inactivación, biomédicos, farmacéuticos y hasta industriales. Por lo general, se utilizan con agua, pero también permiten trabajar con aceite. Los rangos de temperatura en los cuales normalmente son utilizados están entre la temperatura ambiente y los 60 °C. También se pueden seleccionar temperaturas de 100 °C, utilizando una tapa de características especiales. Los baños de María son fabricados con cámaras cuya capacidad puede seleccionarse entre los 2 y los 30 litros.

### ESQUEMA BAÑO DE MARIA

Se presenta a continuación un esquema básico de un baño de María. En el mismo es posible diferenciar el control electrónico, la pantalla, la cubierta –que es un accesorio opcional– y el tanque. No se muestran algunos componentes que pueden instalarse en estos equipos como el termómetro y la unidad de agitación, para mantener uniforme la temperatura.



### PRINCIPIOS DE OPERACION

Los baños de María están constituidos por un tanque fabricado en material inoxidable, el cual tiene montado en la parte inferior del mismo un conjunto de resistencias eléctricas, mediante las cuales se transfiere calor a un medio como agua o aceite, que se mantiene a una temperatura preseleccionada a través de un dispositivo de control –termo par, termostato, termistor o similar– que permite seleccionar la temperatura requerida por los diversos tipos de análisis o pruebas. Dispone de un cuerpo externo donde se encuentran ubicados los controles mencionados, el cual se fabrica en acero y se recubre generalmente con pintura electrostática de alta adherencia y resistencia a las condiciones ambientales propias de un laboratorio. Las resistencias pueden ser las siguientes:

- **De inmersión.** Se caracterizan por estar instaladas dentro de un tubo sellado. Están ubicadas en la parte inferior del recipiente y se encuentran en contacto directo con el medio a calentar.
- **Externas.** Se encuentran ubicadas en la parte inferior pero son externas al tanque; están protegidas por un material aislante que evita pérdidas de calor. Este tipo de resistencias transfieren el calor al fondo del tanque por medio de conducción térmica.

Dependiendo del tipo de baño, algunos disponen de una serie de accesorios como sistemas de agitación, que imprimen al medio calefactor un movimiento cuidadosamente controlado para mantener la temperatura lo más uniforme posible. Se muestra a continuación una tabla que describe los principales tipos de baños de María.

### **Tipos de baños de María**

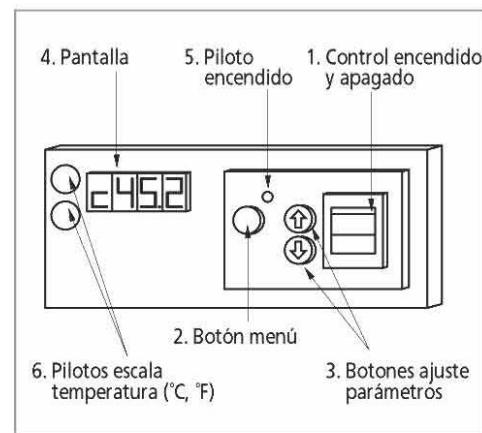
CLASE	RANGO DE TEMPERATURA
Baja temperatura	Temperatura ambiente hasta 60 °C
	Temperatura ambiente hasta 100 °C con cubierta
Alta temperatura	Temperatura ambiente hasta 275 °C. Cuando se requiere lograr temperaturas superiores a los 100 °C, es indispensable utilizar fluidos diferentes al agua, debido a que el punto de ebullición de la misma a condiciones normales es de 100 °C. Este tipo de baños utiliza generalmente aceites cuyos puntos de ebullición son mucho más elevados.
Isotérmicos	Temperatura ambiente hasta 100 °C con accesorios y/o sistemas de agitación (con agua)

### **CONTROLES BAÑOS DE MARÍA**

Los baños de María tienen por lo general controles muy sencillos. Algunos fabricantes han incorporado en sus líneas de fabricación controles con microprocesadores. Estos varían dependiendo del tipo de baño. A continuación, se presenta el esquema del panel de control de un baño de María básico.

Como puede apreciarse el control dispone de estos elementos:

1. Un interruptor de encendido y apagado
2. Un botón de Menú para seleccionar los parámetros de operación: temperatura de operación, temperatura accionamiento alarma, escala de temperatura (°C, °F)
3. Dos botones para ajuste de parámetros
4. Una pantalla
5. Piloto de encendido
6. Pilotos (2) para identificar escala de temperatura (°C, °F)



### **OPERACION DEL BAÑO DE MARÍA**

#### Instalación

1. Instalar el baño de María en un lugar que se encuentre cerca de una toma eléctrica, con la capacidad de suministrar energía eléctrica de acuerdo con los voltajes y frecuencias que utiliza el equipo para su operación normal. Dicha toma debe disponer de su respectiva conexión a tierra – polo a tierra-, para garantizar la protección y seguridad del operador y del equipo. Generalmente operan con 120 V/60 Hz o con 230 V/60 Hz. Asimismo, se facilita la instalación y uso si el lugar seleccionado se encuentra cerca de un vertedero que disponga de los servicios de suministro y recolección de agua.
2. Verificar que el lugar seleccionado esté nivelado y disponga de la resistencia requerida para sostener, con seguridad, el peso del baño de María cuando se encuentre lleno de fluido.
3. Observar que el lugar disponga de espacios libres adecuados, para colocar las muestras y accesorios requeridos para la normal operación del baño de María.
4. Evitar colocar el baño de María donde existan corrientes de aire fuertes que puedan interferir con su normal operación. Por ejemplo: frente a una unidad de aire acondicionado tipo ventana.

#### Seguridad

1. Evitar el uso del baño de María en ambientes en los que estén presentes materiales inflamables o combustibles. El equipo contiene componentes –resistencias que generan temperaturas muy altas- que podrían iniciar un incendio o explosión accidental.
2. Conectar siempre el equipo a una toma eléctrica que disponga de polo a tierra, para proteger al usuario y al equipo de descargas eléctricas. La acometida eléctrica debe cumplir con la normatividad exigida en el laboratorio y el país.
3. Trabajar el baño de María exclusivamente con líquidos que no sean corrosivos ni inflamables.

4. Trabajar el baño de María utilizando elementos de protección personal. El baño tiene componentes –elementos resistivos– que podrían causar quemaduras si se tocan desprevenidamente, incluso después de transcurrido un período de tiempo considerable después de apagar el equipo.
5. Trabajar las sustancias que generan humos colocando el baño de María dentro de una cabina extractora de humos o en un lugar muy bien ventilado.
6. Recordar que los líquidos que se trabajan dentro del recipiente del baño de María pueden producir quemaduras si inadvertidamente se coloca la mano dentro del mismo.
7. Tener en cuenta que el baño de María está diseñado para ser utilizado con un líquido en el interior del recipiente. Si el mismo se seca, la temperatura del recipiente puede llegar a ser muy alta. Utilizar siempre la bandeja difusora para colocar los recipientes dentro del tanque del baño de María. Esta ha sido diseñada para distribuir la temperatura de forma uniforme.
8. Evitar utilizar el baño de María si alguno de los controles falla: el de temperatura o el de límite.

### ***Uso del baño de María***

Antes de usar el baño de María, se debe verificar que el mismo se encuentra limpio y que se encuentran instalados los accesorios que van a utilizarse. Los pasos que normalmente se siguen son estos:

1. Llenar el baño de María con el fluido que habrá de utilizarse para mantener uniforme la temperatura –agua o aceite-. Verificar que, colocados los recipientes que van a calentarse, el nivel del mismo se encuentre entre 4 y 5 cm del borde superior del tanque.
2. Instalar los instrumentos de control que, como termómetros y agitadores, puedan ser requeridos. Utilizar los aditamentos de montaje que, para el efecto, suministran los fabricantes. Verificar la posición del bulbo del termómetro o de la sonda térmica, para asegurar que las lecturas sean correctas.
3. Si se utiliza agua como fluido de calentamiento, verificar que la misma sea limpia. Algunos fabricantes recomiendan añadir productos que eviten la formación de algas.
4. Colocar el interruptor principal Nº 1 en la posición de encendido. Algunos fabricantes han incorporado controles con microprocesadores que inician rutinas de autoverificación, una vez que se acciona el interruptor de encendido.
5. Seleccionar la temperatura de operación. Se utilizan el botón de Menú Nº 2 y los botones para ajuste de parámetros.
6. Seleccionar la temperatura de corte –en aquellos baños que disponen de este control-. Este es un control de seguridad que corta el suministro eléctrico, si se sobrepasa la temperatura seleccionada. Esta se selecciona también a través del botón de Menú y se controla con los botones de ajuste de parámetros.
7. Evitar utilizar el baño de María con sustancias como las que se indican a continuación:
  - a) Blanqueadores.
  - b) Líquidos con alto contenido de cloro.
  - c) Soluciones salinas débiles como cloruro de sodio, cloruro de calcio o compuestos de cromo.
  - d) Concentraciones fuertes de cualquier ácido.
  - e) Concentraciones fuertes de cualquier sal.
  - f) Concentraciones débiles de ácidos hidroclórico, hidrobrómico, hidroídico, sulfúrico o crómico.
  - g) Agua desionizada, pues causa corrosión y también perforaciones en el acero inoxidable.

### ***Mantenimiento***

**Advertencia:** Antes de efectuar cualquier actividad de mantenimiento, desconectar el equipo de la toma de alimentación eléctrica.

Los baños de María son equipos que no son muy exigentes desde el punto de vista de mantenimiento. Las rutinas recomendadas están principalmente enfocadas a la limpieza de los componentes externos. A continuación, se señalan las rutinas más comunes.

## Limpieza

### Frecuencia: Mensual

1. Apagar y desconectar el equipo. Esperar a que el mismo se enfríe para evitar riesgos de quemaduras accidentales.
2. Extraer el fluido utilizado para el calentamiento. Si es agua, puede verterse a un sifón. Si es aceite, recolectar en un recipiente con capacidad –volumen– adecuada.
3. Retirar la rejilla de difusión térmica que se encuentra ubicada en el fondo del tanque.
4. Limpiar el interior del tanque con un detergente suave. Si se presentan indicios de corrosión, existen en el mercado sustancias para limpiar el acero inoxidable. Frotar suavemente con esponjas sintéticas o equivalentes. Evitar la utilización de lana de acero para remover manchas de óxido, debido a que las mismas dejan partículas de acero que podrían acelerar la corrosión.
5. Evitar doblar o golpear el tubo capilar del control de temperatura que generalmente se encuentra ubicado en el fondo del tanque.
6. Limpiar con agua limpia el exterior y el interior del baño de María.

## Lubricación

### Frecuencia: Diaria

Esta actividad es para baños de María que disponen de unidad o sistema de agitación. Lubricar el eje del motor eléctrico del agitador. Colocar una gota de aceite mineral en el eje, para que se mantenga una buena condición de lubricación entre los rodamientos del motor y el eje del mismo.

**Tabla de solución de problemas**

PROBLEMA	CAUSA PROBABLE	REMEDIO
No hay energía eléctrica.	Baño de María desconectado.	Conectar baño de maría.
	Interruptor defectuoso.	Cambiar interruptor.
	Fusible defectuoso.	Sustituir fusible.
El baño de María no calienta.	Control de temperatura desgraduado.	Graduar control de temperatura.
	Resistencia(s) defectuosa(s).	Cambiar resistencia(s).
	Control límite desgraduado.	Graduar control límite.
La temperatura es superior a la seleccionada.	Control de temperatura defectuoso.	Cambiar control de temperatura.
	Verificar selección de parámetros.	
Las muestras se calientan lentamente.	Tanque vacío o con muy poco fluido.	Llenar tanque hasta el nivel recomendado.
La temperatura aumenta muy lentamente.	Resistencia(s) defectuosa(s).	Cambiar resistencia(s).
	Control de temperatura defectuoso.	Sustituir control de temperatura.

## CENTRIFUGA

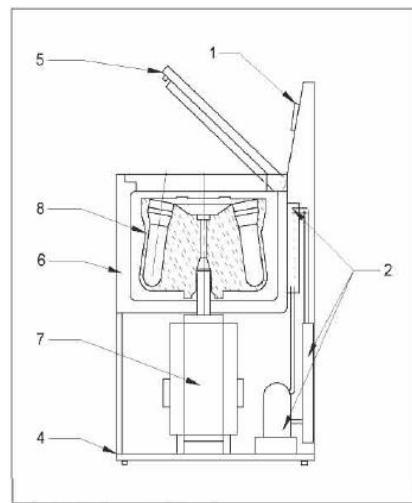
La centrifugadora se ha diseñado para utilizar la fuerza centrífuga, fuerza que se genera cuando un objeto rota alrededor de un punto, para separar sólidos suspendidos en un medio líquido por sedimentación o para separar líquidos de diversa densidad. Los movimientos rotacionales permiten generar fuerzas mucho más grandes que la gravedad, en períodos controlados de tiempo. En el laboratorio las centrifugadoras se utilizan, en general, en procesos como la separación por sedimentación de los componentes sólidos de los líquidos biológicos y, en particular, en la separación de los componentes de la sangre: glóbulos rojos, glóbulos blancos, plasma y plaquetas, entre otros, y para la realización de múltiples pruebas y tratamientos.

Hay diversas clases de centrifugadoras: de mesa, ultracentrífuga, centrífuga para microhematocrito y de pie, que son las de más amplio uso en los laboratorios de salud pública, de investigación y clínicos, entre otros.

## COMPONENTES DE LA CENTRIFUGA

Los componentes más importantes de una centrífuga son los siguientes: El control eléctrico/electrónico que dispone generalmente de los siguientes elementos:

1. Control de encendido y apagado, control de tiempo de operación – temporizador–, control de velocidad de rotación –en algunas centrífugas–, control de temperatura –en centrífugas refrigeradas–, control de vibraciones –mecanismo de seguridad– y sistema de freno.
2. Sistema de refrigeración, en las centrífugas refrigeradas.
3. Sistema de vacío, en ultracentrífugas. (No consta en la ilustración).
4. Base.
5. Tapa.
6. Carcasa.
7. Motor eléctrico.
8. Rotor. Existen rotores de diverso tipo, los más comunes son los de ángulo fijo, los de cubo pivotante, los de tubo vertical y los de tubo casi vertical, los cuales se explican a continuación.



### **Tipos de rotores**

Las centrífugas utilizan diversas clases de rotores. Dentro de los más utilizados están los siguientes:

TIPO DE ROTOR	CARACTERISTICAS	ESQUEMA CORTE TRANSVERSAL
Rotores de ángulo fijo	Son rotores de propósito general. Mantienen los tubos en un ángulo fijo ( $\alpha$ ) que por diseño está especificado entre los 20 y los 45 grados. Se utilizan para sedimentar partículas subcelulares. El ángulo acorta la trayectoria de las partículas y los tiempos de centrifugado, si se comparan con los rotores de cubo pivotantes.	
Rotores de cubo pivotante	Se utilizan para realizar estudios isopícnicos (separaciones como una función de la densidad) y estudios de tasa zonal (separaciones en función de los coeficientes de sedimentación) donde se requiere máxima resolución de zonas de la muestra.	
Rotores de tubo vertical	Este tipo de rotor mantiene los tubos paralelos al eje de rotación. Así se logran obtener bandas separadas, a través del diámetro y no la longitud del tubo. Estos rotores se usan para realizar estudios isopícnicos y en algunos casos separaciones de tasa zonal, donde la reducción del tiempo de centrifugado es importante. Utilizan tubos de diseño especial.	
Rotores de tubo casi vertical	Este tipo de rotor está diseñado para centrifugación gradiente, cuando hay componentes en la muestra que no participan en el gradiente. El ángulo pequeño de estos rotores reduce el tiempo de centrifugado, en comparación con los rotores de ángulo fijo.	

## Servicios requeridos

Las centrífugas requieren para su normal operación, lo siguiente:

1. Acometida eléctrica con capacidad adecuada al consumo del equipo, que suministre voltaje estable de tipo monofásico o trifásico (depende del modelo y especificación dada por el fabricante). Por lo general, utilizan 110 V o 220 V/60 Hz.
2. Un ambiente limpio, libre de polvo que disponga de piso firme y nivelado.
3. Si la centrífuga es refrigerada, requiere de un espacio libre en el lado del condensador, para que pueda haber una transferencia de calor adecuada.
4. Un mueble en el cual puedan guardarse los accesorios que, como los rotores alternos, complementan la dotación de las centrífugas.

## RUTINAS DE MANTENIMIENTO

Las rutinas de mantenimiento que requiere una centrífuga dependen de múltiples factores, tales como la tecnología incorporada, la intensidad de uso, la capacitación de los usuarios, la calidad de la alimentación eléctrica y las condiciones del ambiente donde se encuentra instalada. A continuación, se presentan las recomendaciones generales para la adecuada utilización y las rutinas de mantenimiento más comunes para garantizar una correcta operación. Las rutinas o reparaciones especializadas dependerán de las recomendaciones que, para cada marca y modelo, establezcan los fabricantes.

**Recomendación prioritaria:** Verificar que únicamente el personal que haya recibido y aprobado la capacitación de manejo, uso, cuidado y riesgos de la centrífuga la opere. Es responsabilidad de los directores de los laboratorios vigilar y tomar las precauciones que consideren oportunas para que el personal que las opera entienda las implicaciones de trabajar esta clase de equipo.

## RECOMENDACIONES DE CONSERVACIÓN Y MANEJO ADECUADO

### Rotores

1. Registrar la fecha de compra de cada uno de los rotores, incluyendo información relacionada con el número de serie y modelo.
2. Leer y entender los manuales de los rotores, equipo y tubos, antes de que los mismos sean utilizados. Cumplir con las indicaciones de uso y cuidado que especifica el fabricante.
3. Utilizar los rotores únicamente en las centrífugas para las cuales han sido fabricados. No intercambiar rotores sin verificar la compatibilidad con la centrífuga en la cual se instala.
4. Registrar los parámetros de operación para cada rotor en una bitácora, para poder determinar su vida útil remanente y gestionar a tiempo la adquisición de los reemplazos.
5. Utilizar las recomendaciones de velocidad máxima y densidad de las muestras que recomienda el fabricante. Cada rotor está diseñado para soportar un máximo nivel de esfuerzo; dichas especificaciones deben ser respetadas rigurosamente.
6. Acatar las recomendaciones relativas a reducir la velocidad de operación cuando se trabaja con soluciones de alta densidad, con tubos de acero inoxidable o adaptadores plásticos. Los fabricantes suministran la información correspondiente.
7. Utilizar rotores de titanio si se trabaja con soluciones salinas frecuentemente.
8. Proteger el recubrimiento de los rotores para evitar que se deteriore el metal base. No utilizar detergentes alcalinos o soluciones limpiadoras que pudieran remover la película protectora. Los rotores, generalmente fabricados de aluminio [Al], están recubiertos por una película de aluminio anodizado que protege la estructura del metal.
9. Utilizar cepillos plásticos en las actividades de limpieza de los rotores. Los cepillos metálicos rayan el recubrimiento protector y esto genera fuentes de futura corrosión, que se aceleran bajo las condiciones de operación que acortan la vida útil remanente del rotor.
10. Lavar el rotor inmediatamente en el caso de que se presenten derrames de sustancias corrosivas.
11. Secar el rotor con aire seco, siempre que haya sido limpiado y enjuagado con agua.
12. Almacenar los rotores de tubo vertical o tubo casi vertical, con el lado superior hacia abajo y sin las respectivas tapas.
13. Almacenar los rotores en ambientes secos. Evitar dejarlos en la centrífuga.
14. Almacenar los rotores de cubo pivotante sin las tapas de los compartimentos.
15. Lubricar las roscas y los anillos tipo O, de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.
16. Observar las recomendaciones relacionadas con tiempos de garantía y vida útil de cada tipo de rotor.

17. Evitar utilizar rotores a los cuales se les ha terminado el período de vida útil.
18. Utilizar blindajes si se usa la centrífuga con material radiactivo.
19. Cargar o descargar los rotores dentro de una cabina de seguridad biológica, si se trabaja con materiales clasificados como de *biorriesgo* de nivel II o superior.
20. Nunca tratar de abrir la tapa de una centrífuga que esté funcionando y nunca intentar detener el rotor con la mano.

### **Tubos**

El cuidado de los tubos abarca aspectos como el llenado del tubo, la selección adecuada de temperatura, las limitaciones de velocidad de centrifugación, el lavado y la esterilización. Las principales recomendaciones en relación con los aspectos mencionados son las siguientes:

1. Lavar los tubos, adaptadores y demás accesorios a mano, utilizando un detergente suave, diluido en una relación de 1:10 en agua y un cepillo de textura suave –no metálico–. Evitar usar lavaplatos automáticos.
2. Evitar el uso de alcohol y acetona, pues dichos materiales afectan la estructura de los tubos. Los fabricantes recomiendan el tipo de solvente que debe utilizarse con cada tipo de material con que se fabrican los tubos de centrifugación.
3. Evitar secar los tubos en un horno de secado. Secar siempre con un chorro de aire seco.
4. Verificar si los tubos utilizados son reutilizables o no. Si son desechables, utilizarlos solo una vez.
5. Para esterilizar, previamente es necesario verificar el tipo de material del tubo, pues no todos soportan la esterilización por calor. La cristalería se esteriliza normalmente con vapor a 121 °C durante 30 minutos.
6. Almacenar los tubos y las botellas en un lugar seco, oscuro y fresco, alejado de fuentes de vapores químicos o fuentes de radiación ultravioleta.
7. Verificar los niveles de llenado y el selle en los tubos de pared delgada, para evitar su colapso dentro del rotor por acción de la fuerza centrífuga. Cumplir las recomendaciones de los fabricantes.

### **Mantenimiento preventivo**

**Advertencia:** Nunca efectuar una intervención técnica en una centrífuga, si la misma no ha sido previamente descontaminada.

Las rutinas de mantenimiento más importantes que se le efectúan a una centrífuga son estas:

#### **Frecuencia: Mensual**

1. Verificar que los componentes externos de la centrífuga se encuentren libres de polvo y de manchas. Evitar que el rotor se afecte por derrames. Limpiar el compartimiento del rotor, utilizando un detergente suave.
2. Comprobar que el mecanismo de acople y ajuste de los rotores se encuentre en buen estado. Mantener lubricados los puntos que recomienda el fabricante.
3. Verificar el estado del mecanismo de cierre / seguridad de la tapa de la centrífuga, pues es fundamental para garantizar la seguridad de los operadores. El mecanismo mantiene cerrada la tapa de la centrífuga, mientras el rotor se encuentra girando.
4. Confirmar la lubricación de los elementos que recomienda el fabricante, como sellos tipo O. Utilizar siempre lubricantes de acuerdo con las recomendaciones del fabricante –frecuencia y tipo de lubricantes–. En centrífugas de fabricación reciente se usan rodamientos sellados que no requieren lubricación.
5. Verificar el estado de los empaques y juntas de estanqueidad.

#### **Frecuencia: Anual**

1. Verificar que las tarjetas electrónicas se encuentren limpias y bien conectadas.
2. Comprobar el grupo de control, el cual dispone de selectores de velocidad, tiempo de centrifugado, temperatura de operación, alarmas e instrumentos análogos o digitales para registrar los parámetros de operación de la centrífuga.
3. Verificar el cumplimiento de normas eléctricas. Utilizar un analizador de seguridad eléctrica: pruebas de resistencia a tierra, corrientes de fuga.

4. Si la centrífuga es refrigerada, comprobar la temperatura mediante el termómetro electrónico. La temperatura no debe variar más de  $\pm 3^{\circ}\text{C}$ .
5. Examinar la exactitud de los controles de tiempo. Utilizar un cronómetro. El tiempo medido no debe variar más de  $\pm 10\%$  del tiempo programado.
6. Verificar la velocidad de rotación real contra la seleccionada, utilizando una carga normal. La comprobación se efectúa con un tacómetro o un fototacómetro. Si la compuerta no es transparente, debe seguirse el procedimiento que para el efecto indique el fabricante.
7. Confirmar el funcionamiento del sistema de freno.
8. Verificar el funcionamiento del sistema de refrigeración; solo en centrífugas refrigeradas. Las actividades más importantes son las siguientes:
  - a) Controlar que las temperaturas seleccionadas no difieran más de  $3^{\circ}\text{C}$ , de las temperaturas medidas con el termómetro digital.
  - b) Verificar el estado del filtro de la toma de aire. Si es filtro se encuentra obstruido, limpiar o sustituir por un equivalente.
  - c) Efectuar una limpieza detallada de las aletas difusoras del condensador, para eliminar la suciedad que se deposita sobre ellas. Esto mantiene las tasas de transferencia de calor, según las especificaciones de diseño. Si se detecta un funcionamiento anormal, solicitar servicio técnico especializado.
  - d) Verificar el estado de las escobillas del motor, si la centrífuga dispone de motor con escobillas. Sustituir por nuevas –de la misma especificación original–, en caso de ser requerido. Realizar esta rutina cada seis meses.

**Nota:** Evitar derrames de líquidos sobre el teclado de control. Los teclados de membrana deben operarse con la yema de los dedos. Evitar que el operador utilice la punta de la uña, pues termina perforando la membrana de protección.

### ***Herramientas e instrumentación requerida***

Para poder realizar las inspecciones de mantenimiento requeridas normalmente por una centrífuga, son necesarios los siguientes instrumentos o herramientas:

1. Una llave para apretar o aflojar la tuerca del rotor.
2. Un analizador de seguridad eléctrica o un instrumento para medir corrientes de fuga
3. Un cronómetro.
4. Un termómetro electrónico con exactitud de  $0,5^{\circ}\text{C}$  para centrífugas refrigeradas únicamente.
5. Un tacómetro o fototacómetro.

### ***Tabla de solución de problemas***

#### ***Rotores***

<b>PROBLEMA</b>	<b>CAUSA PROBABLE</b>	<b>REMEDIO</b>
Vibración severa.	Rotor desbalanceado.	Balancear la carga del rotor. Llenar todos los tubos opuestos con el mismo nivel de líquido de la misma densidad.
		Distribuir simétricamente el peso de tubos opuestos.
	Velocidad seleccionada cerca del rango de velocidad crítica del rotor.	Cargar los rotores de ángulo fijo o de tubo vertical de forma simétrica.
	Rotor mal montado.	Verificar el montaje del rotor. Comprobar que se encuentre bien ajustado.

	Falta lubricación en los soportes de los rotores de cubo pivotante.	Lubricar los ejes de pivote según recomendación del fabricante. Por ej. cada 250 procedimientos de centrifugado.
Tapas de los rotores, canister o cubos difíciles de aflojar después de la centrifugación.	Producción de vacío durante la centrifugación.	Abrir el conducto de ventilación en la parte superior del rotor o cubo, para eliminar el vacío.
	Roscas contaminadas con suciedad, lubricantes secos o partículas metálicas.	Efectuar limpieza rutinaria a las roscas y lubricar. Utilizar insumos recomendados por los fabricantes.

### Tubos

PROBLEMA	CAUSA PROBABLE	REMEDIO
Los tubos presentan fugas.	Tapas mal aseguradas.	Ajustar las tapas.
	Tubos demasiado llenos.	El menisco deberá estar más bajo para prevenir las fugas.
	En tubos sin tapa, se ha excedido el nivel máximo recomendado.	Verificar las recomendaciones de volumen y la velocidad de centrifugado recomendada.
	En tubos de sellado rápido, se presume un sellado deficiente.	Presionar suavemente, después de sellar en caliente (sólo si no se afecta el contenido). Si se presentan fugas, sellar de nuevo.
Los tubos se rajan o rompen.	Los tubos pueden romperse o volverse frágiles si se usan por debajo del límite de la temperatura recomendada.	Calentar hasta 2°C, si la muestra está congelada, antes de centrifugar. Evaluar antes de centrifugar el comportamiento de los tubos a baja temperatura.
	Los tubos se vuelven frágiles con la edad y el uso.	Desechar tubos vencidos, utilizar nuevos.

### Sistemas varios

PROBLEMA	CAUSA PROBABLE	REMEDIO
El interruptor principal está en posición de encendido pero la centrífuga no funciona.	No hay energía eléctrica.	Verificar suministro de energía eléctrica.
La tapa de la centrífuga no abre.	Centrífuga apagada.	Encender la centrífuga. Presionar la manija y abrir la tapa.
El indicador de balanceo se activa.	Carga a centrifugar desbalanceada.	Balancear la carga a centrifugar.
	Centrífuga desnivelada.	Nivelar la centrífuga.
Existe vibración a baja velocidad.	Mecanismo de ajuste del rotor flojo.	Ajustar correctamente el sistema de fijación.
	Carga desbalanceada.	Verificar el balanceo de la carga a centrifugar.
	Velocidad seleccionada cercana al punto de resonancia del rotor.	Seleccionar una velocidad de rotación más elevada o utilizar un tipo de rotor diferente.
Existen fluctuaciones en la velocidad de rotación.	Correas de transmisión en mal estado (*).	Apagar la centrífuga. Verificar la condición y estado de las correas. Las correas deben estar templadas.
La velocidad de rotación no llega a la velocidad seleccionada.	Escobillas defectuosas.	Apagar la centrífuga. Verificar el estado de las escobillas. Sustituir se es del caso por otras de la misma especificación de las originales.
	Calibración del control de velocidad desajustado.	Ajustar calibración del control de velocidad.
La cámara está fría pero el	Selección incorrecta de la	Verificar selección de la temperatura.

rotor caliente.	temperatura.	
El testigo de estado de escobillas está encendido.	Escobillas en mal estado.	Apagar la centrífuga. Verificar estado. Sustituir escobillas por otras de igual especificación.
*Procedimiento válido en centrífugas con sistema de transmisión de potencia por correas.		

## ESPECTROFOTOMETRO

La palabra *espectrofotómetro* se deriva de la palabra latina *spectrum*, que significa *imagen*, y de la palabra griega *phos* o *photos*, que significa *luz*. El espectrofotómetro, construido mediante procesos avanzados de fabricación, es uno de los principales instrumentos diagnósticos y de investigación desarrollados por el ser humano. Utiliza las propiedades de la luz y su interacción con otras sustancias, para determinar la naturaleza de las mismas. En general, la luz de una lámpara de características especiales es guiada a través de un dispositivo que selecciona y separa luz de una determinada longitud de onda y la hace pasar por una muestra. La intensidad de la luz que sale de la muestra es captada y comparada con la intensidad de la luz que incidió en la muestra y a partir de esto se calcula la transmitancia de la muestra, que depende de factores como la concentración de la sustancia.

El espectrofotómetro se usa en el laboratorio con el fin de determinar la concentración de una sustancia en una solución, permitiendo así la realización de análisis cuantitativos.

## PRINCIPIOS DE OPERACION

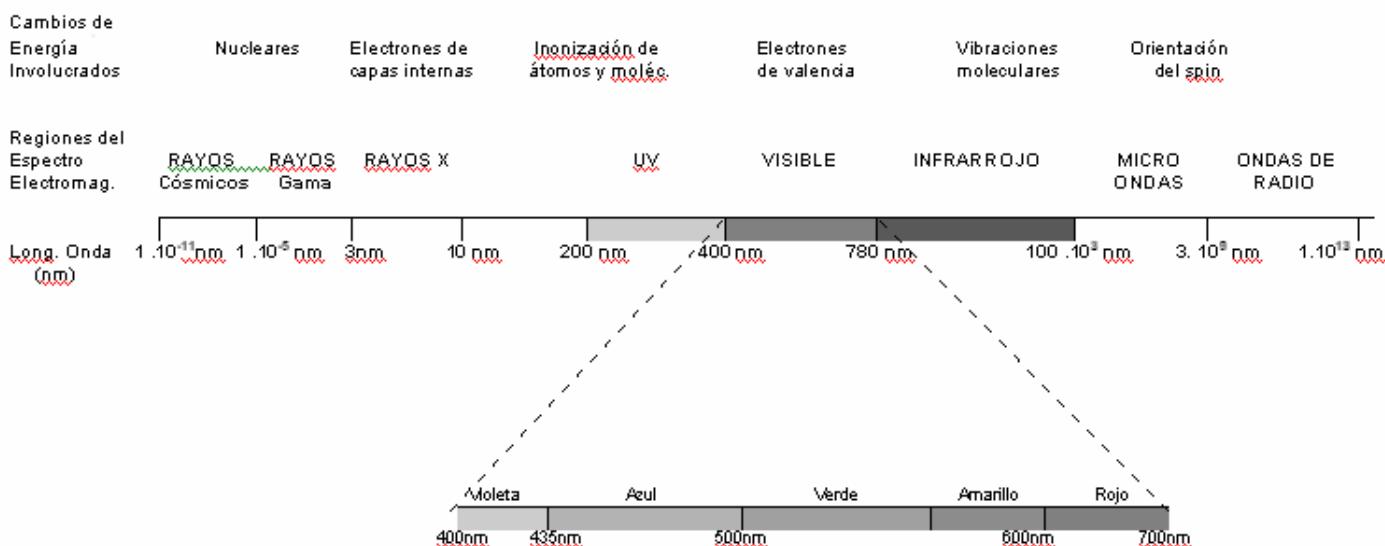
Como principio básico se considera que la luz es una forma de *energía electromagnética*, que en el vacío tiene una velocidad constante [C] y universal de aproximadamente  $3 \times 10^8$  m/s. En cualquier otro medio (transparente) por el que pase la luz, su velocidad será ligeramente inferior y podrá calcularse mediante la siguiente ecuación:  $v_0 = C/n$  donde:

$v$  = velocidad a través del medio por el que pasa la luz.

$n$  = índice de refracción del medio, cuyo valor oscila, por lo general, entre 1,0 y 2,5.

La energía electromagnética dispone de una muy amplia gama de longitudes de onda:

## ESPECTRO ELECTROMAGNETICO



Algunos ejemplos se muestran en la siguiente tabla:

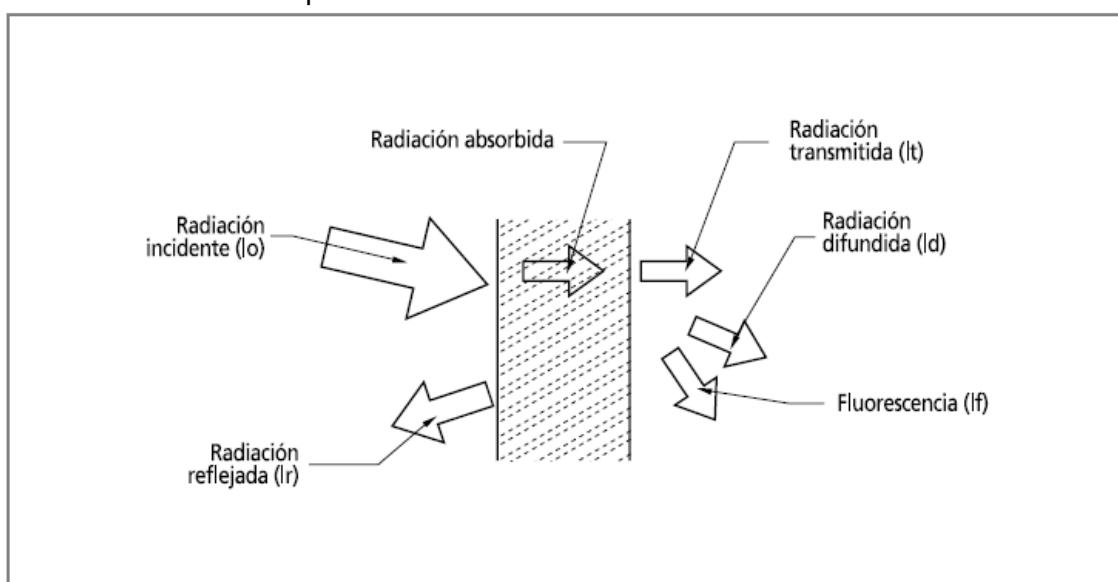
Tipo de energía electromagnética	Rango de la longitud de onda
Ondas de radio	De pocos metros a pocos kilómetros
Ondas de radar	De 1 a 10 cm

Ondas infrarrojas	De 1 a 10 micras ( $10^{-6}$ m)
Luz visible	De 300 a 700 nm (nanómetros)
Rayos X	De 0,1 a 0,5 Å (Angstrom)
Rayos gamma	Aprox. 0,0012 Å

La luz, al pasar o interactuar con diversos medios, presenta una serie de fenómenos, entre los que destacan la reflexión, refracción, difracción, absorción, difusión, polarización y otros que son utilizados en diversos instrumentos y dispositivos. La siguiente tabla muestra los rangos de longitud de onda en donde se utiliza el espectro luminoso para realizar pruebas de espectrofotometría.

Región del espectro luminoso	Rango de la longitud de onda
Ultravioleta	10 – 200 nm
Ultravioleta cercano	200 – 280 nm
Luz visible	380 – 780 nm
Infrarrojo cercano	780 – 3.000 nm
Infrarrojo medio	3.000 – 20.000 nm
Infrarrojo lejano	30.000 – 300.000 nm

Con respecto a la interacción de la luz con la materia, el siguiente esquema ayuda a entender la complejidad de los fenómenos que ocurren:

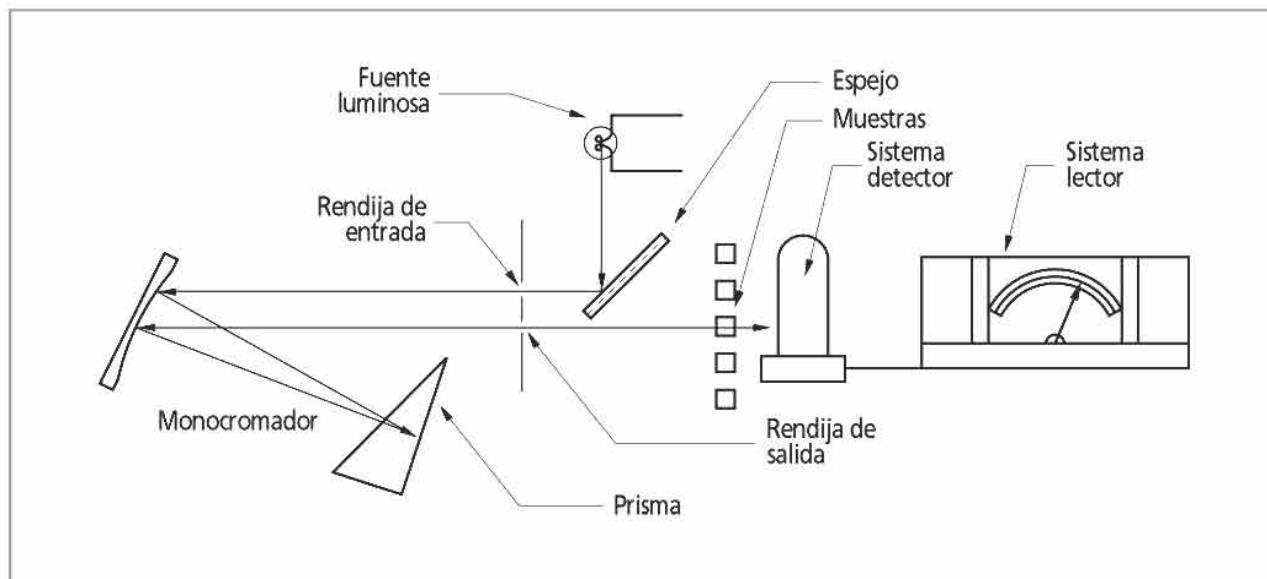


El esquema muestra que la radiación incidente [ $I_o$ ] sufre una serie de transformaciones. Parte de la misma se refleja [ $I_r$ ], parte se transmite [ $I_t$ ], parte se difunde [ $I_d$ ] y parte se absorbe e incide directamente en fenómenos como la fluorescencia [ $I_f$ ]. Los fenómenos en los que se basa la espectrofotometría son principalmente la absorción y la transmisión.

## COMPONENTES DEL ESPECTROFOTOMETRO

Los más importantes son los siguientes (corresponden a los básicos o generales de este instrumento y no a los que hayan sido incorporados por diversos fabricantes como consecuencia del avance tecnológico):

1. La fuente luminosa
2. El monocromador
3. El portador de muestras
4. El sistema detector
5. El sistema de lectura



### Fuente luminosa

Dependiendo del tipo de espectrofotometría, la fuente luminosa puede ser una lámpara con filamento de tungsteno para luz visible, o una lámpara de arco de deuterio para luz ultravioleta. Algunos fabricantes han diseñado espectrofotómetros con lámparas intermitentes de xenón de alta duración que emiten luz en el rango de la luz visible y ultravioleta. La lámpara o lámparas vienen montadas de fábrica en una base que permite asegurar una determinada posición, para que se mantengan las condiciones de ajuste óptico y enfoque cuando está en operación o se requiere reemplazarla. La energía radiante típica que emite una lámpara de tungsteno está entre los 2 600 y los 3 000 °K (grados Kelvin).

### Monocromador

Está compuesto por un conjunto de elementos. En general, dispone de una rendija o ranura de entrada que limita la radiación lumínica producida por la fuente y la confina en un área determinada, un conjunto de espejos para pasar la luz a través del sistema óptico, un elemento para separar las longitudes de onda de la radiación lumínica, que puede ser un prisma o una rejilla de difracción, y una rendija de salida para seleccionar la longitud de onda con la cual se desea iluminar la muestra. Las rejillas de difracción tienen la ventaja de eliminar la dispersión no lineal y son insensibles a los cambios de temperatura.

### Portador de muestras

Está diseñado para sostener la muestra que se quiere analizar dentro del rayo de luz de longitud de onda determinada por el monocromador. El elemento que contiene la muestra es una celda o cubeta, por lo general, rectangular. Las celdas o cubetas se fabrican de vidrio, si se requieren efectuar estudios en el rango de los 340 a los 1.000 nm y de sílice, si el análisis está en el rango comprendido entre los 220 y los 340 nm. También hay celdas en materiales plásticos como estireno o poliestireno. El portador de muestras lo diseñan los fabricantes de acuerdo al tipo de espectrofotómetro y de muestra a analizar, por ello se encuentran portadores de muestra con microceldas, aunque también tubos de ensayo y otras variantes como las celdas de flujo continuo.

