

Register your instrument!
www.eppendorf.com/myeppendorf



Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence

Bedienungsanleitung

Copyright © 2019 Eppendorf AG, Germany. All rights reserved, including graphics and images. No part of this publication may be reproduced without the prior permission of the copyright owner.

Trademarks

Cy® is a registered trademark of GE Healthcare UK Ltd., UK.

Hellma® is a registered trademark of Hellma GmbH & Co. KG, Germany.

OliGreen®, PicoGreen®, RiboGreen®, NanoOrange® and Qubit® are registered trademarks of Molecular Probes, Inc., USA.

Eppendorf® and the Eppendorf Brand Design are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany.

Eppendorf BioSpectrometer®, Eppendorf SpectraZoom® and UVette® are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany.

Registered trademarks and protected trademarks are not marked in all cases with ® or ™ in this manual.

Protected by U.S. Patent No. 8,464,171.

Notice

The software of the BioSpectrometer fluorescence contains open source software. License information is available under *Functions > Info > Copyrights*.

Inhaltsverzeichnis

1	Anwendungshinweise	7
1.1	Anwendung dieser Anleitung	7
1.2	Gefahrensymbole und Gefahrenstufen	7
1.2.1	Gefahrensymbole	7
1.2.2	Gefahrenstufen	7
1.3	Darstellungskonventionen	8
1.4	Abkürzungen	9
2	Allgemeine Sicherheitshinweise	11
2.1	Bestimmungsgemäßer Gebrauch	11
2.2	Anforderung an den Anwender	11
2.3	Gefährdungen bei bestimmungsgemäßigem Gebrauch	11
2.3.1	Personenschaden	11
2.3.2	Geräteschaden	13
2.4	Hinweise zur Produkthaftung	14
2.5	Sicherheitshinweise am Gerät	14
3	Produktbeschreibung	15
3.1	Produktübersicht	15
3.2	Lieferumfang	15
3.3	Produkteigenschaften	16
3.3.1	Methoden	16
3.3.2	Bedienung	16
3.3.3	Ergebnisausgabe	17
3.3.4	Selbsttest des Geräts	17
4	Installation	19
4.1	Installation vorbereiten	19
4.2	Standort wählen	19
4.3	Gerät an das Netz anschließen	19
4.4	Gerät mit einem Netzwerk verbinden	20
4.5	Drucker am USB-Anschluss anschließen	20
4.5.1	Thermodrucker DPU-S445	20
4.6	PC oder USB-Stick für Datenexport anschließen	21
5	Bedienung	23
5.1	Bedienelemente	23
5.1.1	Text eingeben	25
5.2	Küvette einsetzen	25
5.3	Übersicht über den Messablauf	27
5.3.1	Messung vorbereiten	27
5.3.2	Messablauf	27
5.3.3	Wichtige Hinweise für die Messungen	31

6	Methoden	33
6.1	Methode auswählen	33
6.2	Methodenbeschreibung Photometrie	34
6.2.1	Methodengruppe Absorbance	34
6.2.2	Methodengruppe Routine	35
6.2.3	Methodengruppe Basic	36
6.2.4	Methodengruppe Advanced	37
6.3	Methodenbeschreibung Fluorimetrie	37
6.3.1	Methodengruppe Routine	37
6.3.2	Methodengruppe Basic	38
6.4	Methodenparameter	39
6.5	Methodenablauf	44
6.5.1	check parameters	44
6.5.2	measure standards	45
6.5.3	measure samples	46
6.5.4	measure samples: Ergebnisanzeigen	49
6.5.5	process results	55
6.5.6	process results: Optionen	57
6.5.7	print & export	60
6.5.8	Messreihe abschließen	63
7	Funktionen	65
7.1	Funktionen der Hauptgruppe User	65
7.1.1	Results Memory	66
7.1.2	General Method Parameters	68
7.1.3	Absorbance Spectra Library	71
7.1.4	Device Settings	71
7.1.5	Device Calibration	74
7.1.6	Info	74
8	Instandhaltung	75
8.1	Reinigung	75
8.1.1	Küvetenschachtabdeckung reinigen	76
8.2	Desinfektion/Dekontamination	77
8.3	Gerät überprüfen	77
8.3.1	Spektrometereinheit überprüfen	77
8.3.2	Fluoreszenzeinheit überprüfen	81
8.3.3	Selbsttest des Geräts	82
8.4	Sicherungen ersetzen	83
8.5	Dekontamination vor Versand	84
9	Problembeseitigung	85
9.1	Allgemeine Fehler	85
9.2	Fehlermeldungen	87
9.3	Ergebniskennzeichnungen	91

10	Transport, Lagerung und Entsorgung	95
10.1	Transport	95
10.2	Lagerung	95
10.3	Entsorgung	96
11	Technische Daten	97
11.1	Stromversorgung	97
11.2	Umgebungsbedingungen	97
11.3	Gewicht/Maße	97
11.4	Photometrische Eigenschaften	98
11.5	Fluorimeter	98
11.6	Weitere technische Parameter	99
11.7	Anwendungsparameter	100
12	Auswerteverfahren	101
12.1	Extinktionswerte	101
12.1.1	Blank	101
12.1.2	Background-Korrektur	101
12.1.3	Küvettenkorrektur	102
12.2	Transmission	102
12.3	Auswertung mit Faktor oder Standard	103
12.4	Auswertung mit Standardkurve/-gerade	104
12.5	Verdünnung	105
12.6	Spezielle Auswerteverfahren für Nukleinsäuren und Protein UV	105
12.6.1	Korrektur A_{260} und Korrektur A_{280}	105
12.6.2	Ratio A_{260}/A_{280} und Ratio A_{260}/A_{230}	106
12.6.3	Umrechnung in molare Konzentrationen und Nukleinsäuremengen	106
12.6.4	Berechnung des Faktors für Protein in "General Method Parameter"	108
12.7	Spezielle Auswerteverfahren für die Dye-Methoden	108
12.7.1	Berechnung des Faktors für den Farbstoff aus dem Extinktionskoeffizienten	108
12.7.2	Berechnung der FOI	109
12.7.3	Umrechnung in Farbstoffmengen	109
12.8	Dual wavelength	110
12.9	Fluorimetrie	111
12.9.1	RFU-Werte	111
12.9.2	Blank	111
12.9.3	Auswertung mit Standard und Standardkurve/-gerade, Verdünnung	111
13	Bestellinformationen	113
	Zertifikate	115

Inhaltsverzeichnis

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

1 Anwendungshinweise

1.1 Anwendung dieser Anleitung

- ▶ Lesen Sie diese Bedienungsanleitung vollständig, bevor Sie das Gerät das erste Mal in Betrieb nehmen. Beachten Sie ggf. die Gebrauchsanweisungen des Zubehörs.
- ▶ Diese Bedienungsanleitung ist Teil des Produkts. Bewahren Sie sie gut erreichbar auf.
- ▶ Fügen Sie diese Bedienungsanleitung bei Weitergabe des Geräts an Dritte bei.
- ▶ Die aktuelle Version der Bedienungsanleitung in den verfügbaren Sprachen finden Sie auf unserer Internetseite www.eppendorf.com/manuals.

1.2 Gefahrensymbole und Gefahrenstufen

1.2.1 Gefahrensymbole

Die Sicherheitshinweise in dieser Anleitung haben die folgenden Gefahrensymbole und Gefahrenstufen:

	Stromschlag		Explosionsgefährliche Stoffe
	Giftige Stoffe		Gefahrenstelle
	Sachschaden		

1.2.2 Gefahrenstufen

GEFAHR	<i>Wird</i> zu schweren Verletzungen oder zum Tod führen.
WARNUNG	<i>Kann</i> zu schweren Verletzungen oder zum Tod führen.
VORSICHT	Kann zu leichten bis mittelschweren Verletzungen führen.
ACHTUNG	Kann zu Sachschäden führen.

1.3 Darstellungskonventionen

Darstellung	Bedeutung
1. 2.	Handlungen in vorgegebener Reihenfolge
▶	Handlungen ohne vorgegebene Reihenfolge
•	Liste
 oder sample	Taste drücken, um eine beschriebene Handlung durchzuführen.
 oder [Copy]	Softkey drücken, um eine beschriebene Handlung durchzuführen.
	Zusätzliche Informationen

1.4 Abkürzungen

A

Absorbance – Extinktion

DNA

Deoxyribonucleic acid – Desoxyribonukleinsäure (DNS)

dsDNA

double stranded DNA – doppelsträngige DNS

Dye-Methoden

Methoden der Gruppe **Dye labels** für die Messung von farbstoffmarkierten Biomolekülen

FOI

Frequency of Incorporation: Maß für die Menge an Farbstoffmolekülen bezogen auf die Zahl der Nukleotide in farbstoffmarkierten Biomolekülen

M

mol/L (*molar*)

OD600

Optische Dichte bei der Wellenlänge 600 nm

RFU

Relative Fluorescence Unit – relative Fluoreszenzeinheit: Maß für die Intensität bei Fluoreszenzmessungen

RNA

Ribonucleic acid – Ribonukleinsäure (RNS)

ssDNA

single stranded DNA – einzelsträngige DNS

T

Transmission: Die als Transmission (T) bezeichnete Lichtdurchlässigkeit wird als Quotient aus I (aus der Küvette austretendes Licht) und I_0 (in die Küvette eintretendes Licht) berechnet: $T = I/I_0$

UV

Ultraviolette Strahlung

Vis

Visible light – sichtbares Licht

VK

Variationskoeffizient (Standardabweichung/Mittelwert), in Prozent

Anwendungshinweise

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

2 Allgemeine Sicherheitshinweise

2.1 Bestimmungsgemäßer Gebrauch

Einsatzgebiet des BioSpectrometer fluorescence ist das Forschungslabor in Molekularbiologie, Biochemie und Zellbiologie. Das BioSpectrometer fluorescence ist ausschließlich für die Verwendung in Innenräumen bestimmt. Die länderspezifischen Sicherheitsanforderungen für den Betrieb elektrischer Geräte im Laborbereich müssen eingehalten werden.

Das BioSpectrometer fluorescence dient zur photometrischen Konzentrationsbestimmung von Analyten in Flüssigkeiten und zur Aufnahme von Extinktions-Wellenlängen-Spektren in Küvetten. Darüber hinaus können Fluoreszenz-Messungen zur Quantifizierung von Biomolekülen durchgeführt werden.

Verwenden Sie ausschließlich Eppendorf-Zubehör oder von Eppendorf empfohlenes Zubehör.

2.2 Anforderung an den Anwender

Gerät und Zubehör dürfen nur von ausgebildetem Fachpersonal bedient werden.

Lesen Sie vor der Anwendung die Bedienungsanleitung und die Gebrauchsanweisung des Zubehörs sorgfältig und machen Sie sich mit der Arbeitsweise des Geräts vertraut.

2.3 Gefährdungen bei bestimmungsgemäßigem Gebrauch

2.3.1 Personenschaden



GEFAHR! Stromschlag durch eintretende Flüssigkeit.

- ▶ Schalten Sie das Gerät aus und trennen Sie es vom Stromnetz, bevor Sie mit der Reinigung oder Desinfektion beginnen.
- ▶ Lassen Sie keine Flüssigkeiten in das Gehäuseinnere gelangen.
- ▶ Führen Sie keine Sprühreinigung/Sprühdesinfektion am Gehäuse durch.
- ▶ Schließen Sie das Gerät nur innen und außen vollständig getrocknet wieder an das Stromnetz an.



GEFAHR! Explosionsgefahr.

- ▶ Betreiben Sie das Gerät nicht in Räumen, in denen mit explosionsgefährlichen Stoffen gearbeitet wird.
- ▶ Bearbeiten Sie mit diesem Gerät keine explosiven oder heftig reagierenden Stoffe.
- ▶ Bearbeiten Sie mit diesem Gerät keine Stoffe, die eine explosive Atmosphäre erzeugen können.

Allgemeine Sicherheitshinweise

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

**WARNUNG! Stromschlag durch Schäden am Gerät oder Netzkabel.**

- ▶ Schalten Sie das Gerät nur ein, wenn Gerät und Netzkabel unbeschädigt sind.
- ▶ Nehmen Sie nur Geräte in Betrieb, die fachgerecht installiert oder instand gesetzt wurden.
- ▶ Trennen Sie das Gerät im Gefahrenfall von der Netzspannung. Ziehen Sie den Netzstecker aus dem Gerät oder der Steckdose. Verwenden Sie die vorgesehene Trennvorrichtung (z. B. Notschalter im Labor).

**WARNUNG! Schaden durch UV-Strahlung.**

Mikroliterküvetten wie z.B. Hellma® TrayCell (oder Mikroliterküvetten ähnlicher Bauart) leiten die Strahlung der Lichtquelle innerhalb der Küvette um, sodass die Strahlung der Lichtquelle bei nicht geschlossenem Deckel nach oben austreten kann.

- ▶ Vergewissern Sie sich vor dem Start einer Messung, dass der Deckel auf der Mikroliterküvette aufliegt.

**WARNUNG! Gesundheitsschädigung durch giftige, radioaktive oder aggressive Chemikalien sowie durch infektiöse Flüssigkeiten und pathogene Keime.**

- ▶ Beachten Sie die nationalen Bestimmungen zum Umgang mit diesen Substanzen, die biologische Sicherheitsstufe Ihres Labors sowie die Sicherheitsdatenblätter und Gebrauchshinweise der Hersteller.
- ▶ Tragen Sie Ihre persönliche Schutzausrüstung.
- ▶ Entnehmen Sie umfassende Vorschriften zum Umgang mit Keimen oder biologischem Material der Risikogruppe II oder höher dem "Laboratory Biosafety Manual" (Quelle: World Health Organization, Laboratory Biosafety Manual, in der jeweils aktuell gültigen Fassung).

**WARNUNG! Gesundheitsgefahr durch kontaminiertes Gerät und Zubehör.**

- ▶ Dekontaminieren Sie Gerät und Zubehör, vor dem Lagern oder Versenden.

**VORSICHT! Sicherheitsmängel durch falsche Zubehör- und Ersatzteile.**

Zubehör- und Ersatzteile, die nicht von Eppendorf empfohlen sind, beeinträchtigen die Sicherheit, Funktion und Präzision des Geräts. Für Schäden, die durch nicht empfohlene Zubehör- und Ersatzteile oder unsachgemäßen Gebrauch verursacht werden, wird jede Gewährleistung und Haftung durch Eppendorf ausgeschlossen.

- ▶ Verwenden Sie ausschließlich von Eppendorf empfohlenes Zubehör und Original-Ersatzteile.

2.3.2 Geräteschaden



ACHTUNG! Schäden durch aggressive Chemikalien.

- ▶ Verwenden Sie am Gerät und Zubehör keine aggressiven Chemikalien wie z. B. starke und schwache Basen, starke Säuren, Aceton, Formaldehyd, halogenierte Kohlenwasserstoffe oder Phenol.
- ▶ Reinigen Sie das Gerät bei Verunreinigungen durch aggressive Chemikalien umgehend mit einem milden Reinigungsmittel.



ACHTUNG! Geräteschaden durch Begasung mit aggressiven Chemikalien.

- ▶ Führen Sie am Gerät keine Desinfektion durch Begasung durch.



ACHTUNG! Korrosion durch aggressive Reinigungs- und Desinfektionsmittel.

- ▶ Verwenden Sie weder ätzende Reinigungsmittel noch aggressive Lösungs- oder schleifende Poliermittel.
- ▶ Inkubieren Sie das Zubehör nicht längere Zeit in aggressiven Reinigungs- oder Desinfektionsmitteln.



ACHTUNG! Schäden an elektronischen Bauteilen durch Kondensatbildung.

Nach dem Transport des Geräts von einer kühlen in eine wärmere Umgebung kann sich im Gerät Kondensat bilden.

- ▶ Warten Sie nach dem Aufstellen des Geräts mindestens 3 h. Schließen Sie das Gerät erst danach an das Stromnetz an.



ACHTUNG! Beeinträchtigung der Funktion durch mechanische Schäden.

- ▶ Stellen Sie nach einer mechanischen Beschädigung des Gerätes durch eine Überprüfung sicher, dass die Mess- und Auswertefunktionen des Gerätes korrekt ablaufen.



ACHTUNG! Schäden durch Überhitzung.

- ▶ Stellen Sie das Gerät nicht in der Nähe von Wärmequellen (z.B. Heizung, Trockenschrank) auf.
- ▶ Setzen Sie das Gerät keiner direkten Sonneneinstrahlung aus.
- ▶ Gewährleisten Sie eine ungehinderte Luftzirkulation. Halten Sie um alle Lüftungsschlitze einen Abstand von mindestens 5 cm frei.

Allgemeine Sicherheitshinweise

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

**ACHTUNG! Sachschäden durch falsche Anwendung.**

- ▶ Setzen Sie das Produkt nur für den in der Bedienungsanleitung beschriebenen bestimmungsgemäßen Gebrauch ein.
- ▶ Achten Sie auf eine ausreichende Materialbeständigkeit bei der Anwendung von chemischen Substanzen.
- ▶ Wenden Sie sich in Zweifelsfällen an den Hersteller dieses Produktes.

**ACHTUNG! Schäden durch unsachgemäße Verpackung.**

Die Eppendorf AG haftet nicht für Schäden durch unsachgemäße Verpackung.

- ▶ Lagern und transportieren Sie das Gerät nur in der Originalverpackung.

**ACHTUNG! Schäden durch unsachgemäße Reinigung des Küvettenschachts.**

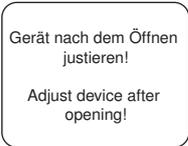
- ▶ Reinigen Sie den Küvettenschacht nur mit einem feuchten Wattestäbchen (siehe *Reinigung auf S. 75*).
- ▶ Lassen Sie keine Flüssigkeit in den Küvettenschacht gelangen.
- ▶ Fassen Sie nicht mit dem Finger in den Küvettenschacht.

2.4 Hinweise zur Produkthaftung

In den folgenden Fällen kann der vorgesehene Schutz des Geräts beeinträchtigt sein. Die Haftung für entstehende Sach- und Personenschäden geht dann auf den Betreiber über:

- Das Gerät wird nicht entsprechend der Bedienungsanleitung benutzt.
- Das Gerät wird außerhalb des bestimmungsgemäßen Gebrauchs eingesetzt.
- Das Gerät wird mit Zubehör oder Verbrauchsartikeln verwendet, die nicht von der Eppendorf AG empfohlen werden.
- Das Gerät wird von Personen, die nicht von der Eppendorf AG autorisiert wurden, gewartet oder instand gesetzt.
- Am Gerät werden vom Anwender unautorisiert Änderungen vorgenommen.

2.5 Sicherheitshinweise am Gerät

Darstellung	Bedeutung	Ort
	Gefahrenstelle ▶ Beachten Sie die Bedienungsanleitung.	Rückseite des Geräts
	Wenn das Gerät geöffnet wird, muss es neu justiert werden. ▶ Gerät nicht öffnen.	Unterseite des Geräts

3 Produktbeschreibung
3.1 Produktübersicht

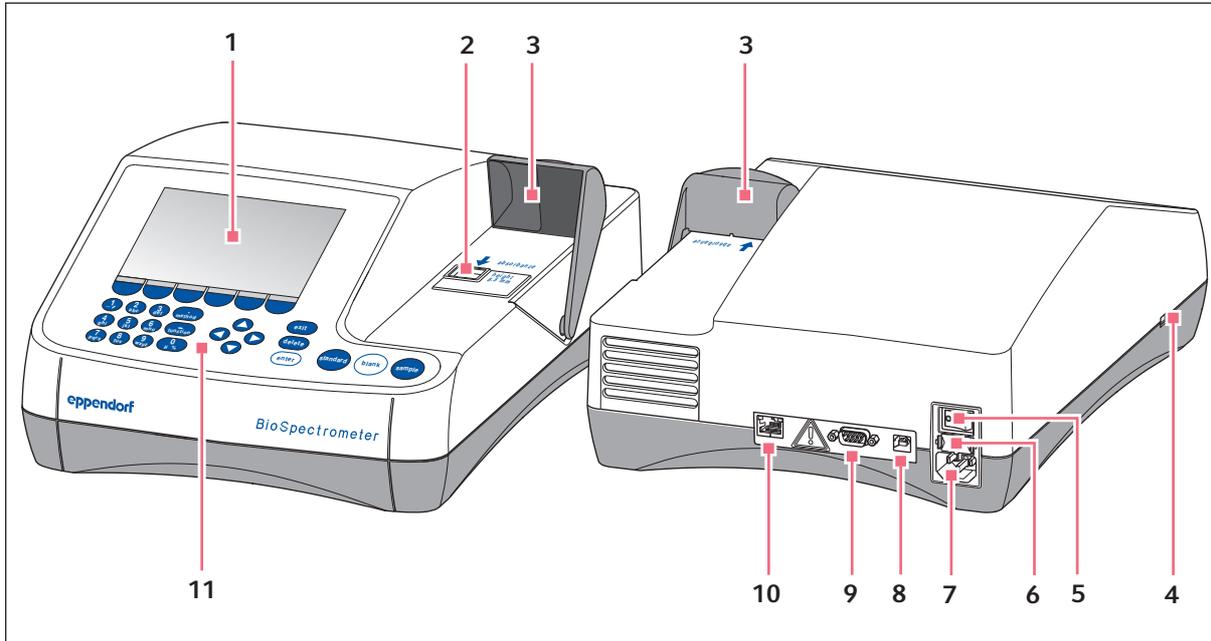


Abb. 3-1: Vorder- und Rückansicht

- | | |
|--|------------------------------------|
| 1 Display | 7 Netzanschluss |
| 2 Küvettschacht | 8 USB-Anschluss für PC |
| 3 Küvettschachtabdeckung | 9 Anschluss RS-232-Drucker |
| 4 USB-Anschluss für USB-Stick und Drucker | 10 Anschlussbuchse Ethernet |
| 5 Netzschalter | 11 Bedienelemente |
| 6 Sicherungshalter | |

Das Typenschild befindet an der Unterseite des Geräts links hinten.

3.2 Lieferumfang

Anzahl	Beschreibung
1	BioSpectrometer fluorescence
1	Netzkabel
4	4 UVetten Original Eppendorf Kunststoffküvette, einzeln verpackt, PCR clean, Protein-free
1	Bedienungsanleitung, mehrsprachig

Produktbeschreibung

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

3.3 Produkteigenschaften

Das BioSpectrometer fluorescence vereint zwei spektroskopische Messverfahren: Spektralphotometrie und Fluorimetrie. Es kann sowohl spektrophotometrische Messungen im UV-Vis-Bereich von 200 nm bis 830 nm als auch fluorimetrische Messungen bei zwei definierten Wellenlängenkombinationen im sichtbaren Bereich (470 nm Anregung/520 nm Emission und 470 nm Anregung/560 nm Emission) durchführen. Es ist für die Messung von Flüssigkeiten in Küvetten im molekularbiologischen, biotechnologischen, biochemischen und zellbiologischen Bereich in Entwicklung und Forschung vorgesehen. Sie können Glasküvetten und Kunststoffküvetten im Volumenbereich von 1 µL bis 3000 µL (Photometrie) bzw. 60 µL bis 3000 µL (Fluorimetrie) benutzen.

3.3.1 Methoden

Photometrie

Zahlreiche Methoden für die Konzentrationsbestimmung von Nucleinsäuren, Proteinen und Farbstoff-markierten Nucleinsäuren und Proteinen sowie die Methode **OD 600** für die Bestimmung der Bakteriendichte durch Trübungsmessung sind bereits vorprogrammiert. Weiterhin sind Methoden-Templates für unterschiedliche Mess- und Auswerteverfahren (Ein- und Mehrwellenlängenmessungen, Spektrenaufnahmen, Auswertungen mit Faktor, Standard und Standardkurve) vorprogrammiert. Eigene Methoden können auf Basis der vorprogrammierten Methoden und Templates erstellt werden. Mit den Templates der Methodengruppe **Absorbance** können Sie schnell Extinktionen oder Spektren ohne weitere Auswertung messen. Unter der Methodengruppe **Absorbance** finden Sie auch eine Methode, mit der Sie den Transmissionsgrad einer Probe bestimmen können.

Fluorimetrie

Methoden für die Konzentrationsbestimmung von Nucleinsäuren mit PicoGreen, RiboGreen, OliGreen und den Qubit-Reagenzien sowie von Proteinen mit NanoOrange sind vorprogrammiert. Kurzvarianten der Nucleinsäure-Methoden für eine schnelle Messung mit nur zwei Standards sind ebenfalls enthalten. Wie für die Spektralphotometrie sind Methoden-Templates für unterschiedliche Auswerteverfahren (über Faktor, Standard und Standardkurve) vorprogrammiert.

3.3.2 Bedienung

Die vorprogrammierten Methoden und Templates sind in übersichtlichen Gruppen zusammengefasst, aus denen Sie schnell Ihre gewünschte Methode auswählen können. Nach Methodenaufruf werden Sie in übersichtlichen Schritten durch den Messablauf geführt. Eine Hilfebox in der Anzeige gibt Ihnen bei Bedarf Hinweise. Die 3 runden Messtasten (**standard**, **blank**, **sample**) ermöglichen den schnellen, direkten Start einer Messung.

3.3.3 Ergebnisausgabe

Das BioSpectrometer fluorescence gibt die Ergebnisse über die Geräteanzeige oder über einen bei Eppendorf erhältlichen Drucker aus. Über den USB-Anschluss können Sie Ergebnisdaten aus dem Gerät auf einen USB-Stick, einen Drucker oder direkt auf einen PC übertragen. Wenn das Gerät mit einem Netzwerk verbunden ist, können die Ergebnisse auf einem Netzwerkdrucker ausgedruckt oder per E-Mail verschickt werden. Es ist nicht möglich die Ergebnisse auf einem Netzlaufwerk zu speichern.

3.3.4 Selbsttest des Geräts

Direkt nach dem Einschalten überprüft das Gerät selbsttätig die Funktion der Spektrometereinheit und der Fluoreszenzeinheit. Um das Gerät umfassender zu prüfen, rufen Sie die Funktion **Device calibration** auf (siehe *Selbsttest des Geräts auf S. 82*).

Produktbeschreibung

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

4 Installation

4.1 Installation vorbereiten

- ▶ Heben Sie den Transportkarton und das Verpackungsmaterial für einen späteren sicheren Transport oder für eine Lagerung auf.
- ▶ Kontrollieren Sie anhand der Angaben zum Lieferumfang die Vollständigkeit der Lieferung (siehe *Lieferumfang auf S. 15*).
- ▶ Prüfen Sie alle Teile auf eventuelle Transportbeschädigungen.

4.2 Standort wählen

Wählen Sie den Standort für das BioSpectrometer fluorescence nach folgenden Kriterien:

- 2 Steckdosen mit Schutzleiter für das BioSpectrometer fluorescence und für den Drucker.
- Fester Labortisch mit waagerechter Arbeitsplatte.
Platzbedarf des Gerätes: 50 cm (mit Drucker: 75 cm) Breite, 50 cm Tiefe.
- Temperatur: 15 °C bis 35 °C.
- Vermeiden Sie Temperaturschwankungen (z. B. durch geöffnete Fenster).
- Vermeiden Sie direktes Sonnenlicht.
- Luftfeuchtigkeit: 25 % bis 70 % relative Feuchtigkeit.



Achten Sie darauf, dass keine Gegenstände unter dem Gerät liegen (z. B. lose Blätter, Hefte), die die Luftzufuhr behindern können.

4.3 Gerät an das Netz anschließen

1. Stellen Sie das BioSpectrometer fluorescence auf eine geeignete Arbeitsfläche.
2. Überzeugen Sie sich, dass Netzspannung und Netzfrequenz mit den Angaben auf dem Typenschild übereinstimmen.
3. Verbinden Sie das Gerät mit dem Stromnetz und schalten Sie es mit dem Netzschalter ein.
4. Entfernen Sie die Schutzfolie vom Display.

4.4 Gerät mit einem Netzwerk verbinden



Die Verbindung des Geräts mit einem Netzwerk ist optional. Sie können das Gerät auch ohne Netzwerkverbindung betreiben.
Informationen zu Netzwerkeinstellungen (siehe *Device Settings auf S. 71*)

Voraussetzung

Ethernet-Kabel (RJ45)

1. Verbinden Sie das Ethernet-Kabel mit der Anschlussbuchse des Netzwerks.
2. Verbinden Sie das Ethernet-Kabel mit der Anschlussbuchse Ethernet **10** (siehe *Produktübersicht auf S. 15*).



Netzwerkdrucker

Ein Netzwerkdrucker wird unter folgenden Voraussetzungen automatisch vom Gerät erkannt:

- Drucker befindet sich im gleichen Netzwerksegment wie das Gerät.
- Drucker unterstützt das Zeroconf-Protokoll.
- Drucker ist PostScript-fähig.

4.5 Drucker am USB-Anschluss anschließen

4.5.1 Thermodrucker DPU-S445

Voraussetzung

Auf dem Gerät ist die Software-Version 3.4.4.0 oder höher installiert.

In den Druckereinstellungen ist der Thermodrucker DPU-S445 ausgewählt (siehe *Device Settings auf S. 71*).

Schließen Sie den Thermodrucker DPU-S445 an den USB-Anschluss für Drucker an.

1. Verbinden Sie das Druckerkabel mit dem USB-Anschluss für Drucker **4** (siehe *Produktübersicht auf S. 15*).
2. Verbinden Sie das Druckerkabel mit dem Drucker.
3. Schließen Sie den Drucker über das mitgelieferte Steckernetzteil und Netzkabel (Zubehör des Druckers) an das Stromnetz an und schalten Sie ihn ein.

Hinweise zum Drucker finden Sie in der Bedienungsanleitung des Druckers.

4.6 PC oder USB-Stick für Datenexport anschließen

Sie können einen USB-Stick, **FAT-32-formatiert**, an den USB-Anschluss **4** anschließen (siehe *Produktübersicht auf S. 15*).

Alternativ können Sie das Gerät für den Datenexport über ein USB-Kabel direkt mit einem PC verbinden:

Voraussetzung

- PC mit Windows, Version XP, SP2 oder höhere Version.
 - USB-Kabel mit je einem Stecker Typ A und Typ B.
- ▶ Verbinden Sie das Gerät mit dem PC über das USB-Kabel am USB-Anschluss **8** (siehe *Produktübersicht auf S. 15*).
-  Sie benötigen keine spezielle PC-Software für die Datenübertragung: Übertragene Datenpakete werden vom PC wie ein USB-Stick als Wechseldatenträger erkannt. Um die Daten sichtbar zu machen, müssen Sie das angemeldete Datenpaket nur öffnen.
 - Die Übertragung von Daten auf den USB-Stick oder an den PC starten Sie nach Abschluss der Messreihe im Methodenschritt **print & export** (siehe *print & export auf S. 60*).

Installation

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

5 Bedienung

5.1 Bedienelemente

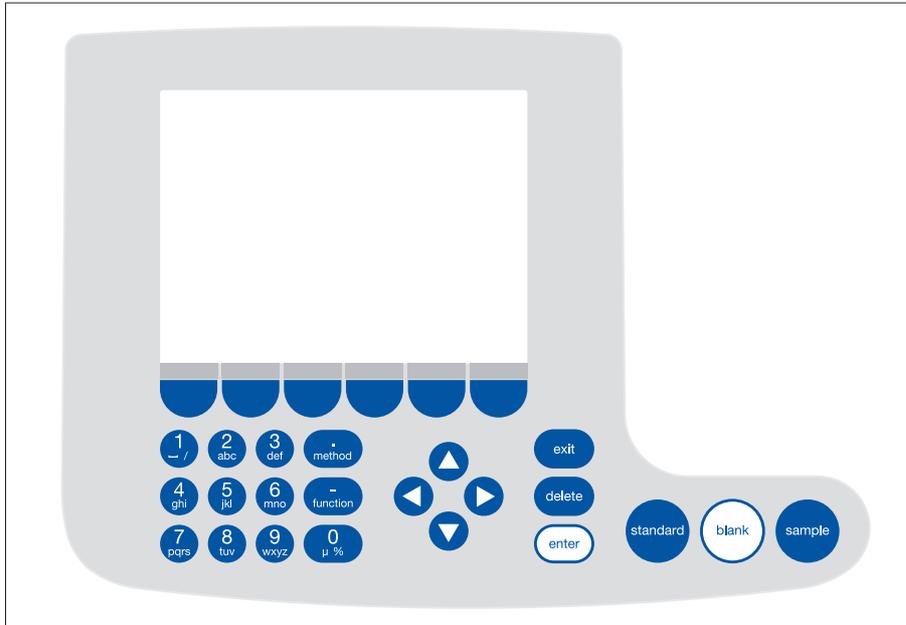


Abb. 5-1: Bedienelemente des BioSpectrometer fluorescence

Taste	Funktion
	Tastenblock: Zahlen und Text eingeben. Tasten 1 bis 9 sowie 0 : Bei Texteingabe können Sie neben Ziffern auch Buchstaben und Sonderzeichen durch mehrmaliges Drücken der Taste eingeben. Alternativ wechseln Sie mit [Keyboard] zu einer eingblendeten Tastatur.
 	Außerhalb von Eingabefeldern: Methodenauswahl aufrufen. Außerhalb von Eingabefeldern: Funktionsauswahl aufrufen.
	Softkey: Funktionen anwählen. Die Belegung der Taste wechselt mit dem Software-Dialog. Die aktuelle Funktion wird im Display direkt über der Taste angezeigt.

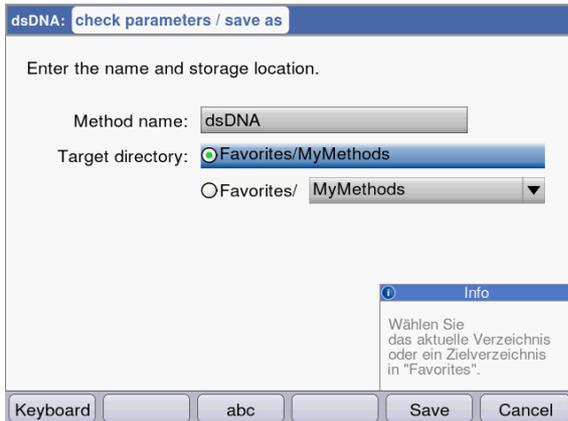
Bedienung

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

Taste	Funktion
	<p>Cursor nach links, rechts, oben, unten bewegen.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Navigieren zwischen Eingabefeldern. • Cursor-Tasten  und  innerhalb eines Eingabefeldes: Innerhalb der Zeichenfolge navigieren. • Tasten  und  in einer Ergebnisanzeige: Zwischen den Probenergebnissen der Messreihe navigieren. • Tasten  und  innerhalb eines Graphen: Auf der x-Achse des Graphen navigieren, um z.B. in einem Scan die Wellenlängen-abhängigen Extinktionswerte anzuzeigen. <p>Tasten  und  in einem Extinktions-Wellenlängen-Spektrum: Bildausschnitt verändern (Verfahren SpectraZoom) (siehe Tab. 6-4 auf S. 57).</p>
	<p>Aktuelle Auswahl in die nächsthöhere Ebene verlassen.</p> <p>Eingabe löschen. Innerhalb einer Zeichenfolge wird das Zeichen links vom Cursor gelöscht</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ausgewählte Methode oder Funktion aufrufen. • Auswahlliste öffnen. • Eingabe oder Auswahl bestätigen.
	<p>Standardmessung starten.</p> <p>Leerwertmessung starten.</p> <p>Probenmessung starten.</p>

5.1.1 Text eingeben

Texte können Sie bei der Vergabe von Methodennamen und Ergebniseinheiten eingeben. Einschränkung: Für Methodennamen sind nur Ziffern und Buchstaben sowie der Unterstrich "_" erlaubt.

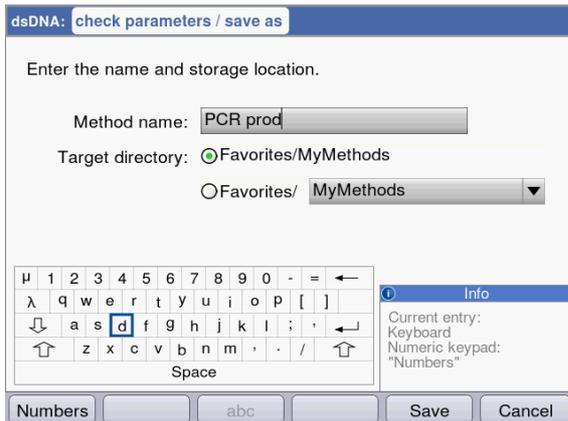


Eingabe über den Tastenblock:

Mit den Cursor-Tasten und navigieren Sie im Eingabefeld und können einzelne Positionen im Namen verändern.

Softkeys:

- [Keyboard]: Tastatur einblenden.
- [abc]: Wechsel zwischen Groß- und Kleinbuchstaben bei Eingabe über den Tastenblock.
- [Save]: Eingegebenen Text speichern.
- [Cancel]: Texteingabe abbrechen.



Eingabe über eingblendete Tastatur:

Mit den Cursor-Tasten wählen Sie die eingblendeten Zeichen aus und bestätigen jeweils mit der Taste **enter**. Wie bei einer PC-Tastatur können Sie mit der "Shift"- bzw. der Feststelltaste für die nächstfolgende bzw. für alle folgenden Eingaben zwischen Groß- und Kleinschreibung wechseln.

Softkeys:

- [Numbers]: Zur Eingabe über den Tastenblock wechseln.
- [Save]: Eingegebenen Text speichern.
- [Cancel]: Texteingabe abbrechen.

5.2 Küvette einsetzen

In die Küvettenaufnahme können Sie handelsübliche Rechteckküvetten aus Glas oder Kunststoff einsetzen:

- Außenmaße: 12,5 mm × 12,5 mm
- Lichtweghöhe: 8,5 mm über dem Küvettenboden
- Gesamthöhe: mindestens 36 mm

Die Küvetten müssen bei der jeweiligen Messwellenlänge optisch transparent sein. Für Messungen im UV-Bereich bietet Eppendorf mit der UVette eine Kunststoffküvette an, die bei Wellenlängen ab 220 nm transparent und damit auch für die Messung von Nukleinsäuren geeignet ist.

Bedienung

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

Cuvettes

Basic area 12.5 mm × 12.5 mm

Min. overall height 36 mm

Min. filling level

10 mm

Light path

8.5 mm

Max. height of base

7 mm

0 mm

Min. volume Photometry

See manufacturer information

See manufacturer information

50 µL

70 µL

400 µL

1000 µL

Min. volume Fluorimetry

See manufacturer information

not suitable

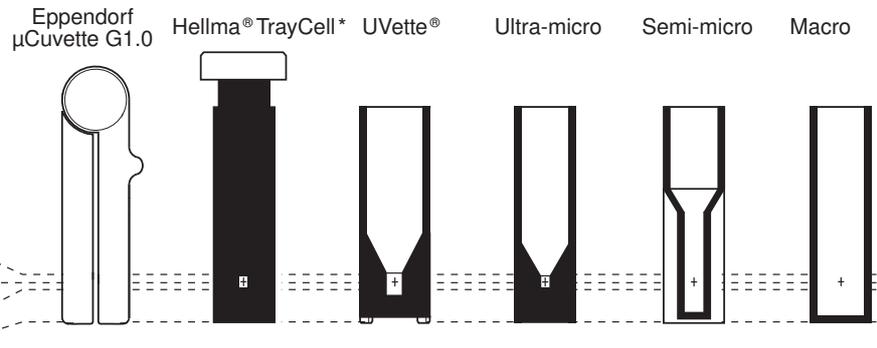
60 µL

70 µL

400 µL

1000 µL

* or similar microliter cuvette

**Voraussetzung**

- Küvette ist frei von Verschmutzung durch Staub oder Fingerabdrücke und frei von Kratzern.
- Küvettschacht ist frei von Partikeln, Staub und Flüssigkeit.
- Messvolumen in der Küvette ist ausreichend. Minimales Messvolumen beachten.
- Messlösung ist frei von Partikeln und Blasen.
- Fluorimetrie: Messlösung ist frei von Stoffen, die unerwünschte Eigenfluoreszenz zeigen oder die Fluoreszenz des zu untersuchenden Stoffes schwächen.
- Küvettemperatur ist oberhalb der Temperatur des Taupunktes, der für die Umgebungsbedingungen (Feuchte und Temperatur) gilt.



Die Richtung des Lichtwegs ist mit einem Pfeil auf dem Gehäuse gekennzeichnet.

- Photometrie: Die Richtung des Lichtwegs von hinten nach vorn ist auf dem Gehäuse gekennzeichnet: "absorbance".
- Fluorimetrie: Die Richtung des Lichtwegs von rechts nach links und zurück ist auf der Küvettschachtabdeckung gekennzeichnet: "fluorescence".

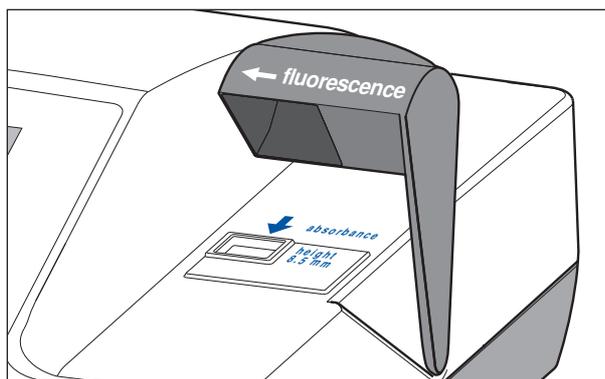


Abb. 5-2: Kennzeichnung der Lichtwege

1. Positionieren Sie die Küvette so, dass das optische Fenster der Küvette in Richtung des Lichtwegs zeigt.
2. Drücken Sie die Küvette beim Einsetzen gegen einen leichten Widerstand ganz nach unten.
3. Fluorimetrie: Küvettschachtabdeckung vor der Messung schließen.

5.3 Übersicht über den Messablauf

5.3.1 Messung vorbereiten

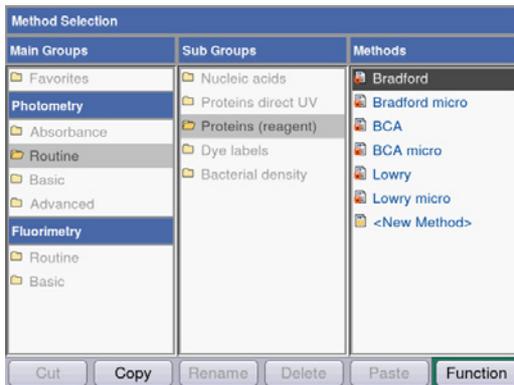
1. Schalten Sie das Gerät und gegebenenfalls den Drucker ein.
Das Gerät führt einen Selbsttest durch (Dauer ca. 1 Minute) und zeigt die Methodenauswahl an.
2. Stellen Sie die Küvetten für die Messungen bereit (siehe *Küvette einsetzen auf S. 25*).
3. Stellen Sie die Messlösungen für die Messungen der Leerwerte, ggf. der Standards und der Proben bereit.
4. Öffnen Sie die Abdeckung des Küvetenschachts.



Messlösungen für Standards und Proben mit geringeren Extinktionen als 0,05 A sollten nicht eingesetzt werden. Die Nachweisgrenze des Geräts liegt zwar wesentlich niedriger, jedoch ist der Einfluss von Störungen aus den Messlösungen (z.B. Partikel, Blasen, Trübungen) auf die Zuverlässigkeit des Ergebnisses bei diesen geringen Extinktionen sehr groß. Weitere Informationen wie z. B. den Userguide Nr. 013 finden Sie auf unserer Internetseite www.eppendorf.com.

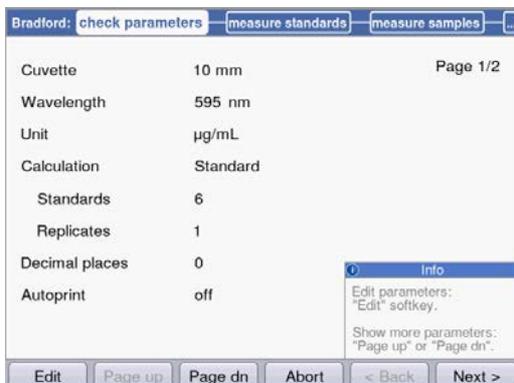
5.3.2 Messablauf

5.3.2.1 Methode auswählen



- ▶ Wählen Sie mit den Cursor-Tasten die gewünschte Methode und rufen Sie die Methode mit der Taste **enter** auf.

Eine Übersicht und detaillierte Beschreibung der Methoden finden sie im nächsten Kapitel (siehe *Methoden auf S. 33*).



Wizard: Der Wizard am oberen Rand der Anzeige führt Sie schrittweise durch den Methodenablauf.

Hilfebox: Bei jedem Schritt des Ablaufs erhalten Sie unten rechts in der Anzeige Hilfetexte.

Softkeys: Mit den Softkeys [**<** Back] und [Next **>**] bewegen Sie sich im Wizard einen Methodenschritt vor oder zurück.

Bedienung

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

5.3.2.2 Parameter prüfen

Bradford: check parameters | measure standards | measure samples | ...

Page 1/2

Cuvette	10 mm
Wavelength	595 nm
Unit	µg/mL
Calculation	Standard
Standards	6
Replicates	1
Decimal places	0
Autoprint	off

Info
Edit parameters:
"Edit" softkey.
Show more parameters:
"Page up" or "Page dn".

Edit | Page up | Page dn | Abort | < Back | Next >

- Überprüfen Sie die Parametereinstellung. Mit den Softkeys [Page dn] und [Page up] rufen Sie die Seiten der Parameterliste auf. Mit [Edit] ändern und speichern Sie Parameter.

5.3.2.3 Blank und Standards messen



Bei Auswertung ohne Standards (z.B. DNA-Messungen) entfällt dieser Methodenschritt.

Bradford: measure standards / new

	Conc. µg/mL	Abs. A ₅₉₅
Standard 1	100	-
Standard 2	250	-
Standard 3	500	-
Standard 4	750	-

Linear regression:
not calculated

Info
Measure blank:
"blank" key.

Last Cal | Curve Fit | Graph | Abort | < Back | Next >

- Messen Sie zunächst einen Leerwert (Taste **blank**).
- Messen Sie der Reihe nach alle Standards (Taste **standard**).

In der Anzeige ist jeweils der nächste zu messende Standard markiert. Mit den Softkeys [Graph] bzw. [Table] können Sie die Ergebnisansicht wechseln.

Bradford: measure standards / new

	Conc. µg/mL	Abs. A ₅₉₅
Standard 3	500	0.709
Standard 4	750	0.927
Standard 5	1000	1.047
Standard 6	1500	1.288

Quadratical regression:
Conc. = $924.41 \cdot A^2 - 134.52 \cdot A + 123.14$

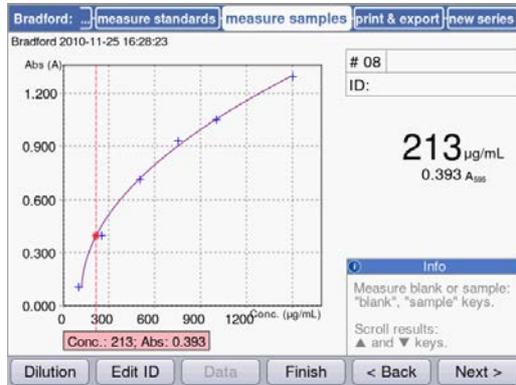
Coefficient of determination:
 $R^2 = 0.9970$

Info
Save evaluation and go to sample meas.:
"Next >" softkey. Scroll standards/replicates ▲ and ▼ keys.

Last Cal | Curve Fit | Graph | Abort | < Back | Next >

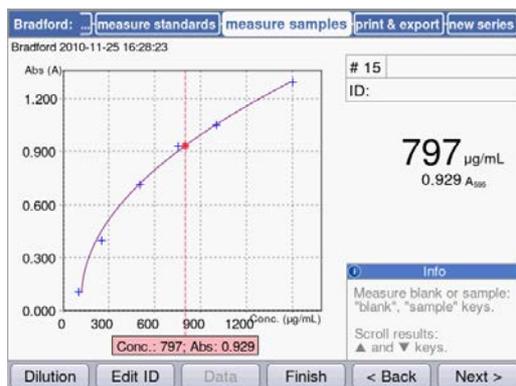
- Mit [Next] akzeptieren Sie die aus den Standardergebnissen errechnete Auswertung.

5.3.2.4 Proben messen



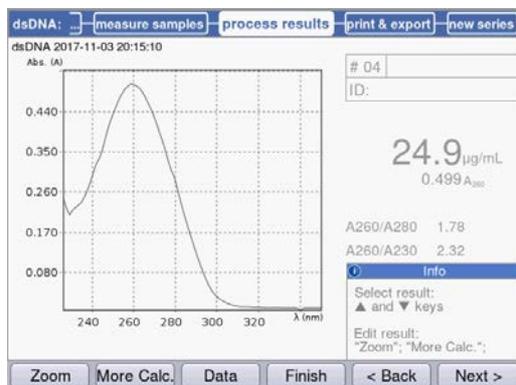
- ▶ Mit der Taste **sample** messen Sie der Reihe nach Ihre Proben. Leerwertergebnisse bleiben für eine Messreihe gespeichert. Eine neue Leerwertmessung ist aber jederzeit möglich. (In der hier gezeigten Abbildung eines Messablaufs mit Auswertung über Standardkurve wird zusätzlich zum Probenergebnis der Graph der Standardauswertung angezeigt.)

5.3.2.5 Methode abschließen



1. Drücken Sie [Finish], um die Messreihe zu beenden und zur Methodenauswahl zurückzukehren.
2. Schalten Sie nach Abschluss aller Messungen das Gerät aus und schließen Sie die Küvetenschachtabdeckung, um den Küvetenschacht vor Verschmutzung zu schützen.

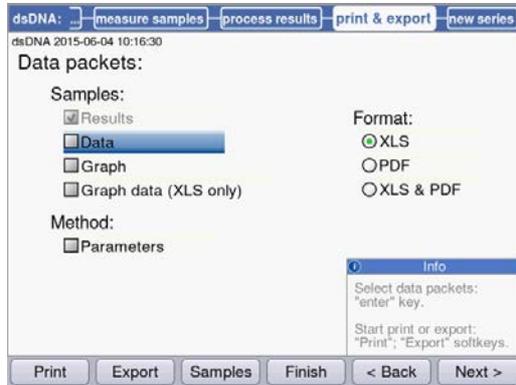
5.3.2.6 Optional: Ergebnisse nachbearbeiten



Bei einigen Methoden können Sie im Methodenschritt **process results** Ergebnisse nachbearbeiten. Zum Beispiel können Sie in Spektren die Zoom-Funktion **SpectraZoom** nutzen.

- ▶ Wählen Sie mit den Cursor-Tasten **▲** und **▼** gezielt Ergebnisse der Messreihe für die Nachbearbeitung aus.

5.3.2.7 Drucken und exportieren



1. Stellen Sie Datenpakete für alle oder für ausgewählte Proben zusammen.
2. Drucken Sie die Daten aus, speichern Sie sie auf einem USB-Stick, übertragen Sie sie über ein USB-Kabel an einen PC oder exportieren Sie sie per E-Mail.

5.3.3 Wichtige Hinweise für die Messungen



Beachten Sie bei jeder Messung:

- Bei Kunststoffküvetten: Wie viele Messungen nacheinander können in der Küvette zuverlässig durchgeführt werden?
- Messen Sie vor Proben- oder Standardmessungen den Leerwert der Küvette, um neben dem Reagenzleerwert auch den Küvettenleerwert zu kompensieren.
- Leerwtergebnisse bleiben für eine Messreihe gespeichert, eine neue Leerwertmessung ist aber jederzeit auch zwischen Probenmessungen möglich.
- Die angezeigten Extinktionswerte und RFU-Werte entsprechen immer den direkt gemessenen Werten. Verdünnungs- oder Küvettenfaktor sowie Background-Extinktionen werden erst für die anschließende Ergebnisberechnung einbezogen (siehe *Extinktionswerte auf S. 101*).
- Die Dauer vom Start einer Messung bis zur Anzeige eines Messergebnisses beträgt typischerweise ca. 2 bis 3 Sekunden. Wenn wenig Licht auf den Empfänger gelangt (hohe Extinktionswerte oder niedrige RFU-Werte), kann die Messzeit automatisch auf bis zu 9 Sekunden (Photometrie) bzw. 6 Sekunden (Fluorimetrie) verlängert werden, um die Präzision der Messung zu erhöhen
- Achten Sie darauf, dass die gemessenen Extinktionswerte die Obergrenze des photometrischen Messbereichs nicht überschreiten. Verwerfen Sie in diesem Fall das Messergebnis. Die Obergrenze des photometrischen Messbereichs ist nicht nur von der Wellenlänge (siehe *Photometrische Eigenschaften auf S. 98*), sondern auch vom Küvettenleerwert abhängig. Ultramikroküvetten mit kleiner Blende wie **TrayCell** (Hellma) können einen Küvettenleerwert bis ca. $A = 1$ besitzen. Um diesen Betrag wird der verfügbare photometrische Messbereich reduziert. Den Küvettenleerwert können Sie abschätzen, wenn Sie die mit demineralisiertem Wasser gefüllte Küvette als Probe gegen den leeren Küvettschacht als Blank messen. Der Küvettenleerwert der Eppendorf μ Cuvette G1.0 ist zu vernachlässigen (nahe $A = 0$).
Fluorimetrie: Eine erhöhte Eigenfluoreszenz der Küvette (typisch bei Küvetten aus Kunststoff) kann den zur Verfügung stehenden Messbereich einschränken.
- Entfernen Sie nach der Messung die Messlösung vollständig, bevor Sie die nächste Messlösung einfüllen, um Verschleppung zu minimieren. Wenn aufgrund von hohen Konzentrationsunterschieden Verschleppung von einer Probe zur nächsten Probe zu erwarten ist, spülen Sie die Küvette zwischen den Messungen.
- Bei Temperaturunterschieden zwischen Lampe und Umgebung kann photometrische Drift auftreten. Bringen Sie daher ein Gerät, das aus einer kälteren Umgebung kommt, zunächst auf Umgebungstemperatur.
Vermeiden Sie schnelle Temperaturwechsel. Führen Sie bei längeren Messreihen oder bei Messungen nach einem längeren Zeitraum eine neue Leerwertmessung durch.

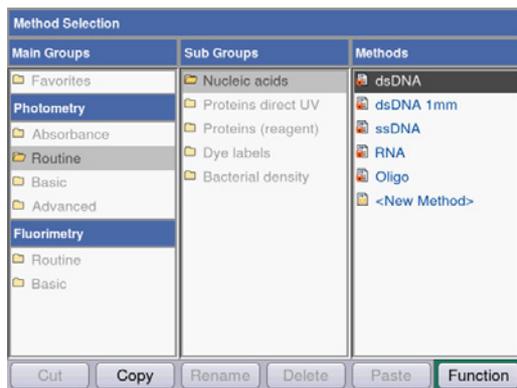
Bedienung

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

6 Methoden

6.1 Methode auswählen

Methoden und Methoden-Templates sind bereits mit Auslieferung vorprogrammiert. Die beiden Hauptgruppen **Photometry** und **Fluorimetry** sind in Untergruppen geordnet.



Schreibgeschützte Methoden		Die wichtigsten Methoden der Molekularbiologie. Sie können die Parameter zwar verändern, dann aber nur unter neuem Methodennamen abspeichern.
Nicht schreibgeschützte Methoden		Sie können die Parameter beliebig verändern und nach Speichern direkt mit der Messung beginnen.
Templates für neue Methoden		Jede Methodengruppe enthält ein Template, das zur Erleichterung der Programmierung neuer Methoden bereits mit kompletten Parametersätzen vorprogrammiert ist. Die Parameter können beliebig verändert und unter neuem Namen abgespeichert werden.

Um eine Methode aufzurufen, wählen Sie mit den Cursor-Tasten zunächst die Hauptgruppe, Untergruppe und die Methode aus. Bestätigen Sie jeweils mit **enter**.

Tab. 6-1: Photometrische Methoden

Absorbance	Methoden für schnelle, einfache Extinktions- und Transmissionsmessungen ohne weitere Auswertung.
Routine	Häufig genutzte Methoden der Molekularbiologie. Die Methoden sind fest vorprogrammiert. Eine Änderung von Parametern ist aber mit Speichern unter neuem Namen möglich.
Basic	Methoden für die Auswertung von Extinktionsmessungen mit Faktor, Standard oder Standardkurve/-gerade.
Advanced	Methoden für die Auswertung von Zwei-Wellenlängen-Messverfahren.
Favorites	In Favorites können Sie mit <New Folder> eigene Ordner einrichten und Ihre häufig benutzten Methoden in diese Ordner kopieren, um schnell auf diese Methoden zugreifen zu können.

Methoden

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

Tab. 6-2: Fluorimetrische Methoden

Routine	Fluorimetrische Nukleinsäure- und Proteinmessungen mit den Reagenzien der Firma Invitrogen. (Die Durchführung dieser Verfahren könnte eine Lizenz der Firma Molecular Probes, Inc., Eugene, OR, USA oder Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, USA erfordern.)
Basic	<ul style="list-style-type: none"> • Methoden für die Auswertung von Fluoreszenzmessungen mit Standard oder Standardkurve/-gerade. • Methode Raw fluorescence für die schnelle Messung der Fluoreszenz ohne weitere Auswertung.

In allen Ordnern können Sie mit **<New Method>** neue Methoden erstellen.

In **Favorites** können Sie eigene Ordner erstellen (z. B. für personenorientierte Zuordnung), umbenennen und löschen.

Tab. 6-3: Softkeys in der Methodenauswahl

[Cut] und [Paste]	Methoden ausschneiden und einfügen.
[Copy] und [Paste]	Methoden kopieren und einfügen.
[Delete]	Methoden löschen.
[Rename]	Methoden umbenennen.

Kopierte oder ausgeschnittene Methoden können Sie entweder in einen anderen Ordner unter **Favorites** oder unter neuem Namen in den ursprünglichen Ordner einfügen. Navigieren Sie mit den Cursor-Tasten in die Spalte **Methods** des gewünschten Ordners und drücken Sie [paste] zum Einfügen der Methode.

6.2 Methodenbeschreibung Photometrie

In diesem Kapitel werden die vorprogrammierten Methoden und Methoden-Templates beschrieben.

6.2.1 Methodengruppe *Absorbance*

Single λ

- Extinktionsmessung bei einer Wellenlänge.
- Keine nachgeschaltete Auswertung.
- Bestimmung der Transmission einer Probe möglich.

Multi λ

- Extinktionsmessungen bei zwei bis sechs Wellenlängen.
- Keine nachgeschaltete Auswertung.

Scan

- Messung eines Extinktions-Wellenlängen-Spektrums über einen definierten Wellenlängenbereich.
- Anzeige von Wellenlänge und Extinktion im Spektrum durch Navigation mit einem Wellenlängen-Cursor.
- Veränderung des Spektrenausschnitts über 3 verschiedene Zoom-Varianten möglich.
- Peak-Erkennung möglich.

6.2.2 Methodengruppe *Routine*

Die Methoden der Gruppe *Routine* sind als feste Methoden vorprogrammiert. Nach Änderung von Methodenparametern in den fest vorprogrammierten Methoden muss daher ein neuer Methodenname vergeben werden.

Nucleic acids

- Konzentrationsbestimmung von Nukleinsäuren durch Messung bei 260 nm und Auswertung über Faktor.
- Verschiedene Nukleinsäuremethoden wie dsDNA oder RNA sind vorprogrammiert. Die Parameter unterscheiden sich durch den Faktor.
- Vorprogrammierte Methode für Mikroliterküvetten: Messung von DNA in Probenvolumen im Mikroliterbereich mit Lichtweg 1 mm (mit Mikroliterküvetten wie Eppendorf μ Cuvette G1.0 oder Hellma® TrayCell).
- Folgende Zusatzinformationen zur Reinheit der gemessenen Nukleinsäure werden angezeigt und können bei Bedarf aus den Messparametern herausgenommen werden:
 - Ratio A260/A280, Ratio A260/A230
 - Extinktions-Wellenlängen-Spektrum der Nukleinsäure
 - Extinktion der Background-Wellenlänge (voreingestellt: 320 nm; die Extinktion der reinen Nukleinsäure sollte hier annähernd Null betragen)
- Partielle Trübungskorrektur über Parameter **Background** ist voreingestellt.
- Umrechnung der Konzentrationen in molare Konzentrationen sowie (nach Eingabe des Probenvolumens) in Nukleinsäuremengen möglich (Methodenschritt: **process results**).

Proteins direct UV

- Konzentrationsbestimmung von Proteinen durch Messung bei 280 nm und Auswertung über Faktor oder Standard.
- Vorprogrammierte Methoden zur direkten Ausgabe der Extinktionen als Ergebnis (*Protein A 280*) sowie zur Auswertung über Albumin-spezifischen Extinktionskoeffizienten (*Albumin A 280*).
- Vorprogrammierte Methode für Mikroliterküvetten: Messung von Protein in Probenvolumen im Mikroliterbereich mit Lichtweg 1 mm (mit Mikroliterküvetten wie Eppendorf μ Cuvette G1.0 oder Hellma® TrayCell).
- Folgende Zusatzinformationen zur Reinheit der gemessenen Proteins werden angezeigt und können bei Bedarf aus den Messparametern herausgenommen werden:
 - Extinktions-Wellenlängen-Spektrum des Proteins
 - Extinktion der Background-Wellenlänge (voreingestellt: 320 nm; die Extinktion des reinen Proteins sollte hier annähernd Null betragen).
- Partielle Trübungskorrektur über Parameter **Background** ist voreingestellt.
- Bei der Methodenprogrammierung wird durch einfache Auswahl des Proteins aus einer vorgegebenen Liste der zugehörige Faktor importiert. Die Definition der Faktoren erfolgt separat in den Funktionen der Gruppe **Gen. method param**. Verschiedene Proteine sind in **Gen. method param** vorprogrammiert. Weitere können Sie hinzufügen.

Methoden

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

Proteins (with reagent)

- Konzentrationsbestimmung von Proteinen durch Messung nach Farbreaktionen und Auswertung über Standards oder Faktor (typisch: Auswertung mit Standardkurve).
- Die Methoden *Bradford*, *Bradford micro*, *Lowry*, *Lowry micro*, *BCA* und *BCA micro* sind bereits vorprogrammiert. Je nach Reagenzhersteller muss gegebenenfalls der "Curve fit" (Standardkurventyp) verändert werden.

Dye labels

- Für Farbstoff-markierte Biomoleküle: Konzentrationsbestimmung des Biomoleküls (Nukleinsäure oder Protein) durch Messung bei 260 bzw. 280 nm sowie des Farbstoffs in einem Messablauf.
- Auswertung mit Faktor. Neben dem Biomolekül können bis zu zwei Farbstoffe bei zwei unterschiedlichen Wellenlängen parallel gemessen werden.
- Zusätzlich Auswertung der Einbaurate des Farbstoffes (FOI). Auswahl zwischen zwei verschiedenen FOI-Berechnungsverfahren.
- Bereits vorprogrammierte Methoden: *ssDNA*, markiert mit *Cy 3* bzw. *Cy 5*.
- Korrektur des Einflusses des Farbstoff-Spektrums auf die Richtigkeit der Biomolekülmessung ist möglich.
- Partielle Trübungskorrektur über Parameter **Background** möglich.
- Zusatzinformationen zur Reinheit der gemessenen Stoffe: Ratio A260/A280 und Ratio A260/A230 (Ratio-Werte nur für Nukleinsäuren), Extinktions-Wellenlängen-Spektrum.
- Bei der Methodenprogrammierung werden durch einfache Auswahl des Biomoleküls sowie des Farbstoffs aus vorgegebenen Listen verschiedene zugehörige Parameter wie Messwellenlängen und Auswertefaktoren importiert. Die Definition dieser Parameter erfolgt separat in den Funktionen der Gruppe **Gen. method param**. Verschiedene Nukleinsäuren, Proteine und Farbstoffe sind in **Gen. method param** vorprogrammiert. Sie können weitere Nukleinsäuren, Proteine und Farbstoffe hinzufügen.
- Nur für markierte Nukleinsäuren: Umrechnung der Konzentrationen in molare Konzentrationen sowie (nach Eingabe des Probenvolumens) in Nukleinsäure- und Farbstoffmengen möglich (Methodenschritt: **process results**).

