

A.B
5
1990

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES - FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

DENOMINACION: **Instrumentación Biológica**

DEPARTAMENTO: Química Biológica

CODIGO: 6010

CARRERA/S: Lic. en Ciencias Químicas, Ciencias Biológicas, Doctorado,
Postgrado.

ORIENTACION: Química Biológica

CARACTER: Optativa

DURACION DE LA MATERIA: Cuatrimestral

HORAS DE CLASES: 204 horas teórico-prácticos.

DOCENTE RESPONSABLE: Dr. Guillermo Locascio

DOCENTES COLABORADORES: Lic. Alberto D'Andrea - Lic. Pedro Berlot

ASIGNATURAS CORRELATIVAS: Física I, II y III; Química Biológica I (Lic.
Cs. Químicas); Física I y II; Q. Biológica
(Lic. Ciencias Biológicas).

PROGRAMA

INTRODUCCION

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 ELECTRONICA

1.- Electrónica. Corriente continua. Generador de tensión y su resistencia interna. Medición de corriente y tensión. Error. Mediciones por oposición y comparación. Puente y potenciómetro.

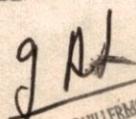
2.- Corriente alterna. Magnitudes: tensión pico, tensión eficaz, valor medio, sentido físico. Inductores. Capacitores. Resistores, componentes reales, tipo y características. Transformadores. Autotransformadores. "Variacs". Especificaciones. Diodos, distintos tipos. Fuentes de alimentación, filtrado, regulación. Diodos zener.

3.- Amplificadores. Circuitos activos y pasivos. Transistores. Diversos tipos. Transistores de efecto de campo. Mos. parámetros importantes. Características, configuradores de conexión. Ganancia de tensión. Impedancia de entrada y salida. Ventajas e inconvenientes. Aplicaciones. Requerimientos relacionados al problema de electrodos de alta impedancia, por ejemplo, en potenciales intracelulares.

4.- Esquema de amplificadores y su funcionamiento. Acoplamiento entre etapas CC y CA. Amplificadores diferenciales. Polarización. Amplificado-

Revisado por Encargado: 05/11/90


D.F. MT. SUSANA D. B. DE PASSERON
DIRECTORA
DIB. QUIMICA BIOLÓGICA


Dr. GUILLERMO A. LOCASCIO

res de potencia. Realimentación negativa. Su efecto. Esquema fundamental.
5.- Amplificadores operacionales. Realimentación en el operacional. Configuraciones, conexión inversora, no inversora, integradora, etc. Usos. Ejemplos de aplicación en áreas de interés.

Servomecanismos. Señal de error y de salida. 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.

7.- Procesamiento de información. Digitalización: conversión analógica a digital y digital a analógica (registro numérico). Teorema del muestreo o de Nyquist - su importancia. Elementos de computación y tratamiento de datos aplicados a instrumentación.

8.- Tendencias modernas en instrumentación: nuevas tecnologías y desarrollos.

III.- METODOS OPTICOS.

1.- ESPECTROFOTOMETRIA:

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: distintos tipos, ventajas y limitaciones de cada uno. Celdas, detectores de estado sólido. Tipos y características. 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. Balanza electrónica nula. Ganancia de los fotomultiplicadores. Comparación entre sistemas.

Parámetros óptimos de espectrofotometría. Ancho de banda natural. Ancho de banda observada. Ancho de banda espectral. Ancho de ranura. Relaciones entre los mismos: resolución. Luz espuria: conceptos ópticos y operacionales. 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 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. Sistemas y normas de control de parámetros instrumentales.

Espectrofotometría de derivadas. Conceptos básicos y fundamentos del método. Parámetros propios y su relación con los parámetros operacionales espectrofotométricos clásicos. Orden de derivación. Su influencia en la capacidad de anular o disminuir la acción interferente de matriz de fondo. Resolución y evidenciación de características espectrales de difícil evaluación. Degradación de la relación de señal a ruido.

Métodos de obtención de espectros de derivadas: ópticos, por derivación electrónica analógica y por procesamiento digital de la información. Breve referencia a algoritmos de cálculo para alisamiento ("Smoothing") y derivación, p. ej. Savitzky y Golay.

Otras técnicas espectrofotométricas modernas: sistemas a detectores integrados extensos de fotodiodos ("Linear array"). Principios operativos de la espectrofotometría a doble longitud de onda ("Dual wavelength").

2.- FLUORIMETRIA.

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 cualitativo-estructurales. Depolarización de fluorescencia. Tiempo de vida media. Calibración de instrumentos, en linealidad fotométrica y en longitud de onda. Selección de condiciones óptimas operacionales. Normas de control y verificación de equipos.

IV.- METODOS POTENCIOMETRICOS

Electrodos de referencia e indicadores de diversos tipos. Desarrollos modernos. Requerimientos impuestos por los electrodos al sistema de medi-

ción. Principios electrónicos de funcionamiento y características de los potenciómetros actuales. Transistores de efecto de campo. 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. Influencia de la temperatura. Histeresis. 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 MEDICION DE RADIONUCLIDOS.

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-Müller. 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. Efectos fotoeléctrico, Compton y de formación de pares. Fenómeno de centelleo. Contadores de centelleo. Detectores de estado sólido. Componentes asociados particulares. Atenuadores. Discriminadores. Ventana. Sistemas multicanales. 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. Equipos modernos: el borde Compton. Resolución de mezclas de isótopos.

VI.- TECNICAS CROMATOGRÁFICAS.

1.- Cromatografía en fase gaseosa. Introducción. Componentes del sistema

cromatográfico. Descripción del equipo. Teoría fundamental y principios de funcionamiento.