### Sistema detector

El sistema de detección puede estar diseñado con photoceldas, fototubos, fotodiodos o fotomultiplicadores. Esto depende de los rangos de longitud de onda, de la sensibilidad y de la velocidad de respuesta requeridas. El sistema de detección recibe la energía lumínica proveniente de la muestra y la convierte en una señal eléctrica proporcional a la energía recibida. La señal eléctrica puede ser procesada y amplificada, para que pueda interpretarse a través del sistema de lectura. En la tabla que se incluye a continuación, se presenta un resumen de las ventajas y desventajas de los dispositivos normalmente usados en los sistemas de detección.

### **Tabla de ventajas y desventajas dispositivos de detección**

<b>ELEMENTO</b>	<b>VENTAJAS</b>	<b>DESVENTAJAS</b>
Fotoceldas	Económicas	Longitud de onda limitada entre 400 y 750 nm.
	Pequeñas	Baja sensibilidad.
	Robustas	Respuesta lenta a cambio de intensidad lumínica.
	No requieren fuentes de energía ni amplificadores de señal	Agotamiento. La señal es muy dependiente de la temperatura.
Fototubos	Se fabrican para que sean sensibles entre los 190 y los 650 nm. También entre los 600 y los 1.000 nm	Requieren calibraciones, dependiendo de la temperatura del ambiente en que se encuentra instalado el equipo.
		Se agotan con altos niveles de iluminación.
Fotodioidos	Carecen de partes mecánicas móviles.	
	Adquieren datos espectrales de forma simultánea.	
	Disponen de un rango dinámico amplio.	
	Brindan excelente reproducibilidad de la longitud de onda.	
Fotomultiplicadores	Son más sensibles que los fototubos y las fotoceldas	Pueden quemarse, si la luz diurna penetra cuando están trabajando.
	Trabajan en rangos más amplios de longitudes de onda	Son costosos.
	Tienen respuestas más rápidas a los cambios de intensidad luminosa	Necesitan fuente de alto voltaje.
	No se agotan como las fotoceldas	Se usan solo en espectrofotómetros especializados.
	Pueden ser fabricados con sensibilidad a la luz en todo el rango de la luz ultravioleta y visible (desde 190 hasta 900 nm).	

### **Sistema de lectura**

La señal que sale del detector recibe diversas transformaciones. Se amplifica y se transforma para que su intensidad resulte proporcional al porcentaje de transmitancia/absorbancia. Existen sistemas de lectura de tipo análogo (muestra la magnitud leída sobre una escala de lectura) o digital (muestra la magnitud leída en una pantalla).

Los indicadores de tipo análogo reciben tradicionalmente el nombre de *metros*. Su exactitud depende, entre otros factores, de la longitud de la escala y del número de divisiones que tenga. (Mientras más divisiones, más exacto). Su principal desventaja es que pueden ser mal leídos, por la fatiga de los operadores o errores, cuando disponen de varias escalas, al tratar de identificar las escalas sobre las que deben realizar la lectura.

Los indicadores digitales usualmente presentan los resultados en una pantalla, en forma de caracteres alfanuméricos luminosos. Esto los hace menos propensos a que se cometan errores de lectura.

### **SERVICIOS REQUERIDOS**

Para el funcionamiento de un espectrofotómetro se requiere lo siguiente:

1. Una fuente de suministro eléctrico de acuerdo con las normas y estándares implementados en el país. En los países americanos se utilizan, por lo general, voltajes de 110 V y frecuencias de 60 Hz.
2. Un ambiente limpio, libre de polvo.
3. Una mesa de trabajo estable, que esté alejada de equipos que generen vibraciones (centrífugas, agitadores).

## MANTENIMIENTO DEL ESPECTROFOTÓMETRO

Los espectrofotómetros, en general, son equipos muy especializados y costosos. Su conservación depende en gran medida de la forma de instalación y utilización. El medio ambiente que los rodea y la calidad de los servicios de electricidad constituyen factores de primordial importancia, para que los equipos puedan prestar los servicios de acuerdo con las especificaciones para los que fueron fabricados. Las rutinas de mantenimiento que pueden llegar a requerir varían en complejidad, van desde la limpieza cuidadosa de sus componentes hasta procedimientos especializados, que solo deben realizar técnicos o ingenieros que hayan recibido la capacitación correspondiente y dispongan de la información técnica desarrollada por los fabricantes y que se ajustan a los distintos modelos y diseños disponibles. La utilización, siguiendo las instrucciones del fabricante, y el uso cuidadoso garantizarán una vida útil, prolongada y muchos años de servicio. En equipos de fabricación reciente, los productores han incorporado rutinas automáticas de calibración y verificación del estado de los componentes que lo integran.

Las rutinas generales de mantenimiento para el espectrofotómetro en buen estado junto con las frecuencias de revisión estimadas son:

- **Inspección del entorno**

### Frecuencia: Anual

El entorno donde se instala el espectrofotómetro debe inspeccionarse visualmente y probarse eléctricamente para garantizar la seguridad del operador. La inspección cubre la instalación eléctrica y el espacio de instalación (infraestructura física relacionada con el espectrofotómetro).

### Instalación eléctrica

Debe revisarse y probarse para asegurar lo siguiente:

- 1) Existe una toma eléctrica o receptáculo con polo a tierra.
- 2) El receptáculo está en buen estado y no se encuentra a una distancia superior a los 1,5 m del espectrofotómetro.
- 3) El voltaje es de nivel adecuado y no debe variar más del 5% del voltaje especificado en la placa del equipo.
- 4) La polaridad del receptáculo es correcta.

Estas pruebas debe realizarlas un técnico electricista o un ingeniero y sus resultados consignarlos en formatos que permitan efectuar el seguimiento de su estado en el tiempo.

### Lugar de instalación

- 1) Revisar que el lugar de instalación disponga de espacio libre alrededor del espectrofotómetro con dos propósitos: primero, para pasar sin inconvenientes los cables de conexión y ubicar los elementos o equipos de apoyo (ej. estabilizador de voltaje); segundo, permitir una adecuada ventilación del equipo cuando esté en operación.
- 2) Comprobar la integridad de mesón, su estado y limpieza.
- 3) Verificar que en la proximidad del espectrofotómetro no se encuentren instalados equipos que pudieran transmitir vibraciones durante su operación (ej. centrífugas).
- 4) Examinar que el entorno no esté afectado por condiciones de humedad excesiva, polvo o alta temperatura. Se estima que la temperatura ambiente adecuada para la operación del espectrofotómetro oscila entre 10 y 35 °C.
- 5) Evitar que el equipo esté ubicado en un lugar donde reciba radiación solar directa.
- 6) No instalar el equipo en un lugar donde existan campos magnéticos o radiación electromagnética intensa.
- 7) Controlar que el área de instalación esté libre de la influencia de gases o sustancias corrosivas.

- **Inspección visual al equipo**

### Frecuencia: Cada seis meses

El espectrofotómetro debe inspeccionarse visualmente para verificar que el estado e integridad de sus componentes se mantienen de acuerdo con las especificaciones del fabricante. Los aspectos más importantes se citan a continuación:

1. Revisar que la estructura de la mesa de trabajo, donde se encuentra instalado el espectrofotómetro, esté en buen estado.
2. Comprobar la estructura general del espectrofotómetro. Verificar que los botones o interruptores de control, los cierres mecánicos, estén montados firmemente y su señalización o identificación sea clara.
3. Controlar que los accesorios estén limpios, no presenten grietas y su estado funcional sea óptimo.
4. Confirmar que los elementos mecánicos de ajuste –tuercas, tornillos, abrazaderas, etc.– se encuentren ajustados y en buen estado.
5. Revisar que los conectores eléctricos no presenten grietas o rupturas. Comprobar que están unidos correctamente a la línea.
6. Verificar que los cables no presenten empalmes ni aislantes raídos o gastados.
7. Revisar que los cables, abrazaderas y terminales estén libres de polvo, suciedad o corrosión. Tampoco deben presentar desgastes o señales de mal estado.
8. Examinar que el sistema de puesta a tierra –interno y externo– sea estandarizado, de un tipo aprobado, sea funcional y esté instalado correctamente.
9. Controlar que los conmutadores o interruptores de circuito, los portafusibles y los indicadores, se encuentren libres de polvo, suciedad o corrosión.
10. Comprobar que los componentes eléctricos externos funcionen sin sobrecalentamientos.

### ***Mantenimiento general***

**Limpieza de derrames.** En caso de que se produzca un derrame en el sistema portamuestras, debe limpiarse el derrame mediante el siguiente procedimiento:

1. Apagar el espectrofotómetro y desconectar el cable de alimentación eléctrica.
2. Usar una jeringa para limpiar el portamuestras. Absorber la mayor cantidad de líquido que pueda extraerse.
3. Secar el portamuestras con un hisopo de algodón tipo medicinal.
4. Utilizar papel especial para la limpieza de lentes o un trozo de tela limpia de textura suave, libre de hilazas, para limpiar la ventana de la fotocelda.
5. Limpiar el exterior del instrumento con una pieza de tela humedecida con agua destilada. Incluir la pantalla, los controles y el teclado.

**Limpieza de cubetas de cuarzo.** Para mantener en buenas condiciones las cubetas de cuarzo, se recomienda realizar el siguiente procedimiento:

1. Lavar las cubetas utilizando una solución alcalina diluida como NaOH, 0,1 M y un ácido diluido tal como HCl, 0,1 M.
2. Enjuagar las cubetas varias veces con agua destilada. Usar siempre cubetas limpias cuando se requiere tomar medidas de absorbancia.
3. Efectuar procedimientos de limpieza rigurosos y cuidadosos a las cubetas, siempre que se utilicen muestras que pudieran depositar películas. Algunos fabricantes recomiendan utilizar detergentes especiales para limpiar las cubetas.

**Cambio de baterías.** Diversas clases de espectrofotómetros utilizan baterías para mantener en memoria datos asociados a los análisis como fecha y horas. El procedimiento es similar en las diversas clases de equipo. Se recomienda seguir este procedimiento:

1. Verificar que en la pantalla del instrumento aparezca la indicación de batería baja.
2. Apagar el espectrofotómetro.
3. Desconectar el cable de alimentación eléctrica.
4. Abrir el compartimiento de las baterías y retirar las baterías agotadas.
5. Limpiar los puntos de contacto eléctrico.
6. Instalar baterías nuevas, con las mismas especificaciones de las originales.
7. Cerrar de nuevo el compartimiento.
8. Reconectar el equipo.
9. Ajustar nuevamente los datos de fecha y hora.

**Cambio de bombillo/lámpara.** El bombillo es un elemento de consumo, por tanto su vida útil es limitada y debe preverse que en algún momento será necesario sustituirlo, bien porque se quemó, o porque ha sufrido procesos de evaporación y metalización interna, y la luz emitida ya no cumple con las

especificaciones requeridas para ser utilizada en procesos de espectrofotometría. El proceso de cada modelo difiere y deben siempre seguirse las indicaciones del fabricante del equipo. Los procesos comunes a seguir se presentan a continuación.

1. Verificar que el bombillo no funciona o existe alguna señal o indicación de que tiene una falla. En equipos modernos aparecerá una señal en la pantalla o un código de error. En equipos antiguos se verá que el bombillo no encendió.
2. Apagar el espectrofotómetro.
3. Desconectar el cable de alimentación.
4. Desajustar los tornillos que aseguran la tapa del compartimiento de la lámpara.
5. Desajustar los tornillos que fijan el mecanismo que sujetla la lámpara.
6. Desajustar los tornillos que fijan los cables de la conexión eléctrica a la lámpara. (En algunos equipos podría no ser necesario, pues la base de montaje dispone de mecanismos de contacto directos a los terminales de contacto de la lámpara).
7. Instalar una lámpara nueva con las mismas características de la original. Usar guantes para evitar impregnar con huellas digitales la superficie de la lámpara.
8. Reconectar los cables de alimentación eléctrica a la lámpara.
9. Ajustar nuevamente los tornillos que sujetan la lámpara.
10. Ajustar nuevamente los tornillos que aseguran la tapa del compartimiento de la lámpara.
11. Reconectar el espectrofotómetro.
12. Encender el equipo y realizar el procedimiento de recalibración del equipo estipulado por el fabricante.

### ***Mantenimiento preventivo***

El mantenimiento preventivo del espectrofotómetro debe responder a las rutinas y frecuencias recomendadas por el fabricante. A continuación, se presenta un grupo de rutinas básicas que puede ser realizada en el laboratorio.

1. Limpiar externamente el espectrofotómetro, incluyendo los controles, pantallas o metros de medición. Esto se puede realizar con una pieza de tela fina –similar a la textura de los pañuelos– humedecida con agua destilada.
2. Inspeccionar y limpiar el cable de alimentación eléctrica.
3. Verificar que la lámpara esté limpia y en buen estado. Si no funciona, instalar una nueva, con las mismas especificaciones de la original. En los espectrofotómetros modernos, el estado de la lámpara es detectado automáticamente mediante el software que controla el estado y el funcionamiento del equipo, por lo que es fácil determinar en qué momento es necesario cambiar la lámpara. Efectuar el cambio de la lámpara y realizar el ajuste posterior siguiendo el procedimiento recomendado por el fabricante.
4. Revisar el fusible de protección. Antes de abrir el alojamiento del fusible, comprobar que el espectrofotómetro esté apagado y que sus contactos se encuentren limpios y en buen estado. Si es necesario reemplazarlo, colocar uno nuevo con las mismas características del recomendado por el fabricante.
5. Colocar el instrumento en la configuración operacional.
6. Accionar el interruptor de encendido para permitir un funcionamiento por cinco (5) minutos. Verificar lo siguiente:
  - a) Si las lámparas o indicadores piloto funcionan.
  - b) Si el indicador de lectura permanece en cero (0).
  - c) Si la luz de la fuente funciona.
7. Realizar una prueba de corriente de fuga en las posiciones de encendido y apagado.
  - a) Verificar el polo a tierra y la polaridad correcta.
  - b) Verificar la polaridad correcta sin polo a tierra.
  - c) Verificar la polaridad inversa sin polo a tierra.
8. Calibrar el panel frontal del espectrofotómetro siguiendo las instrucciones del fabricante.
9. Medir la sensibilidad del equipo.
10. Realizar una prueba siguiendo la ley de Beer.
11. Regresar el espectrofotómetro a la configuración inicial, si la calibración se ha efectuado con éxito.

## BUENAS PRACTICAS DE USO DEL ESPECTROFOTOMETRO

1. Efectuar la calibración del espectrofotómetro, cada vez que se realiza el análisis de un grupo de muestras.
2. Mantener cerrada la tapa del portamuestras durante el proceso de medición, para asegurar una lectura adecuada.
3. Evitar reutilizar las cubetas desechables.
4. Utilizar únicamente cubetas de cuarzo, para efectuar análisis por debajo de los 310 nm.
5. Evitar el uso de cubetas plásticas, si se utilizan solventes orgánicos.
6. Utilizar cristalería de boro silicato de alta calidad para preparar los estándares. Evitar el uso de cristalería de sodio –óxido de sodio– siempre que sea posible, debido a que el contacto prolongado con los estándares puede permearla y, en consecuencia, producir resultados erróneos.
7. Limpiar cuidadosamente las cubetas de vidrio después de utilizarlas. Desechar aquellas que presenten rayones en la superficie pulida.
8. Utilizar en lo posible reactivos de alta calidad. Reactivos de baja calidad pueden causar contaminación incluso en concentraciones muy bajas. Los diluyentes utilizados –agua o solventes– deberán estar libres de impurezas.
9. Verificar que las muestras o estándares no se han desgasificado dentro de las cubetas. Este fenómeno produce burbujas sobre la superficie interna de las cubetas y errores en las lecturas.
10. Tener en cuenta, cuando se pretenda utilizar nuevos procedimientos, que no todas las sustancias cumplen con la ley de Beer. Efectuar pruebas de linealidad sobre el rango de concentraciones a ser utilizadas. Se recomienda preparar un grupo de soluciones fuertes –conocidas– y verificar los resultados. Los fenómenos que afectan la ley de Beer son los siguientes:
  - a) Las altas concentraciones por asociación molecular de especies iónicas.
  - b) Variaciones en la hidratación a bajas concentraciones producen cambios en la naturaleza de los iones complejos.
  - c) Absorciones que no obedezcan la ley requieren dibujar una gráfica de estándares conocidos, que indicará lectura versus concentración, de forma que la lectura de las incógnitas pueda ser relacionada a las concentraciones desde la gráfica.

### Tabla de solución de problemas

#### Espectrofotómetro automatizado

PROBLEMA	CAUSA PROBABLE	REMEDIO
El espectrofotómetro no se energiza.	Interruptor de encendido/apagado está en posición apagado.	Mover el interruptor a la posición encendido.
	No hay energía eléctrica en la toma de alimentación.	Verificar alimentación eléctrica general. Comprobar que no se haya disparado alguna seguridad.
	Mal conectado el cable de alimentación eléctrica.	Conectar firmemente el cable de alimentación.
Los botones del teclado no responden.	Inicialización incompleta del equipo durante el arranque.	Apagar el equipo y encenderlo nuevamente.
	Activación de un comando equivocado durante el arranque.	
Puerto serial RS 232 no responde.	Inicialización incompleta del equipo durante el arranque.	Apagar el equipo y encenderlo nuevamente.
	Cable de interconexión mal conectado.	Verificar conexión.
Pantalla LCD difícil de leer.	Control de contraste desajustado.	Ajustar contraste.
	Sistema de iluminación de fondo quemado.	Llamar al representante.
Impresora atascada.	Papel térmico arrugado entre la cabeza de impresión y la placa térmica al momento de rasgar/cortar el papel.	Remover el exceso de papel con unas pinzas de punta fina.
		Apagar el equipo, retirar el papel y reinstalar nuevamente.

El papel de la impresora no se autoalimenta o avanza.	Papel de la impresora instalado erróneamente.	Apagar el equipo, reinstalar rollo de papel.
	Borde delantero del papel no alineado o doblado.	Apagar equipo. Reinstalar rollo de papel. Cortar borde delantero y alinear nuevamente en el sistema de alimentación.
	Control de alimentación de papel no responde.	Llamar al representante.
La cubeta no entra en el compartimiento portamuestras.	Cubeta de tamaño equivocado.	Usar cubetas del tamaño especificado por el fabricante.
	Mecanismo de ajuste de la cubeta mal localizado.	Corregir posición del mecanismo de ajuste.
La lectura presenta fluctuaciones.	Hay interferencias en el recorrido de la luz.	Verificar que la cubeta no presente rayones.
		Verificar que no hay partículas flotando en la cubeta.
		Frotar las paredes de la cubeta con una pieza de tela limpia.
		Verificar que el rango seleccionado de trabajo es adecuado para la muestra bajo análisis.
La lectura presenta valores negativos. No hay lectura de absorbancia.	No hay muestra.	Añadir una muestra a la solución.
	Colocación incorrecta de la cubeta.	Verificar la orientación de la ventana de la cubeta.
	Selección errónea de la longitud de onda.	Ajustar la longitud de onda al rango compatible con el análisis.
	Equipo calibrado erróneamente con una muestra en lugar de una solución estándar.	Calibrar con una solución estándar o con agua destilada.

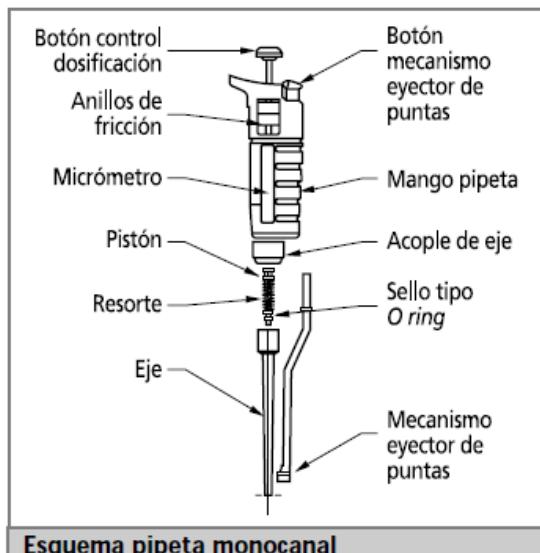
### **Espectrofotómetro no automatizado**

PROBLEMA	CAUSA PROBABLE	REMEDIO
Lámpara excitadora no enciende.	Filamento roto.	Reemplazar lámpara.
	Fusible de seguridad quemado.	Reemplazar fusible.
	Resistencia en el filamento de la lámpara.	Reemplazar lámpara.
	Voltaje erróneo.	Revisar voltaje. Revisar fuente de alimentación.
Lecturas bajas en el metro o galvanómetro.	Lámpara excitadora defectuosa.	Reemplazar lámpara.
	Fotocelda sucia o defectuosa.	Limpiar o reemplazar fotocelda.
	Circuito amplificador defectuoso.	Cambiar o reparar circuito amplificador.
	Bajo voltaje en la lámpara excitadora.	Ajustar voltaje.
Indicación inestable del medidor.	Diodo Zener estabilizador defectuoso.	Reemplazar diodo Zener.

## PIPETAS

Las pipetas son dispositivos de amplia utilización en los laboratorios clínicos y de investigación. Se utilizan para suministrar cantidades muy exactas de fluidos. Sirven para medir o transvasar pequeños volúmenes de líquido de un recipiente a otro, con gran exactitud; se caracterizan por carecer de un depósito. Las pipetas tienen gran diversidad de modelos. Inicialmente, se fabricaron en vidrio; en la actualidad, existe una amplia gama de opciones. Se destacan las pipetas de volumen fijo y las de volumen variable, las cuales en general disponen de controles mecánicos. También se han introducido recientemente en el mercado pipetas que disponen de controles de tipo electrónico.

