

13 Q B
1981
Dupl.

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES
1981

DEPARTAMENTO: Química Biológica.

ASIGNATURA: Instrumentación Biológica.

CARRERA/S: Lic. en Ciencias Químicas- Lic. en Ciencias Biológicas.

ORIENTACION: Química Biológica. PLAN:

CARACTER: OPTATIVA.

DURACION DE LA MATERIA: Cuatrimestral.

HORAS DE CLASE: 252 hs. Teórico-prácticas.

ASIGNATURAS CORRELATIVAS: Física I, II y III - Química Biológica (Lic. Ciencias Químicas)
Física I y II y Química Biológica (Biólogos).

PROGRAMA

I.- Introducción:

Métodos usuales en Química Biológica. Tipo 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 pico, tensión eficaz, valor medio. Sentido físico. Inductores, capacitores, resistores. Componentes reales, tipos y características. Transformadores, autotransformadores, "variaos", 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, por ej. en potenciales intracelulares.

4.- Esquema de amplificadores y su funcionamiento. Acoplamiento entre etapas, CC y CA. Amplificadores diferenciales. Polarización. Amplificadores de potencia. Realimentación negativa. Su efecto. Su 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.

6.- Mediciones variables de importancia en química biológica. Concepto de transductor. Impedancia del mismo (o generador equivalente) y del sistema de medición. Ruidos, 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.

YAL

III.- Métodos ópticos.

1.- Espectrofotometría.

Energía radiante, su interacción con la materia 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 registros de espectros. Balance óptico nulo. Balance electrónico nulo. Comparación entre sistemas.

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

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 isoterms del instrumento. Punto isopotencial. Ajuste de las isoterms 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 electrodos. Potencial de asimetría. Resistencia, envejecimiento, blindaje, efecto de la agitación, renovación y demás datos de interés práctico para electrodos de cadenas separadas y combinadas.

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, zonas 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.

Radiocromatógrafos. Partes constituyentes de los mismos. Condiciones de trabajo y su selección.

2.- Espectrometría gamma. Efecto fotoeléctrico. Compton y deformación 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 de energía. 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.

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 fotométricos, 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. Anfólitos portadores. Separación de proteínas según su punto isoiónico y determinación de éste. Aparatos de columna. Termostatación. 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 espaciadores. 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 oscilante. Ventajas e inconvenientes. Selector 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.

BIBLIOGRAFIA:

- Malmstad N.V., Enke C.G., Toren S.C. Electronics for Scientists. Benjamín.
 Brophy J.J. Electrónica Fundamental Para Científicos. Reverté.
 Bauman, R.P. Absorption spectroscopy. Wiley.

James J.P. and Sternberg R.S. The design of optical spectrometer Chapman & Hall.
 Udenfriend S. Fluorescence assay in Biology and Medicine. Vol I y II. Academic Press.
 White M.E., Argauer R.J. Fluorescence Analysis. A practical approach. Marcel Dekker.
 Linnet N. pH measurements in theory and practice. Radiometer A.S.
 Bate R.G. Determination of pH theory and practice. J. Wiley.
 Caro R. Ciscato V. y Piccini E. Metodología de Radioisótopos en el laboratorio moderno.
 Ed. Panamericana.
 Minter J.B. y Akers L.K. Electrónica Nuclear U.S. Atomic Energy Comision.
 Kobayashi Y and Mandsley D. Biological Applications of Liquid Scintillation Counting.
 Academic Press.
 Mc. Nair H.M. Bonelli E.J. Basic Gas Chromatography. Varian Aerograph.
 Colowick & Maplan, Methods in Enzymology. Vol. 22.
 Haglund H. Isotachophoresis "Science Tools" 17 (1970)
 Mahler H.R. and Cordes E.H. Biological Chemistry. Harper & Row.
 Goodwin T.W. Instrumentation in Biochemistry. Academic Press.
 Reid E. Methodological Developments in Biochemistry. 2 Preparative Techniques. Longmans.
 Schachman N.K. Ultracentrifugation in Biochemistry. Academic Press.

-----ooo000ooo-----

Firma del Profesor: *G. A. Lo Cascio* Firma del Director:
 aclaración de firma: *G. A. Lo Cascio* aclaración de firma:

Fecha: