

Manual de uso

Espectrofotómetro Zuzi 4255/50

Referencia HJD004



Este manual es parte inseparable del aparato por lo que debe estar disponible para todos los usuarios del equipo. Le recomendamos leerlo atentamente y seguir rigurosamente los procedimientos de uso para obtener las máximas prestaciones del equipo y una mayor duración del mismo.

Índice

Seguridad	1
General	1
Electricidad	1
Aviso	1
Principio de funcionamiento	2
Instrucciones para desempaque	2
Especificaciones	3
Instalación	3
Operación	4
Preparación	4
Descripción de las teclas	5
Encendido	6
Operación básica	7
Análisis de muestras	12
Modo básico	12
Cuantitativo	14
Barrido de longitud de onda (LO)	20
Cinética	25
ADN/Proteína	28
Longitud de onda múltiple	31
Utilidad	33
Apéndice A	41
Apéndice B	42
Apéndice C	44
Sustitución de las lámparas	44
Lámpara W	44
Lámpara D2	45
Sustitución de la batería	46
Solución de problemas.....	47

Seguridad:

Las declaraciones de seguridad en este manual cumplen con los requerimientos del ACTA DE SALUD Y SEGURIDAD EN EL TRABAJO, 1974.

Lea lo siguiente antes de instalar y usar el instrumento y sus accessories. El equipo debe ser operado por personal de laboratorio capacitado.

General:

El aparato descrito en este manual está diseñado para ser usado por personal técnico de laboratorio entrenado. Para el uso correcto y seguro es esencial seguir los procedimientos de seguridad generalmente aceptados y las medidas de precaución indicadas en este manual.

La cubierta del instrumento puede retirarse para el mantenimiento. Sin embargo, el interior de la unidad de alimentación de energía es una área peligrosa y su cubierta no debe retirarse bajo ningún concepto. No existen componentes a los que dar mantenimiento dentro de dicha unidad. Evite tocar siempre el alto voltaje de la unidad de alimentación de energía.

Algunos de los productos químicos usados en espectrofotometría son corrosivos y/o inflamables y las muestras pueden ser radioactivas, tóxicas o potencialmente infecciosas. Deben seguirse los procedimientos de laboratorio establecidos para la manipulación de químicos y muestras.

Electricidad:

Antes de encender el equipo, asegúrese de que el voltaje seleccionado en el instrumento se corresponde con el voltaje local (vea la Fig.1-1).



Fig. 1-1

Interruptor voltaje

El enchufe del cable de alimentación debe estar provisto de un contacto a tierra. La acción protectora no debe impedirse por el uso de un cable de extensión sin un conductor de protección.

Aviso:

Cualquier interrupción del conductor de protección dentro o fuera del aparato o la desconexión del terminal de protección a tierra probablemente haga que el equipo sea peligroso. La interrupción intencional está prohibida.

Cuando sea probable que la protección se haya deteriorado, el aparato deberá

apagarse y no se permitirá que vuelva a operarse.

NUNCA toque o manipule la unidad de alimentación de energía debido a la existencia de alto voltaje.

La protección se ha deteriorado probablemente si, por ejemplo, el equipo

- Muestra un daño visible
- Falla en la ejecución de las mediciones
- Ha sido almacenado mucho tiempo en condiciones adversas
- Ha sido sometido a tensiones severas durante la transportación

Principio de funcionamiento:

El espectrofotómetro consiste de cinco partes: 1) Lámparas de halógeno o deuterio como fuente de luz; 2) Un monocromador para aislar la longitud de onda de interés y eliminar la radiación de segundo orden no deseada; 3) Un compartimiento de muestras para alojar la solución a medir; 4) Un detector para recibir la luz transmitida y convertirla en una señal eléctrica; y 5) Un display digital para indicar la absorbancia o transmitancia. El diagrama de bloques (Fig 1) más abajo ilustra la relación entre estas partes.

Diagrama de bloques del espectrofotómetro

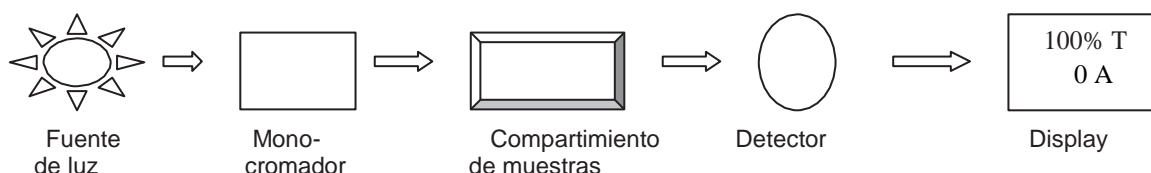


Fig1

La luz emitida por la lámpara es enfocada en la hendidura de entrada del monocromador donde el espejo colimador dirige el haz hacia la rejilla, la cual dispersa el haz de luz para producir el espectro, una porción del cual se enfoca en la hendidura de salida del monocromador por el espejo colimador. De aquí el haz pasa al compartimiento de muestras a través de uno de los filtros, el cual ayuda a eliminar la radiación de segundo orden no deseada de la rejilla de difracción. Al dejar el compartimiento de muestras, el haz llega a un detector fotodiodo de silicio, el cual produce una señal eléctrica que es convertida a un valor de una magnitud y es mostrado en el display digital.

Instrucciones para desempaque:

Cuidadosamente desempaque y compruebe el contenido contra la siguiente lista. Verifique que todo se haya recibido en buenas condiciones.

Lista	
<u>Descripción</u>	<u>Cantidad</u>
<input type="checkbox"/> <i>Epectrofotómetro</i>	1
<input type="checkbox"/> <i>Cable de alimentación</i>	1
<input type="checkbox"/> <i>Cubetas</i>	4 de vidrio
.....	2 de cuarzo
<input type="checkbox"/> <i>Cubierta para protección contra el polvo</i>	1
<input type="checkbox"/> <i>Manual</i>	1

Especificaciones:

Código	54255050
Modelo	4255
Rango de longitud de onda	190-1100 nm
Ancho de banda	2 nm
Sistema óptico	Haz simple, rejilla 1200 líneas/mm
Exactitud de longitud de onda	± 0.5 nm
Repetibilidad de longitud de onda	0.3 nm
Velocidad de escaneo	Alta Media Baja, máx. 3000 nm/min
Rango fotométrico	-0.3 to 3 A; 0 to 200% T; 0-9999 C
Exactitud fotométrica	± 0.3% T
Repetibilidad fotométrica	± 0.2% T
Luz desviada	0.05% T
Estabilidad	± 0.002 A/h
Pantalla	LCD (320x240 bits) o de PC
Llanura de la línea base	± 0.002 A (200-1000 nm)
Fuente de luz*	Lámparas de Tungsteno y Deuterio
Detector	Fotodiodo de silicio
Compartimiento de muestras	Celdas con 100 mm de paso
Salida	USB y puertos paralelos (impresora)
Alimentación	CA 220 V / 50 Hz
Dimensiones	480x360x160 mm
Peso	16 Kg

Instalación:

1. Después de desempacar, verifique que lo recibido se corresponde con la lista de empaque (página 2).
2. Coloque el instrumento en un lugar donde no incida la luz solar directamente. Manténgalo alejado de campos magnéticos y eléctricos fuertes o de cualquier dispositivo eléctrico que pueda generar campos de alta frecuencia. El área debe estar libre de polvo, gases corrosivos y fuertes vibraciones.



3. Retire cualquier material que pueda obstaculizar el flujo de aire por debajo y alrededor del instrumento.
4. Use un cable con enchufe adecuado y un tomacorriente con aterramiento.



5. Encienda el espectrofotómetro. Permita que se caliente por 15 minutos antes de comenzar las mediciones. Sugerimos que haga la Calibración del Sistema con la búsqueda 656.1 nm para fijar la longitud de onda a la línea de emisión de la lámpara de deuterio.

NOTA:



Este símbolo indica Precaución, Riesgo de Peligro.

Operación:

Preparación

La Fig. 2 representa el panel de control. El usuario puede ejecutar todas las operaciones pulsando las teclas y todos los resultados e información sobre la operación se muestran en el display LCD.

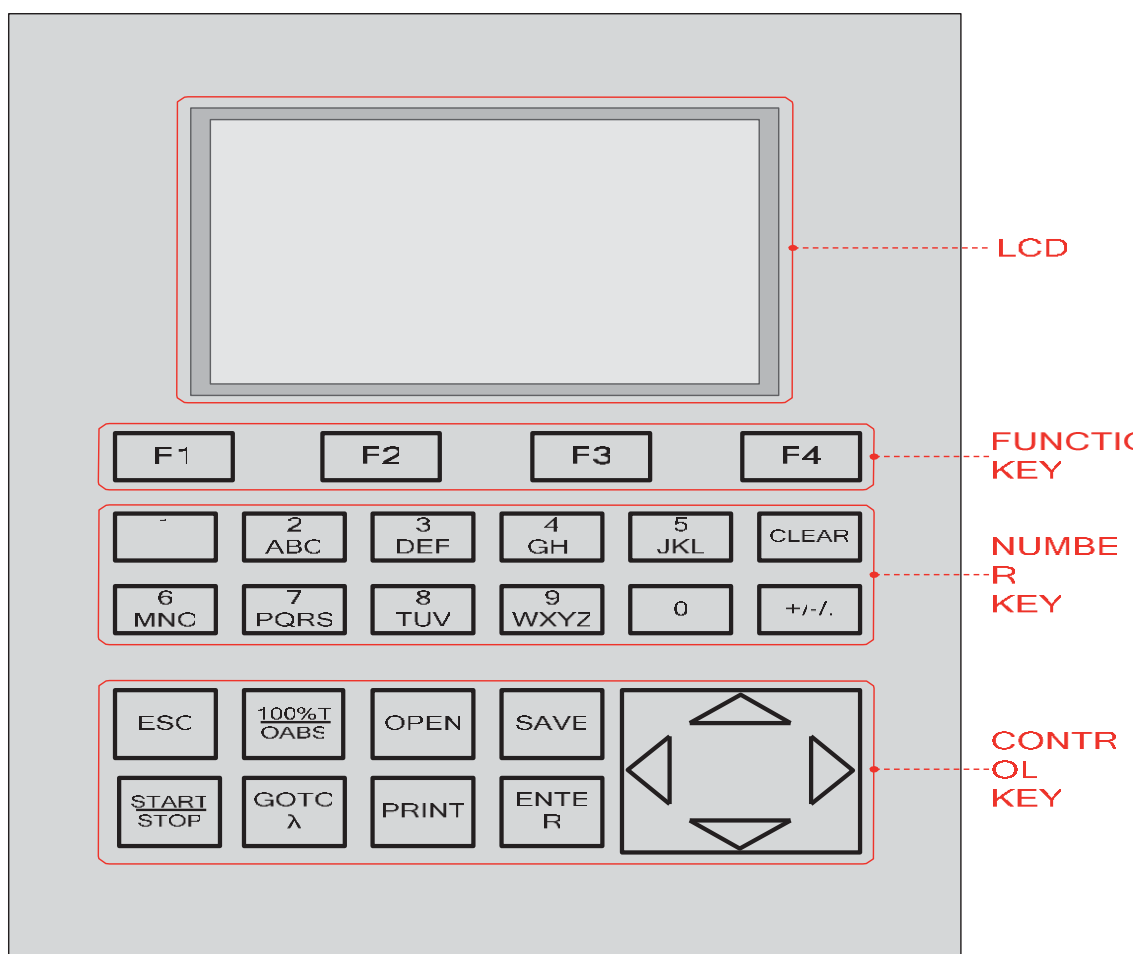


Fig. 2

Descripción de las teclas

ESC	Regresa a la pantalla previa o cancela la operación;
100%T / 0Abs	Ajusta el blanco o escanea la línea base;
OPEN	Abre los datos o la curva guardada ;
SAVE	Guarda datos o curva;
START/STOP	Inicia medición o escaneo de la muestra;
GOTO λ	Fija la longitud de onda;
PRINT	Imprime los resultados o la pantalla;
ENTER	Confirma los datos introducidos o una selección; va a la siguiente configuración o pantalla;
F1– F4	Función basada en la información en pantalla;
Nota: ¡No hay símbolos impresos en las teclas de función! Para una descripción conveniente en el manual, las llamamos F1, F2, F3 y F4, respectivamente.	
0–9	Número o letra, pulse consecutivamente una tecla numérica para seleccionar una letra;
+/-/.	Introducir +, - o punto;
CLEAR	Borra todos los caracteres en el momento que se introducen o borra la curva mostrada en pantalla;

- < , > Cambia la escala “x”; busca el punto después del barrido; < borra un caracter;
- ^ , v Cambia la escala “y”; busca el pico después del barrido; desplaza elementos para seleccionar; cambia mayúscula / minúscula en el último caracter escrito; despliega elementos para la selección;

Encendido

Encienda el espectrofotómetro pulsando el interruptor (IO). El instrumento se inicia y los pasos son los siguientes:

1. Primero el instrumento calienta la lámpara D2 (Fig 3), entonces inicializa el puerto-com y la impresora, el núcleo, el filtro de posicionamiento, el autocambiador de celdas (si está instalado) y las lámparas D2 / W; la pantalla aparece como en la Fig 3A. Deje pasar 15 minutos o pulse **ESC**, la pantalla aparece como en la Fig 4; seleccione “No” para saltar al menú principal (Fig 6) o seleccione “Yes”(recomendado) para calibrar el sistema (Fig 5).El proceso de calibración incluye “obtención de la corriente oscura”, “búsqueda de 656.1nm” y “comprobación de energía”. Después de terminada la calibración del sistema, vaya al menú principal (Fig 6).
2. Si los datos en memoria se han perdido, el equipo directamente calibrará el sistema sin que Ud. pueda hacer nada.
3. Si autocambiador de celdas no instalado, “celda #1” desaparecerá en Fig 6.

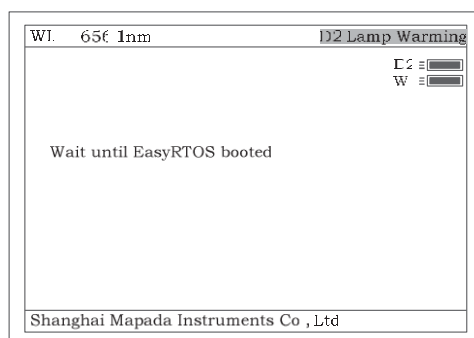


Fig 3

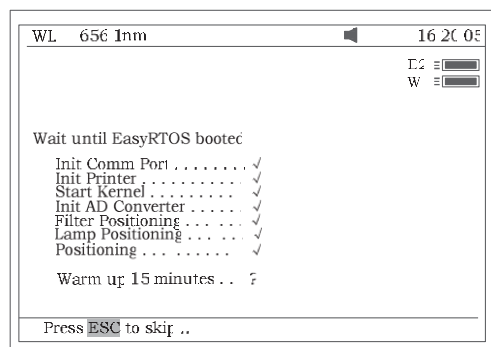


Fig 3A

Nota: El instrumento muestra los pasos de comprobación uno por uno, no todos a la vez como se ve en la Fig 3A.

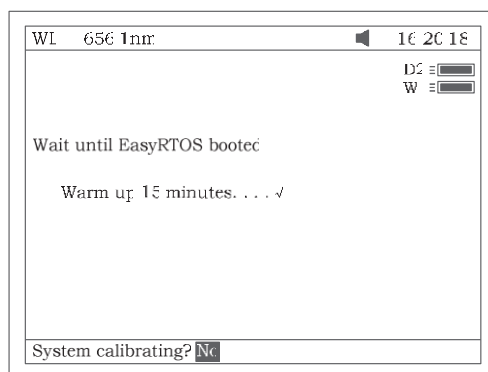


Fig 4

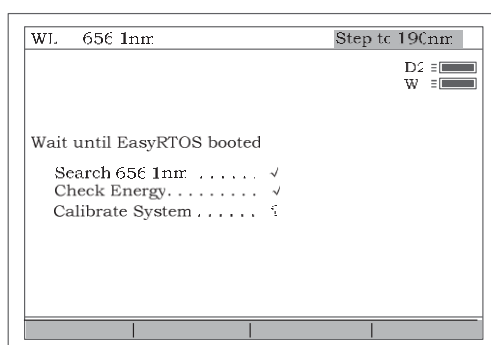


Fig 5

Nota: El instrumento muestra los pasos de comprobación uno por uno, no todos a la vez como se ve en la Fig 5.

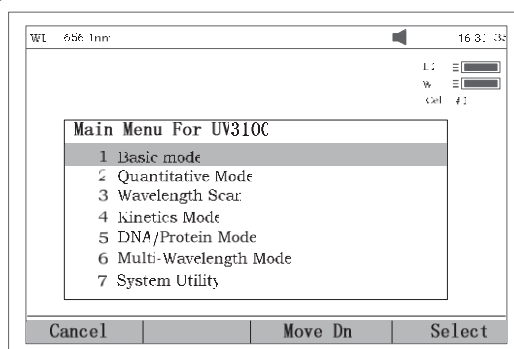


Fig 6

Operación básica

Blanco

- Ponga la cubeta del blanco en el paso de luz.
- Pulse la tecla **100%T/0Abs** para ajustar el blanco

Nota: 1. Si la solución de referencia es muy espesa, “Energía Baja...” (“Energy Low...”) aparecerá después de “Blanking...” (“Ajuste del blanco...”) en la pantalla (Fig 7). Si “Energía demasiado Baja...” (“Energy too Low...”) aparece después de “Blanking...”, la prueba se pausará y “Aviso...” (“Warning...”) aparecerá en la pantalla (Fig 8).

2. Si el autocambiador de celdas no está instalado “celda #1” y “Max E” desaparecerán en la Fig 7.

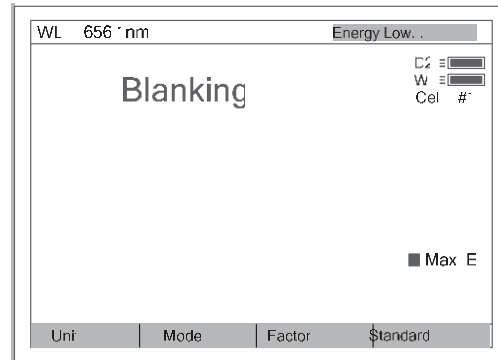


Fig 7

NOTA: 1.El ajuste del blanco es automático después de un cambio de longitud de onda.

NO ABRA LA TAPA DEL COMPARTIMIENTO DE MUESTRAS DURANTE EL AJUSTE DEL BLANCO.

2. La corriente oscura no se toma después del encendido, si omite la calibración del sistema. Se recomienda tomar la corriente oscura después del calentamiento (Vea la pág. 38)

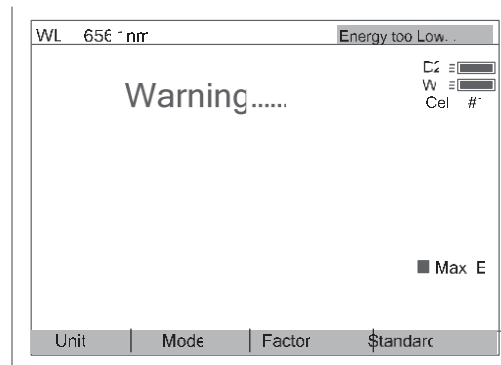


Fig 8

Fijar la longitud de onda (Ejemplo: fijar la longitud de onda en “Modo básico”)

- Pulse **GOTO λ** (Fig 9).

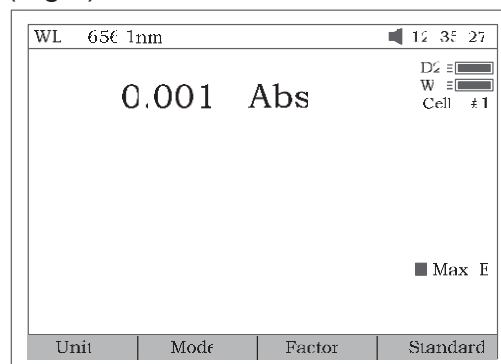


Fig 9

- Use el teclado numérico para introducir el valor de longitud de onda (Fig 10).

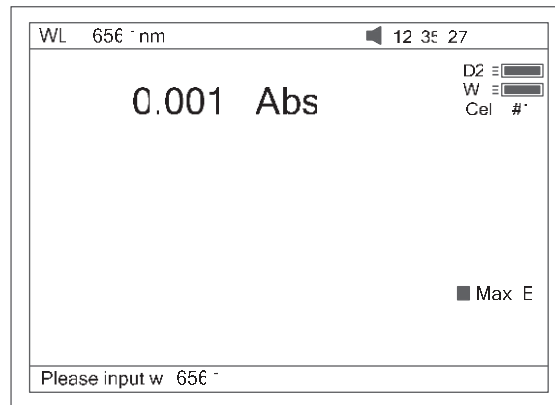


Fig 10

- Pulse **ENTER** para cambiar la λ de 656.1nm a 450.0nm y a continuación ajuste el blanco; tras el ajuste la pantalla aparecerá como la Fig 11.

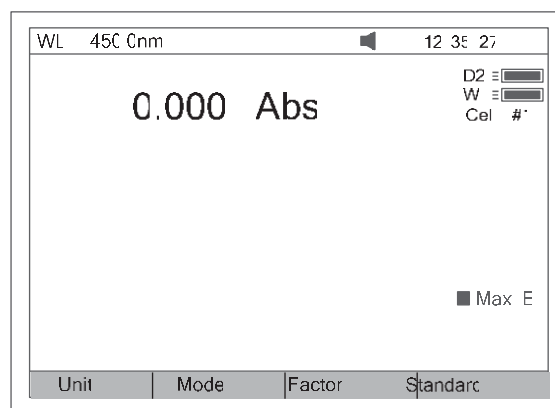


Fig 11

Abra o borre datos o una curva (por ejemplo haga una prueba de “barrido de longitud de onda”).

Pulse la opción 3 en la Fig.6 y vaya a “barrido de longitud de onda”. Después de pulsar **OPEN**, el primer archivo en memoria (ABC.wav) aparecerá en las líneas inferiores de la pantalla, como se muestra en la Fig 12. Pulse Λ o V para desplegar los archivos almacenados en la memoria. Entonces si

1. Se pulsa **ENTER**, el archivo seleccionado se abrirá y se mostrará en pantalla (vea la Fig 13).

Notas: 1.El archivo seleccionado debe ser del tipo “barrido de longitud de onda”, de lo contrario aparecerá “error tipo de archivo...” a la derecha de la línea superior.

2.Cada medición se corresponde con un tipo de archivo; vea la tabla 1 en la página 10.

2. Si se pulsa la tecla **CLEAR** el archivo seleccionado se borrará si se responde “Yes”.

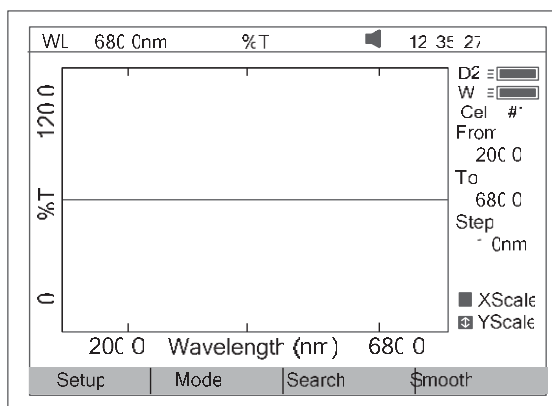


Fig 12

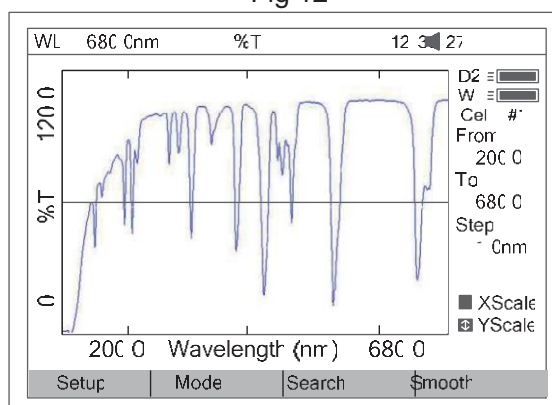


Fig 13

Tabla 1

Test	Tipo archivo
Curva cuantitativa	***.fit
Resultado test cuantitativo	***.qua
Barrido de LO	***.wav
Cinética	***.kin
ADN/Proteína	***.dna
LO Múltiple	***.mul
Validez de LO	***.wlv
Validez exactitud	***.phv

Guardar datos o curva: Ejemplo: Guardar curva en “Barrido de LO (long. onda)”

- Pulse la Tecla **SAVE** en la Fig 13 para guardar la curva.
- Nombre la curva con el teclado alfanumérico (Fig 14) y pulse **ENTER** para confirmar.

Notas(1) Pulse continuamente las teclas alfanuméricas para desplazar los caracteres y Λ ó \vee para cambiar de mayúscula a minúscula. La tabla 2 muestra todos los caracteres incorporados.

(2) Si el nombre ya existe en la memoria, aparecerá el aviso “nombre duplicado, está seguro?” “Yes” para sobrescribir y “No” para salir.

(3) La longitud del nombre del archivo debe ser menor de 4 caracteres.

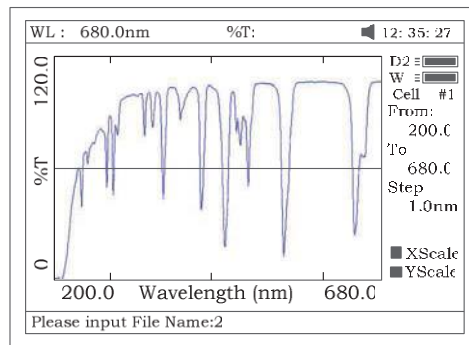


Fig 14

Tabla 2

tecla	representa	tecla	representa	tecla	representa
0	0,+,-,*,/,	1	1,#,?,:,	2	2,A,B,C,=
3	3,D,E,F,%	4	4,G,H,I,^	5	5,J,K,L,`
6	6,M,N,O,a	7	7,P,Q,R,S,	8	8,T,U,V,´
9	9,W,X,Y,Z	+/-/.	-.,,		

Imprimir reporte (por ejemplo: imprimir un reporte en “Modo Básico”, Fig 16)

Pulse la tecla **PRINT** para imprimir el reporte (curva o datos que haya abierto o resultantes de una medición, Fig 16).

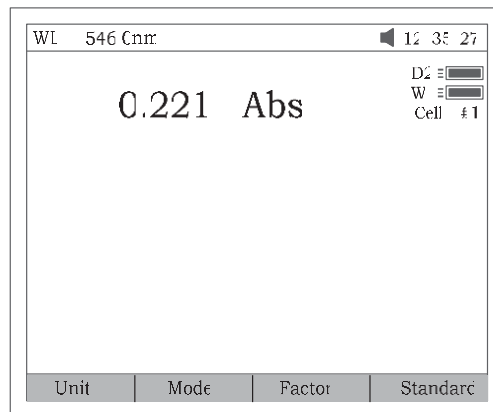


Fig 15

Basic Mode Test Report

Wavelength: 546.0nm
 Result: 0.221 Abs
 Date and Time: 25-06-2003 13:55:53

Fig 16

Antes de la medición

- Prepare una solución de referencia (blanco) llenando a la mitad una cubeta limpia (o tubo de ensayo) con agua destilada o desionizada u otro solvente. Limpie la cubeta con un papel suave y elimine huellas digitales y gotas de líquido.

- Coloque la cubeta del blanco en el portacubetas lineal de 4 celdas, en la posición más cercana a Ud. Empuje el portacubetas de forma tal que la cubeta quede en la trayectoria del haz de luz (empuje la varilla hacia adentro). Cierre la tapa.

Análisis de muestras

Hacemos referencia a varios métodos de ensayo para satisfacer los requerimientos de diferentes usuarios.

Modo Básico

Coloque la cubeta del blanco en la trayectoria del haz de luz. En el menú principal (Fig 6), seleccione **1** para entrar al “Modo Básico”. Después del ajuste automático del blanco la pantalla será como la Fig 17 (si está instalado el cambiador automático) o como la Fig 18 (si no está instalado) y el instrumento esperará por el operador. **ESC** para salir.

Nota: Si el cambiador automático no está instalado “cell #1” y “Max E” desaparecerán en la Fig17.

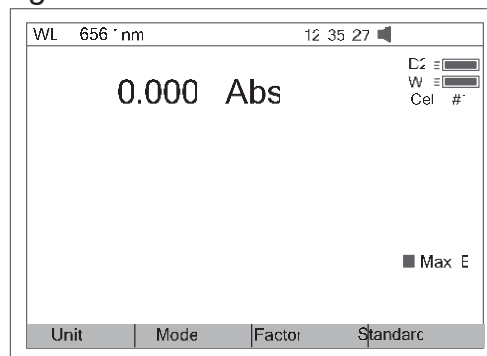


Fig17

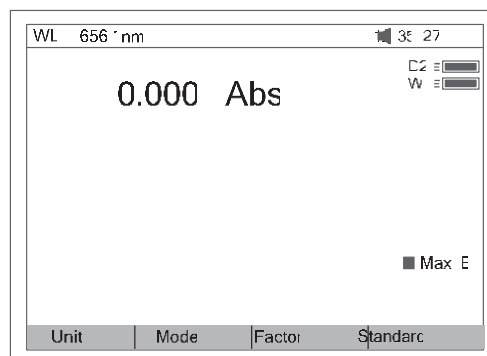


Fig18

Medición

Puede seleccionar tres modos (T%, Abs, Conc / factor) pulsando **F2**.

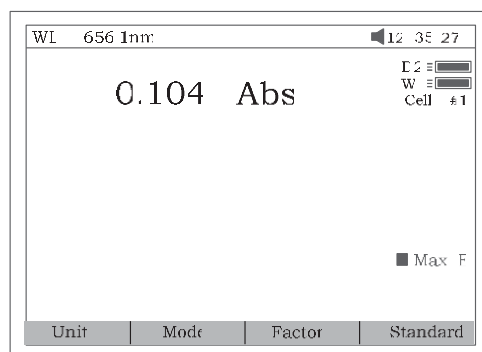


Fig 19

1. Modo Abs

Coloque la cubeta del blanco en la trayectoria del haz de luz. Pulse **F2** para seleccionar el modo Abs. Pulse **0Abs/100%T** para el ajuste del blanco y entonces tome la lectura (Fig 19).