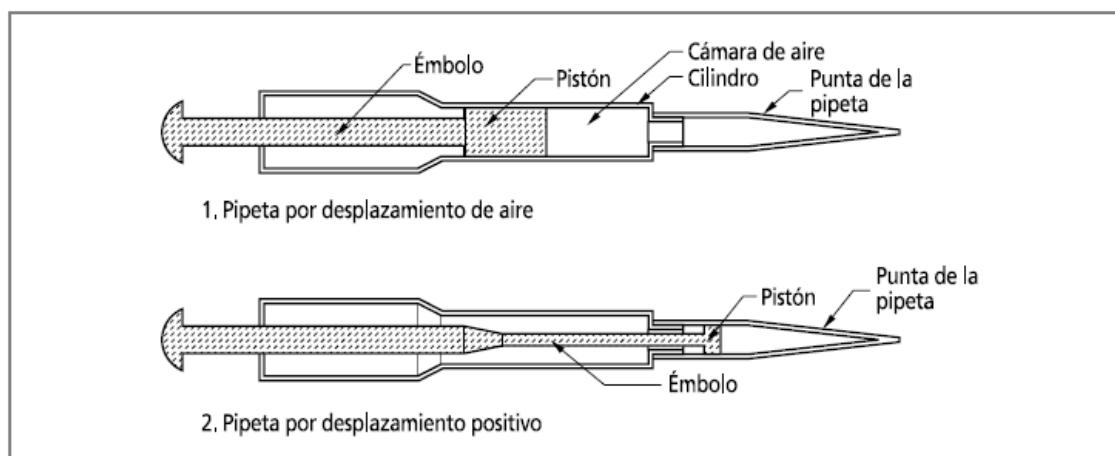
En esta guía se tratarán aspectos referentes al uso y mantenimiento de las pipetas mecánicas, las cuales se conocen como pipetas tipo Gilson.



## PRINCIPIOS DE OPERACION DE LA PIPETA

La pipeta mecánica o de pistón funciona generalmente transmitiendo la fuerza que un operador, de forma manual, ejerce sobre un émbolo que se encuentra unido a un pistón mediante un eje que lo desplaza a lo largo de un cilindro de longitud fija, forzando un volumen predefinido de líquido fuera de la pipeta. Las pipetas a pistón en general son de dos tipos: las de volumen fijo que dispensan un volumen predeterminado de líquido, el cual es conocido como *volumen nominal* [ $V_n$ ], y las de volumen variable, las cuales permiten ajustar el volumen a ser dispensado dentro de un rango determinado en las especificaciones de la pipeta. La variación en el volumen se logra modificando la longitud de la carrera del pistón dentro del émbolo. En estas, el volumen nominal es el límite superior del rango de volumen de la pipeta, de acuerdo con las especificaciones dadas por el fabricante.

Cada uno de los tipos mencionados –pipetas de volumen fijo y pipetas de volumen variable– puede ser subdividido en dos subtipos: A y B. Las pipetas del subtipo A se denominan *pipetas de desplazamiento por aire*, debido a que existe un volumen de aire entre la cabeza del pistón y el líquido en el cilindro. (Ver pipeta Nº 1). A las pipetas del subtipo B se les denomina *pipetas de desplazamiento positivo* o de desplazamiento directo, debido a que el pistón se encuentra en contacto directo con el líquido. (Ver pipeta Nº 2). El esquema que se incluye a continuación permite diferenciar los tipos de pipetas mencionados.



Las pipetas de desplazamiento de aire tienen la ventaja de presentar menos riesgos de contaminación cuando se usan continuamente, pero no son tan exactas como las de desplazamiento positivo, cuando se trabaja con volúmenes muy pequeños de líquido, debido a la compresibilidad del aire. Todas las pipetas de pistón disponen de puntas desechables, para minimizar los riesgos de contaminación; se recomienda utilizar siempre las puntas suministradas por el fabricante, para garantizar el ajuste de las

mismas al cuerpo de la pipeta, así como los volúmenes a dispensar. Para facilitar la identificación de estos volúmenes, los fabricantes han adoptado un código de color que facilita la identificación de los volúmenes a dispensar. La tabla que se incluye a continuación muestra la convención de color mencionada.

#### **Tabla de convención de color en las pipetas**

Volumen dispensado por la pipeta. Rango en microlitros ( $\mu\text{l}$ ).	Color característico utilizado para identificarla
0,1 – 2,5	Negro
0,5 – 10	Gris
2,0 – 20	Gris/Amarillo
10 – 100	Amarillo
50 – 200	Amarillo
100 – 1.000	Azul
500 – 2.500	Rojo

#### **SERVICIOS REQUERIDOS**

Para utilizar una pipeta se requiere que el laboratorio brinde unas condiciones adecuadas de comodidad, limpieza e iluminación. Las condiciones generales son las siguientes:

1. Verificar que la temperatura del ambiente donde se utiliza sea estable, con un rango de variación de  $\pm 0,5^\circ\text{C}$ , que se encuentre entre los  $15^\circ\text{C}$  y los  $30^\circ\text{C}$ , siendo óptima una temperatura de  $20^\circ\text{C}$ .
2. Confirmar que la humedad relativa del ambiente sea superior al 50 %. Las pipetas y muestras o materiales con los que se trabaja deben estar estabilizados a las condiciones del laboratorio, por lo que se recomienda que se encuentren en el mismo con dos o tres horas de anticipación al momento en que se realiza el trabajo.
3. Evitar trabajar con las pipetas bajo la influencia de la luz solar directa.
4. Utilizar los elementos de protección adecuados, si se trabaja con materiales tóxicos o que conlleven riesgo biológico.

#### **USO DE LA PIPETA**

Para obtener resultados exactos, precisos y sobre todo confiables, es necesario que los operadores de pipetas conozcan en detalle los procedimientos relacionados con su utilización. Esto se logra mediante capacitación y seguimiento detallado del uso de las pipetas. Se presentan a continuación lineamientos generales para el uso adecuado de los dispositivos en mención.

**Advertencia:** Antes de utilizar una pipeta, verificar que la misma se encuentra debidamente calibrada y que es adecuada para realizar el trabajo que se requiere desarrollar.

#### **Recomendaciones generales**

1. Verificar que la pipeta se encuentra en posición vertical, cuando se requiera aspirar un líquido. La posición vertical garantiza que no se presente incertidumbre por variaciones mínimas en la cabeza del líquido.
2. Confirmar la recomendación que efectúa el fabricante de la pipeta con relación a la profundidad mínima de inmersión de la punta de la pipeta, cuando se requiere aspirar líquidos. Las profundidades varían de acuerdo con el tipo y capacidad de la pipeta. Una guía general se muestra en la siguiente tabla:

**Tabla de profundidad de inmersión de la punta de la pipeta según volumen**

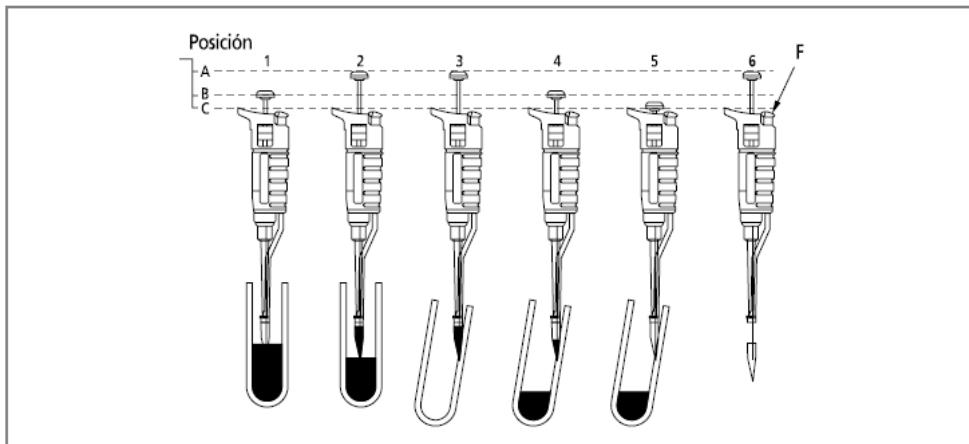
Volumen de la pipeta ( $\mu\text{l}$ )	Profundidad de la inmersión (mm)
1 – 100	2 – 3
100 – 1.000	2 – 4
1.000 – 5.000	2 – 5

3. Humedecer previamente las puntas de las pipetas que funcionan por desplazamiento de aire para mejorar la exactitud. Para lograr la humidificación mencionada, se opera varias veces la pipeta con la solución de trabajo, dispensando el contenido en el recipiente de desperdicio. Esto reduce la posibilidad de que se aspiren burbujas de aire, cuando se aspiran líquidos de densidad elevada o líquidos con propiedades hidrofóbicas. El proceso mencionado permite homogeneizar la humedad en la cámara de aire de la pipeta –volumen de aire entre la cabeza del pistón y la superficie del líquido–. No es necesaria la prehumidificación en pipetas que dispensan volúmenes inferiores a 10  $\mu\text{l}$ . Tampoco es necesaria la humidificación previa en las pipetas a pistón de desplazamiento positivo.

4. Remover, después de llenar la pipeta, cualquier gota que se adhiera a la punta de la pipeta. El procedimiento que se sigue consiste en tocar, con la punta de la pipeta, suavemente la pared del recipiente que contiene el líquido aspirado. Podría requerirse un material absorbente, teniendo cuidado de no tocar el orificio de la punta de la pipeta y tomando las precauciones del caso, si el material presenta algún tipo de contaminación.

5. Dispensar el líquido contenido en la pipeta tocando con la punta de esta la pared del recipiente receptor. La punta de la pipeta debe formar un ángulo con la pared del recipiente que varía entre los 30° y los 45°, y estar ubicada entre 8 y 10 mm sobre la superficie del líquido contenido.

#### **Método convencional de uso**



Se describen las actividades generales requeridas para utilizar una pipeta mecánica por desplazamiento de aire. El operador debe tener en cuenta las recomendaciones específicas del fabricante, observación que también debe acatarse cuando se utilicen pipetas controladas electrónicamente. El esquema que se incluye muestra la descripción de los procesos que se explican a continuación:

1. Colocar una punta nueva, ajustada a las especificaciones de la pipeta, en el portapuntas de la pipeta. Evitar contaminar la punta con otras sustancias. Verificar que la misma queda bien ajustada.
2. Presionar el émbolo suavemente hasta el primer tope. Hasta este momento la punta de la pipeta no debe estar sumergida en el líquido.
3. Sumergir la punta de la pipeta en el líquido. Verificar la profundidad recomendada en la tabla incluida en el numeral 2 de las recomendaciones generales o utilizar la recomendación que suministre el fabricante. Confirmar que la pipeta se encuentra en posición vertical. Este proceso corresponde al mostrado en la posición 1B (primera a la izquierda).
4. Liberar el émbolo de forma suave para que la pipeta absorba el líquido (posición 2A). Verificar que el émbolo se desplace hasta la posición del límite superior. Esperar al menos dos segundos, antes de retirar la punta de la pipeta del líquido.