Bacterial density

- Trübungsmessung zur Bestimmung der Bakteriendichte.
- Messung bei 600 nm ist bereits vorprogrammiert.
- Zusatzinformationen: Extinktions-Wellenlängen-Spektrum.



Die Messung der Bakteriendichte bei 600 nm ist keine absolute Messung. Es gibt verschiedene Faktoren, die das Ergebnis der Messung beeinflussen können. Ausführliche Informationen finden Sie auf unserer Internetseite www.eppendorf.com

6.2.3 Methodengruppe *Basic*

Factor, Standard

- Messung bei einer Wellenlänge und Auswertung über Faktor oder Standard.
- Methoden für die Auswertung über Faktor und Standard sind vorprogrammiert.
- Anzeige des Extinktions-Wellenlängen-Spektrums
- Partielle Trübungskorrektur über Parameter **Background** möglich.

Calibration curve

- Messung bei einer Wellenlänge und nachfolgende Auswertung mit einer Reihe von 2 bis 12 Standards.
- Verschiedene Auswerteverfahren ("Curve fit") wie lineare Regression, nichtlineare Regression sind auswählbar.
- Grafische und tabellarische Anzeige der Standardergebnisse.
- Nutzung der letzten gespeicherten Standardauswertung ist möglich.
- Eine Methode für die Auswertung mit Standardkurve ist vorprogrammiert.

6.2.4 Methodengruppe *Advanced*

Dual wavelength

- Messung bei zwei Wellenlängen und Auswertung der gemessenen Extinktionswerte über zwei Grundformeln (Subtraktion, Division)
- Varianten der Grundformeln können definiert werden.
- Das Resultat kann mit einem Faktor, mit einem Standard oder mit einer Standardreihe ausgewertet werden.
- Methoden für die Berechnung über Subtraktion sowie über Division und nachfolgender Auswertung mit Faktor sind vorprogrammiert.

6.3 Methodenbeschreibung Fluorimetrie

6.3.1 Methodengruppe *Routine*

Die Methoden der Gruppe *Routine* sind als feste Methoden vorprogrammiert. Nach Änderung von Methodenparametern in den fest vorprogrammierten Methoden muss daher ein neuer Methodename vergeben werden.

Die folgenden vorprogrammierten Methoden basieren auf den Arbeitsvorschriften der Firma Invitrogen für das jeweilige Reagenz. Die Durchführung dieser Verfahren könnte eine Lizenz der Firma Molecular Probes, Inc., Eugene, OR, USA oder Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, USA erfordern.

Nucleic acids

Fluorimetrische Konzentrationsbestimmung von Nucleinsäuren nach Reaktion mit Reagenzien.

- Messung von DNA mit PicoGreen, Auswertung mit Standardkurve/-gerade.
- Messung von RNA mit RiboGreen, Auswertung mit Standardkurve/-gerade.
- Messung von Oligonukleotiden mit OliGreen, Auswertung mit Standardkurve/-gerade.

Varianten der Methodenprogramme wurden als "short methods" programmiert. In "short methods" können Sie mit nur zwei Standards (Nullstandard und ein weiterer Standard) messen. Die Ergebnisse sind nicht so genau wie bei der Messung mit mehreren Standards, die Genauigkeit ist aber für viele Zwecke ausreichend, da die Standardkurve (Beziehung zwischen Messsignal und Konzentration) angenähert linear ist.

- Messung von DNA mit Qubit-Reagenzien, Auswertung mit Standardkurve/-gerade.
Keine "short method", da die Standardkurve nicht linear ist.

Methoden

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

Proteins

Fluorimetrische Konzentrationsbestimmung von Proteinen nach Reaktion mit Reagenzien.

- Messung von Proteinen mit NanoOrange, Auswertung mit Standardkurve/-gerade.
Die Methode basiert auf der Arbeitsvorschrift der Firma Invitrogen für dieses Reagenz.
Keine "short method", da die Standardkurve nichtlinear ist.



Die Methoden mit Qubit-Reagenzien weichen von den Arbeitsvorschriften der Firma Invitrogen ab. Es müssen zusätzlich zwei Standard-Verdünnungen hergestellt werden.

Zur Probenvorbereitung und Durchführung können Sie weitere Informationen von Eppendorf erhalten. Die Kontaktdaten des Application Support finden Sie auf der Rückseite dieser Bedienungsanleitung.

6.3.2 Methodengruppe *Basic***Raw fluorescence**

- Messung des RFU-Werts.
- Eine Methode für die Messung bei der Emissionswellenlänge 520 nm ist vorprogrammiert.

Standard

- Messung des RFU-Werts und Auswertung über Standard.
- Eine Methode für die Auswertung mit Standard ist vorprogrammiert.

Calibration curve

- Messung der RFU-Werte und Auswertung über 2 bis 12 Standards
- Verschiedene Auswerteverfahren wie lineare Regression ("Curve fit"), nichtlineare Regression sind auswählbar.
- Grafische und tabellarische Anzeige der Standardergebnisse.
- Nutzung der letzten gespeicherten Standardauswertung ist möglich.
- Eine Methode für die Auswertung mit Kalibrationskurve ist vorprogrammiert.

6.4 Methodenparameter

In diesem Kapitel werden die Parameter für die Programmierung der Methoden erläutert. Die Reihenfolge der Parameter in der Geräteanzeige kann im Vergleich zur Reihenfolge in der Tabelle bei einigen wenigen Methoden leicht verändert sein, um die Parameter in der Anzeige übersichtlich darzustellen. Die Tabelle stellt die Gesamtheit aller für die verschiedenen Methoden verfügbaren Parameter dar. Für die jeweilige Methode wird davon nur ein geringer Teil benötigt und in der Anzeige dargestellt.

Parameter	Eingabe	Erläuterung
Cuvette	Auswahl: 10 5 2 1 0,5 0,2 0,1 mm	Optische Schichtdicke der Küvette. Extinktionswerte werden vom Gerät immer automatisch auf die Schichtdicke 10 mm einer Standardküvette umgerechnet (siehe <i>Extinktionswerte auf S. 101</i>). Faktoren wie "50" für die Berechnung von dsDNA-Konzentrationen müssen daher nicht von Ihnen verändert werden, wenn Sie den Parameter Cuvette verändern.
No. of wavelengths	Werteeingabe: Bereich: 2 bis 6.	Nur für die Methodengruppe Multi λ . Anzahl der Wellenlängen, bei denen gemessen werden soll.
Wavelength	Werteeingabe: Messwellenlänge in nm. Bereich: 200 bis 830 nm.	Messwellenlänge: Auf der Basis der bei dieser Wellenlänge gemessenen Extinktion wird die Konzentration ausgerechnet. Bei den Methodengruppen Multi λ sowie Dual wavelength geben Sie mehr als eine Wellenlänge ein. Für einige Methodengruppen (z.B. Nucleic acids und Proteins direct UV) sind die Wellenlängen fest vorprogrammiert. Bei der Methodengruppe Dye labels geben Sie die Messwellenlängen nicht einzeln im Methodenablauf ein. Sie importieren sie über die einfache Auswahl von Biomolekül sowie Farbstoff automatisch aus der Funktion General Method Parameters .
Wavelength (em)	Auswahl: 520 nm 560 nm	Nur für fluorimetrische Methodengruppe Basic : Messwellenlänge: Auf Basis der bei dieser Wellenlänge (Emissionswellenlänge) gemessenen Fluoreszenz wird die Konzentration ausgerechnet. Bei den Methoden der Gruppe Routine ist die Wellenlänge fest vorprogrammiert.
Wavelength (ex)	Keine Eingabe möglich. Wellenlänge: 470 nm	Nur für fluorimetrische Methodengruppen: Anregungswellenlänge 470 nm wird angezeigt.

Methoden

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

Parameter	Eingabe	Erläuterung
Unit	Auswahl: mg/mL µg/mL ng/ mL pg/mL µg/µL mg/dL µmol/mL nmol/mL pmol/mL pmol/µL U U/mL U/L % Abs A/min Zusätzlich freie Programmierbarkeit weiterer Einheiten in der Funktion General Method Parameters/ Units . Max. 7 Stellen.	Einheit für das Konzentrationsergebnis. Die Auswahl ist bei den fest vorprogrammierten Methoden der Gruppe Routine auf für diese Methoden sinnvolle Einheiten begrenzt.
Formula type	Auswahl: division subtraction	Nur für die Methodengruppe Dual wavelength . Formeltyp für die Verrechnung der Extinktionen bei den beiden Messwellenlängen vor Auswertung mit Faktor oder Standard.
Formula: a	Werteingabe: Wert für <i>a</i> in der Auswerteformel. Grenze: max. 5-stellig einschließlich Dezimalpunkt.	Nur für die Methodengruppe Dual wavelength . Wert für <i>a</i> in den Formeln: $[(a \cdot A1) / (b \cdot A2)] \cdot c + d$ und $[(a \cdot A1) - (b \cdot A2)] \cdot c + d$.
Formula: b	Werteingabe: Wert für <i>b</i> in der Auswerteformel. Grenze: max. 5-stellig einschließlich Dezimalpunkt.	Nur für die Methodengruppe Dual wavelength . Wert für <i>b</i> in den Formeln: $[(a \cdot A1) / (b \cdot A2)] \cdot c + d$ und $[(a \cdot A1) - (b \cdot A2)] \cdot c + d$.
Formula: c	Werteingabe: Wert für <i>c</i> in der Auswerteformel. Grenze: max. 5-stellig einschließlich Dezimalpunkt.	Nur für die Methodengruppe Dual wavelength . Wert für <i>c</i> in den Formeln: $[(a \cdot A1) / (b \cdot A2)] \cdot c + d$ und $[(a \cdot A1) - (b \cdot A2)] \cdot c + d$.
Formula: d	Werteingabe: Wert für <i>d</i> in der Auswerteformel. Grenze: max. 5-stellig einschließlich Dezimalpunkt.	Nur für die Methodengruppe Dual wavelength . Wert für <i>d</i> in den Formeln: $[(a \cdot A1) / (b \cdot A2)] \cdot c + d$ und $[(a \cdot A1) - (b \cdot A2)] \cdot c + d$.
Calculation	Auswahl: Factor Standard	Auswerteverfahren für die Berechnung der Probenkonzentration aus der gemessenen Extinktion.

Parameter	Eingabe	Erläuterung
Factor	Werteeingabe: Faktor. Grenze: max. 6-stellig einschließlich Dezimalpunkt.	Faktor für die Umrechnung von Extinktionswerten/RFU-Werten in die Konzentration. Bei den folgenden Methodengruppen können Sie auch negative Faktoren eingeben: Dual wavelength, Factor . Bei der Methodengruppe Dye labels geben Sie die Faktoren nicht einzeln im Methodenablauf ein. Sie importieren sie über die einfache Auswahl von Biomolekül sowie Farbstoff automatisch aus der Funktion General Method Parameters .
Protein	Auswahl: Liste von Proteintypen, die in der Funktion General Method Parameters/Proteins hinterlegt sind.	Nur für die Methodengruppen Dye labels und Proteins direct UV . Bei der Auswahl des Proteins wird aus der Funktion General Method Parameters/Proteins auch der dort programmierte zugehörige Parameter Factor importiert.
Standards	Werteeingabe: Zahl der Standards. Bereich: 1 bis 12.	Zahl der verschiedenen Standardkonzentrationen für die Auswertung mit Standards. Bei einigen Methoden ist der Bereich für die Anzahl der Standards auf einen kleineren Bereich als 1 bis 12 begrenzt.
Replicates	Werteeingabe: Zahl der Replikate pro Standard. Bereich: 1 bis 3.	Zahl der Wiederholungsmessungen für die verschiedenen Standardkonzentrationen.
Std. Conc.	Werteeingabe: Konzentrationswerte der Standards. Grenze: Max. 6-stellig einschließlich Dezimalpunkt.	Je nach Zahl der Standards wird dieser Parameter für alle Standards angeboten (z.B.: Std. Conc. 1, Std. Conc. 2, ...).
Decimal places	Werteeingabe: Zahl der Nachkommastellen für das Ergebnis. Bereich: 0 bis 3.	Zahl der Nachkommastellen für das berechnete Konzentrationsergebnis.
Dye 1	Auswahl: Liste von Farbstoffen, die in der Funktion General Method Parameters/Dyes hinterlegt sind.	Nur für die Methodengruppe Dye labels . Bei der Auswahl des Farbstoffs werden aus der Funktion General Method Parameters/Dyes auch die dort programmierten, dem Farbstoff zugehörigen Parameter importiert: Faktor, Wellenlänge, ggf. Korrekturfaktoren für die Messung bei 260 bzw. 280 nm (siehe Beschreibung des folgenden Parameters).

Methoden

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

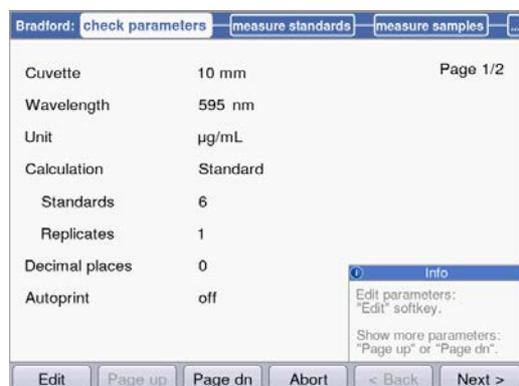
Parameter	Eingabe	Erläuterung
Correct A260 1	Auswahl: ein aus	Nur für die Methodengruppe Dye labels . Korrektur des Einflusses des Farbstoffspektrums auf die Extinktion bei der Messwellenlänge des Biomoleküls (260 bzw. 280 nm). Die Farbstoffspektren haben z.T. eine geringe Extinktion bei 260 und 280 nm. Diese Extinktionen verfälschen die Berechnungen für die Nukleinsäuren bzw. Proteine dieser Methoden. Zur Minimierung dieser Verfälschung werden Korrekturfaktoren benutzt, sofern diese für die jeweiligen Farbstoffe bekannt sind. Wird der Parameter eingeschaltet, wird der Korrekturfaktor aus der Funktion General Method Parameters/Dyes importiert.
Correct A 280 1	Auswahl: ein aus	Nur für die Methodengruppe Dye labels . Zur Erläuterung siehe Beschreibung des obigen Parameters Correct A 260 1 .
Dye 2 active	Auswahl: ein aus	Nur für die Methodengruppe Dye labels . Möglichkeit, auch einen zweiten Farbstoff parallel zu messen. Anwendung: Markierung eines Biomoleküls mit zwei Farbstoffen.
Dye 2	Auswahl: Liste von Farbstoffen, die in der Funktion General Method Parameters/Dyes hinterlegt sind.	Nur für die Methodengruppe Dye labels bei Messung von 2 Farbstoffen. Auswahl des zweiten Farbstoffs (vgl. Parameter Dye 1).
Correct A260 2	Auswahl: ein aus	Nur für die Methodengruppe Dye labels bei Messung von 2 Farbstoffen. Analog zu Parameter Correct A 260 1 .
Correct A 280 2	Auswahl: ein aus	Nur für die Methodengruppe Dye labels bei Messung von 2 Farbstoffen. Analog zu Parameter Correct A 280 1 .
Show scan	Auswahl: ein aus	Anzeige eines Scans (Extinktions-Wellenlängen-Graphen) zusätzlich zum Ergebnis bei der Probenmessung.
Start λ	Werteingabe: Wellenlänge in nm. Bereich: 200 bis 830 nm.	Startwellenlänge für die Aufnahme des Scans.
Stop λ	Werteingabe: Wellenlänge in nm. Bereich: 200 bis 830 nm. Wert muss höher sein als der Wert für Start λ .	Stoppwellenlänge für die Aufnahme des Scans.
A260/A280	Auswahl: ein aus	Nur für Nukleinsäuren. Anzeige der Ratio A260/A280 zusätzlich zum Ergebnis bei der Probenmessung.

Parameter	Eingabe	Erläuterung
A260/A230	Auswahl: ein aus	Nur für Nukleinsäuren. Anzeige der Ratio A260/A230 zusätzlich zum Ergebnis bei der Probenmessung.
FOI	Auswahl: none dye/kb pmole/ µg	Nur für die Methodengruppe Dye labels . Anzeige des FOI zusätzlich zum Ergebnis bei der Probenmessung. Der FOI (Frequency of Incorporation) ist ein Maß für die Zahl der in die Nukleinsäure eingebauten Farbstoffmoleküle pro Molekül der Nukleinsäure. Einheiten sind "dye/kb" (Moleküle Farbstoff pro 1000 Basen) oder "pmole/µg" (pmol Farbstoff pro µg Nukleinsäure). "none": keine FOI-Berechnung.
Background	Auswahl: ein aus	Vor der Ergebnisberechnung einer Probe wird die Extinktion einer Background-Wellenlänge, bei der der zu messende Analyt die Extinktion Null zeigen soll, von der Extinktion der Messwellenlänge subtrahiert. Häufige Anwendung: Partielle Trübungskorrektur bei Messung von Nukleinsäuren (Background-Wellenlänge hierfür: 320 nm oder 340 nm).
Wavelength	Wellenlänge in nm. Bereich: 200 bis 830 nm.	Wellenlänge, bei der der Background gemessen werden soll. Der zu messende Analyt sollte hier in reiner Form den Extinktionswert Null haben.
Background for dyes	Auswahl: ein aus	Nur für die Methodengruppe Dye labels . Anwendung der Background-Korrektur auf die Messung des Farbstoffs (siehe Parameter Background).
Wavelength	Wellenlänge in nm. Bereich: 200 bis 830 nm.	Nur für die Methodengruppe Dye labels . Wellenlänge, bei der der Background für den Farbstoff gemessen werden soll. Der zu messende Farbstoff in reiner, nicht kontaminierter Form sollte bei dieser Wellenlänge den Extinktionswert Null haben.
Autoprint	Auswahl: ein aus	Ausdruck eines Messergebnisses direkt nach der Messung mit dem Thermodrucker. Es werden nur die wesentlichen Ergebnisdaten ausgedruckt. Für die Ausgabe detaillierterer Daten können Sie zum Abschluss der Messserie im Methodenschritt print & export die gewünschten Datenpakete zusammen stellen und ausdrucken.
Transmission	Auswahl: ein aus	Wird der Parameter Calculate Transmission ausgewählt, wird die Transmission (in %) der Probe angezeigt.

Methoden

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

6.5 Methodenablauf



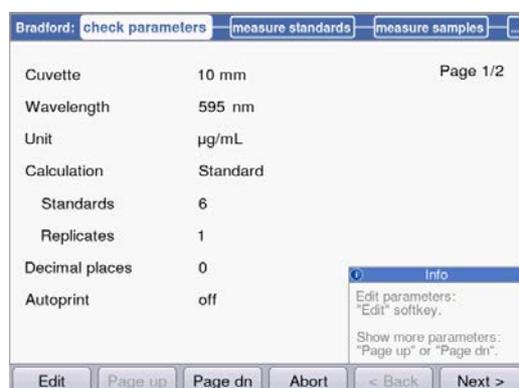
Der "Wizard" am oberen Rand der Anzeige führt Sie durch den Methodenablauf. Der jeweils aktive Methodenschritt ist hervorgehoben.

Ein Methodenablauf umfasst maximal 5 Schritte. Der jeweils aktive Schritt ist optisch hervorgehoben. Nach dem letzten Schritt **print & export** einer Messreihe wird als weiterer Schritt der Start einer neuen Messreihe angeboten. Diese beginnt wieder mit der Probenmessung.

Methodenschritt	Erläuterung
check parameters	Methodenparameter überprüfen. Änderung bei Bedarf.
measure standards	Nur bei Methoden mit Standardauswertung: Standards messen und auswerten. Alternativ Nutzung der zuletzt gespeicherten Standardauswertung möglich.
measure samples	Proben messen
process results	Nur bei einigen Methoden: Ergebnisse nachbearbeiten, z. B. Scan-Graphen zoomen.
print & export	Datenpakete für Druck oder Export der Daten zusammenstellen.

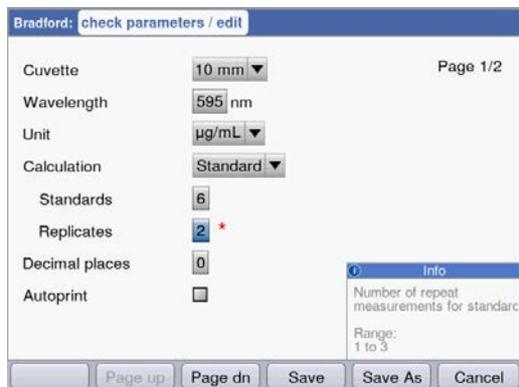
Mit den Softkeys [Next >] und [< Back] navigieren Sie zwischen den Methodenschritten. Mit [Abort] und [Finish] können Sie den Messablauf abbrechen bzw. beenden. Der Name dieser Softkeys wechselt nach der ersten Probenmessung von [Abort] auf [Finish].

6.5.1 check parameters



Softkeys

- [Page dn] und [Page up]: Zwischen den 1 bis 3 Parameterseiten wechseln.
- [Edit]: In den Editiermodus für Parameter wechseln.



Editiermodus für Parameter:

Geänderte Parameter werden mit einem roten Stern markiert, solange die Änderung nicht gespeichert wurde.

Softkeys

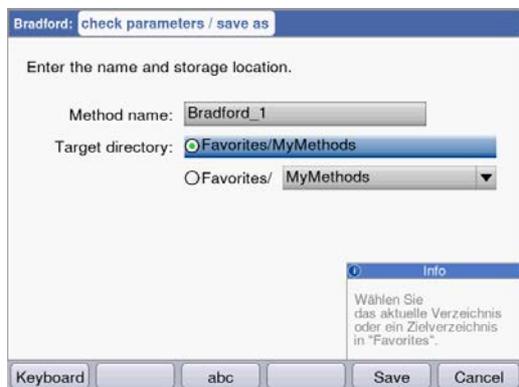
- [Save] und [Save as]: Änderungen speichern. Bei [Save as] müssen Sie der Methode einen neuen Namen geben. Das ist immer der Fall, wenn Sie die von Eppendorf vorprogrammierten Methoden der Gruppe **Routine** ändern.
- [Cancel]: Editiermodus ohne Speicherung der Änderungen verlassen.

Speichern der Methode unter neuem Namen:

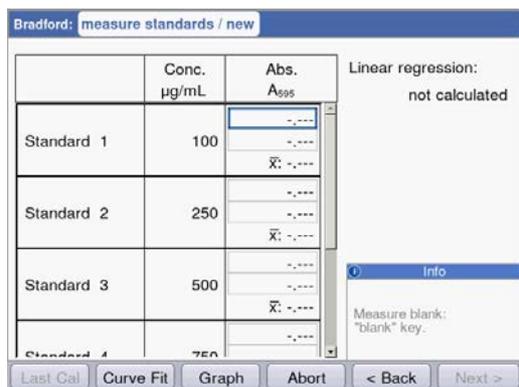
Sie können die Methode entweder im selben Ordner speichern, in dem Sie die Methode aufgerufen haben, oder in der Methodengruppe **Favorites** in einem frei wählbaren Ordner speichern.

Den Namen (maximal 20-stellig) können Sie über eine eingeblendete Tastatur (Softkey [Keyboard]) oder direkt über den Tastenblock (siehe *Text eingeben auf S. 25*) eingeben.

Nach dem Speichern gelangen sie zurück in die Anzeige **check parameters**.



6.5.2 measure standards



Der erste zu messende Standard ist in der Anzeige markiert. Messen Sie nach dem Leerwert (Taste **blank**) der Reihe nach alle Standards (Taste **standard**).

Wenn Sie mehr als ein Replikat pro Standard messen, wird der Mittelwert für jeden Standard automatisch errechnet und angezeigt.

Mit den Cursor-Tasten \blacktriangle und \blacktriangledown können Sie auch gezielt bestimmte Standards zur Messung auswählen. Auch eine Neumessung einzelner Standards ist so möglich.

Softkeys

- [Last call]: Die zuletzt gespeicherte Standardauswertung für diese Methode aufrufen, um diese für Probenmessungen zu nutzen.
- [Curve fit]: Verfahren zur Standardauswertung auswählen. Sie können das Verfahren auch nachträglich ändern, solange das Ergebnis nicht gespeichert wurde. Hinweise zur Auswahl des Auswerteverfahrens finden Sie im Kapitel Auswerteverfahren (siehe *Auswertung mit Standardkurve/-gerade auf S. 104*).
- [Graph]: In die grafische Anzeige der Standardergebnisse wechseln.

Methoden

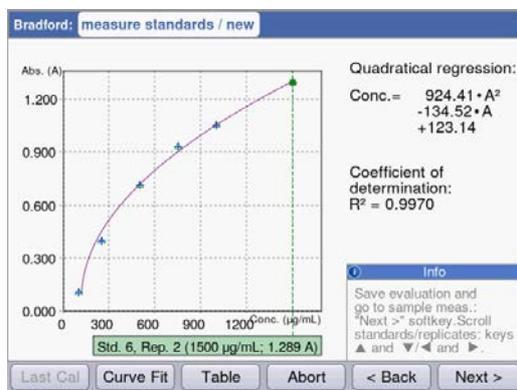
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

Standard	Conc. $\mu\text{g/mL}$	Abs. A_{595}
Standard 2	250	0.393 \bar{x} : 0.393
Standard 3	500	0.710 0.708 \bar{x} : 0.709
Standard 4	750	0.927 0.929 \bar{x} : 0.928
Standard 5	1000	-:-- -:-- \bar{x} : -:--

Quadratical regression:
 $\text{Conc.} = 532.44 \cdot A^2 + 234.21 \cdot A + 71.562$
 Coefficient of determination:
 $R^2 = 0.9998$

Info
 Measure standard 5 replicate 1: "standard" key. Save evaluation and go to sample meas.: "Next >" softkey.

Last Cal Curve Fit Graph Abort < Back Next >



Sobald die minimale Zahl von Ergebnissen für die Auswertung mit dem gewählten Verfahren (Curve fit) vorliegt, wird das Auswertungsergebnis im rechten Teil der Anzeige dargestellt. Eine vorzeitige Speicherung der Auswertung und Wechsel zur Probenmessung über die Taste [Next >] ist dann möglich.

Grafische Ansicht der Standardauswertung.

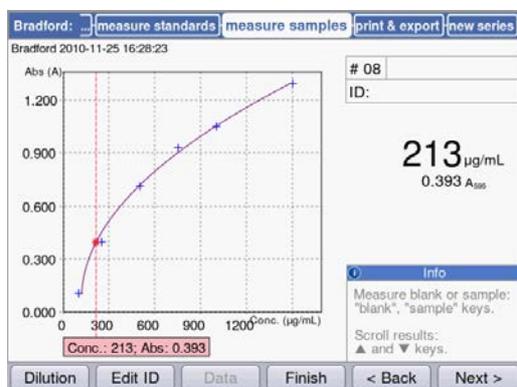
Mit den Cursor-Tasten \uparrow und \downarrow navigieren Sie zwischen den Standards, um die Ergebnisse anzuzeigen. Bei mehr als einem Replikat pro Standard können Sie mit \leftarrow und \rightarrow zwischen den Replikatergebnissen wechseln. Auch aus der grafischen Anzeige können Sie einzelne Standards anwählen und messen oder neu messen.

Softkeys

- [Table]: In die tabellarische Anzeige der Standardergebnisse wechseln.
- [Next >]: Standardauswertung speichern und zur Probenmessung wechseln.

6.5.3 measure samples

Mit der Taste **sample** messen Sie der Reihe nach Ihre Proben. Leerwertergebnisse bleiben für eine Messreihe gespeichert, eine neue Leerwertmessung ist aber jederzeit möglich. Mit den Tasten \uparrow und \downarrow können Sie zwischen den bisher in der Messreihe erzielten Probenergebnissen navigieren.



Ergebnisanzeige:

- Das Konzentrationsergebnis (6-stellig mit Fließkomma) wird deutlich hervorgehoben.
- Mit Grafik: Ergebnis rechts in der Anzeige.
- Ohne Grafik: Ergebnis zentral in der Anzeige.
- Zusätzlich zum Ergebnis wird der zugrunde liegende Extinktionswert kleiner angezeigt.

Weitere Daten

- oben rechts; 1. Zeile:
Probennummer: wird fortlaufend gezählt und für jede neue Messreihe wieder auf "1" gesetzt.
Probenverdünnung (sofern eingegeben)
- oben rechts; 2. Zeile:
Probenidentifikation (ID) (sofern eingegeben)
- oben links:
Dateiname, unter dem die Daten im Methodenschritt **print and export** als Excel-Datei exportiert werden (siehe S. 60).

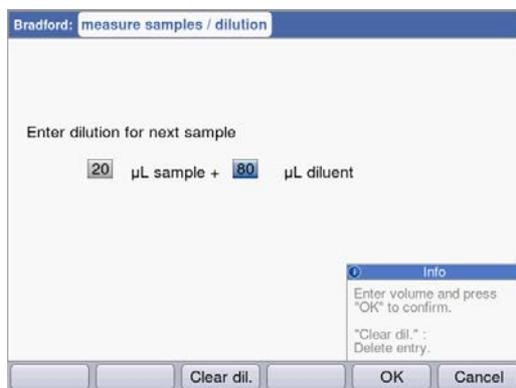
Softkeys

- [Dilution]: Probenverdünnung eingeben.
- [Edit ID]: Proben-ID eingeben
- [Data]: Zusätzliche Ergebnisdaten anzeigen (nicht bei allen Methoden).
- [Finish]: Messreihe beenden und zur Methodenauswahl zurückkehren.



Die angezeigten Extinktionswerte entsprechen immer den direkt gemessenen Werten. Verdünnungs- oder Küvettenfaktor sowie Backgroundextinktionen werden erst für die anschließende Ergebnisberechnung einbezogen (siehe *Extinktionswerte auf S. 101*).

Verdünnung eingeben



Der Softkey [Dilution] ist aktiviert, nachdem der Leerwert (Taste **blank**) gemessen worden ist.

1. Drücken Sie den Softkey [Dilution].
2. Geben Sie die Volumina für die Probe (maximal 3-stellig) und für den Verdünnungspuffer (maximal 4-stellig) ein.

Die nachfolgenden Probenergebnisse werden vom Gerät mit dem errechneten Verdünnungsfaktor multipliziert.

Softkeys

- [Clear dil.]: Werte für die Probenverdünnung löschen.
- [OK]: Probenverdünnung bestätigen und zur Probenmessung zurückkehren.
- [Cancel]: Eingabe abbrechen und zur Probenmessung zurückkehren.

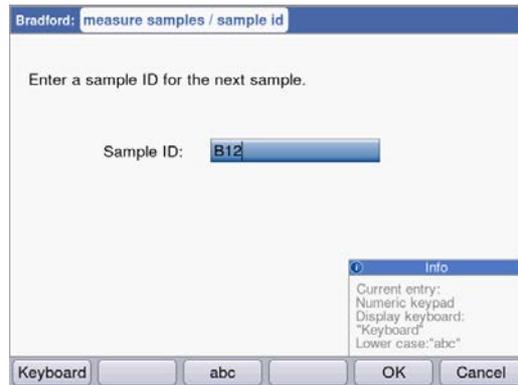
Die Verdünnung wird für alle nachfolgenden Probenergebnisse angewendet, bis sie durch erneute Eingabe geändert wird.

Methoden

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

Proben-ID eingeben

Die ID wird für das nachfolgende Probenergebnis angewendet. Bei Eingabe einer ID wird die zuletzt eingegebene ID vorgegeben, um so schnell fortlaufend strukturierte IDs eingeben zu können. Eine doppelte Vergabe derselben ID innerhalb einer Messreihe ist nicht möglich.



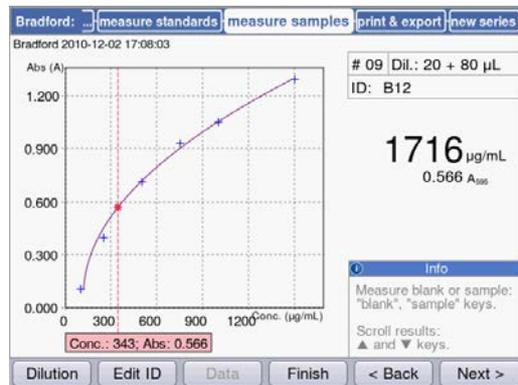
1. Drücken Sie den Softkey [Edit ID].
 2. Geben Sie die Proben-ID (maximal 12-stellig) ein.
- Alternativen zur Texteingabe:

- Tastenblock: Bei mehrmaligem Drücken der Taste direkt hintereinander werden die Eingabemöglichkeiten dieser Taste durchlaufen.
- Tastatur mit Softkey [Keyboard] einblenden: Zeichen mit den Cursor-Tasten auswählen und mit **enter** bestätigen.

Softkeys

- [Keyboard]: Tastatur einblenden.
- [abc]: Wechsel zwischen Groß- und Kleinbuchstaben bei Eingabe über den Tastenblock.
- [OK]: ID-Eingabe bestätigen und zur Probenmessung zurückkehren.
- [Cancel]: Eingabe abbrechen und zur Probenmessung zurückkehren.

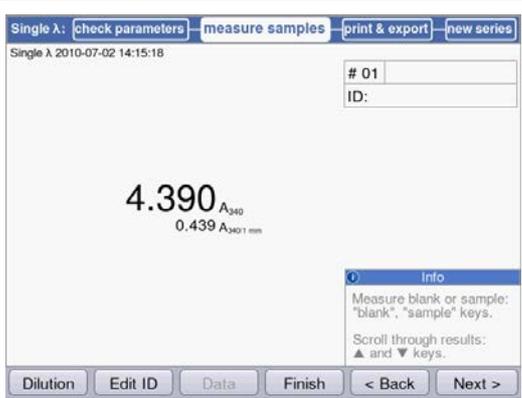
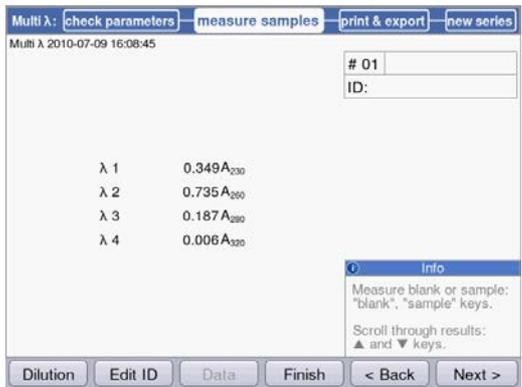
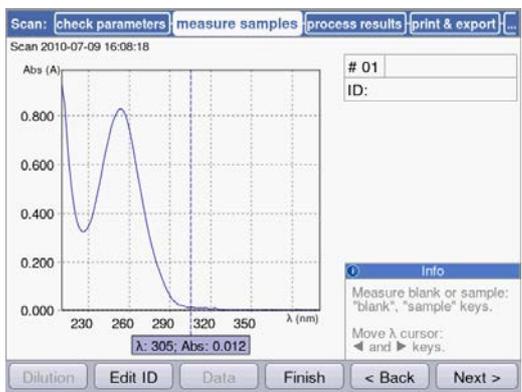
Ergebnisbild mit Verdünnung und ID



Ergebnisbild mit Verdünnung und Proben-ID.

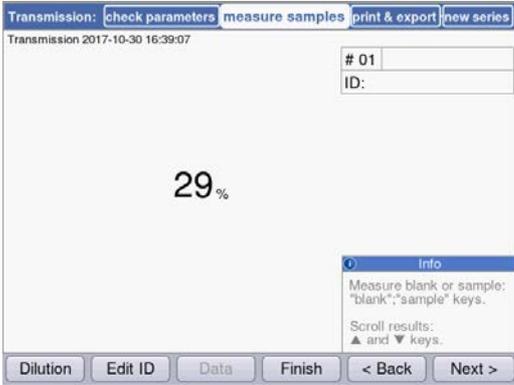
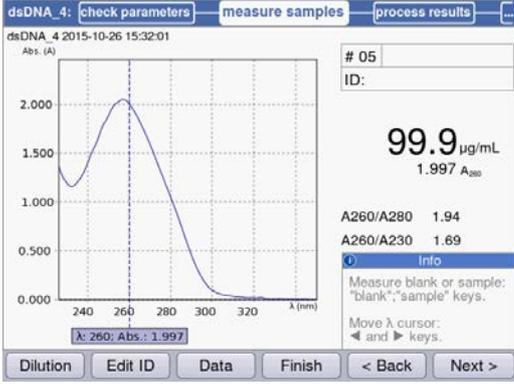
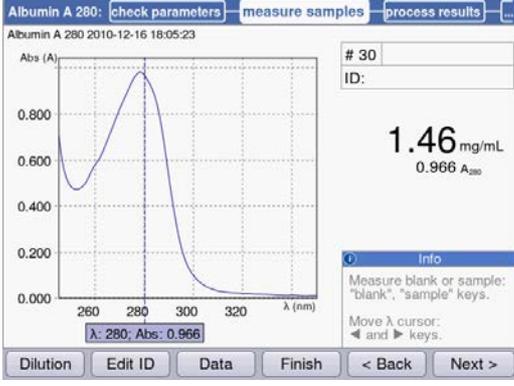
6.5.4 measure samples: Ergebnisanzeigen

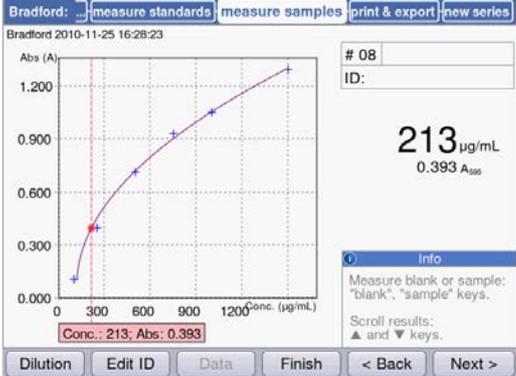
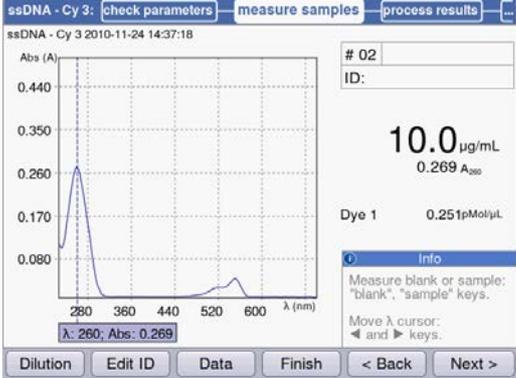
In diesem Abschnitt erhalten Sie für alle Methodengruppen eine Darstellung typischer Ergebnisanzeigen sowie einen Überblick über weitere Ergebnisdaten, die Sie über den Softkey [Data] erreichen.

Methodengruppe	Ergebnisanzeige	Erläuterung
Photometrie		
Hauptgruppe Absorbance		
Single λ	 <p>Single λ: check parameters measure samples print & export new series Single λ 2010-07-02 14:15:18</p> <p># 01 ID:</p> <p>4.390 A_{340} 0.439 $A_{3401 \text{ mm}}$</p> <p>Info Measure blank or sample: "blank", "sample" keys. Scroll through results: \blacktriangle and \blacktriangledown keys.</p> <p>Dilution Edit ID Data Finish < Back Next ></p>	<p>Ergebnisanzeige:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Extinktion bei der Messwellenlänge • Nur bei Verdünnung oder anderer Küvette als 10 mm: Zusätzliche Anzeige des Extinktionswerts vor der Umrechnung.
Multi λ	 <p>Multi λ: check parameters measure samples print & export new series Multi λ 2010-07-09 16:08:45</p> <p># 01 ID:</p> <p>λ 1 0.349 A_{230} λ 2 0.735 A_{260} λ 3 0.187 A_{280} λ 4 0.006 A_{320}</p> <p>Info Measure blank or sample: "blank", "sample" keys. Scroll through results: \blacktriangle and \blacktriangledown keys.</p> <p>Dilution Edit ID Data Finish < Back Next ></p>	<p>Ergebnisanzeige:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Extinktionen bei den Messwellenlängen <p>Zusatzdaten (Softkey [Data]):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nur bei Verdünnung oder anderer Küvette als 10 mm: Extinktionswerte vor der Umrechnung.
Scan	 <p>Scan: check parameters measure samples process results print & export ... Scan 2010-07-09 16:08:18</p> <p># 01 ID:</p> <p>Abs (A) 0.800 0.600 0.400 0.200 0.000</p> <p>230 260 290 320 350 λ (nm)</p> <p>λ: 305; Abs: 0.012</p> <p>Info Measure blank or sample: "blank", "sample" keys. Move λ cursor: \blacktriangleleft and \blacktriangleright keys.</p> <p>Dilution Edit ID Data Finish < Back Next ></p>	<p>Ergebnisanzeige:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Scan (Graph mit Extinktions-Wellenlänge-Anzeige) • Navigieren Sie zwischen den Messpunkten im Graphen mit \blacktriangleleft und \blacktriangleright.

Methoden

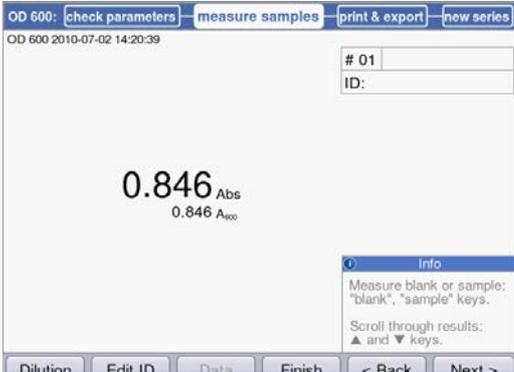
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

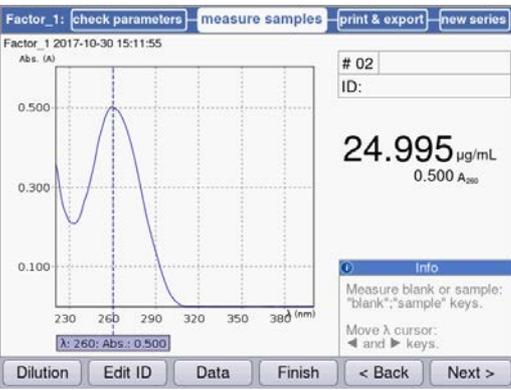
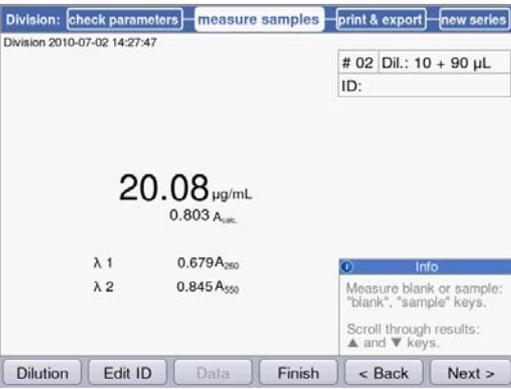
Methodengruppe Photometrie	Ergebnisanzeige	Erläuterung
Transmission		<p>Ergebnisanzeige:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Transmission der Probe in [%] • Ergebnisse von Küvetten mit einer geringeren Schichtdicke als 10 mm werden im Ergebnis gekennzeichnet.
Hauptgruppe Routine		
Nucleic acids		<p>Ergebnisanzeige:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Konzentrationsergebnis mit Extinktion bei der Messwellenlänge • Kann in den Parametern deaktiviert werden: Ratio A260/A280 • Kann in den Parametern deaktiviert werden: Ratio A260/A230. • Navigieren zwischen den Messpunkten im Graphen, die für die Ergebnisberechnung herangezogen werden können, mit ◀ und ▶. <p>Zusatzdaten (Softkey [Data]).</p> <ul style="list-style-type: none"> • Extinktionswert für 280 nm. • Extinktionswert für 230 nm. • Extinktionswert für die Background-Wellenlänge.
Proteins direct UV		<p>Ergebnisanzeige:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Konzentrationsergebnis mit Extinktion bei der Messwellenlänge • Navigieren zwischen den Messpunkten im Graphen, die für die Ergebnisberechnung herangezogen werden können, mit ◀ und ▶. <p>Zusatzdaten (Softkey [Data]).</p> <ul style="list-style-type: none"> • Extinktionswert für 260 nm. • Extinktionswert für die Background-Wellenlänge.

Methodengruppe Photometrie	Ergebnisanzeige	Erläuterung
<p>Proteins (with reagent)</p>		<p>Ergebnisanzeige:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Konzentrationsergebnis mit Extinktion bei der Messwellenlänge. • Bei Auswertung mit Standardreihe: Graph der Standardauswertung mit eingezeichnetem Probenergebnis.
<p>Dye labels</p>		<p>Ergebnisanzeige:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Konzentrationsergebnisse mit Extinktion bei der Messwellenlänge des Biomoleküls. • Falls in den Parametern aktiviert: Scan. <p>Navigieren Sie zwischen den Messpunkten im Graphen mit ◀ und ▶.</p> <p>Zusatzdaten (Softkey [Data]). Sofern die entsprechenden Parameter aktiviert wurden:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ratio A260/A280 und Ratio A260/A230. • Extinktionswerte für 280 nm und 230 nm sowie für die Messwellenlänge des Farbstoffs. • FOI-Wert. • Extinktionswerte für die Background-Wellenlängen. <p>Bei der Messung von Farbstoff-markierten Proteinen werden Ratios und FOI nicht angezeigt.</p>

Methoden

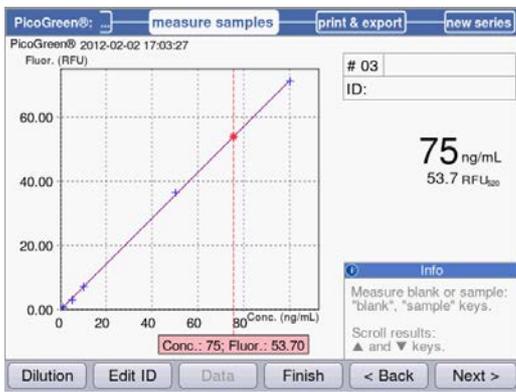
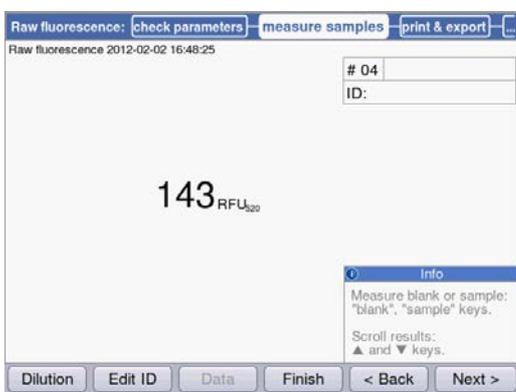
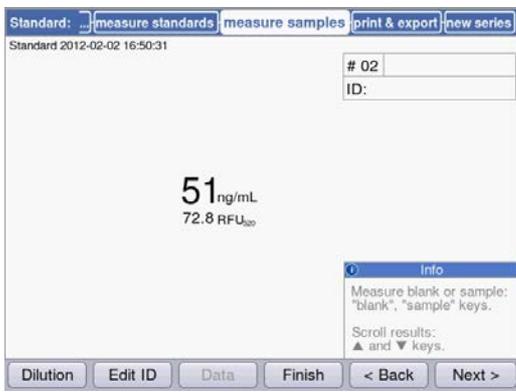
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

Methodengruppe Photometrie	Ergebnisanzeige	Erläuterung
Bacterial density		<p>Ergebnisanzeige:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Berechnetes Ergebnis mit Extinktion bei der Messwellenlänge. • Falls in den Parametern aktiviert: Scan. <p>Navigieren Sie zwischen den Messpunkten im Graphen mit ◀ und ▶.</p>

Methodengruppe Photometrie	Ergebnisanzeige	Erläuterung
Hauptgruppe Basic		
Factor, standard		<p>Ergebnisanzeige:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Konzentrationsergebnis mit Extinktion bei der Messwellenlänge. • Falls in den Parametern aktiviert: Scan. Navigieren Sie zwischen den Messpunkten im Graphen mit ◀ und ▶. • Mit dem Softkey [Data] werden die Extinktionswerte für die Background-Wellenlängen angezeigt.
Calibration curve	Analog zu <i>Proteins (with reagent)</i> (siehe oben)	<p>Ergebnisanzeige:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Konzentrationsergebnis mit Extinktion bei der Messwellenlänge. • Graph der Standardauswertung mit eingezeichnetem Probenergebnis.
Hauptgruppe Advanced		
Dual wavelength		<p>Ergebnisanzeige:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Konzentrationsergebnis: Wird aus A_{calc.} mit Faktor oder Standardauswertung berechnet. • A_{calc.}: Wird mit der in den Parametern definierten Formel aus den bei den beiden Wellenlängen gemessenen Extinktionen berechnet. • Extinktionswerte, die bei den beiden Messwellenlängen gemessen wurden. <p>Zusatzdaten (Softkey [Data]). Sofern die entsprechenden Parameter aktiviert wurden:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Extinktionswert für die Background-Wellenlänge.

Methoden

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

Methodengruppe Fluorimetrie	Ergebnisanzeige	Erläuterung
Hauptgruppe Routine		
Nucleic acids		<p>Ergebnisanzeige:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Konzentrationsergebnis mit RFU-Wert bei der Messwellenlänge • Graph der Standardauswertung mit eingezeichnetem Probenergebnis.
Proteins	Analog zu <i>Nucleic acids</i> (siehe oben).	<p>Ergebnisanzeige:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Konzentrationsergebnis mit RFU-Wert bei der Messwellenlänge • Graph der Standardauswertung mit eingezeichnetem Probenergebnis.
Hauptgruppe Basic		
Raw fluorescence		<p>Ergebnisanzeige:</p> <ul style="list-style-type: none"> • RFU-Wert bei der Messwellenlänge • Nur bei Verdünnung: Zusätzliche Anzeige des RFU-Werts vor der Umrechnung.
Standard		<p>Ergebnisanzeige:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Konzentrationsergebnis mit RFU-Wert bei der Messwellenlänge

Methodengruppe Fluorimetrie	Ergebnisanzeige	Erläuterung
Calibration curve	Analog zu <i>Nucleic acids</i> (siehe oben).	Ergebnisanzeige: <ul style="list-style-type: none"> • Konzentrationsergebnis mit RFU-Wert bei der Messwellenlänge • Graph der Standardauswertung mit eingezeichnetem Probenergebnis.

6.5.5 process results

Nach der Probenmessung folgen im Methodenablauf zwei optionale Schritte: **process results** und **print & export**.

Im Schritt **process results** können Sie bei einigen Methoden die Ergebnisse nachbearbeiten. Beispiel: Veränderung des Spektrenausschnitts eines Scans.

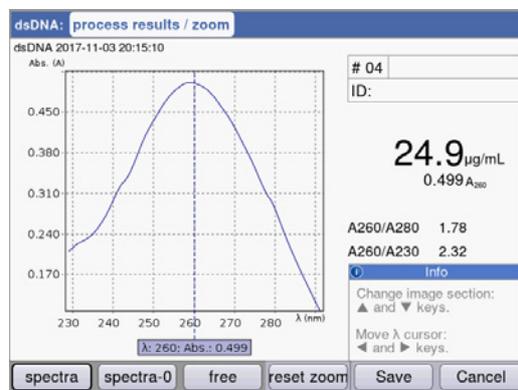
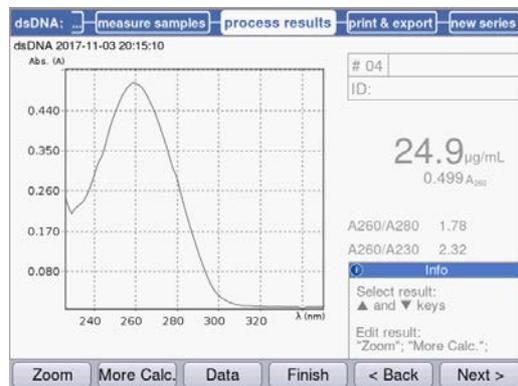
Wie in der Ergebnisanzeige können Sie mit den Cursor-Tasten  und  zwischen den Probenergebnissen der Messreihe navigieren und gezielt Ergebnisse zur Nachbearbeitung auswählen.

Tab. 6-4: Optionen: Übersicht

Option	Erläuterung	Verfügbar in Methode
Zoom	Achsenbegrenzung bei Extinktions-Wellenlängen-Graphen verändern, um die Darstellung auf vergrößerte Ausschnitte des Graphen zu beschränken.	Grundsätzlich alle Methoden, für die der Parameter Scan angeboten wird und aktiviert wurde. <ul style="list-style-type: none"> • Multi λ • Scan • Nucleic acids • Proteins direct UV • Dye labels
More calculations	Konzentrationsergebnisse in molare Konzentrationen sowie (nach Volumeneingabe) in Gesamtmengen umrechnen.	<ul style="list-style-type: none"> • Nucleic acids • Dye labels (mit Nukleinsäuren als Biomolekül)
Peak detection	Peaks in Extinktions-Wellenlängen-Spektren erkennen.	<ul style="list-style-type: none"> • Scan

Methoden

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)



Apply to all samples?

Would you like to apply the change to all samples in the dsDNA 2010-07-02 14 series of measurements?

"Yes" = Apply to all samples.
"No" = Apply only to the current sample.

Yes No Cancel

Optionen für die Nachbearbeitung werden auf den beiden linken Softkeys angeboten. In diesem Beispiel: [Zoom] und [More Calculations].

Nach Änderungen können Sie den aktuellen Modus mit den beiden rechten Softkeys verlassen:

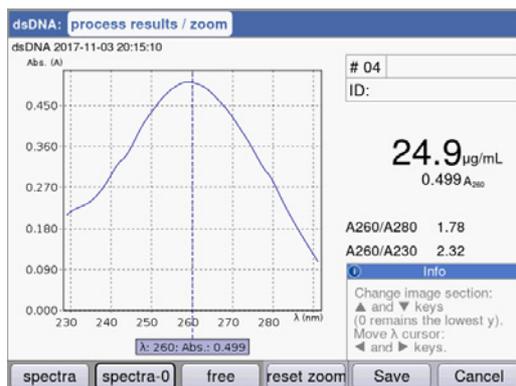
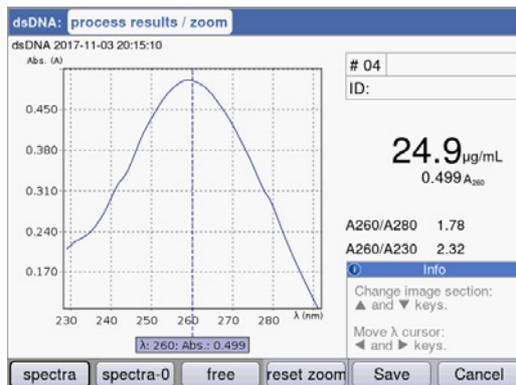
- [Save]: Änderung speichern und zum Methodenschritt **process results** zurückkehren.
- [Cancel]: Abbrechen und zum Methodenschritt **process results** zurückkehren.

Nach Speicherung der Änderungen können Sie diese mit [Yes] auf alle Proben der Messreihe übertragen.

6.5.6 process results: Optionen

Zoom

Drücken Sie den Softkey [Zoom] und wählen Sie eine der folgenden Varianten aus.



Variante [spectra]:

- Cursor-Tasten \leftarrow und \rightarrow : Wellenlängen-Cursor bewegen. Dieser bestimmt den Zoom-Mittelpunkt über der x-Achse.
- Cursor-Tasten \uparrow und \downarrow : Angezeigten Ausschnitts der x-Achse stufenweise nach dem SpectraZoom-Verfahren vergrößern und verkleinern.
Der angezeigte Ausschnitt der y-Achse wird bei jedem Schritt automatisch so angepasst, dass Maximum und Minimum der darzustellenden Daten den Ausschnitt optimal ausnutzen.

Variante [spectra-0]:

Entspricht der Variante [spectra] mit der Ausnahme: Die untere Grenze des dargestellten Ausschnitts der y-Achse entspricht immer "0 A".

Variante [free]:

Intervallgrenzen für beide Achsen können frei eingegeben werden.
Navigation zwischen den Eingabefeldern mit den Cursor-Tasten (\uparrow , \downarrow , \leftarrow , \rightarrow).

Bei allen 3 Varianten führt der Softkey [reset zoom] zur Ausgangsdarstellung des Spektrums zurück.

Methoden

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

More calculations

Drücken Sie den Softkey [More calc.].



- Für **dsDNA** wird bei der Berechnung der molaren Konzentration eine doppelsträngige Nucleinsäure angenommen. Für die Methoden **ssDNA**, **RNA** und **Oligo** wird eine einzelsträngige Nucleinsäure angenommen.
- Für Methoden, die in der Hauptgruppe **Routine**, Methodengruppe **Nucleic acids** über **<New Method>** neu programmiert wurden, werden für die Berechnung der molaren Konzentration immer doppelsträngige Nucleinsäuren angenommen.

Peak detection

Drücken Sie den Softkey [Peaks]. Zur Peak-Erkennung können Sie zwei Kriterien variieren:

- **λ-Raster:** Beurteilungsraster auf der Wellenlängenskala für die Peak-Erkennung (z.B. 10 nm).
Beispiel 10 nm: Der Spektrenausschnitt von -5 nm bis +5 nm in Bezug auf den zu erkennenden Peak wird beurteilt.
- **Mind. Δ Abs:** Minimale Differenz zwischen dem zu erkennenden Peak und der niedrigsten Extinktion im Beurteilungsraster. Gleichzeitig darf kein Extinktionswert im Raster höher sein als der Wert des Peaks (z.B.: 0.5).

Methodengruppe **Nucleic acids:**

- Nach Eingabe der Molmasse (alternativ in Basen/ Basenpaaren oder in kDa):
Konzentrationsergebnis in die molare Konzentration umrechnen.
- Nach Eingabe des Probenvolumens:
Gesamtmenge in der Probe berechnen.

Methodengruppe **Dye labels:**

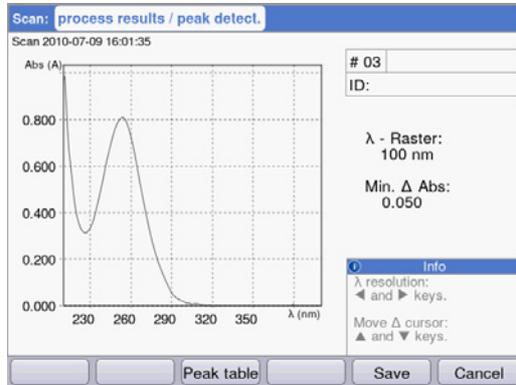
Nucleinsäure:

- Nach Eingabe der Molmasse (alternativ in Basen/ Basenpaaren oder in kDa):
Konzentrationsergebnis in die molare Konzentration umrechnen.
- Nach Eingabe des Probenvolumens:
Gesamtmenge in der Probe berechnen.

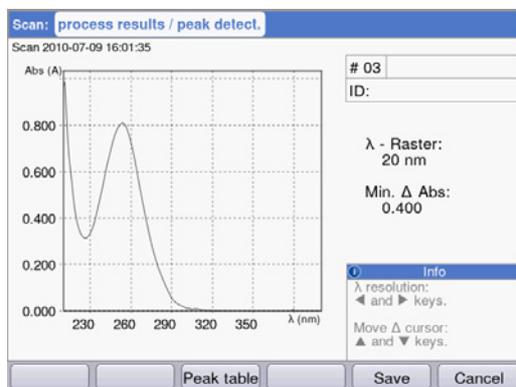
Farbstoff:

- Nach Eingabe des Volumens der Probe:
Gesamtmenge in der Probe berechnen.

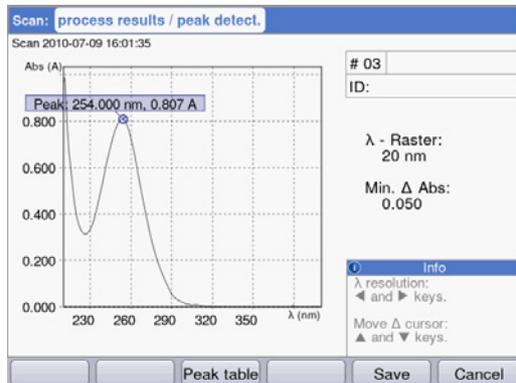
Beispiele:



λ -Raster: 100 nm, Mind. Δ Abs: 0.050:
Der Peak wird nicht erkannt, da das λ -Raster zu groß ist: Die Extinktionen am linken Rand des Rasters sind größer als die Extinktion des Peaks.



λ -Raster: 20 nm, Mind. Δ Abs: 0.200:
Der Peak wird nicht erkannt, da der vorgegebene Wert für **Mind. Δ Abs** zu groß ist. Die Differenz der Extinktion des Peaks und der niedrigsten Extinktion im Raster ist kleiner als 0.2 A.



λ -Raster: 20 nm, Mind. Δ Abs: 0.050:
Der Peak wird erkannt.

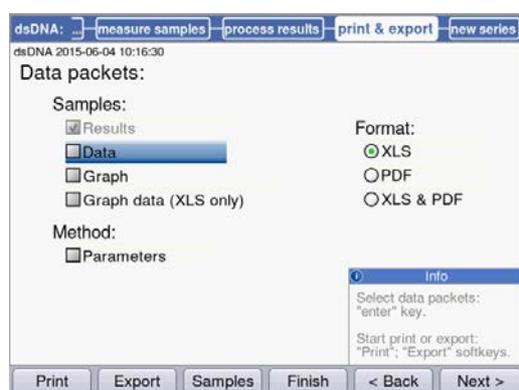
Methoden

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

6.5.7 print & export

Im letzten optionalen Methodenschritt können Sie Datenpakete für alle oder für ausgewählte Proben einer Messreihe zusammenstellen:

- für den Ausdruck auf dem Drucker
- für den Export auf einen USB-Stick
- für den Export über USB-Kabel direkt zu einem PC
- für den Export per E-Mail



Datenpakete auswählen

- Navigieren Sie mit den Cursor-Tasten und bestätigen Sie mit **enter**.

Format auswählen

- XLS: Als Excel-Tabelle exportieren.
- PDF: Als PDF exportieren oder ausdrucken.

Softkeys

- [Print]: Ausdruck starten.
- [Export]: Export starten.
- [Sample]: Einzelne Probenergebnisse auswählen.

Datenpakete auswählen

Results	Primäre Ergebnisdaten; nicht auswählbar, da sie immer übertragen werden.
Data	Zusätzliche Ergebnisdaten, die in den Ergebnisanzeigen während der Messung mit dem Softkey [Data] angezeigt werden.
Graph	Extinktions-Wellenlängen-Spektrum.
Graph data	Die numerischen Basisdaten für den Graphen. "export only": Nur für den Export, nicht für den Ausdruck verfügbar.
Parameters	Methodenparameter
Standards/Results	Ergebnisdaten der Standardauswertung.
Standards/Graph	(Nur bei Standardauswertungen mit mehreren Standards: Extinktions-Konzentrations-Graph.

In Abhängigkeit von der Methode und von der Parametereinstellung werden nur die jeweils verfügbaren Datenpakete angeboten.

Einzelne Probenergebnisse auswählen



Proben auswählen

- Drücken Sie den Softkey [Samples] um die Probenauswahl aufzurufen.
- Navigieren Sie mit den Cursor-Tasten und bestätigen Sie mit **enter**.

Softkeys

- [Select all]: Alle Proben auswählen
- [De-Sel. all]: Auswahl zurücksetzen.

Export starten

Die Daten werden als Excel-Datei (.xls) oder als PDF übertragen. Excel-Dateien sind mit Excel-Versionen ab Excel 97 lesbar. Für jedes der ausgewählten Datenpakete wird ein Tabellenblatt in Excel angelegt. Der Dateiname setzt sich aus dem Methodenamen, der Uhrzeit und dem Datum der Messreihe zusammen.



Export-Variante auswählen

- Navigieren Sie mit den Cursor-Tasten und bestätigen Sie mit **enter**.
- Export to external storage medium: Daten auf einen USB-Stick speichern. Wenn kein USB-Stick angeschlossen ist, ist diese Variante nicht anwählbar.
- Export to PC: Daten auf einem PC speichern.
- Export via email: Daten an eine E-Mail-Adresse schicken.

Export auf USB-Stick

1. Schließen Sie einen USB-Stick, FAT-32-formatiert, an den USB-Anschluss **4** an (siehe *Produktübersicht auf S. 15*).
2. Starten Sie mit [Export] den "Export auf ein externes Speichermedium".

Export auf PC

Voraussetzung für das Betriebssystem des PC: Windows XP, SP2 oder höhere Version.

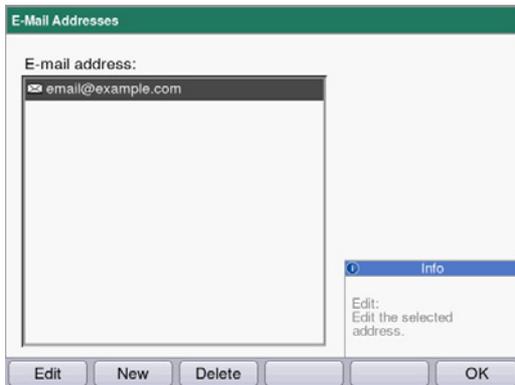
1. Verbinden Sie das Gerät mit dem PC über das USB-Kabel am USB-Anschluss **8** (siehe *Produktübersicht auf S. 15*).
2. Stellen Sie bei wiederholtem Export sicher, dass zuvor exportierte Daten auf die Festplatte des PC gespeichert wurden, da diese sonst durch den erneuten Export überschrieben würden.
3. Starten Sie mit [Export] den "Export auf den PC".
4. Das exportierte Datenpaket wird auf Ihrem PC als Wechseldatenträger mit dem Namen "eppendorf" angezeigt. Öffnen Sie die Datei in diesem Laufwerk und speichern Sie sie auf der Festplatte.

Methoden

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

Export an eine E-Mail-Adresse

1. Wählen Sie aus der Liste eine E-Mail-Adresse oder wählen Sie "Edit", um eine neue E-Mail-Adresse einzurichten.
2. Starten Sie mit [Export] den "Versand an eine EMail-Adresse".



E-Mail-Adressen bearbeiten

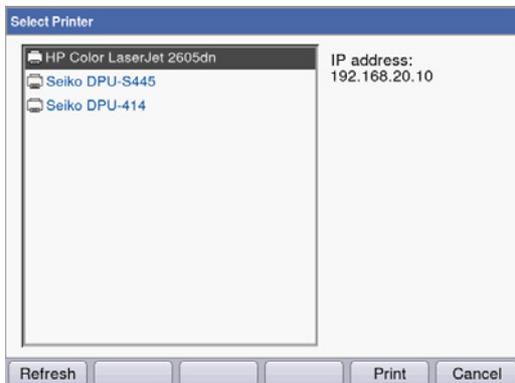
- Wählen Sie in der Dropdownliste "Edit" und bestätigen Sie mit **enter**.
Es öffnet sich ein Fenster, in dem die E-Mail-Adressen bearbeitet werden können.
- [Edit]: E-Mail-Adresse bearbeiten.
- [New]: Neue E-Mail-Adresse anlegen.
- [Delete]: E-Mail-Adresse löschen.

Ausdruck starten

Die Daten können über Drucker im Netzwerk oder über einen angeschlossenen USB-Drucker ausgedruckt werden.



Wenn das Gerät an ein Netzwerk angeschlossen ist, werden automatisch alle kompatiblen Drucker im Netzwerk erkannt und angezeigt. Besteht keine Verbindung zum Netzwerk, steht nur ein angeschlossener USB-Drucker zur Auswahl.

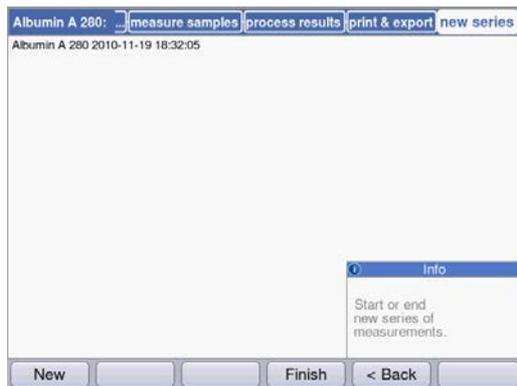


1. Wählen Sie einen Drucker aus.
2. Starten Sie mit [Print] den Ausdruck der Daten.

6.5.8 Messreihe abschließen

Im Anschluss an den letzten Methodenschritt **print & export** können Sie eine neue Messreihe mit der gewählten Methode starten oder eine neue Methode wählen.

Messreihe abschließen und neue Messreihe starten



- Softkey [Next >]: Methodenschritt **new series** aufrufen
- Softkey [New]: Methodenschritt **measure samples** aufrufen und eine neue Messreihe starten.

Messreihe abschließen und eine neue Methode wählen

- Softkey [Finish]: Messreihe abschließen und Methodenauswahl aufrufen.

Methoden

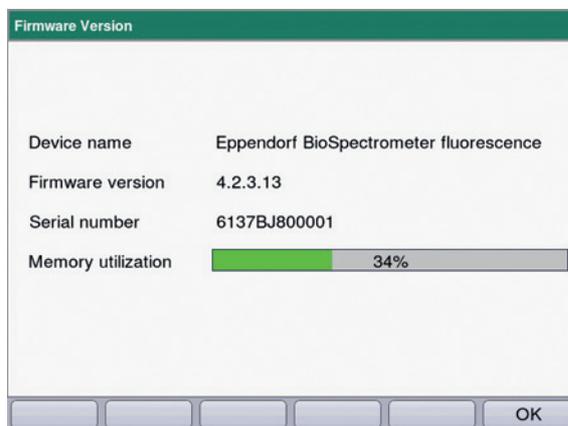
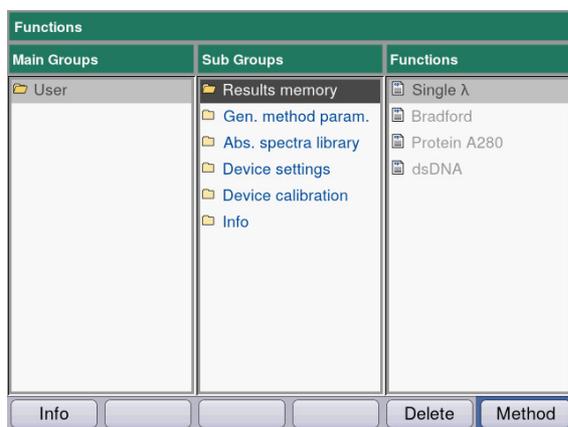
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

7 Funktionen

7.1 Funktionen der Hauptgruppe *User*

Mit der Taste **function** oder dem Softkey [Function] gelangen Sie in ein Menü mit Funktionen wie Geräteeinstellungen oder Abrufen gespeicherter Ergebnisse.

Die Funktionen sind analog zur Methodenauswahl in 3 Spalten strukturiert. Für Sie sind die Funktionen in der Hauptgruppe **User** zugänglich. Wie in der Methodenauswahl navigieren Sie mit den Cursor-Tasten, um zunächst die gewünschte Untergruppe und danach in der rechten Spalte die gewünschte Funktion auszuwählen. Mit **enter** rufen Sie die Funktion auf.



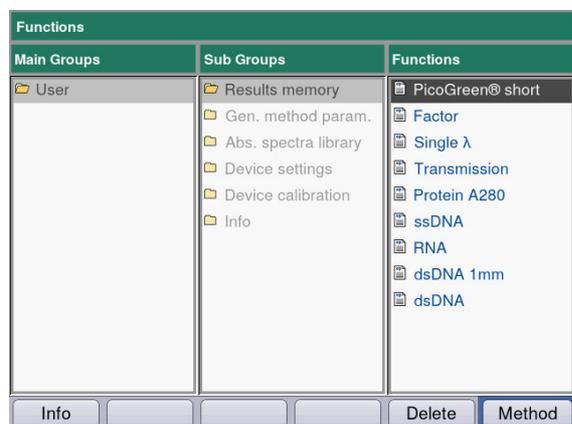
Softkey [Info]:

- Firmware-Version
- Seriennummer des BioSpectrometer fluorescence
- Aktuelle Speicherauslastung

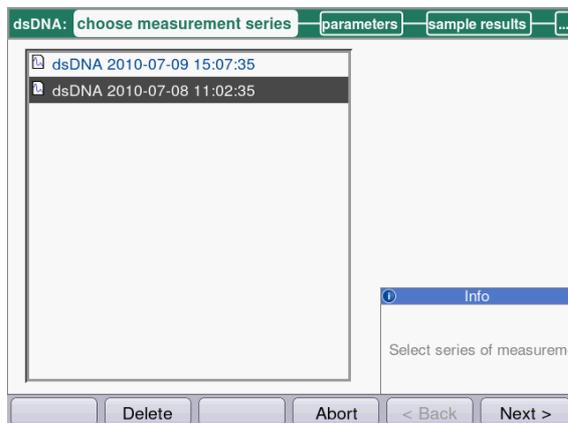
Tab. 7-1: Übersicht über die Funktionen

Untergruppe	Erläuterung
Results memory	<p>Gespeicherte Ergebnisse anzeigen. Die Ergebnisse sind nach Methoden und nach Messreihen strukturiert abrufbar und können aus dem Speicher heraus gedruckt, exportiert und gelöscht werden. Es ist möglich einzelne Messreihen, alle Messreihen einer Methode oder den gesamten Ergebnisspeicher zu löschen.</p> <ul style="list-style-type: none"> ▶ Um die Methode und alle dazugehörigen Messreihen zu löschen, drücken Sie den Softkey Delete. ▶ Bestätigen Sie mit enter.
General method parameters	<p>Parameter, die übergreifend für verschiedene Methoden genutzt werden, sind im Bereich Functions zentral gespeichert. Werkseitig eingestellte Parameter können nicht gelöscht werden. Neu erstellte Parameter können frei verändert werden. Im Methodenschritt Check parameters sind die übergreifenden Parameter über Auswahlboxen dann einfach auswählbar.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Proteins, Nucleic acids, Dyes enthalten Parameter, die für Methoden der Gruppe Dye labels und Proteins direct UV genutzt werden. • Units: Einheiten für Konzentrationsergebnisse, die für viele Methoden genutzt werden können.
Absorbance spectra library	<p>Extinktions-Wellenlängen-Spektren wichtiger Substanzen, z. B. DNA. Die Spektren dienen der Information und können als Vergleich zum Spektrum eines Probenergebnisses herangezogen werden.</p>
Device settings	<p>Editierbare Geräteeinstellungen, z. B. Sprache.</p>
Device calibration	<ul style="list-style-type: none"> • Möglichkeit zur Überprüfung des Spektralphotometers. Hierzu benötigen Sie einen Filtersatz von Eppendorf. • Möglichkeit zur Überprüfung der Fluoreszenzeinheit.
Info	<p>Open-Source-Lizenzen.</p>

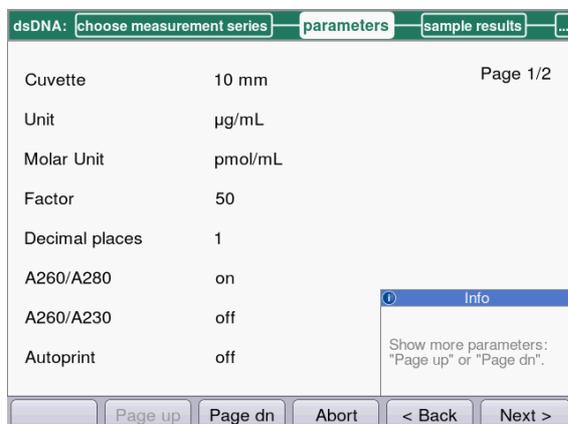
7.1.1 Results Memory



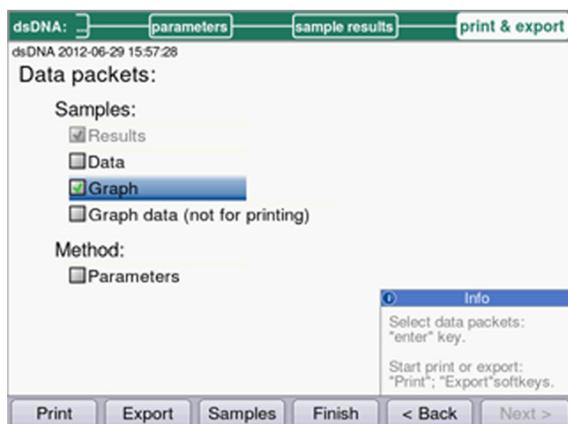
- ▶ Wählen Sie in der rechten Spalte die Methode aus, für die Sie gespeicherte Ergebnisse aufrufen möchten.
- ▶ Um die Methode und alle dazugehörigen Messreihen zu löschen, drücken Sie den Softkey **Delete**.
- ▶ Bestätigen Sie mit **enter**.



- ▶ Wählen Sie die gewünschte Messreihe mit den Cursor-Tasten.
- ▶ Um die Methode und alle dazugehörigen Messreihen zu löschen, drücken Sie den Softkey **Delete**.
- ▶ Bestätigen Sie mit **enter**.

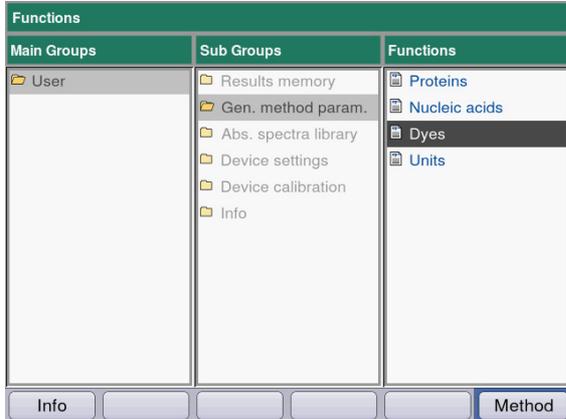


Wie im Methodenablauf können Sie auch hier der Reihe nach durch die Anzeigen der Parameter, der Standards, der Probenergebnisse und zuletzt der Datenpakete für Druck und Export wechseln. Die Belegung der Softkeys entspricht der Belegung im Methodenablauf.

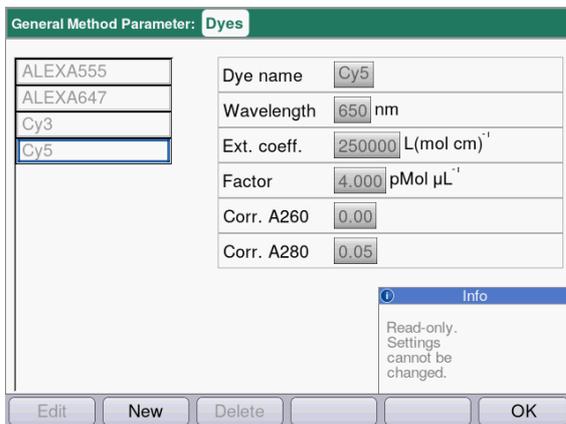


- ▶ Wenn Sie Ergebnisse drucken oder exportieren möchten, wählen Sie die Datenpakete aus. Der Ablauf für Druck und Export sowie die Bedeutung der Funktionstasten entspricht dem Methoden-Schritt **print & export**.

7.1.2 General Method Parameters



- ▶ Wählen Sie in der rechten Spalte die Parametergruppe aus, für die Sie Parameter editieren möchten.
- ▶ Bestätigen Sie mit **enter**.



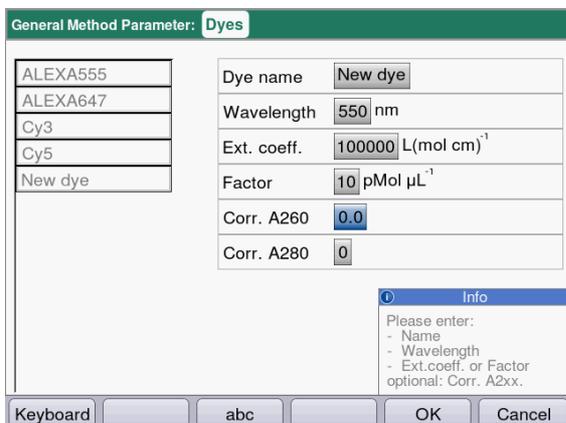
In diesem Beispiel sind Parametergruppen für verschiedene Dyes (Farbstoffkomponenten für die Dye-Methoden) zusammengefasst und jeweils unter einem Namen abgelegt. Unter diesem Namen kann die gewünschte Parametergruppe bei der Editierung einer Dye-Methode in das Methodenprogramm importiert werden. Die werkseitig vorliegenden Dyes sind schreibgeschützt und können nicht bearbeitet oder gelöscht werden.

Display:

- links: Name des Dyes. Wählen Sie mit ▲ und ▼.
- rechts: zugehörige Parameter

Softkeys

- [Edit]: Ausgewählte Parametergruppe editieren.
- [New]: Neue Parametergruppe erstellen.
- [Delete]: Ausgewählte Parametergruppe löschen.
- [OK]: In die Funktionsauswahl zurückkehren.

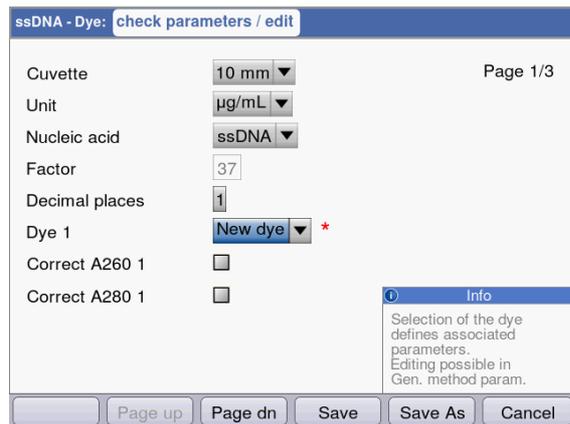


- ▶ Um eine Parametergruppe zu editieren, wählen Sie mit ▲ und ▼ den zu editierenden Parameter.
- ▶ Bestätigen Sie mit **enter**.

Softkeys

- [OK]: Eingabe speichern und in die Auswahl der Parametergruppe zurückkehren.
- [Cancel]: In die Auswahl der Parametergruppe ohne Änderung zurückkehren.

Bei der Programmierung einer Methode der Methodengruppen **Dye labels** oder **Proteins direct UV** können Sie auf die Einträge in **General Method Parameter** zugreifen:



Wählen Sie den Namen des Dyes aus, um die zugehörige Parametergruppe in das Methodenprogramm zu importieren. Über die Auswahl "edit" beim Parameter "Nucleic acid" können Sie auch direkt in die Funktion **General Method Parameter** gelangen und dort die Parameter ansehen sowie editieren.

Tab. 7-2: Parameter in General Method Parameter

Parameter	Erläuterung
Proteins	Diese Parameter werden bei der Auswahl eines Proteins bei der Programmierung einer Methode der Gruppe Dye labels sowie Proteins direct UV in die Methodenparameter geladen. Die werkseitig programmierten Parameter sind schreibgeschützt und können nicht bearbeitet oder gelöscht werden.
<ul style="list-style-type: none"> • Protein name • Factor • $A_{0.1\%}$ • Ext.coeff. • Molecular mass 	Neben dem Namen und der Wellenlänge können Sie zur Definition des Faktors für die Berechnung der Konzentration aus der Extinktion die folgenden Daten eingeben: Faktor oder $A_{0.1\%}$ oder Extinktionskoeffizient und Molmasse.
Nucleic acids	Diese Parameter werden bei der Auswahl einer Nukleinsäure bei der Programmierung einer Methode der Gruppe Dye labels in die Methodenparameter geladen. Die werkseitig programmierten Parameter sind schreibgeschützt und können nicht bearbeitet oder gelöscht werden.
<ul style="list-style-type: none"> • NA name • Factor • Double-stranded 	Der Faktor wird zur Berechnung der Konzentration aus der Extinktion benutzt. Der Parameter Double-stranded hat Einfluss auf die Berechnung der molaren Nukleinsäurekonzentration (siehe <i>Umrechnung in molare Konzentrationen und Nukleinsäuremengen auf S. 106</i>)

Funktionen

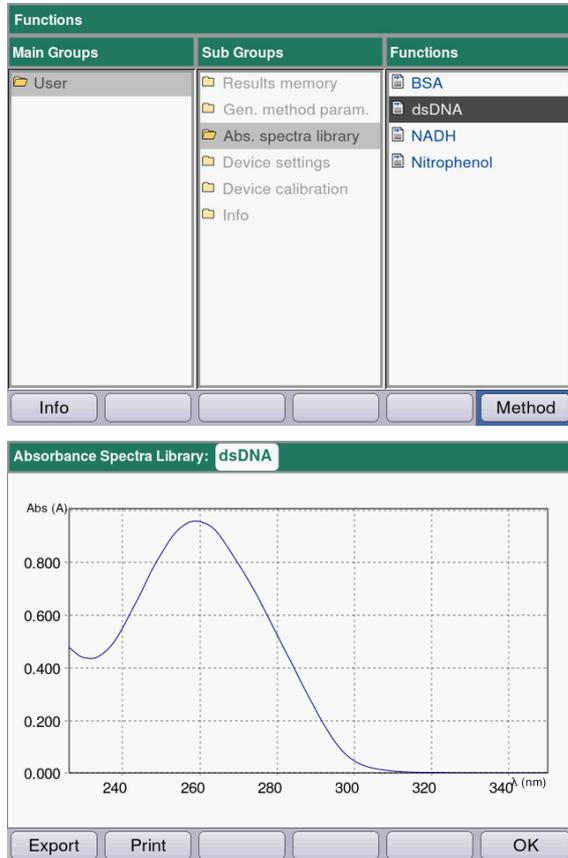
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

Parameter	Erläuterung
Dyes	Diese Parameter werden bei der Auswahl eines Farbstoffs (Dyes) bei der Programmierung einer Methode der Gruppe Dye labels in die Methodenparameter geladen. Die werkseitig programmierten Parameter sind schreibgeschützt und können nicht bearbeitet oder gelöscht werden.
<ul style="list-style-type: none"> • Dye name • Wavelength • Ext.coeff. • Factor • Corr. A260 • Corr. A280 	Neben dem Namen können Sie zur Definition des Faktors für die Berechnung der Konzentration aus der Extinktion die folgenden Daten eingeben: Faktor oder Extinktionskoeffizient. Die Korrekturfaktoren für die Extinktionen bei 260 bzw. 280 nm werden benutzt, wenn die Korrekturfunktion in den Methodenparametern aktiviert ist. Genauer ist im Kapitel zur Auswertung beschrieben (siehe <i>Korrektur A₂₆₀ und Korrektur A₂₈₀ auf S. 105</i>).
Units	Aus allen verfügbaren Einheiten können Sie bei der Programmierung von Methodenparametern eine Einheit auswählen. Einheiten, welche in vorprogrammierten Methoden verwendet werden, sind grau hinterlegt und können nicht gelöscht werden.
<ul style="list-style-type: none"> • Unit 	Eine noch nicht programmierte Einheit für das Konzentrationsergebnis eingeben.