2. Modo T%

Misma operación del modo Abs pero seleccionando el modo T%.

3. Modo Conc/Factor

Pulse F1 para seleccionar una unidad de concentración (Fig 20). Si ninguna unidad es adecuada para su ensayo, seleccione "Other", pulse **ENTER** e introduzca una nueva unidad mediante el teclado alfanumérico (Fig 21).

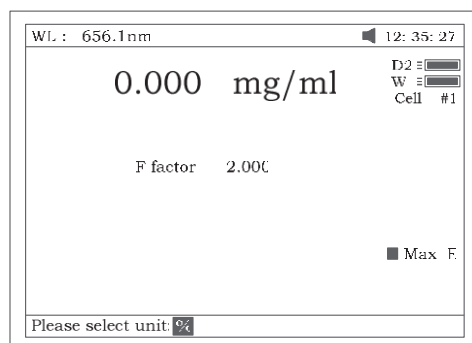


Fig 20

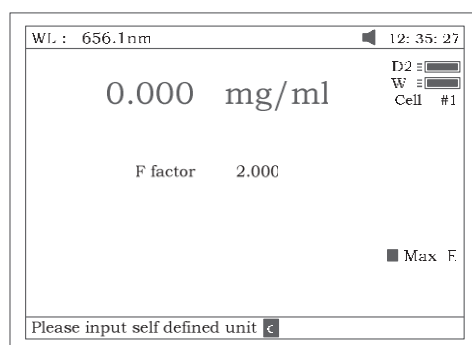


Fig 21

4. Coloque la cubeta del blanco en la trayectoria del haz de luz y pulse **Abs/100%T** para el ajuste del blanco. Tiene dos opciones:

4.1 Pulse **F3** para introducir el valor conocido de F (Fig 22). Coloque la muestra en la trayectoria del haz de luz y tome la lectura de concentración.

4.2 Coloque una muestra de concentración conocida en la trayectoria del haz de luz. Pulse F4 para introducir el valor de concentración conocida (Fig 23). Coloque la muestra en la trayectoria del haz de luz y tome la lectura de concentración.

Notas:1. Puede seleccionar la LO en cualquier momento pulsando **GOTO λ** . Después de la selección el instrumento siempre ajusta el blanco automáticamente.

2. Si el valor de F es mayor de 9999, aparecerá en pantalla el mensaje “out of range” (fuera de rango).

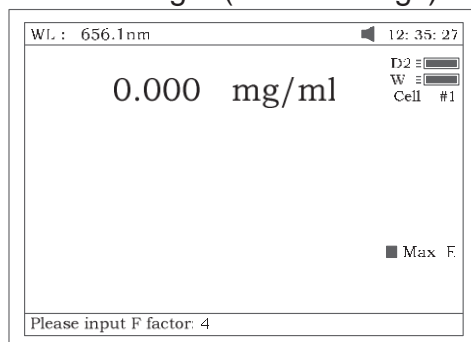


Fig 22

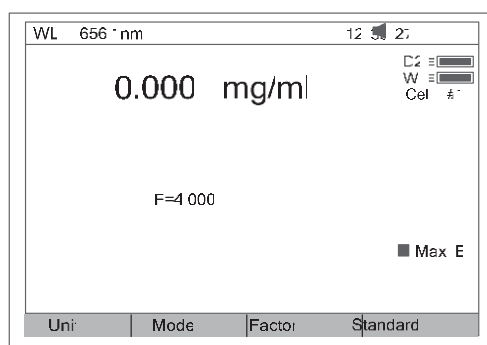


Fig 23

Imprimir reporte de la medición

Pulse **PRINT** para imprimir los resultados (Fig 24).

Basic Mode Test Report

```
Wavelength: 546.0nm
Result:      0.221 Abs
Date and Time: 25-06-2003 13:55:53
```

Fig 24

Quantitativo

Pulse 2 en el menú principal para el ensayo “Cuantitativo” (Fig 25).

Pulse ESC para salir.

Nota: Si el cambiador automático no está instalado “cell #1” desaparecerá en la Fig 25.

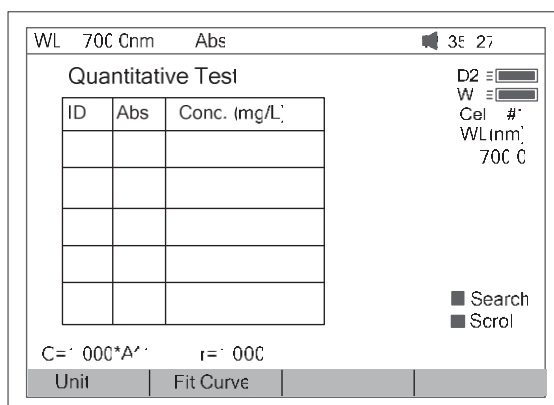


Fig 25

Operación

1. Pulse **F1** para seleccionar la unidad de concentración (Fig 26).

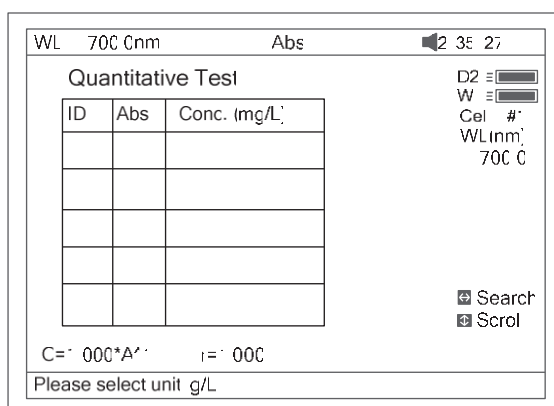


Fig 26

2. Pulse **GOTO λ** para seleccionar el método de corrección e introducir el valor de longitud de onda. Hay tres métodos de corrección: LO simple, iso-absorbancia y 3 puntos (Fig 27).
Nota: Vea el Apéndice B para el método de corrección.

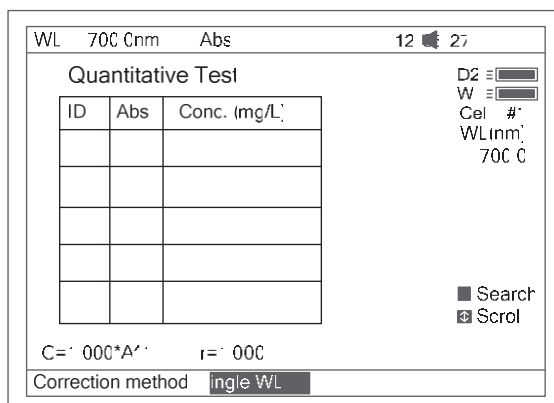


Fig 27

3. Pulse **F2** en la Fig 25 para seleccionar otras opciones. Vea la Fig 28.

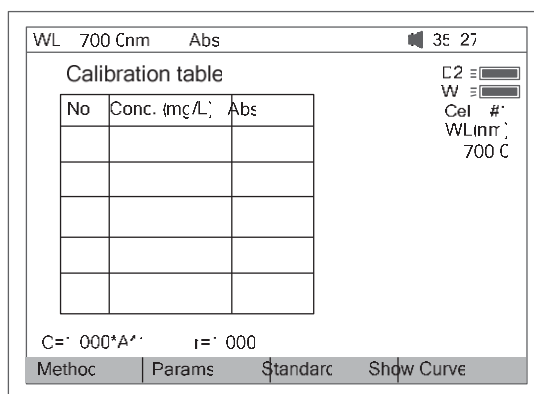


Fig 28

3.1 Pulse **F1** en la Fig 28 para seleccionar el método de ajuste. Hay 4 métodos: lineal, lineal a través del cero, cuadrado y cúbico.

3.2 Pulse **F2** en la Fig 28 para entrar directamente una curva estándar conocida (Fig 29).

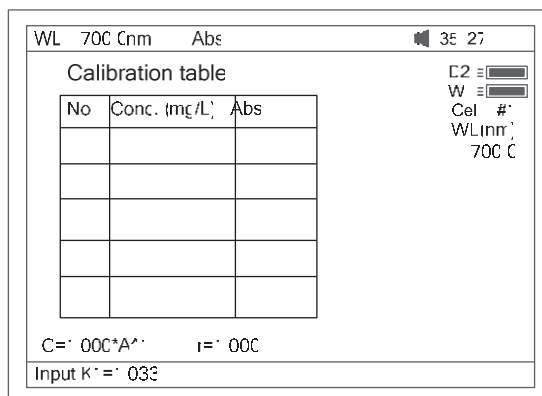


Fig 29

Las constantes a introducir dependen del método de ajuste seleccionado. La siguiente tabla muestra esa relación:

Método de ajuste	Ecuación de ajuste	Constantes
linear fit through zero	$C=K1hA$	$K1, r^*$
Lineal	$C=K0+K1hA$	$K0, K1, r^*$
Cuadrado	$C=K0+K1hA+K2hA^2$	$K0, K1, K2$
Cúbico	$C=K0+K1hA+K2hA^2+K3hA^3$	$K0, K1, K2, K3$

* r : coeficientes de regresión, por defecto=1

3.3 Pulse **F3** en la Fig 28 para establecer una curva estándar mediante la medición de un grupo de muestras estándar. Vea la Fig 30.

3.3.1 Introduzca los valores de concentración estándar de las muestras mediante el teclado numérico seguido de **ENTER**. Pulse Δ o V para modificar los datos introducidos (Fig 31). Pulse **ESC** para finalizar la entrada y salir (Fig 32).

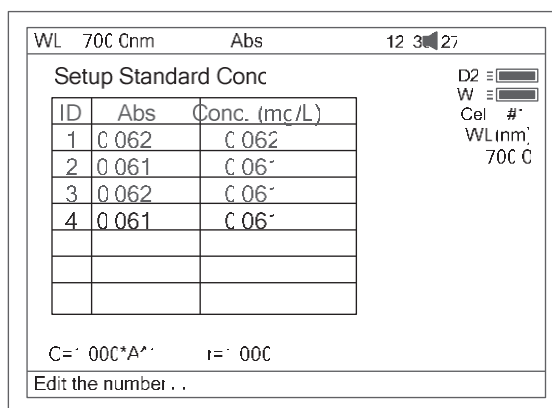


Fig 30

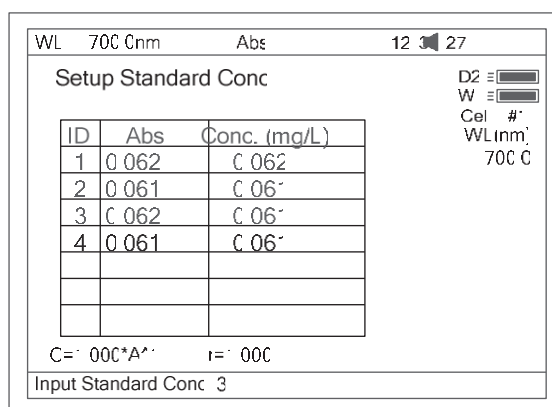


Fig 31

3.3.2 Coloque la cubeta del blanco en la trayectoria del haz de luz, pulse **0Abs/%100T**, el instrumento saltará a la LO y ajustará el blanco. Vea la Fig 32.

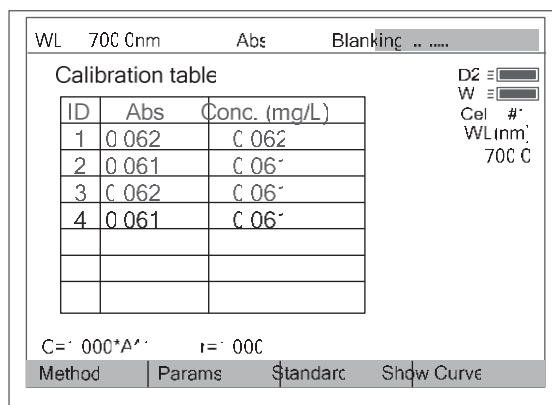


Fig 32

3.3.3 Coloque la cubeta de la primera muestra de concentración conocida en la trayectoria del haz de luz. Pulse la tecla **START/STOP** para obtener los valores de la curva estándar uno por uno (Fig 33).

3.3.4 Pulse **F4** para dibujar la curva. Puede conseguir una curva diferente pulsando **F1** para seleccionar otro método de ajuste.

Vea las Fig 34 – Fig 37.

Para ajustes lineales, “r” representa el coeficiente de regression lineal. r=1 representa el mejor ajuste. Usualmente “r” está muy cerca de 1.

Nota: Si hay pocas muestras estándar, no es adecuado el ajuste cuadrado, ni el cúbico, especialmente.

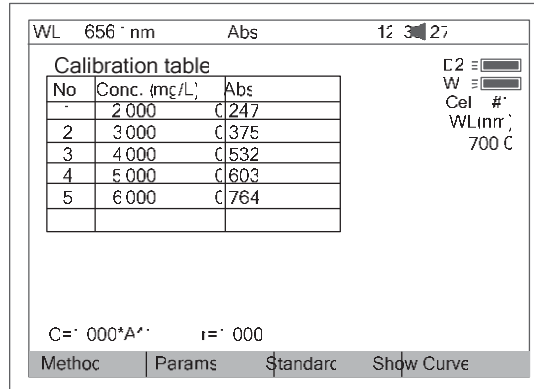


Fig 33

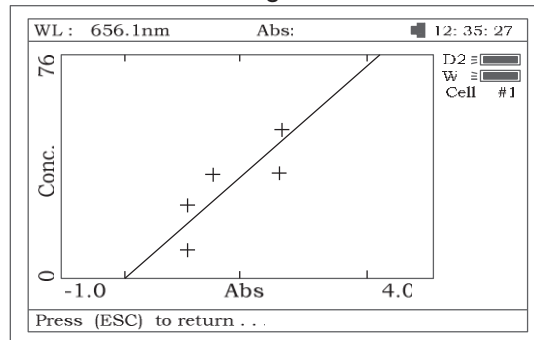


Fig 34 Ajuste lineal a través del cero

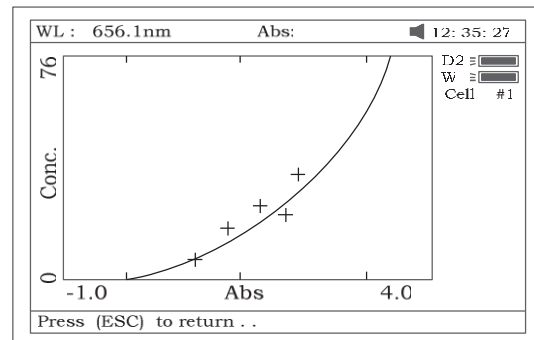


Fig 35 Ajuste cuadrado

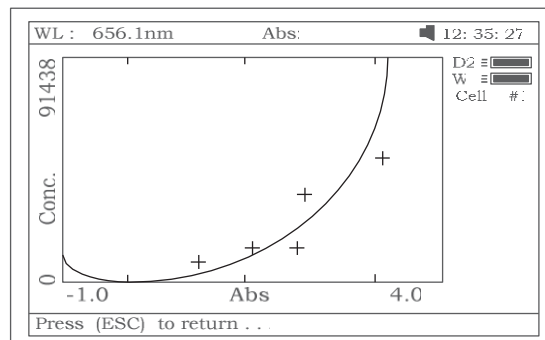


Fig 36 Ajuste cúbico

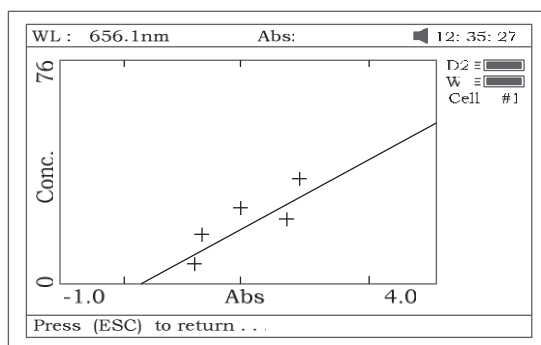


Fig 37 Ajuste lineal

3.3.5 Pulse **SAVE** para guardar la calibración si es necesario.

3.3.6 Pulse **ESC** para salir.

4. Ensayo cuantitativo

Antes del ensayo se debe obtener la curva estándar. Hay tres formas de obtenerla (a, b y c).