5. Colocar la punta de la pipeta contra la pared del recipiente en el cual será dispensado el líquido. Verificar que el ángulo formado entre la punta de la pipeta y la pared del elemento receptor esté entre los 30° y los 45°. Si el recipiente receptor ya tiene algún nivel de líquido, evitar que la punta de la pipeta quede sumergida en el mismo (posición 3A).
6. Dispensar el contenido de la pipeta presionando el émbolo de forma suave pero firme, hasta el primer tope (posición 4B). Mantener en todo momento el contacto entre la punta de la pipeta y la pared del recipiente receptor. Frotar la punta de la pipeta contra la pared de 8 a 10 mm, para asegurar que no quede ninguna gota de líquido pegado a la punta de la pipeta.
7. Presionar el émbolo suavemente hasta que alcance el segundo tope en la carrera del pistón (posición 5C). Esto expulsa cualquier fracción de líquido que hubiera podido quedar en la punta de la pipeta, al forzar el aire de la cámara a través del orificio de la punta de la pipeta. Mantener el émbolo presionado en el segundo tope, mientras se retira la pipeta del recipiente receptor. Una vez retirada la pipeta, liberar suavemente el émbolo hasta la posición límite superior.
8. Desechar la punta de la pipeta. Para esto accionar el botón del mecanismo de expulsión (posición 6).

**Nota:** Si se utiliza una pipeta de volumen variable, primero se debe seleccionar el volumen que necesita ser dispensado. Para esto deben seguirse las instrucciones que al respecto indique el fabricante. Normalmente, los controles de volumen se encuentran ubicados en la parte superior de la pipeta y es necesario que el operador aprenda a entender y diferenciar las escalas.

## RUTINAS DE MANTENIMIENTO

Se señalan a continuación los lineamientos generales de las rutinas de mantenimiento requeridas por las pipetas mecánicas. Se deben realizar rutinas específicas de los diversos modelos, de acuerdo con las instrucciones de los manuales suministrados por los fabricantes.

### **Inspección**

#### **Frecuencia: Diaria**

Las pipetas son dispositivos que requieren inspecciones frecuentes para detectar desgastes anormales o daños y/o verificar que las mismas se encuentran en buenas condiciones de funcionamiento. La inspección debe cubrir los siguientes aspectos:

1. Verificar la integridad y ajuste de los mecanismos. Los mismos deben poder moverse de forma suave. El pistón debe desplazarse suavemente.
2. Confirmar que el portapuntas no presente distorsiones o marcas de desgaste, dado que es esencial para la exactitud de las medidas. Verificar el ajuste de las puntas.
3. Colocar una punta y llenarla con agua destilada. La pipeta no debe presentar ningún tipo de fuga.

### **Limpieza y descontaminación**

1. Verificar cada día que la pipeta se encuentra limpia, en sus superficies interiores y exteriores. Si se detecta suciedad, la misma debe limpiarse utilizando un solvente adecuado o una solución jabonosa. Revisar las recomendaciones del fabricante relativas a la compatibilidad que tienen los materiales con que está fabricada la pipeta para seleccionar aquellos solventes que no produzcan efectos dañinos a la integridad de los componentes.

2. Esterilizar la pipeta siguiendo las indicaciones de los fabricantes. Algunas pipetas se pueden esterilizar en un autoclave, utilizando un ciclo de 121 °C y un tiempo estimado de 20 minutos; algunas requieren ser desensambladas para que el vapor esté en contacto con sus componentes internos (Las pipetas que se pueden esterilizar con vapor disponen de una marca que permite identificarlas; el fabricante proporciona los requerimientos de desensamble).

El desensamble consiste en liberar o desenroscar el cuerpo central de la pipeta, siguiendo los procedimientos indicados por los fabricantes. Para desensamblar o ensamblar algunas pipetas, se requiere utilizar un conjunto de herramientas –llaves– que normalmente proporcionan los fabricantes, junto con la pipeta en el momento de la venta. La pipeta solo debe ensamblarse de nuevo, cuando el

ciclo de esterilización haya terminado y la temperatura se haya estabilizado con la del ambiente. En ese momento se verifica que los componentes se encuentren secos y se procede al ensamble. Algunos fabricantes recomiendan esterilizar la pipeta, utilizando una solución de isopropanol al 60 % y, a continuación, lavar los componentes con agua destilada, secar y ensamblar.

3. Si una pipeta ha sido utilizada con sustancias peligrosas para la salud, es responsabilidad del usuario asegurar que está completamente descontaminada, antes de que la misma sea utilizada en otros procedimientos o sea retirada del laboratorio. Es conveniente diligenciar un reporte que indique su marca, modelo, número de serie, sustancias con las que trabajó y sustancias o procedimientos con las que fue tratada o limpiada.

### **Mantenimiento**

#### **Frecuencia: Semestral**

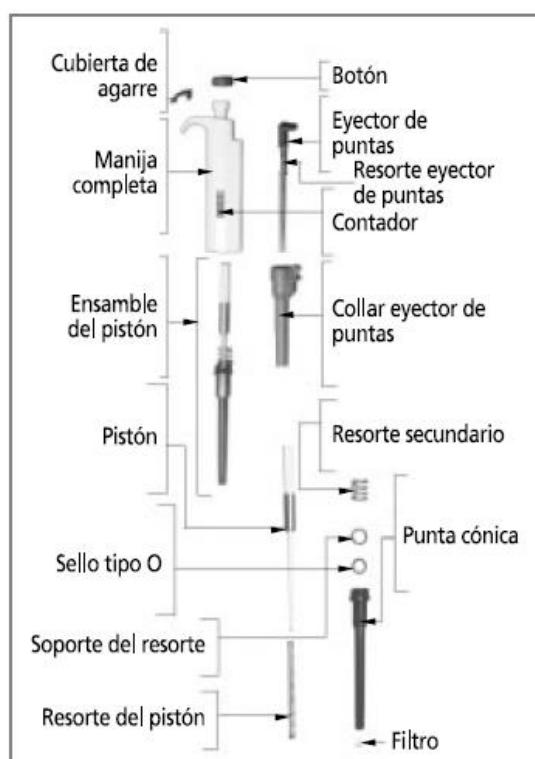
Una pipeta que se utiliza diariamente debe ser sometida a los siguientes procedimientos para garantizar su correcto funcionamiento:

1. Desensamblar la pipeta. Seguir el procedimiento que para el efecto describe el fabricante, en el manual de uso y mantenimiento de la pipeta. (El procedimiento varía dependiendo de la marca, tipo y modelo). Normalmente, se desensambla el cuerpo principal de la pipeta del sistema eyector de puntas, desenroscando el cuerpo de la pipeta del cilindro.

2. Limpiar los anillos en O, el émbolo y las paredes interiores del cilindro antes de lubricar. Si los componentes interiores fueron contaminados accidentalmente, todas las superficies deberán ser limpiadas con un detergente y luego con agua destilada. Si los anillos o sellos en O requieren ser cambiados, deberán ser sustituidos por repuestos de las mismas características de los originales. Debe tenerse en cuenta que este tipo de sellos varía dependiendo de la marca, tipo y modelo.

3. Lubricar el émbolo y el pistón con grasa siliconada especial (La grasa siliconada existe en diversas especificaciones. Por lo tanto, debe utilizarse la recomendada por el fabricante de las pipetas) para pipetas. La grasa mencionada ha sido especialmente desarrollada para ser utilizada en las pipetas. Utilizar siempre la recomendada por el fabricante. Retirar cualquier exceso de lubricante con un papel absorbente.

4. Ensamblar siguiendo un proceso inverso al utilizado para desensamblar.



**Tabla de solución de problemas**

PROBLEMA	CAUSA PROBABLE	REMEDIO
La pipeta presenta fugas.	Punta colocada de forma incorrecta en la pipeta.	Instalar la punta de acuerdo a procedimiento definido por el fabricante.
	Cuerpos extraños entre la punta y su cono de ajuste.	Limpiar acople. Retirar la punta y limpiar el cono de ajuste. Instalar una punta nueva.
	Cuerpos extraños entre el pistón y el anillo/sello en O alojado en el cilindro.	Desensamblar y limpiar el conjunto cilindro/pistón. Lubricar y ensamblar.
	Lubricante insuficiente en el pistón y/o el sello en O.	Desensamblar y lubricar adecuadamente.
	Sello en O doblado o dañado.	Reemplazar sello en O. Desensamblar, limpiar, reemplazar sello, lubricar y ensamblar.

	Pistón contaminado.	Limpiar el pistón y lubricar ligeramente.
	Cono inferior flojo.	Ajustar el cono inferior.
Gotas visibles dentro de la punta de la pipeta.	Humidificación no homogénea de la pared plástica.	Instalar una punta nueva en la pipeta.
La pipeta presenta inexactitudes.	Operación incorrecta de la pipeta.	Revisar los procedimientos de uso y corregir errores detectados.
	Cuerpos extraños bajo el botón de accionamiento.	Limpiar el montaje del botón.
	Punta de la pipeta mal instalada.	Revisar el montaje de la punta de la pipeta. Instalar una punta diferente, adecuada a las especificaciones de la pipeta.
	Interferencia en la calibración.	Recalibrar de acuerdo a procedimiento estandarizado. Revisar procedimiento de uso.
	Punta contaminada.	Instalar una punta nueva.
La pipeta presenta inexactitudes con determinados líquidos.	Calibración inadecuada.	Recalibrar la pipeta utilizando procedimiento estandarizado.
		Ajustar la calibración si se utilizan líquidos de viscosidad alta.
El botón de control no se mueve suavemente o presenta alta resistencia al accionarlo.	Pistón contaminado.	Limpiar y lubricar ligeramente.
	Sello contaminado.	Desensamblar la pipeta, limpiar todos los sellos o reemplazarlos si es necesario. Lubricar ligeramente.
	Pistón dañado.	Reemplazar el pistón y los sellos del pistón. Lubricar ligeramente.
	Vapores de solvente han entrado en la pipeta.	Desenroscar la unión central de la pipeta. Ventilar, limpiar el pistón y lubricar ligeramente.

## BIBLIOGRAFIA

MANUAL DE MANTENIMIENTO PARA EQUIPO DE LABORATORIO - OPS, 2005