

¿Cómo funciona un analizador?

Un analizador enzimático es un equipo complejo, pero a la vez muy sencillo de utilizar y capaz de facilitar muchísimo el trabajo del laboratorio. Esencialmente es un robot que realiza de forma repetitiva una serie de pasos en la realización del análisis: toma de muestra y de reactivos, mezcla y mide los cambios de la densidad óptica de la mezcla de reacción específicos para cada parámetro analizado. Después los algoritmos internos procesan el resultado de la medida y devuelve un valor de concentración del analito en la muestra. Y así una y otra vez hasta que completamos la lista de análisis solicitada. Sencillo.



Pero bajo esta aparente sencillez se esconden una multitud de detalles críticos para que el resultado medido sea el que realmente refleja las características de la muestra. En esta entrada comentaremos algunos de ellos incorporados en nuestros sistemas DIONYSOS.

Un punto crítico es el de toma de muestra, especialmente en lo que respecta a la **precisión**, sobre todo si tenemos en cuenta que hablamos de cantidades que suelen ir de los 3 a los 10 uL (como referencia, se considera que el tamaño de una gota de lluvia serían unos 50 uL). La resolución típica de 0,1 uL darían como resultado una variación aleatoria máxima de 0,05 uL, o lo que es lo mismo un CV% asociado a la dispensación de una muestra de 3 uL de un máximo de 1,7%.

Pero además de ser precisa, esa misma punta tiene que **evitar la contaminación entre muestras consecutivas**, entre muestras y reactivos, y entre reactivos diferentes (también llamado *carry-over*). Como la punta en un analizador no es un elemento desechable, el tratamiento de la superficie de la punta, tanto interno como externo, es el factor tecnológico determinante. Antiguamente se utilizaban puntas tratadas con teflón, aunque han sido desplazadas por modernos nanomateriales, como en el caso de nuestros analizadores DIONYSOS, en el que se consiguen superficies ultra-hidrofóbicas mucho más eficientes.

Una vez depositada la muestra y los reactivos en la cubeta de reacción, un agitador **homogeniza la mezcla** para asegurar que la reacción se produce de manera uniforme, sin gradientes de concentración inesperados ni burbujas de aire atrapadas en las paredes de la cubeta. De esta forma se consigue una señal estable y monótona.

La temperatura es un elemento que interviene en dos facetas diferentes. Por un lado, los reactivos enzimáticos requieren una temperatura de conservación baja que alarga su vida útil y mantiene su estabilidad; por otro, los enzimas necesitan de una temperatura concreta para funcionar y, para conseguir una reacción estable, constante a lo largo de la reacción e igual en todas las cubetas.

Un **sistema de refrigeración eficiente** conservar los reactivos en estado óptimo, incluso cuando el analizador no está en funcionamiento. Cuando son aspirados, son rápidamente calentados en el interior de la punta para acercarlos a la temperatura de funcionamiento y, al dispensarse en la cubeta, los primeros ciclos son imprescindibles para alcanzar la temperatura de reacción de la mezcla. Un sistema de **calefacción del rotor de reacción por aire caliente** que circula entre las cubetas, mantiene la temperatura y evita que una reacción se enfríe cuando en la cubeta adyacente se añade reactivo.

La capacidad de una sustancia de interaccionar con una longitud de onda específica se denomina **absorbancia**, que no es más que la diferencia entre la luz que llega a una solución que contiene esa

sustancia y la que sale después de atravesarla. Esta magnitud es proporcional a la concentración de dicha sustancia en el medio (la denominada Ley de Beer-Lambert). Cuando esa sustancia se transforma como consecuencia de una reacción, la absorbancia de la muestra cambia y por tanto podremos calcular cuánto ha variado su concentración. La mayoría de técnicas monitoriza el cambio de color de la coenzima NAD⁺ cuando se transforma en NADH (que absorbe luz a 340 nm); pero otras técnicas utilizarán diferentes longitudes de ondas. La selección de la onda adecuada se realiza mediante filtros específicos que permiten una anchura de banda muy estrecha (+/- 2 nm), junto con fotodiodos de alta sensibilidad capaces de registrar señales de hasta una diezmilésima de absorbancia.

Para tener una lectura estable, frecuentemente la primera medida de absorbancia se realiza antes de añadir el segundo reactivo (o la muestra, en caso de reacciones monoreactivas) y la segunda medida de absorbancia cuando la reacción ha terminado completamente. Una característica particular de los analizadores DIONYSOS es que el usuario puede configurar el número de medidas a realizar tanto al inicio como al final de la reacción, de manera que puedan **compensarse los errores aleatorios** asociados a la propia medida, lo que mejora sensiblemente la precisión de la misma. Además, hay otros factores que producen oscilaciones en la señal como la propia deriva de la temperatura de la lámpara o la presencia de polvo en el camino óptico, por lo que es altamente recomendable incorporar sistemas de refrigeración o sellar el sistema óptico para que no se vea afectado por el entorno.

Todos estos sistemas trabajan de forma coordinada y eficiente para que el analista únicamente se tenga que ocupar de alimentar las rutinas de trabajo. E incluso esta tarea puede verse simplificada con la ayuda de otros elementos de apoyo opcionales, como puede ser la integración dentro de un sistema de gestión de laboratorio, la identificación de muestras mediante código de barras o el diseño de una interface de navegación intuitiva y visual.

El sistema DIONYSOS es un analizador de última generación diseñado para hacer el trabajo diario de una forma sencilla y eficiente, liberando al técnico de las tareas más repetitivas y susceptibles de error.

Desde hace más de 10 años, el compromiso de Sinatech con el enólogo ha sido el trabajar codo con codo para proporcionarle las soluciones analíticas más adecuadas al control y seguimiento del proceso de vinificación. Métodos automatizados fácilmente adaptables a cualquier rutina de trabajo, con un equipo de asesoría personalizada para ayudarle a una implementación rápida y sin problemas.

Sinatech: TeamWork