- Curva estándar integrada y guardada en el instrumento.
En la Fig 33 pulse **OPEN** y después \wedge o V para seleccionar el archivo del tipo *****.fit**. Por último pulse **ENTER** para confirmar.
- Curva estándar conocida, que no está guardada en el instrumento.
Vea See 3.2. En la Fig 28 entre directamente una curva estándar conocida.
- Use las muestras estándar para el ensayo. Primero debe establecerse la curva estándar usando el método mostrado en 3.3.
Nota: Todos los resultados de la muestra deben tomarse en la pantalla (Fig 25).

4.1 Coloque la cubeta del blanco en la trayectoria del haz de luz y pulse **0Abs/100%T** para ajustar el blanco.

4.2 Coloque la cubeta de la muestra en la trayectoria del haz de luz, pulse **START/STOP**, los resultados se mostrarán en pantalla (Fig 38).

Fig 38: Pantalla de resultados de un ensayo cuantitativo. Muestra un cuadro de datos con las siguientes columnas: ID, Abs, Conc. (mc/L). Los datos son:

ID	Abs	Conc. (mc/L)
1	0.062	0.062
2	0.061	0.061
3	0.062	0.062
4	0.061	0.061

La interfaz de usuario muestra: 'WL 700 Cnm', 'Abs', '3E 27', 'Quantitative Test', 'D2', 'W', 'Cell #1', 'WLnm', '700 C', 'Search', 'Scrol', 'C = 0.000 * A', 'r = 0.000', 'Unit', 'Fit Curve'.

Fig 38

4.3 Si hay más de una muestra, repita el paso 4.2 para las muestras siguientes.

4.4 Pulse **SAVE** para guardar los resultados y parámetros.

Imprimir reporte de la medición

Pulse **PRINT** para imprimir los resultados (Fig 39).

```

Quantitative Test Report

File Name:
Date and Time: 25-06-2003 13:54:32

No. 546.0nm-Abs (off) C (ug/L)
1 0.002 0.002 1.000
2 0.002 0.002 1.000
3 0.002 0.002 1.000

Absorbance: 0.0027  = 1.000
    
```

Fig 39

Barrido de longitud de onda (LO)

Pulse 3 en el menú principal realizar el barrido de LO (“WL Scan”) (Fig 40). **ESC** para salir.

Para abrir una curva almacenada pulse **OPEN** y seleccione la curva (.wav).

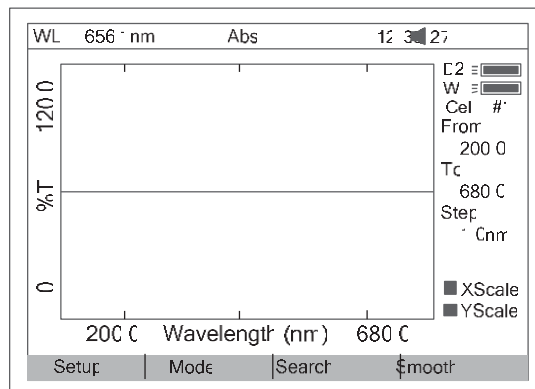


Fig 40

Barrido de la muestra

1. Pulse **F1** para la configuración; entre la LO inicial y final, pulsando el teclado numérico (Fig 41). Nota: El barrido se hace desde la LO alta a la LO baja. Despliegue y seleccione el paso y la velocidad de barrido pulsando Δ o ∇ .

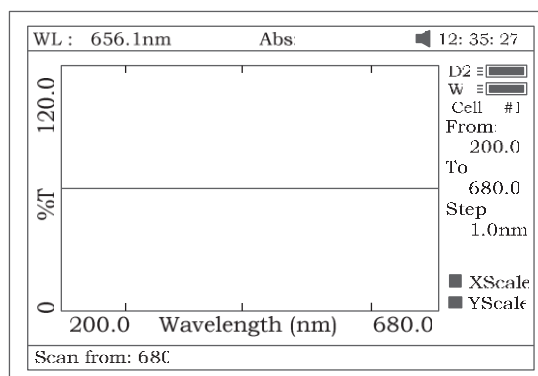


Fig 41

Nota: Puede seleccionar para el paso 0.1nm, 0.2nm, 0.5nm, 1nm , 2nm

y 5nm. Para la velocidad seleccione "ALTA", "MEDIA" o "BAJA".
 En barrido de reconocimiento sugerimos 5nm, ALTA. En un barrido detallado sugerimos 0.5nm, ALTA.

2. Pulse **F2** para seleccionar el modo, "Abs", "%T" o "E" (Fig 42).

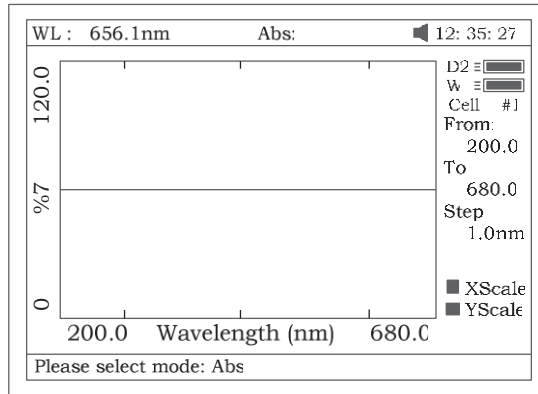


Fig 42

3. Coloque la cubeta del blanco en la trayectoria del haz de luz, pulse **0Abs/100%T** para hacer el barrido de la línea base (Fig 43). Pulse **ESC** para detener el barrido.

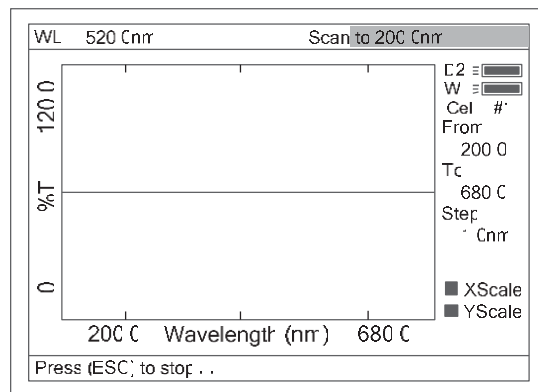


Fig 43

4. Arrastre la cubeta de la muestra hasta la trayectoria del haz de luz, pulse **START/STOP** para escanear la muestra (Fig 44), **ESC** para detener. Cuando termina el barrido el zumbador suena 3 veces (Fig 45).

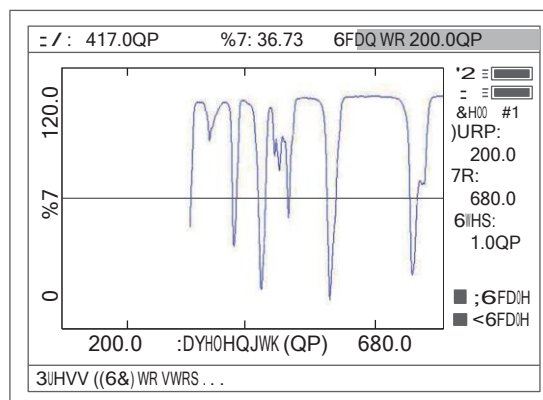


Fig 44

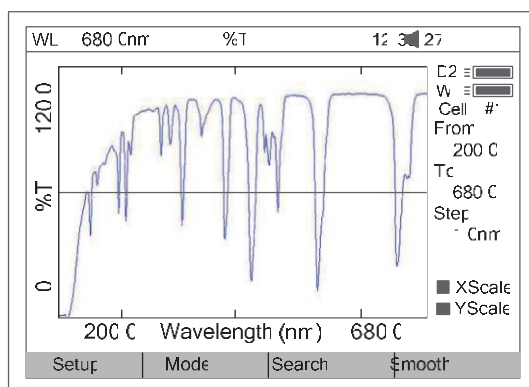


Fig 45

- 5 Si desea cambiar la escala, pulse < o > para cambiar la escala “x” (Fig 46), introduzca los límites superior e inferior pulsando el teclado numérico. Para cambiar la escala “y” pulse Δ o ∇ . Después de estos cambios el instrumento redibujará la curva (Fig 47).

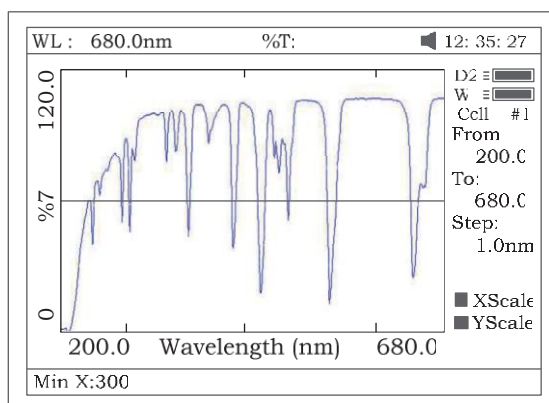


Fig46

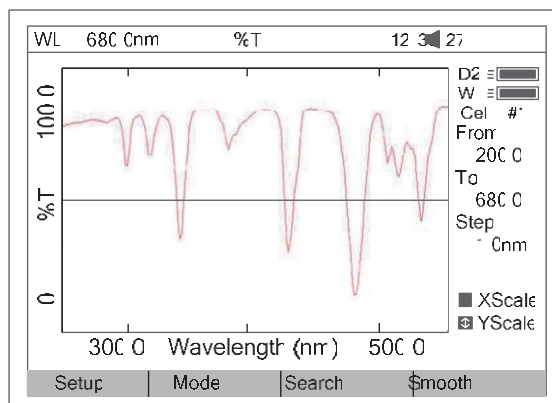


Fig 47

- 6 Pulse **F3** para buscar el valor Abs/%T del barrido. Hay dos formas de buscar (Fig 48).

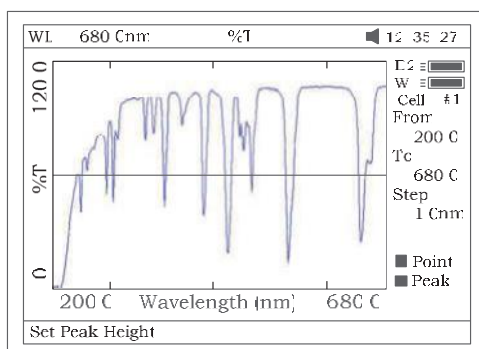


Fig 48

- a) *Pico a pico; pulse **F1** para fijar la “altura del pico” e introduzca el valor pulsando el teclado numérico (Fig 49). Pulse **Λ** para buscar el pico de izquierda a derecha y **V** para buscar de derecha a izquierda. El valor de cada pico encontrado se mostrará en pantalla, uno a la vez (Fig 50).*

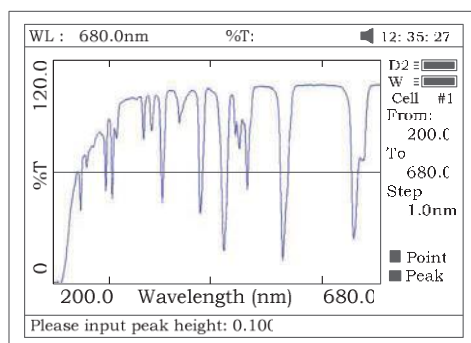


Fig 49

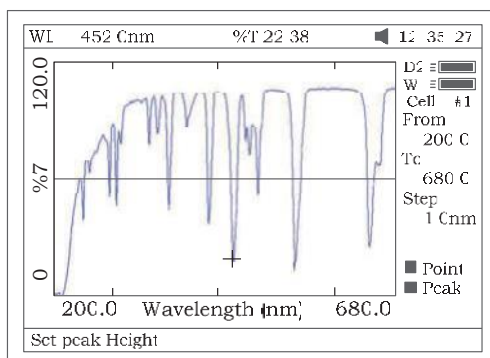


Fig 50

- b) *Punto a punto; pulse **>** para buscar el punto de izquierda a derecha y **<** para buscar de derecha a izquierda. El intervalo del paso de búsqueda es el mismo que el paso de barrido. El valor de cada punto encontrado se mostrará en pantalla.*

Guardar la curva

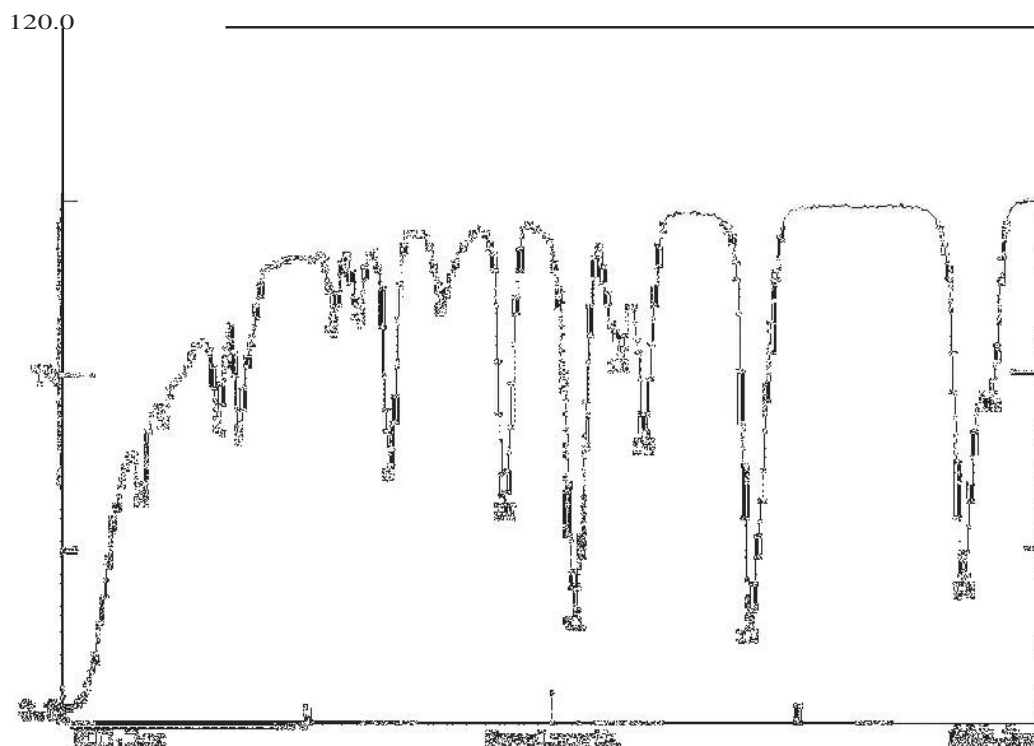
Pulse **SAVE** para guardar la curva. Nota: **Open/Save** requiere mostrar la primera página del barrido (Fig. 47). Pulse **ESC** durante la búsqueda para regresar a la página requerida.

Imprimir reporte del ensayo

Pulse **PRINT** para imprimir la curva abierta o escaneada (Fig 51). Se imprime siempre en la Fig 45. El reporte incluye el listado de picos, donde se indica el número del pico, su longitud de onda, Abs y T%.

Wavelength Scan Test Report

File Name:
Date and Time: 15-06-2003 13:47:54
Scan From: 680.0nm
Scan To: 200.0nm
Scan Step: 1.0nm
Peak Height: 0.030Abs



Cinética

Pulse 4 en el menú principal para “Cinética” (Fig 52). **ESC** para salir. Para abrir un resultado previo de “Cinética”, pulse **OPEN** y seleccione el resultado almacenado previamente (.kin).

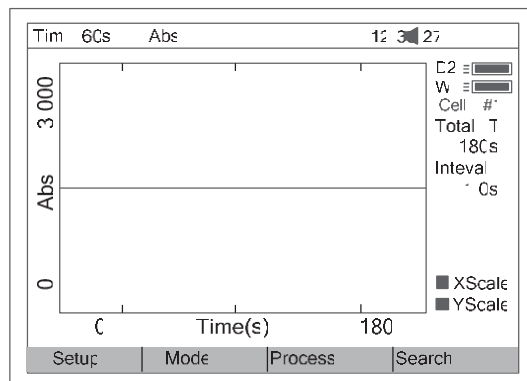


Fig 52

Ensayo

1. Pulse **F1** para fijar “Tiempo total”, “Tiempo de retraso”, “Intervalo de tiempo” e introduzca los valores pulsando el teclado numérico (Fig 53).

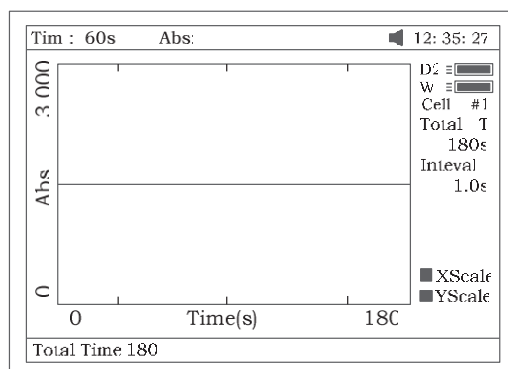


Fig 53

2. Seleccione el modo (“Abs” o “%T”) pulsando **F2** (Fig 54).

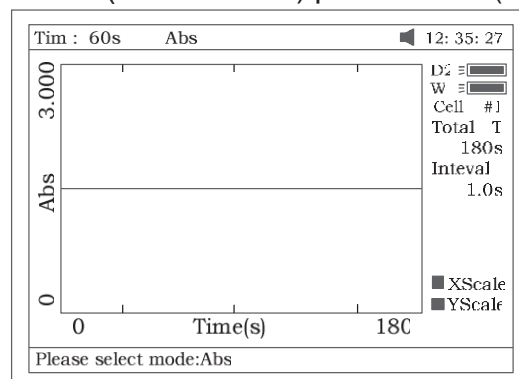


Fig 54

3. Fije la LO pulsando **GOTO λ**. Coloque la cubeta del blanco en la trayectoria del haz de luz, pulse **0Abs/100%T** para ajustar el blanco.
4. Coloque la cubeta de la muestra en la trayectoria del haz de luz, pulse **START/STOP** para escanear la muestra. Después del tiempo de

retraso, el zumbador sonará 3 veces y se iniciará el tiempo de barrido. Al finalizar dicho tiempo, el zumbador otra vez sonará 3 veces (Fig 55).

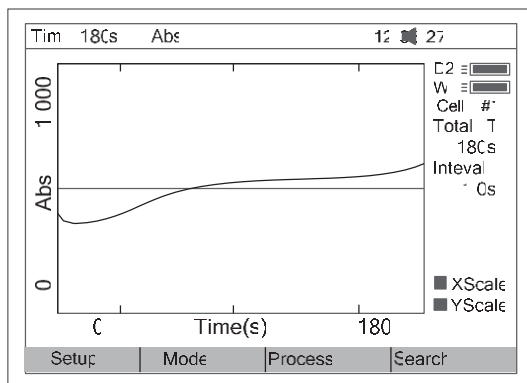


Fig 55

5. Pulse **F3** para procesar los datos e introduzca “Tiempo de inicio”, “Tiempo final” y “Factor” (Fig 56); el valor de I.U. será calculado y mostrado (Fig 57). La línea recta promedio entre el “Tiempo de inicio” y el “Tiempo final” será calculada. El gradiente de esta línea da la velocidad de cambio de $\Delta A/\text{min}$.

Nota: I.U.= Factor x $\Delta A/\text{min}$

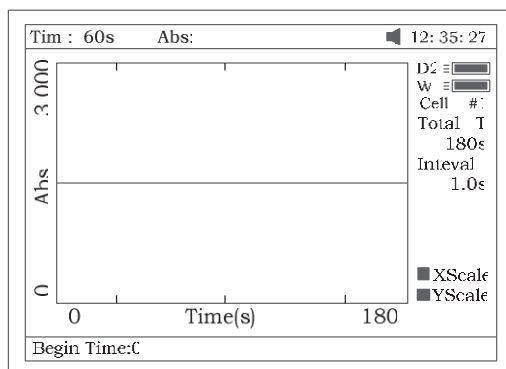


Fig 56

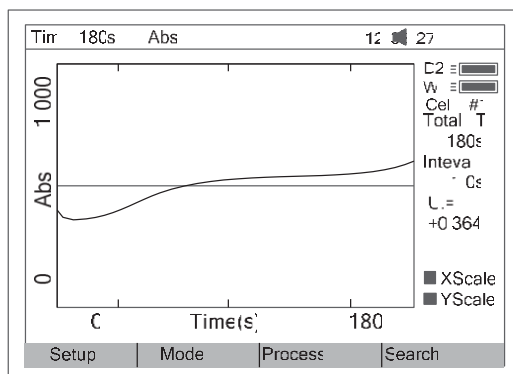


Fig 57

6. Si desea cambiar la escala, refiérase al paso 5 de "Barrido de LO".
7. Pulse **F4** para buscar el valor de Abs/%T en relación al eje del tiempo. Busque punto a punto pulsando <o >. Refiérase al paso 6 de "Barrido de LO".

Guardar la curva

Pulse la tecla **SAVE** para guardar la curva. Nota: **Open/Save** requiere visualizar la primera página de Cinética (Fig. 55). Pulse **ESC** durante la búsqueda para regresar a la página requerida.

Imprimir reporte

Pulse **PRINT** para imprimir la curva abierta o barrida (Fig 58).

```
          Kinetics Test Report  
  
File Name:      Q1.kin  
Date and Time:  26-06-2003 08:20:11  
Total Time:     180s  
Time Interval:  1.0s  
I.U.:          +0.000      From 0s to 1s
```

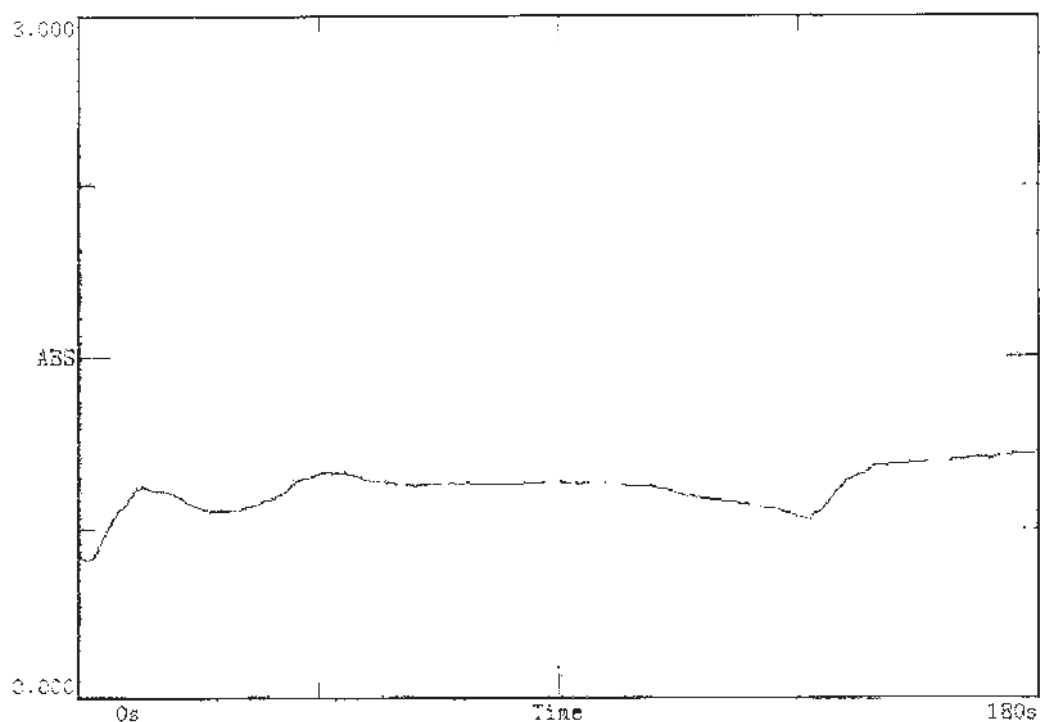


Fig 58

ADN/Proteína

Pulse **5** en el menú principal para el ensayo “ADN/Proteína” (Fig 59).
ESC para salir. Nota: Para el algoritmo del ensayo vea el Apéndice A.

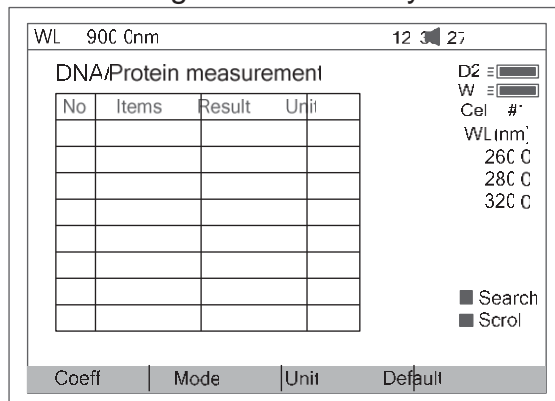


Fig 59

Para ver resultados previos de ADN, pulse **OPEN** y seleccione uno de los resultados almacenados (. dna).

Ensayo

1. Si desea usar un algoritmo más simple o diferente, puede introducir sus propios valores para f1-f4. Pulse **F1** para fijar f1-f4. Introduzca el valor pulsando el teclado numérico (Fig 61).

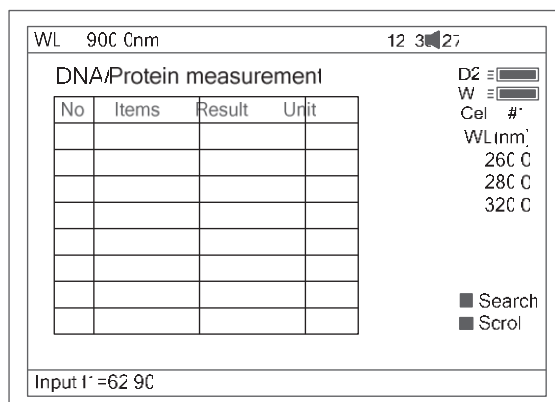


Fig 60

2. Pulse **F2** para seleccionar el modo de ensayo. “Diferencia de Absorbancia 1” es para ensayos a LO de 260nm, 280nm y 320nm (opcional), y “Diferencia de Absorbancia 2” es para ensayos a LO de 260nm, 280nm y 320nm (opcional, Fig 61). Seleccione entonces con/sin referencia. Si seleccionó con referencia (no), la ref. A será “0” (Fig 62).

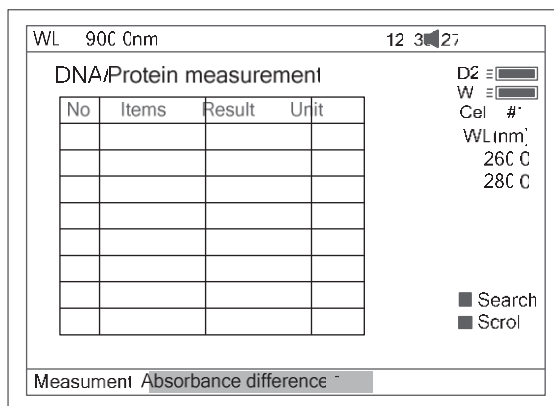


Fig 61

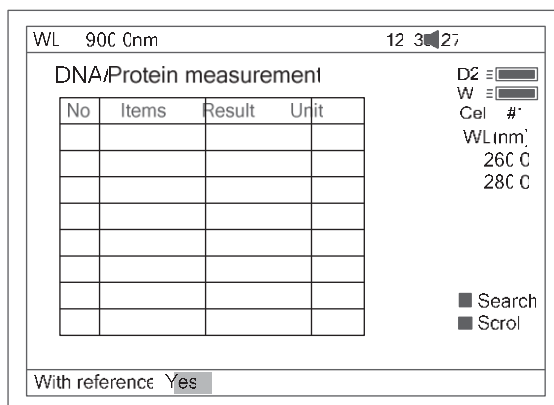


Fig 62

3. Pulse **F3** para seleccionar la unidad de concentración (Fig 63).

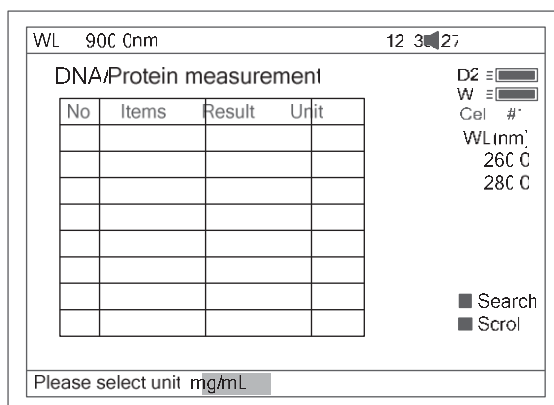


Fig 63

4. Coloque la cubeta del blanco en la trayectoria del haz de luz y pulse **0Abs/100%T** para el ajuste del blanco.
5. Arrastre la cubeta de la muestra hasta la trayectoria del haz de luz, pulse **START/STOP** para medir la muestra. El resultado se mostrará en pantalla (Fig 64).

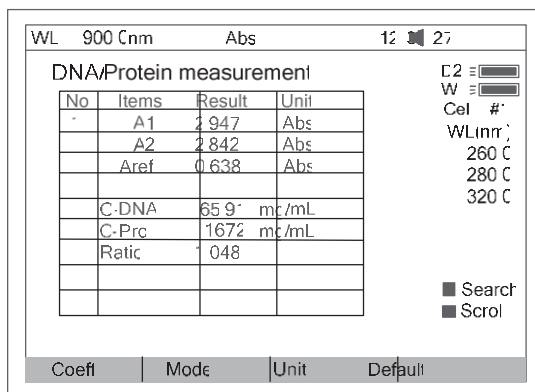


Fig 64

- Si hay más de una muestra, repita el paso 5 para la próxima muestra.
- Pulse < o > para buscar. Introduzca el número de la muestra (Fig 65), el resultado se mostrará en pantalla. Pulse \wedge o \vee para desplegar los resultados uno a uno.

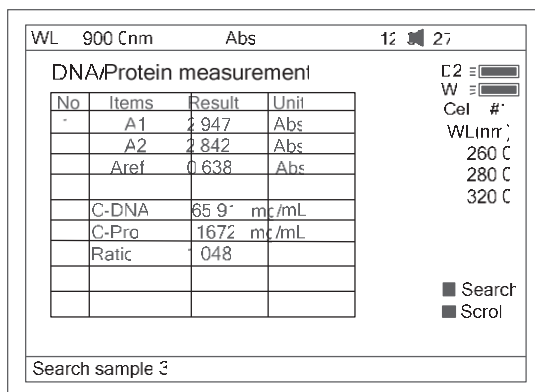


Fig 65

Recordar el valor predeterminado

Pulse **F4** para recordar el valor predeterminado de f1-f4.

Guardar datos

Pulse **SAVE** para guardar los datos.

Imprimir reporte

Pulse **PRINT** para imprimir el resultado del ensayo (Fig 66).

DNA / Protein Test Report

File Name:

Date and Time: 26-06-2003 09:16:33

No	260.0nm	280.0nm	320.0nm	C-DNA	C-Pro	Ratio
1	0.226	0.212	0.102	3.825	76.60	1.127
2	0.226	0.213	0.102	3.803	79.32	1.113

Unit:ug/mL

Fig 66

Longitud de onda múltiple

Pulse **6** en el menú principal para “Multi WL” (Fig 67). **ESC** para salir.

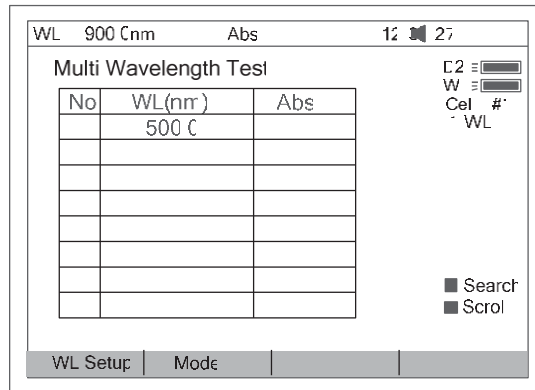


Fig 67

Para ver resultados previos de Multi Wavelength (LO múltiple), pulse **OPEN** y seleccione uno de los resultados almacenados (.mul).

Ensayo

1. Pulse **F1** para configurar un grupo de LO para el ensayo, usando el teclado numérico y a continuación **ENTER**. Pulse \wedge o \vee para modificar los datos introducidos (Fig. 68). Pulse **ESC** para finalizar la configuración y salir.

Nota: Se recomienda introducir primero la mayor LO.

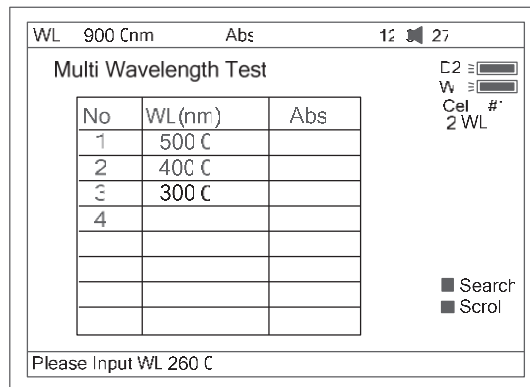


Fig 68

2. Pulse **F2** para seleccionar el modo (Fig 69).

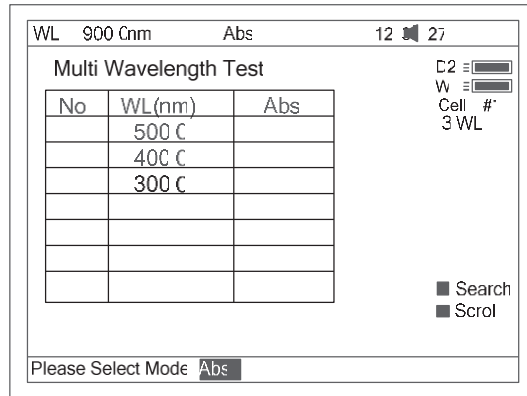


Fig69

- Coloque la cubeta del blanco en la trayectoria del haz de luz y pulse **0Abs/100%T** para ajustar el blanco.
- Arrastre la cubeta de la muestra hasta la trayectoria del haz de luz, pulse **START/STOP** para medir la muestra. Los resultados se mostrarán en pantalla (Fig 70).

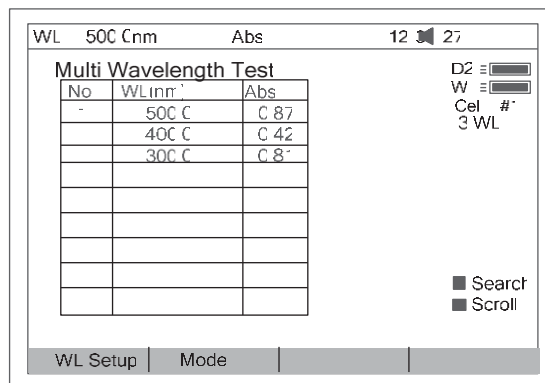


Fig 70

- Si hay más de una muestra, repita el paso 4 para la próxima muestra.
Nota: Cuando finaliza el ensayo, la LO irá al primer valor.
- Pulse < o > para buscar. Introduzca el número de la muestra, el resultado se mostrará en pantalla. Pulse \wedge o \vee para desplegar los resultados uno a uno.

Guardar datos

Pulse **SAVE** para guardar los datos.

Imprimir reporte

Pulse **PRINT** para imprimir los resultados de los ensayos (Fig 71).

Multi-Wavelength Test Report

File Name: M1.mul
 Date and Time: 26-06-2003 09:25:16

No	300.0nm	400.0nm	500.0nm
1	0.107	0.074	0.054
2	0.106	0.073	0.055
3	0.106	0.072	0.054

Unit: Abs

Fig 71

Utilidad

Pulse 7 en el menú principal para “Utilidad” (Fig 72). **ESC** para salir.

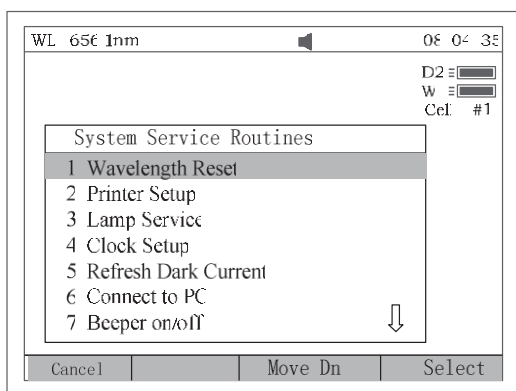


Fig 72

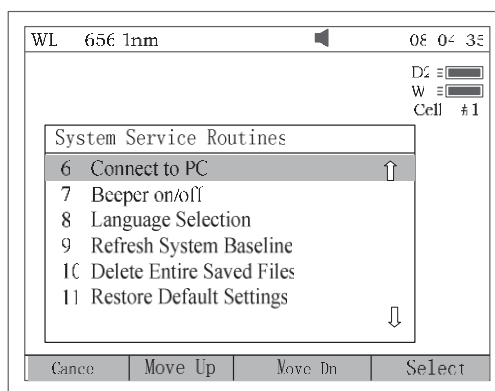


Fig 72A

Reajuste de la LO

Pulse 1 para reajustar la longitud de onda (Fig73).

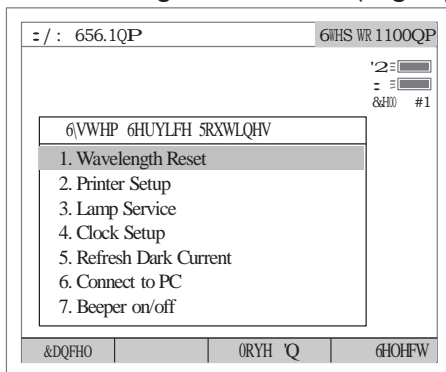


Fig 73

Impresora

Pulse 2 para configurar la impresora (Fig 74). **ESC** para salir.

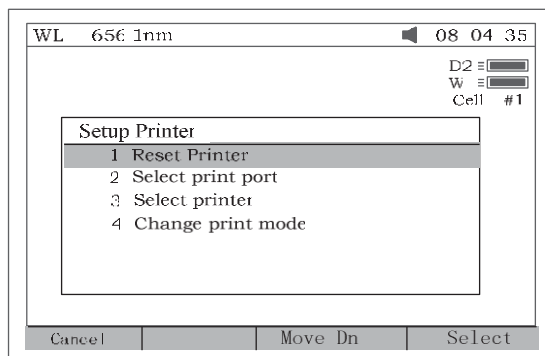


Fig 74

1. Pulse 1 en la Fig 74 para reajustar la impresora.
2. Pulse 2 en la Fig 74 para seleccionar el puerto (LPT or Comm., Fig 75).

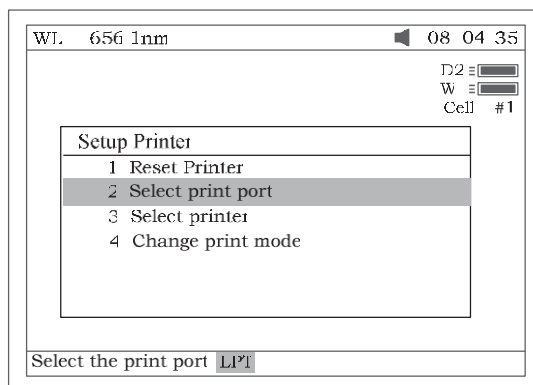


Fig 75

3. Pulse 3 en la Fig 74 para seleccionar la impresora (HP PCL (1 cartucho de color), PCL (modo negro), Epson ESC/P o Epson/P2, Fig 76).

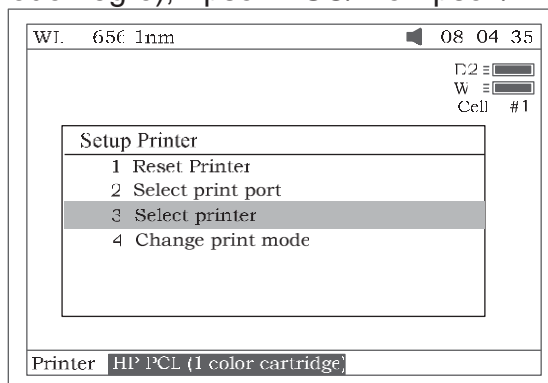


Fig 76

4. Pulse 4 en la Fig 74 para cambiar el modo de impresión. La primera vez que se pulsa 4, un pequeño ícono se mostrará en la línea superior de la pantalla (Fig 77). En este modo, cuando se pulsa Print, todos los items en pantalla se imprimirán. La segunda vez que se pulsa 4, el pequeño ícono desaparecerá. En este modo, cuando se pulsa Print, se imprimirá un reporte del ensayo.

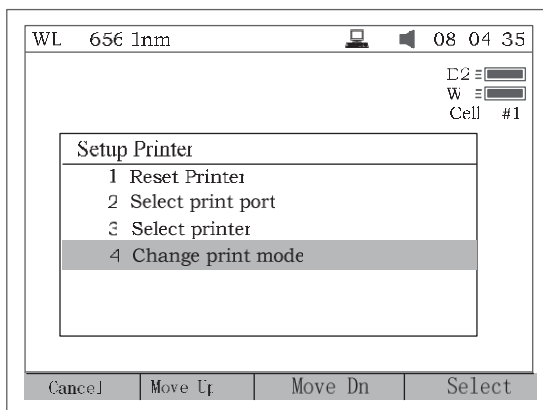


Fig77

Lámpara

Pulse 3 para el ajuste de la lámpara (Fig 78). **ESC** para salir.

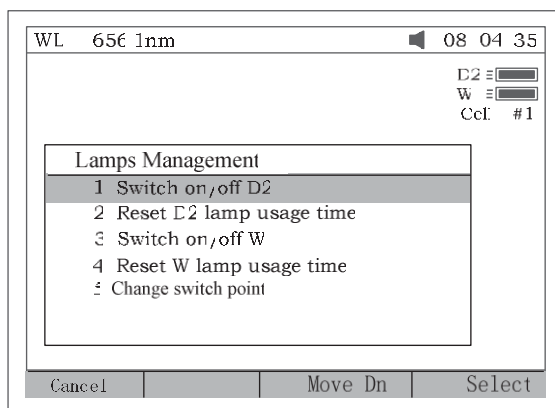


Fig 78

1. Pulse 1 en la Fig 78 para cambiar on/off la lámpara D2. (Fig 79). Preste atención al ícono D2 en la parte superior derecha de la pantalla.

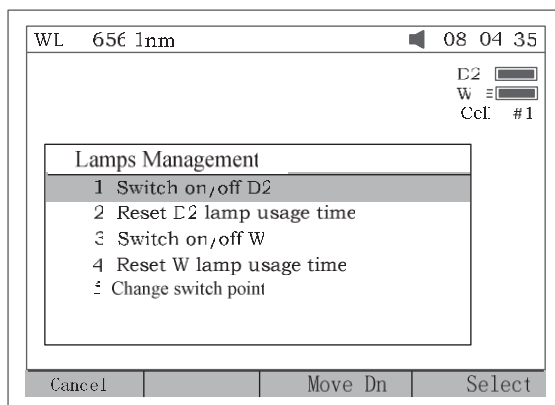


Fig 79

2. Pulse 2 en la Fig 78 para reajustar el tiempo de uso de D2 (Fig 80). Pulse Λ o ∇ para seleccionar "Yes" o "No" y después **ENTER**.

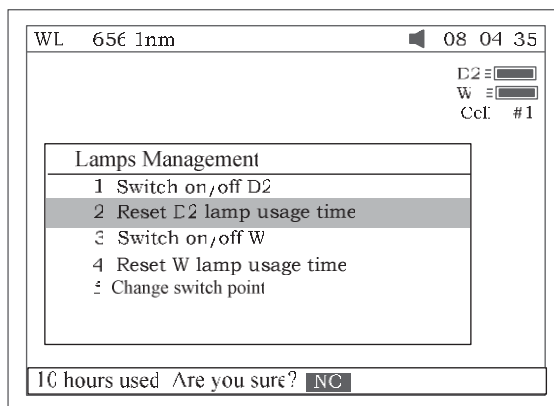


Fig 80

3. Pulse 3 en la Fig 78 para cambiar on/off la lámpara W. La indicación está también en la parte superior derecha de la pantalla (Fig 81).

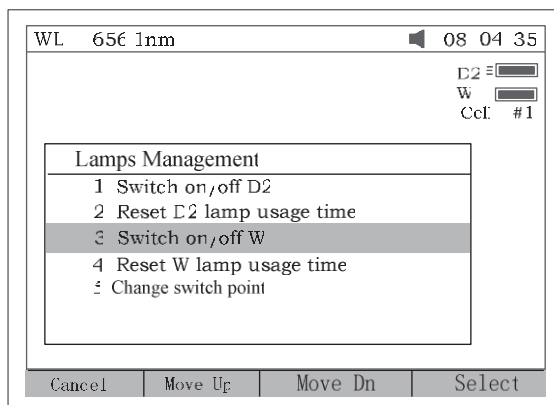


Fig 81

4. Pulse 4 en la Fig 78 para reajustar el tiempo de uso de W (Fig 82). Pulse Δ o V para seleccionar "Yes" o "No" y después **ENTER**.

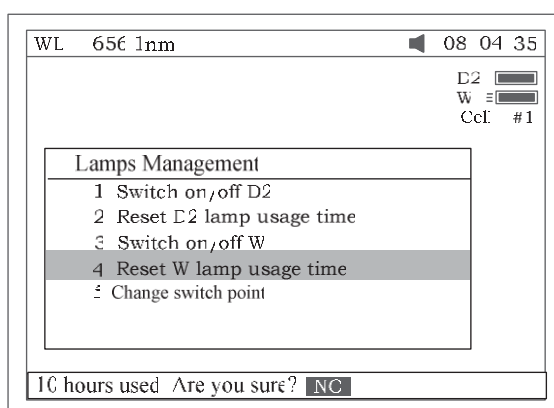
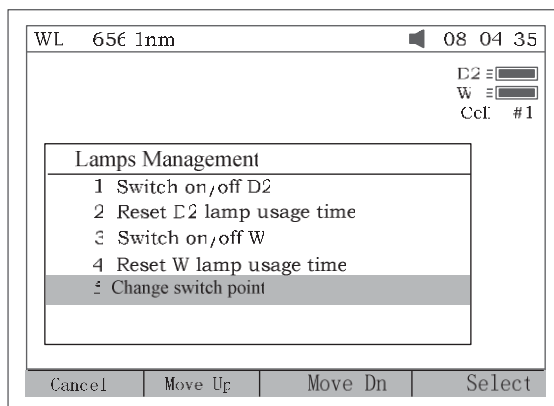


Fig 82

5. Pulse 5 en la Fig 78 para fijar el punto de cambio de la longitud de onda de las lámparas D2 y W (Fig 83).



83

Reloj

Pulse 4 en la Fig 72 para ajustar el modo display y modificar el reloj (Fig 84). **ESC** para salir.

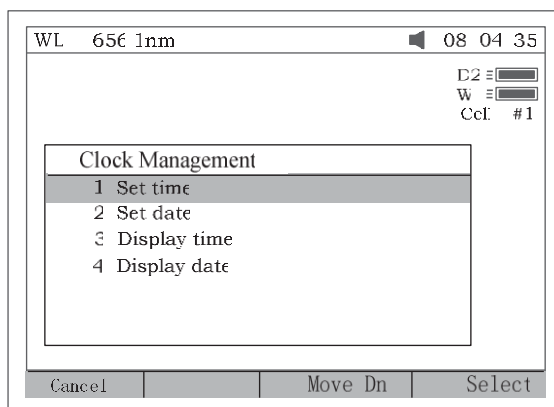


Fig 84

1. Pulse 1 en la Fig 84 para modificar la hora pulsando el teclado numérico (Fig 85).

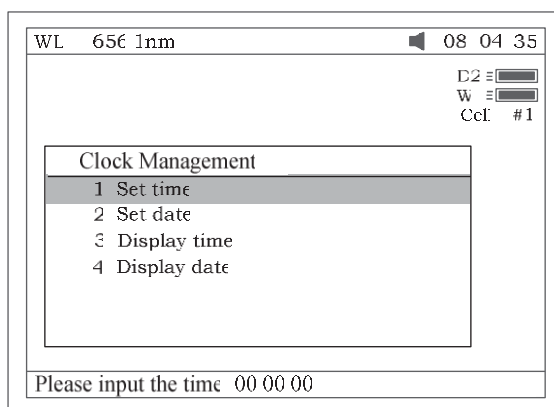


Fig 85

2. Pulse 2 en la Fig 84 para modificar la fecha pulsando el teclado numérico.
3. Pulse 3 en la Fig 84 para ajustar como aparece la hora en la esquina superior derecha de la pantalla (Fig 86).

4. Pulse 4 en la Fig 84 para ajustar como aparece la hora en la esquina superior derecha de la pantalla

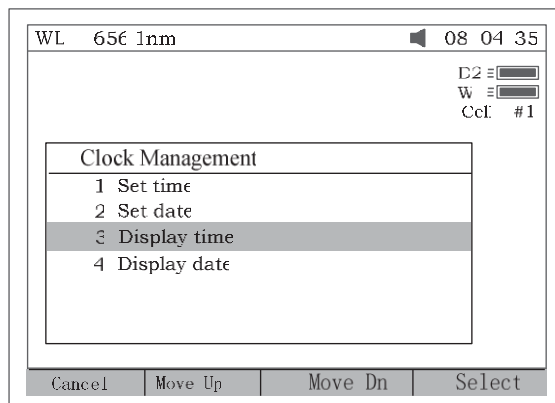


Fig 86

Corriente oscura

Pulse 5 en la Fig 72 para obtener la corriente oscura (Fig 87).

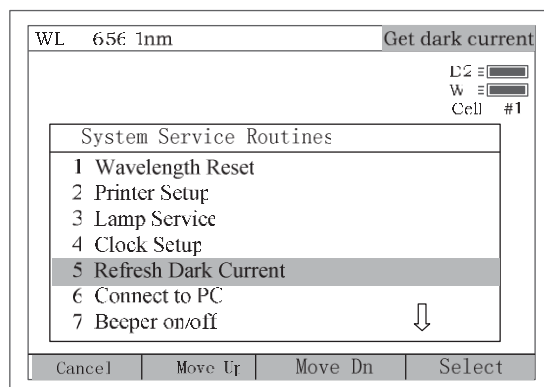


Fig 87

Conectar a la PC

Pulse 6 en la Fig 72 para conectar a la PC (Fig 88), si el instrumento está en línea con la PC. La pantalla se muestra como en la Fig 89. Pulse **ESC** para salir.

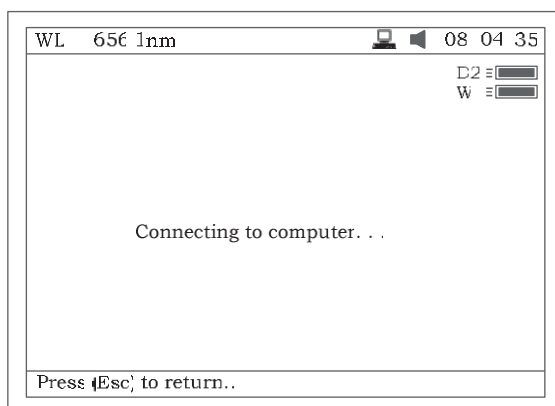


Fig 88

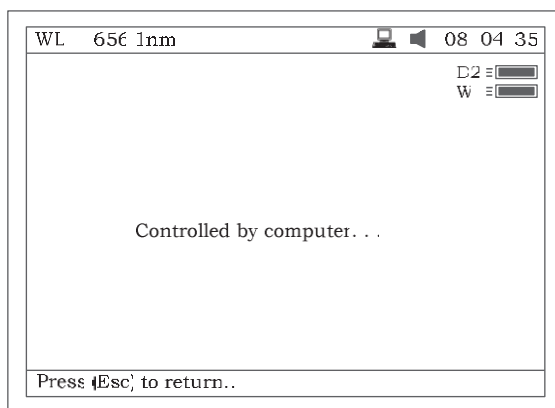


Fig 89

Zumbador on/off

Pulse 7 en la Fig 72 para encender/apagar el zumbador.

Selección del idioma

Pulse 8 en Fig 72 para seleccionar el idioma; inglés o chino son las opciones (Fig 90).

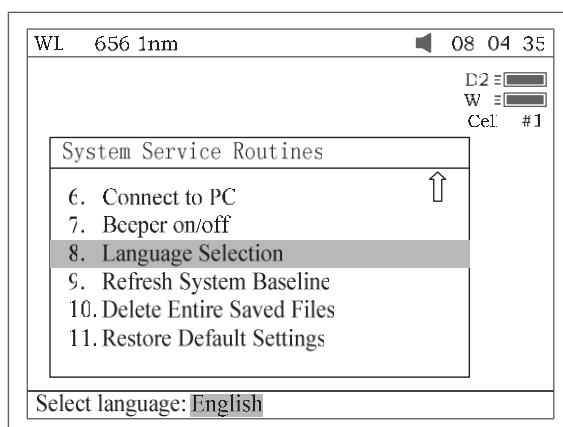


Fig 90

Actualizar línea base del sistema

Pulse 9 en la Fig 72 para actualizar la línea base del sistema.

Borrar todos los archivos guardados

Mueva el cursor hasta el No 10 del menú en la Fig 72 y pulse **ENTER**; todos los archivos guardados se borrarán. Antes de borrar, se requerirá una doble confirmación (Fig 91).

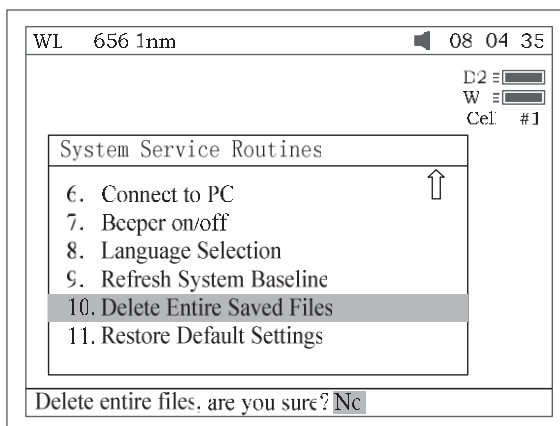


Fig 91

Restaurar los valores por defecto

Mueva el cursor hasta el No. 11 del menú en la Fig 72 y pulse **ENTER** para restaurar los parámetros por defecto.(Fig 92)

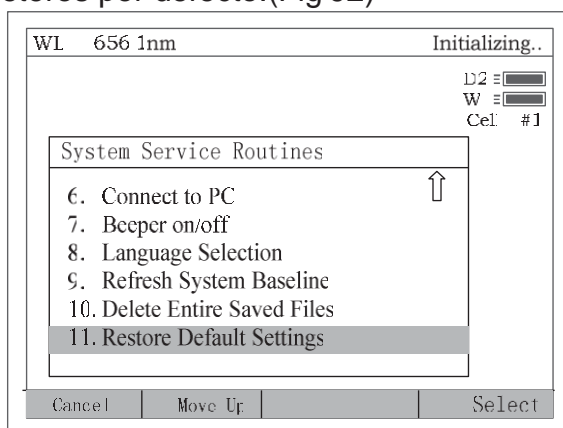


Fig 92

Apéndice A

Algoritmo del ensayo ADN/Proteína

Nombre del ensayo	Método	Longitud de onda	Cálculos	Parámetros	Unidades mostradas
MEDICIÓN DE ADN					
ADN/Proteína Concentración y pureza del ADN	Diferencia de Absorbancia (260, 280)	$A_1=A_{260nm}$ $A_2=A_{280nm}$ $A_{ref}=A_{320nm}$ (optional)	Concentración de ADN: $(A_1-A_{ref})f_1-(A_2-A_{ref})f_2$ Concentración de proteína: $(A_2-A_{ref})f_3-(A_1-A_{ref})f_4$	$f_1=62.9$ $f_2=36.0$ $f_3=1552$ $f_4=757.3$	ADN: $\mu\text{g/ml}$ Proteína: $\mu\text{g/ml}$
	Diferencia de Absorbancia (260, 230)	$A_1=A_{260nm}$ $A_2=A_{230nm}$ $A_{ref}=A_{320nm}$ (opcional)	DNA concentration: $(A_1-A_{ref})f_1-(A_2-A_{ref})f_2$ Protein concentration $(A_2-A_{ref})f_3-(A_1-A_{ref})f_4$	$f_1=49.1$ $f_2=3.48$ $f_3=183$ $f_4=75.8$	
	Razón de Absorbancia	$A_1=A_{260nm}$ $A_2=A_{280nm}$ o A_{230nm} $A_{ref}=A_{320nm}$ (opcional)	Razón= $\frac{A_1-A_{ref}}{A_2-A_{ref}}$	Ninguno	Sin unidades

Apéndice B

Puede usarse una serie de técnicas de corrección para eliminar o reducir los errores de interferencia. En general, si la fuente de error es conocida y es consistente de muestra en muestra, el error puede ser eliminado. Por otra parte, si la fuente es desconocida y varía de muestra en muestra, el error puede reducirse pero no eliminarse. Las técnicas de corrección pueden siempre requerir datos de al menos dos longitudes de onda. Las técnicas de corrección más sofisticadas requieren datos de múltiples longitudes de onda o espectrales.

A.1 Isoabsorbancia

Cuando está presente un componente conocido que interfiere, con un espectro conocido, el error introducido por este componente para el analito blanco, a la longitud de onda analítica, puede eliminarse seleccionando una longitud de onda de referencia a la cual el compuesto que interfiere exhibe la misma absorbancia que presenta a la longitud de onda analítica. La absorbancia a esta longitud de onda de referencia se resta a la absorbancia a la longitud de onda analítica, como se muestra en la Fig. A1. La absorbancia residual es la verdadera absorbancia del analito.

Esta técnica es menos confiable cuando los espectros del analito y del interferente son muy similares. Además, puede corregir una interferencia solamente.

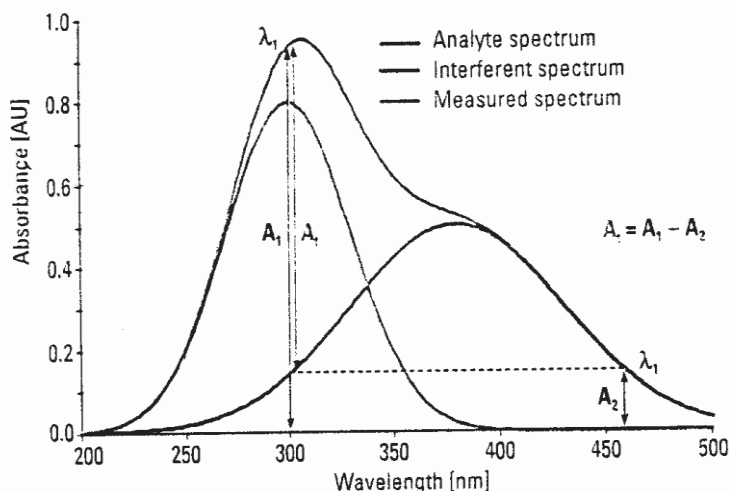


Fig. A.1 Corrección de la isoabsorbancia

A.2 Corrección de tres puntos

La corrección de tres puntos o de Morton-Stubbs usa dos LO de referencia, usualmente aquellas a cada lado de la LO analítica.

La absorbancia de interferencia de fondo a la longitud de onda analítica se estima entonces usando una interpolación lineal (vea la Fig. A2). Este método representa una mejoría con relación a la técnica de referencia de una única LO, porque corrige cualquier absorbancia de fondo que exhiba una relación lineal a la LO. En muchos casos, si el rango de LO es estrecho, habrá una corrección razonable para absorbancia de fondo no lineal, como aquella que resulta de la dispersión de una matriz compleja.

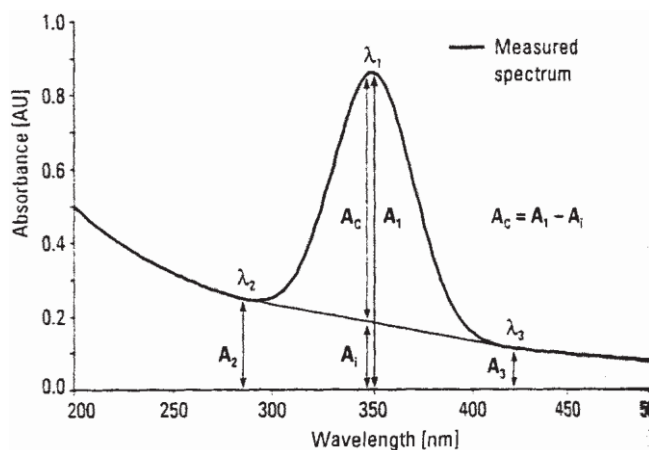


Fig A2

Apéndice C

Mantenimiento Estructura interna

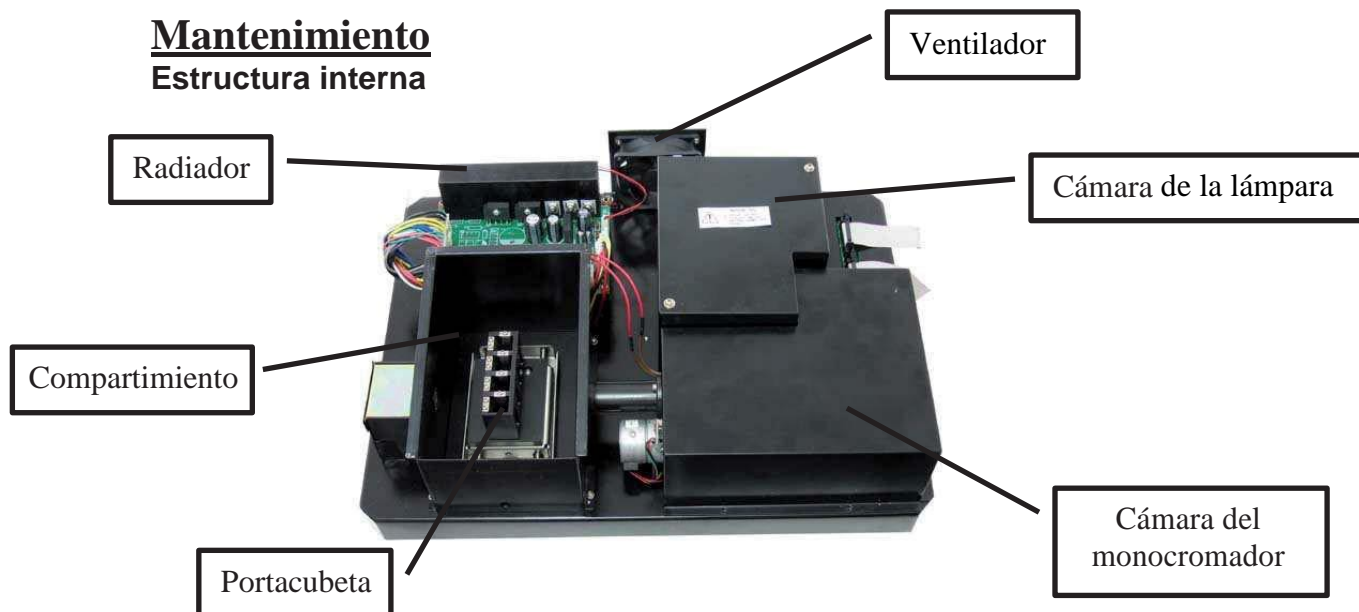


Fig.4-1 Plataforma interior

1. Sustitución de las lámparas

A. Lámpara de Tungsteno-Halógeno

1. Apague y desconecte el instrumento.
2. Retire los 4 tornillos en los lados del espectrofotómetro.
3. Retire la perilla de control del portacubetas desenroscando la varilla en el sentido contrario de las agujas del reloj.
4. Retire cuidadosamente la cubierta del instrumento y colóquela a la derecha del instrumento.

¡ASEGÚRESE DE NO TIRAR EL CABLEADO DEL PANEL!

5. Retire los 2 tornillos de la cámara de la lámpara y quite su cubierta.
(Precaución: La cubierta puede estar CALIENTE; use guantes)
6. Desconecte y retire la lámpara de la base cerámica (el conector negro).
Inserte la nueva lámpara, empujándola tanto como sea posible.

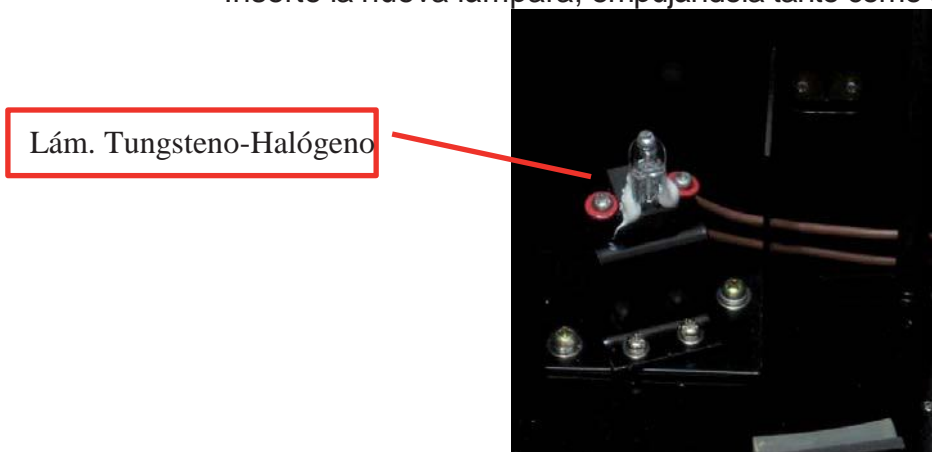


Fig.4-2

PRECAUCIÓN:

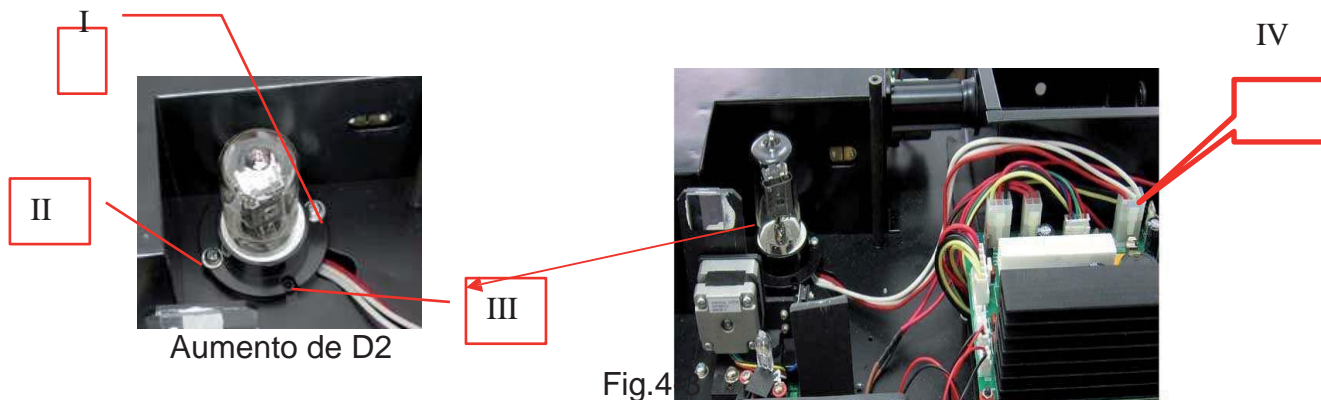
- 1) No manipule la lámpara con los dedos descubiertos. Use un pañuelo o un paño.
- 2) No hay diferencia en la polaridad de las 2 patas de la lámpara de Tungsteno.
7. Encienda el instrumento. Fije la LO a 340 nm, inserte una cubeta vacía y ajuste el blanco. Si la energía es baja, ajuste la lámpara tirándola o empujándola de forma tal que el haz de luz se enfoque en la ranura de entrada del monocromador. Como el enchufe de la lámpara está prealineado, se requerirá algún ajuste, aunque sea mínimo.
8. Apague el instrumento, recubra la cámara de la lámpara y apriete los dos tornillos.
9. Reinstale la cubierta del instrumento posicionando primero el frente de la misma y deslizando la parte trasera sobre la parrilla de atrás. Asegúrese de no apretar los cables en el proceso.
10. Reinstale los 4 tornillos y la perilla de control del portacubetas.

B. Lámpara de deuterio**AVISO: ¡Use gafas de protección UV antes de cambiar la lámpara!**

1. Apague y desconecte el instrumento (**MUY IMPORTANTE: ALTO VOLTAJE**).
2. Retire los 4 tornillos en los lados del espectrofotómetro.
3. Retire la perilla de control del portacubetas desenroscando la varilla en el sentido contrario de las agujas del reloj.
4. Retire cuidadosamente la cubierta del instrumento y colóquela a la derecha del instrumento.

¡ASEGÚRESE DE NO TIRAR EL CABLEADO DEL PANEL!

5. Retire los 2 tornillos de la cámara de la lámpara y quite su cubierta. (**Precaución: La cubierta puede estar CALIENTE; use guantes**)
6. Desconecte el conector de 3 cables tirándolo derecho hacia arriba. Recuerde la dirección del conector blanco (**Fig. IV** en la foto más abajo).
7. Afloje y retire los dos tornillos blancos (**Figs. I y II** en la foto más abajo) de la brida. Saque la lámpara aguantando su brida. (Nota: La **Fig. III** es un tornillo de posicionamiento, no hay necesidad de aflojarlo.)



8. Ponga una nueva lámpara prealineada.

- Asegúrese de que la brida coincide con el tornillo de posicionamiento. Apriete los dos tornillos.
9. Reconecte el conector de 3 cables (asegúrese que la orientación de la conexión es la misma que en el **paso 6**).
 10. Encienda el instrumento. Después de la autocomprobación seleccione 300 nm y pulse ZERO. Verifique que el rayo de luz se enfoca en la ranura de entrada del monocromador. Como la lámpara está prealineada, se requerirá algún ajuste, aunque sea mínimo.
 11. Apague el instrumento, recubra la cámara de la lámpara y apriete los dos tornillos.
 12. Reinstale la cubierta del instrumento posicionando primero el frente de la misma y deslizando la parte trasera sobre la parrilla de atrás. Asegúrese de no apretar los cables en el proceso.
 13. Reinstale los 4 tornillos y la perilla de control del portacubetas.

2. Sustitución de la batería

Muchos datos deben guardarse en la RAM, por lo que es necesario el uso de una batería en la placa principal. Cuando la misma se haya agotado deberá sustituirla como se indica a continuación.

- 1) Apague y desconecte el instrumento (**MUY IMPORTANTE: ALTO VOLTAJE**).
- 2) Retire los 13 tornillos blancos de la placa del fondo y retire la placa (Fig.4-4).



Fig. 4-4 Fondo

- 3) Quite la batería vieja y ponga la nueva (Fig.4-5)

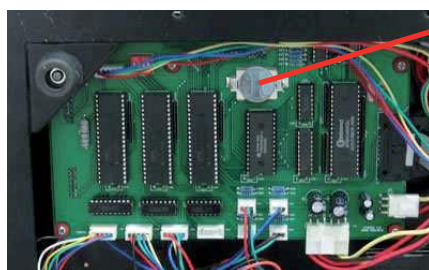


Fig. 4-5 Placa principal

- 4) Recubra la placa del fondo y apriete los 13 tornillos.

3. Solución de problemas

PROBLEMA	Posible causa	Solución
Instrumento no operativo después de encenderlo	El cable de alimentación no está conectado al tomacorriente	Enchufe el cable
	Tomacorriente no energizado	Cambie de tomacorriente
	Ajuste de voltaje erróneo	Cambie el ajuste al voltaje local o llame al servicio técnico autorizado
	Fusible interno fundido o componente elect. defectuoso	Llame al servicio técnico autorizado
Instrumento no puede ajustar el 100%T (0.000A)	Haz de luz bloqueado: portacubetas no alineado	Revise el portacubetas
	Lámpara vieja o defectuosa	Cambie la lámpara
	Lámpara no alineada	Vea instrucciones para cambiar la lámpara
	Componente electrónico defectuoso	Llame al servicio técnico autorizado
Instrumento con deriva y ruido	Poco tiempo de calentamiento	Caliente al menos 20 min
	Uso de cubetas de vidrio en el rango ultravioleta	Use cubetas de cuarzo
	Cambio significativo de temperatura Lámpara no ajustada adecuadamente	Compruebe que la lámpara se instaló adecuadamente. Vea instrucciones para cambiar la lámpara
	Lámpara vieja o defectuosa	Cambie la lámpara
	Suministro de energía inestable	Utilice un controlador de voltaje
	Detector defectuoso o sucio o componente elect. defectuoso	Llame al servicio técnico autorizado
Se obtienen lecturas incorrectas	Volumen de muestra insuficiente	Añada más muestra a la cubeta
	Ajuste de LO incorrecto Fallo en el ajuste del blanco (0A/100%T)	Compruebe el procedimiento analítico y el ajuste de LO. Obtenga la corriente oscura y calibre la LO en el menú de utilidad
	Interferencia de vapores generados durante la preparación de la muestra	Prepare la muestra lejos del instrumento. Use ventilación adecuada
	Burbujas o partículas en la solución	Compruebe preparación de muestra y proced. analítico
	Instrumento fuera de calibración electrónica	Llame al servicio técnico autorizado