



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

16
7. Biología
81

INSTRUMENTACION BIOLOGICA

PROGRAMA ANALITICO

I.- Introducción:

Métodos usuales en química biológica. Tipos de técnicas de laboratorio e instrumentos empleados. Tendencias modernas. Enfoque lógico para su estudio y orientaciones para el mismo.

II.- Complementos de electricidad y electrónica.

- 1.- Introducción. Corriente continua. Generador de tensión y su resistencia interna. Medición de corriente y tensión. Error. Mediciones por oposición y comparación. Puente y potenciómetro.
- 2.- Corriente alterna. Magnitudes: tensión de pico, tensión eficaz, valor medio. Sentido físico. Inductores. Capacitores. Resistores. Componentes reales, tipos y características. Transformadores, autotransformadores, "variacs". Especificaciones. Diodos, distintos tipos. Fuentes de alimentación. Filtrado. Regulación. Diodos zener. Válvulas gaseosas.
- 3.- Amplificadores. Circuitos activos y pasivos. Válvulas de vacío. Transistores. Diversos tipos. Transistores de efecto de campo. MOS. Parámetros importantes. Características. Configuraciones de conexión. Ganancia de tensión. Impedancia de entrada y salida. Ventajas e inconvenientes. Aplicaciones. Requerimientos relacionados al problema de electrodos de alta impedancia, p. ej. en potenciales intracelulares.
- 4.- Esquema de amplificadores y su funcionamiento. Acoplamiento entre etapas, CC y CA. Amplificadores diferenciales. Polarización. Amplificador de potencia. Realimentación negativa. Su efecto. Esquema fundamental. Señal de error y de salida.
- 5.- Amplificadores operacionales. Realimentación en el operacional. Configuraciones; conexión inversora, no inversora, integradora, etc. Usos. Ejemplos de aplicación en áreas de interés. Servomecanismos. Variables controlables. Potenciómetro automático. Registradores potenciométricos. Distintos tipos. Especificaciones y características. Componentes principales. Chopper. Velocidad de respuesta. "Overshooting". Ganancia, amortiguamiento. Estabilidad de servomecanismos.

WWD *EE*

Aplicado por Resolución DT 441/79



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

6.- Mediciones de variables de importancia en química biológica. Concepto de transductor. Impedancia del mismo (o generador equivalente) y del sistema de medición. Ruido, clases y fuentes del mismo. Limitaciones que impone en el campo de la medición. Factores que influyen en el mismo. Amplificador operacional diferencial. Relación de rechazo de modo común. Su importancia en mediciones biofísicas, ejemplos. Errores de observación. Instrumentos digitales.

III.- Métodos ópticos.

1.- Espectrofotometría.

Energía radiante, su interacción con la metria y delimitación de zonas de trabajo.

Partes constituyentes de un espectrofotómetro. Fuentes: UV, visible, IR, clases y características de las mismas. Monocromadores: tipos distintos, ventajas y limitaciones de cada uno. Celdas, detectores, propiedades de los elementos constituyentes y de sus materiales. Selección de la unidad conveniente según el trabajo. Simple haz. Doble haz; sistemas de registro de espectros. Balance óptico nulo. Balance electrónico nulo. Comparación entre sistemas.

Parámetros óptimos de espectrofotometría. Ancho de banda observado. Ancho de ranura. Relaciones entre los mismos: resolución. Luz espuria. Su origen y consecuencias según la zona de trabajo. Ruido. Incertidumbre en la medición. Caso de instrumentos limitados por "shot-noise" o por ruido térmico. Velocidad de barrido y de respuesta. Amortiguamiento. Deformación de espectros. Selección de las condiciones óptimas.

Estudio detallado de algunos aparatos típicos y de su mecanismo de funcionamiento. Detalles operativos. Verificación de los equipos: reproducibilidad, exactitud fotométrica, exactitud de la longitud de onda, resolución, cifra de luz espuria, etc.

2.- Fluorimetría.

Fluorescencia, fosforescencia. Sus aplicaciones en química biológica. Teoría, mecanismos de excitación y emisión. Extinción (quenching) intermolecular e intramolecular. Transferencia de energía. Rendimiento cuántico. Fuentes de excitación, sus características y condiciones de trabajo. Cubetas. Filtros ópticos y monocromadores empleados en espectrofotofluorómetros. Fotodetectores utilizables y circuitos asociados. Fluorómetros corregidos (ej. corrección de Parker); diferencias entre espectros de absorción y excitación. Ejemplos de utilización de la técnica para estudios cualitativos estructurales. Depolarización de fluorescencia. Tiempo de vida media. Calibración de instrumentos, en linealidad fotométrica y en longitud de onda. Selección de condiciones óptimas operacionales.