Eficiencia. Ecuación 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. Detectores especiales. 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, refractométricos, calorimétrico. Detectores especiales. Formadores de gradientes, equipos auxiliares.

3.- Nuevas tendencias y desarrollos (cromatografía con fluidos supercríticos.- SFC)

VII.- TECNICAS ELECTROFORETICAS 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.- ULTRACENTRIFUGACION

Corrientes de convección en cabezales de ángulo fijo y oscilante. 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

Dr.ª M. SUSANA B. DE PASSERON
DIRECTORA
DIB. QUIMICA BIOLÓGICA

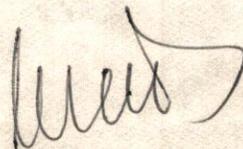
Dr. GUILLERMO A. LOCASCIO

y zona móvil. Métodos de equilibrio del estado transitorio e isopícnico. Datos moleculares obtenibles con cada uno. Fundamentación. Constantes accesorias necesarias y su determinación: coeficientes de difusión translacional, radio hidrodinámico.

IX.- ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA:

Introducción. Secuencia de eventos en la llama. Equilibrio, población atómica y su relación con la temperatura. Elección de la temperatura de trabajo. Fuentes de excitación: aspectos teóricos. Instrumentación: lámparas de cátodo hueco normales y especiales, de descarga en gases, fuentes láser; llamas (comburente-combustible), nebulizadores, quemadores, atomización electrotérmica, método del vapor frío, sistemas ópticos.

Interferencias: espectrales, en fase gaseosa, en fase condensada. Métodos de corrección.



Dr. M. SUSANA D. B. DE PASSERON
DIRECTORA
DIB. QUÍMICA BIOLÓGICA

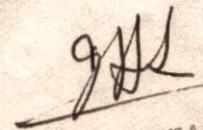


Dr. GUILLERMO A. LOCASCIO

BIBLIOGRAFIA:

- Malmstad N.V., Enke C.G., Crouch: Electronics and instrumentation for scientists. Benjamin-Cummings. 1981.
- Brophy J.J.: Electrónica fundamental para científicos. Reverte.
- Brown P., Franz G.N., Moraff H.: Electronics for the modern scientists. Elsevier. 1982.
- Frederiksen Thomas M.: Intuitive IC OP AMPS. National semiconductor technology series. 1984.
- Data acquisition and conversion handbook. Edited by Eugene L. Zuch, Datel intersil. 1988.
- Bibbero Robert J.: Microprocessors in instruments and control. John Wiley & sons. 1977.
- Burgess C., Knowles A.: Techniques in vis and uv spectrometry. Vol. 1-3. Chapman & Hall. 1981-1984.
- Bauman, R.P.: Absorption spectroscopy. Wiley, 1962.
- James J.R.; Sternberg R.S.: The design of optical spectrometers. Chapman & Hall. 1969.
- Udenfriend S.: Fluorescence assay in Biology and Medicine. Vol. I & II. Academic press. 1962.
- White M.E., Argauer R.J.: Fluorescence analysis. A practical approach. Marcel Dekker.
- Linnet N.: pH measurements in theory and practice. Radiometer A.S. 1970.
- Bates R.G.: Determination of pH: theory and practice. J.Wiley.
- Caro R., Ciscato V. y Piccini E.: Metodología de radioisótopos en el laboratorio moderno. Panamericana. 1974.
- Kobayashi Y. and Maudsley D.: Biological application of liquid scintillation counting. Academic press. 1974.
- Peng C.T.: Sample preparation in liquid scintillation counting. The radiochemical centre Ltd. 1977.
- Noujaim A.A., Edliss C., Weibe L.I.: Liquid scintillation, science and technology. Academic Press. 1976.
- Peng C.T., Horrocks D.L., Alpen E.L.: Liquid scintillation counting. Vol. 1-2 Academic Press. 1980.
- Mc. Nair H.M., Bonelli E.J.: Basic gas chromatography, Varian Aerograph. Colowick & Kaplan, Methods in enzymology. Vol. 22.
- Mahler H.R. and Cordes E.H.: Biological chemistry. Harper & Row. 1971.
- Schachman N.K.: Ultracentrifugation in biochemistry. Academic Press. 1959.


DRA. M. SUSANA D. B. DE PASSERON
DIRECTORA
DIB. QUÍMICA BIOLÓGICA


Dr. GUILLERMO A. LOCASCIO

- Elwell W.T., Gidley J.A.F.: Atomic absorption spectrophotometry. Pergamon Press. 1966.
- Reynolds R.J.: Atomic absorption spectroscopy. Griffin. 1970.
- Ramirez M.J.: Atomic absorption spectroscopy and analysis by atomic absorption flame photometry. Elsevier. 1968.
- Winefordner J.D.: Spectrochemical methods of analysis. Wiley interscience. 1971.
- Kirkbright G.F., Sargent M.: Atomic absorption and fluorescence spectroscopy. Academic Press. 1974.
- Burgess C., Mielenz K.D.: Advances in standards and methodology in spectrophotometry. Elsevier. 1987.
- Borman Stuart A. ED.), : Instrumentation in analytical chemistry. 1982-1986. American Chemical Society. 1986.
- Sheinglod, Daniel H. Ed.: Transducer interfacing handbook "a guide to analog signal conditioning", analog devices technical handbook. 1980.
- Fraderiksen, Thomas M.: Intuitive IC OP AMPs, from basics to useful applications. Linear IC design group national semiconductor corporation. Printed and bound by R.R. Donnelly & sons. 1980.

Handwritten signature

LABORATORIO DE
INSTRUMENTACION
BIOLOGICA
F. C. E. N - U. B. A.

Handwritten signature

Dr. GUILLERMO A. LOCASCIO