

UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

DEPARTAMENTO: QUIMICA BIOLOGICA

X DENOMINACION: INSTRUMENTACION BIOLOGICA

CODIGO: 6010

CARRERA/S: LIC. EN CIENCIAS QUIMICAS. LIC. EN CS. BIOLOGICAS. DOCTORADO.POST=GRADO

ORIENTACION: QUIMICA BIOLOGICA

CARACTER: OPTATIVA

DURACION DE LA MATERIA: CUATRIMESTRAL

HORAS DE CLASES: 204 hs. TEORICO=PRACTICAS.

DOCENTE RESPONSABLE: Dr. GUILLERMO LOCASCIO

DOCENTES COLABORADORES: LIC. ALBERTO D'ANDREA

LIC. PEDRO BERLOT

ASIGNATURAS CORRELATIVAS: FISICA I, II Y III = QUIMICA BIOLOGICA I (Lic. Cs.Químicas)

FISICA I Y II = QUIMICA BIOLOGICA (Lic. CS.BIOLOGICAS)

PROGRAMA

I INTRODUCCION

Metodos usuales en Química Biológica. Tipo de técnicas de laboratorio e instrumentos empleados. Tendencias modernas. Enfoque logico para su estudio y orientaciones para el mismo.

II. COMPLEMENTOS DE ELECTRICIDAD Y ELECTRONICA:

- 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, 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. Parametros importantes. Características, con figuraciones 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.- Esuqma de amplificadores y su funcionamiento. Acoplamiento entre etapas, CC y CA. Amplificadores diferenciales, Polarización. Amplificadores de potencia, Realimentación negativa. Su efecto, esquema fundamental.
- 5.- Amplificadores operacionales. realimentación en el operacional. Configuraciones. Conexion inversora, no inversora, integradora, etc. Usos, ejemplos de aplicacion en areas de interes.

probado por [unclear]  
CD 16/91

*[Handwritten signatures and stamps]*

Dr. SUSANA D. B. DE PASSERON  
DIRECTORA  
DTB. QUIMICA BIOLOGICA

A. BRAGONES

Dr. GUILLERMO A. LOCASCIO

201

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 transducción. 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 a 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 tecnología y desarrollos.

### III.- METODOS OPTICOS

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; distintos tipos ventajas y limitaciones de cada uno, celdas, detectores de estado sólido. Tipo 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. balance electrónico nulo. 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 dificultosa 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 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. 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 medición. Principios electrónicos de funcionamiento y características de los potenciómetros actuales. Transistores de efecto de campo. Circuitos integrados apropiados.

Acción de los controles sobre las isothermas del instrumento. Punto isopotencial. Ajuste de las isothermas 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.- DETECCION 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-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. Efectos fotoeléctrico. Compton y de formación de pares. Fenómeno 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 CROMATOGRAFICAS.

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 cualita-

tativo. 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. TErmostatización. Poder resolutivo. Electroenfoque de convección zonal. Electroenfoque en geles.

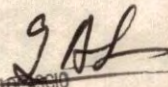
2.- Isotacoforesis. Fundamento del método. Separación analítica y preparativa de proteínas, péptidos, nucleótidos, etc. Uso de iones cabeza, cola y espaciadores. Columnas capilares, descripción del campo eléctrico y la movilidad iónica a lo largo de las mismas. Detectores térmicos, térmicos diferenciales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

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

  
Dr. GUILLERMO A. LOZANCO

IX.- ESPECTROSCOPIA DE ABSORCION ATOMICA:

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.

  
DAA: M<sup>l</sup> SUSANA D. B. DE PASSERON  
DIRECTORA  
DTE. QUIMICA BIOLOGICA

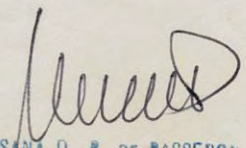
241  
Dr. GUILLERMO A. LOCASCIO

BIBLIOGRAFIA :

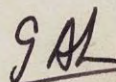
- Malmstadt N.V., Enke C.G., Crouch. Electronics and instrumentation for scientists. Benjamin-Cummings. 1981.
- Brophy J.J.: Electrónica fundamental para científicos. Reverte.
- Brown P., Franz G.N., Moraff H.: Electronics for the modern scientist. Elsevier, 1982.
- Frederiksen Thomas M.: Intuitive IC 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, Jhon 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 1 & II. Academic press, 1962.
- White M.E., Argauer R.J.: Fluorescence analysis. A practical approach. Marcel Dekker.
- Linnet N. : pH measurments 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., Ediss 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 enzimology, Vol 22.
- Mahler H.R. and Cordes E.H. : Biological Chemistry. Harper & Row, 1971.
- Schachman N.K.: Ultracentrifugation in Biochemistry. Academic press, 1959.

- 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 Pres 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.
- Scheinglod, Daniel H. Ed., Transducer Interfacing Handbook "A guide to analog signal conditioning", Analog Devices Technical Handbook, 1980.
- Frederiksen, Thomas M., Intuitive ic of AMPs, from basics to useful applications, linear ic design group national semiconductor corporation, Printed and Bound by R.R. Donnelley & Sons. 1980.

=#=#=#=#=#=#=#=#=#

  
 Dra: M. SUSANA D. B. DE PASSERON  
 DIRECTORA  
 B1B- QUIMICA BIOLÓGICA

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



Dr. GUILLERMO A. LOCASCIO