[Handwritten signature]



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

IV.-Métodos potenciométricos

Electrodos de referencia e indicadores de diversos tipos. Requerimientos impuestos por los electrodos al sistema de medición. Principios electrónicos de funcionamiento y características de los potenciómetros actuales. Válvula electrométrica, transistores de efecto de campo y circuitos integrados apropiados.

Acción de los controles sobre las isotermas del instrumento. Punto isopotencial. Ajuste de las isotermas con dos buffers según el equipo disponible. Verificación del sistema de medición.

Error ácido y alcalino. Error de suspensión. Precauciones especiales en sistemas biológicos.

Potencial de unión líquida en los diversos tipos de electrodo. Potencial de asimetría. Resistencia, envejecimiento, blindaje, efecto de la agitación, renovación y demás datos de interés práctico para electrodos de cadenas separadas y combinados.

V.- Detección y medición de radionúclidos.

1.- Radiactividad. Definición y unidades. Leyes de la desintegración radiactiva. Interacción de las radiaciones con la materia. Ionización específica. Detectores basados en la ionización de gases. Colección de iones: colección simple, zona de las cámaras de ionización; colección multiplicativa, zona de los contadores proporcionales y zona de Geiger-Muller. Características y aplicaciones. Equipos asociados a los detectores: fuentes, amplificadores, discriminadores, escalímetros. Equipos de detección. Eficiencia y características.

Radio Cromatógrafos. Partes constituyentes de los mismos. Condiciones de trabajo y su selección.

2.- Espectrometría gamma. Efecto fotoeléctrico, Compton y de formación de pares. Fenómeno de centelleo. Contadores de centelleo. Detectores de estado sólido. Componentes asociados particulares. Atenuadores, discriminadores. Ventana, realización de espectros de radiación gamma. Calibración en energías. Condiciones de trabajo.

3.- Espectrometría beta. Contadores de centelleo líquido. Partes constituyentes de un equipo. Eficiencia. Quenching. Su corrección: métodos del standard interno, de la relación de canales y del standard externo. Parámetros óptimos de trabajo, su selección. Sistemas de corrección automática. Resolución de mezclas de dos isótopos.

J. M. D. *Orl*



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

VI.- Técnicas cromatográficas.

1.- Cromatografía en fase gaseosa. Introducción. Componentes del sistema cromatográfico. Descripción del equipo. Teoría fundamental y principios de funcionamiento.

Eficiencia. Gráfico de Van Deemter. Velocidad óptima.

Teoría y técnica de la columna cromatográfica. Distintos tipos; geometría, soportes, fases líquidas. Columnas capilares.

Detectores: catarómetros, de captura electrónica, de ionización de llama, llama alcalina. Electrómetros.

Parámetros importantes de un cromatograma. Análisis cuantitativo y cualitativo.

Integradores. Programación de temperatura. Introducción de la muestra.

Transformaciones efectuables sobre la misma para posibilitar el análisis. Aplicaciones.

2.- Cromatografía líquida de alta presión. Características y propiedades generales del método. Analogías y diferencias con la cromatografía clásica y la C.G.L. Componentes del sistema y descripción del equipo. Bombas, precolumnas, columnas analíticas, clases de materiales empleados y sus propiedades. Inyectores. Detectores fotométrico, refractométrico, de transporte e ionización, calorimétrico. Formadores de gradientes. Equipos auxiliares.

VII.- Técnicas electroforéticas especiales.

1.- Electroenfoque: principio operativo. Gradiente estable de pH. Su obtención. Anfolitos portadores. Separación de proteínas según su punto isocíonico y determinación de éste. Aparatos de columna. Termostatización. Poder resolutivo. Electroenfoque de convección zonal. Electroenfoque en geles.

2.- Isotacoforesis. Fundamento del método. Separación analítica y preparativa de proteínas, péptidos, nucleótidos, etc. Uso de iones cabeza, cola y espaciadoras. Columnas capilares. Descripción del campo eléctrico y la movilidad iónica a lo largo de las mismas. Detectores térmicos, térmicos diferenciales y fotométricos. Fuentes especiales.

VIII.- Ultracentrifugación.

Corrientes de convección en cabezales de ángulo fijo y oscilantes. Ventajas e inconvenientes. Selección del rotor apropiado.

Gradientes de densidad. Celdas sectoriales. Ultracentrífugas analíticas y preparativas. Sistemas de medición y registro.

Determinación de características de macromoléculas. Métodos basados en la velocidad de sedimentación: límite móvil y zona móvil. Métodos de equilibrio, del estado transitorio e isopícnico. Datos moleculares obtenibles con cada uno. Fundamentación. Constantes accesorias necesarias y su determinación: coeficiente de difusión translacional, radio hidrodinámico.

WJD
RR