- Kenndaten für Proteine, die nicht ab Werk vorprogrammiert sind, können in der Datenbank expasy ermittelt werden: <http://www.expasy.org/tools/protparam.html>.
- Eine Tabelle mit A_{1%}-Werten für viele Proteine finden Sie auch in: C.N.Pace et al., Protein Science (1995), 4: 2411–2423 (Tabelle 5). Die A_{1%}-Werte müssen mit 0,1 multipliziert werden, um die benötigten A_{0,1%}-Werte zu erhalten.

7.1.3 Absorbance Spectra Library

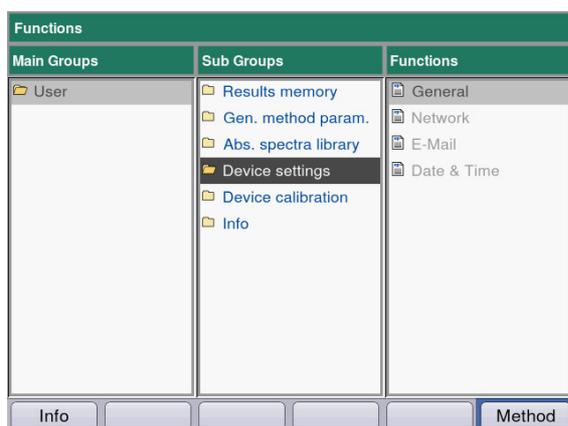


In der rechten Spalte wählen Sie das Spektrum aus, das Sie aufrufen möchten, und bestätigen Sie mit **enter**.

Softkeys

- [Export] und [Print]: Auf einen USB-Stick oder per USB-Kabel zu einem PC exportieren bzw. drucken (siehe *print & export auf S. 60*).
- [OK]: In die Funktionsauswahl zurückkehren.

7.1.4 Device Settings



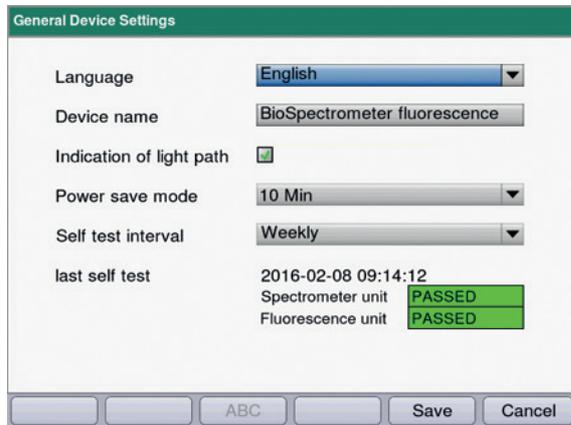
Folgende Einstellungen können angepasst werden:

Device Settings

- General
- Network
- E-Mail
- Date and Time

Funktionen

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)



General Device Settings

- Sprache auswählen: Deutsch, Englisch, Französisch, Spanisch, Italienisch, Japanisch*).
- Gerätename
- Zeitintervall für die Aktivierung des Energiesparmodus einstellen.
- Häufigkeit der automatischen Selbstüberprüfung nach dem Einschalten des Geräts einstellen.
- Hinweis auf Anzeige des Lichtwegs.
- Informationen zum letzten Selbsttest werden angezeigt.

*) Bei einer Sprachumstellung z. B. auf Japanisch wird der Schrifttyp gewechselt. Das kann dazu führen, dass Teile des Textes nicht richtig angezeigt werden.

- ▶ Gerät ausschalten und wieder einschalten. Die Sprachen werden nach dem Neustart korrekt dargestellt.

Softkeys

- [Save]: Änderungen speichern und in die Funktionsauswahl zurückkehren.
- [Cancel]: In die Auswahl der Parametergruppe ohne Änderung zurückkehren.

Network Settings

Fragen Sie ihren Netzwerk-Administrator, welche Einstellungen erforderlich sind.

- Auswahl, ob IP-Einstellungen automatisch per DHCP erfolgen sollen. Die IP-Einstellungen können auch manuell eingegeben werden.
 - IP-Adresse
 - Subnetzmaske
 - Standardgateway
- Auswahl, ob DNS-Einstellungen automatisch per DHCP erfolgen sollen (Nur verfügbar, wenn IP-Einstellungen automatisch per DHCP bezogen werden).
Folgende DNS-Einstellungen können manuell eingegeben werden:
 - Primärer DNS-Server
 - Sekundärer DNS-Server

Softkeys

- [MAC Info]: Informationen zu Netzwerkeinstellungen.
- [Save]: Änderungen speichern und in die Funktionsauswahl zurückkehren.
- [Cancel]: In die Auswahl der Parametergruppe ohne Änderung zurückkehren.

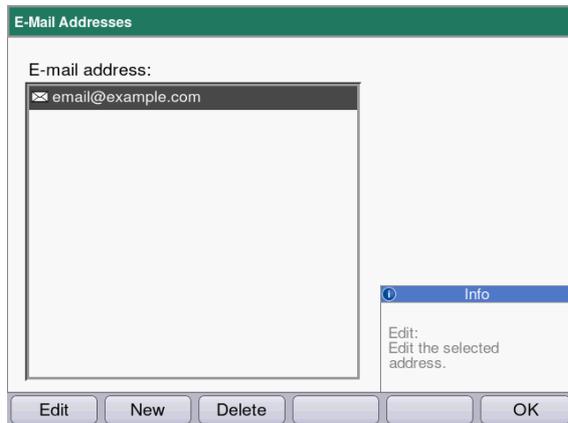
E-Mail Settings

Fragen Sie ihren Netzwerk-Administrator, welche Einstellungen erforderlich sind.

- SMTP Server: E-Mail-Server eingeben.
- Port eintragen.
- Absender: Gerätenamen eingeben.
- SMTP Authentifizierung verwenden: Falls eine Authentifizierung erforderlich ist, muss ein Benutzername und ein Passwort vergeben werden.
- Empfänger E-Mail-Adresse: Liste mit E-Mail Adressen.

Funktionen

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

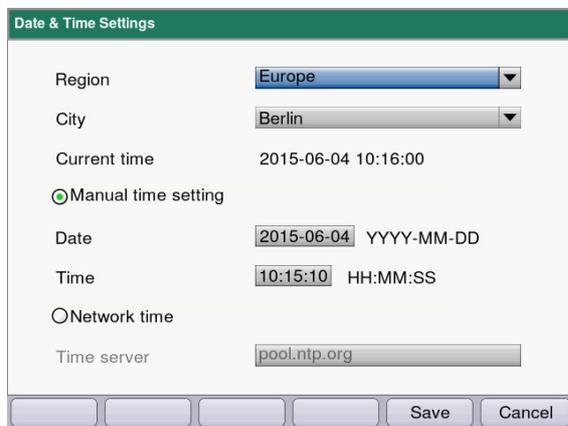


E-Mail-Adressen bearbeiten

- Wählen Sie in der Dropdownliste "Edit" und bestätigen Sie mit **enter**.
Es öffnet sich ein Fenster, in dem die E-Mail-Adressen bearbeitet werden können.

Softkeys

- [Edit]: E-Mail-Adresse bearbeiten.
- [New]: Neue E-Mail-Adresse anlegen.
- [Delete]: E-Mail-Adresse löschen.



Date and Time Settings

- Region auswählen.
- Stadt auswählen.
- Anzeige der aktuellen Zeit
- Manuelle Zeiteinstellung: Datum und Zeit eingeben.
- Netzwerkzeit
Zeitserver: Gewünschten Zeitserver eintragen.

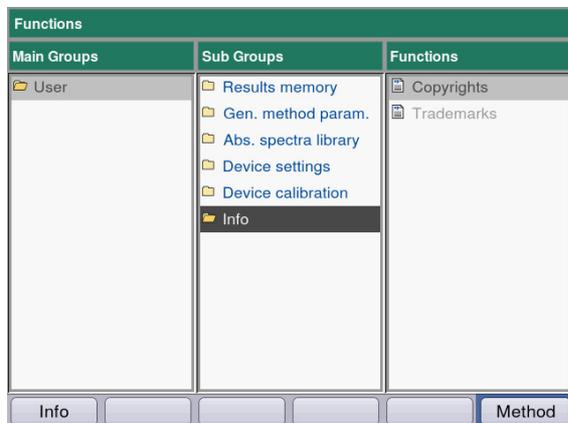
Softkeys

- [Save]: Änderungen speichern und in die Funktionsauswahl zurückkehren.
- [Cancel]: In die Auswahl der Parametergruppe ohne Änderung zurückkehren.

7.1.5 Device Calibration

Die Geräteüberprüfung ist separat beschrieben (siehe *Gerät überprüfen auf S. 77*).

7.1.6 Info



Unter dem Menüpunkt **Copyright** finden Sie Lizenzinformationen zur Open-Source-Software.

8 Instandhaltung

8.1 Reinigung



GEFAHR! Stromschlag durch eintretende Flüssigkeit.

- ▶ Schalten Sie das Gerät aus und trennen Sie es vom Stromnetz, bevor Sie mit der Reinigung oder Desinfektion beginnen.
 - ▶ Lassen Sie keine Flüssigkeiten in das Gehäuseinnere gelangen.
 - ▶ Führen Sie keine Sprühreinigung/Sprühdesinfektion am Gehäuse durch.
 - ▶ Schließen Sie das Gerät nur innen und außen vollständig getrocknet wieder an das Stromnetz an.
-



ACHTUNG! Korrosion durch aggressive Reinigungs- und Desinfektionsmittel.

- ▶ Verwenden Sie weder ätzende Reinigungsmittel noch aggressive Lösungs- oder schleifende Poliermittel.
 - ▶ Inkubieren Sie das Zubehör nicht längere Zeit in aggressiven Reinigungs- oder Desinfektionsmitteln.
-

1. Wischen Sie die Oberflächen mit einem Tuch ab, das Sie mit einem milden Reinigungsmittel befeuchtet haben.

Küvettenschacht reinigen

2. Reinigen Sie den Küvettenschacht nur mit einem mit Ethanol oder Isopropanol befeuchteten fusselfreien Wattestäbchen. Vermeiden Sie, dass Flüssigkeit in den Küvettenschacht gelangt. Sofern zur Beseitigung der Verunreinigung mit Wasser befeuchtet werden musste, reinigen Sie abschließend mit einem mit Ethanol oder Isopropanol befeuchteten Wattestäbchen, um das Trocknen des Küvettenschachts zu beschleunigen.

An der linken Innenseite des Küvettenschachts ist im Lichtweg eine Glasscheibe eingebracht. Reinigen Sie die Glasscheibe sorgfältig.

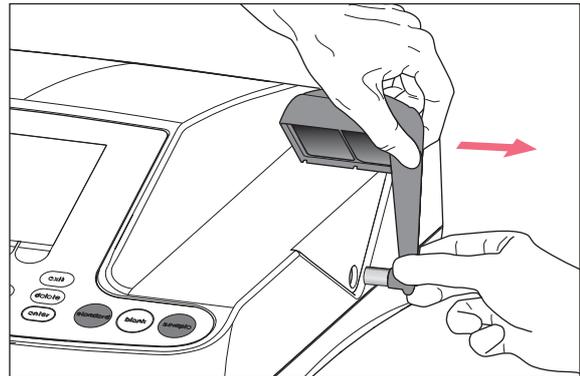
8.1.1 Küvettenschachtabdeckung reinigen

Wenn Sie nicht nur die direkt zugängliche Oberfläche der Küvettenschachtabdeckung reinigen möchten, können Sie die Abdeckung ausbauen.



- ▶ Weichen Sie die Küvettenschachtabdeckung nicht in Reinigungsmittel ein.
- ▶ Reinigen Sie die Küvettenschachtabdeckung wie beschrieben.

1. Heben Sie die Küvettenschachtabdeckung mit einer Hand an.
2. Fassen Sie mit der anderen Hand die Abdeckung auf Höhe des Haltestifts und ziehen Sie die Abdeckung nach rechts, bis der Haltestift ganz herausgezogen ist.



- Ziehen Sie die Abdeckung im 90-Grad-Winkel nach rechts.

3. Reinigen Sie die Abdeckung mit einem Tuch oder einem fusselfreien Wattestäbchen, das Sie mit einem milden Reinigungsmittel befeuchtet haben.
4. Schieben Sie den Haltestift bis zum Anschlag wieder in das Gehäuse hinein
Der Haltestift ist im Gehäuse ganz verschwunden.



Verschließen Sie bei Nichtgebrauch des Photometers den Küvettenschacht mit der blauen Küvettenschachtabdeckung, um ihn vor Staub und anderen Verschmutzungen zu schützen.

8.2 Desinfektion/Dekontamination



GEFAHR! Stromschlag durch eintretende Flüssigkeit.

- ▶ Schalten Sie das Gerät aus und trennen Sie es vom Stromnetz, bevor Sie mit der Reinigung oder Desinfektion beginnen.
- ▶ Lassen Sie keine Flüssigkeiten in das Gehäuseinnere gelangen.
- ▶ Führen Sie keine Sprühreinigung/Sprühdesinfektion am Gehäuse durch.
- ▶ Schließen Sie das Gerät nur innen und außen vollständig getrocknet wieder an das Stromnetz an.

1. Reinigen Sie das Gerät vor der Desinfektion mit einem milden Reinigungsmittel (siehe *Reinigung auf S. 75*).
2. Wählen Sie eine Desinfektionsmethode, die den für Ihren Anwendungsbereich geltenden gesetzlichen Bestimmungen und Richtlinien entspricht.
3. Verwenden Sie z.B. Alkohol (Ethanol, Isopropanol) oder alkoholhaltige Desinfektionsmittel.
4. Wischen Sie die Oberflächen mit einem Tuch ab, welches Sie mit Desinfektionsmittel befeuchtet haben.
5. Wenn zur Desinfektion die Kuvettenschachtabdeckung ausgebaut werden muss, verfahren Sie zum Ausbau und Zusammenbau wie beschrieben (siehe *Kuvettenschachtabdeckung reinigen auf S. 76*).
6. Die demontierte Kuvettenschachtabdeckung können Sie mittels Sprühdesinfektion desinfizieren.

8.3 Gerät überprüfen

Voraussetzungen:

- Umgebungsbedingungen einhalten (siehe *Umgebungsbedingungen auf S. 97*).
- Prüfung bei ca. 20 °C durchführen. Temperaturschwankungen vermeiden (z. B. durch geöffnete Fenster).
- Filter nur kurzfristig dem Filterkasten entnehmen und vor Verschmutzung oder Beschädigung der Filteroberflächen schützen.
- Filter vor Staub, Hitze, Flüssigkeit und aggressiven Dämpfen schützen.
 - Überprüfung der Spektrometereinheit: Aufkleber des verwendeten Filters zeigt nach vorn.
 - Überprüfung der Fluoreszenzeinheit: Aufkleber des verwendeten Filters zeigt nach rechts.
- Kuvettenschacht ist frei von Verschmutzungen.

8.3.1 Spektrometereinheit überprüfen

Zur Überprüfung der photometrischen Richtigkeit und der Wellenlängenrichtigkeit wird von Eppendorf ein Filtersatz (BioSpectrometer Referenzfiltersatz) angeboten. Der Satz enthält ein Leerwertfilter A0 und drei Filter A1, A2 und A3 zur Überprüfung der photometrischen Richtigkeit sowie 3 Filter zur Überprüfung der Wellenlängenrichtigkeit im Bereich von 260 nm bis 800 nm. Die Extinktionen der Filter werden gegen das Leerwertfilter A0 gemessen. Zusätzlich zu den Informationen über die Richtigkeit erhalten Sie auch Informationen über die Präzision: Aus den jeweils 15 Messungen pro Wellenlänge wird neben dem Mittelwert auch der Variationskoeffizient (VK-Wert) berechnet.

Instandhaltung

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

Zur Messung setzen Sie zunächst das Leerwertfilter (für die Leerwertmessung) und anschließend die Prüffilter wie Küvetten in den Küvettenschacht ein. Die für die Prüffilter gemessenen Extinktionswerte werden gegen den zulässigen Wertebereich verglichen. Die Grenzwerte für den zulässigen Bereich sind für die einzelnen Filter in einer Tabelle im Deckel des Filterkastens abgedruckt.

Wenn Sie die Werte dokumentieren wollen, können Sie die Werte nach der Messung ausdrucken oder exportieren. Es werden maximal 12 Überprüfungen gespeichert. Ist der Speicher voll, werden die Werte der ältesten Überprüfung überschrieben.

BioSpectrometer fluorescence reference filter set

eppendorf

Function : Device calibration/Spectrometer unit

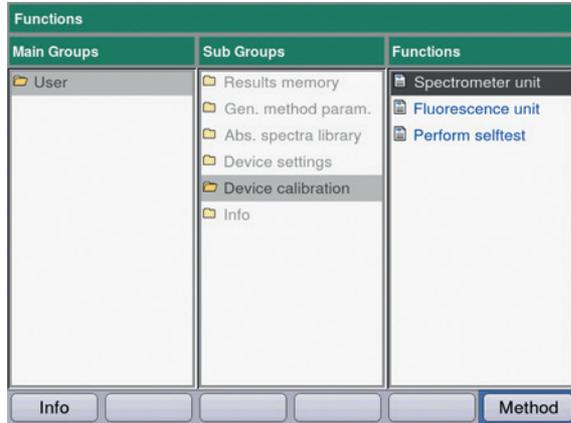
Order No./Best. Nr.: 6137 928.009

Set No./Satz Nr.: 958

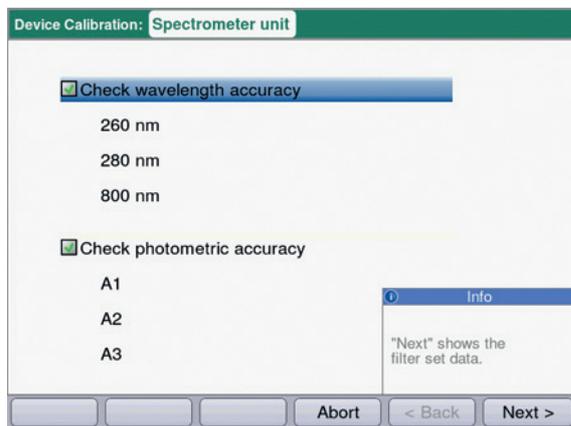
Limits measured against Blank A 0 at approx. 20°C Grenzwerte gemessen gegen Blank A 0 bei ca. 20°C							
SN: 6135	914.958	916.958	917.958	937.958	921.958	922.958	923.958
Filter Type	Blank A 0	Sample 260 nm	Sample 280 nm	Sample 800 nm	Sample A 1	Sample A 2	Sample A 3
Limiting values (A)/Grenzwerte (E)							
260 nm	0.000	1.169-1.357	--	--	0.147-0.171	0.821-0.872	1.504-1.598
280 nm	0.000	--	1.053-1.315	--	0.142-0.166	0.826-0.877	1.485-1.577
320 nm	0.000	--	--	--	0.136-0.160	0.850-0.903	1.476-1.567
405 nm	0.000	--	--	--	0.135-0.159	0.905-0.961	1.463-1.553
550 nm	0.000	--	--	--	0.139-0.163	0.925-0.982	1.368-1.453
562 nm	0.000	--	--	--	0.139-0.163	0.924-0.981	1.360-1.444
595 nm	0.000	--	--	--	0.139-0.163	0.921-0.978	1.338-1.421
700 nm	0.000	--	--	--	0.136-0.160	0.911-0.967	1.281-1.361
800 nm	0.000	--	--	1.066-1.243	0.134-0.158	0.901-0.957	1.243-1.320
Random error of wavelength Zufällige Messabweichung der Wellenlänge				Random error of photometer Zufällige Messabweichung des Photometers			
Limiting values CV (%) / Grenzwerte VK (%)							
260 - 405 nm		≤ 3.0 %		≤ 3.0 %		≤ 2.0 %	
550 - 800 nm		≤ 3.0 %		≤ 3.0 %		≤ 3.0 %	
Fluorescence unit							
F0147							
Filter Type	Sample Fluorescence F1 520 nm / 560 nm						
Ratio	0.95-1.05						
Random error of the fluorescence measurement Zufällige Messabweichung der Fluorescenzmessung				Random error of photometer Zufällige Messabweichung des Photometers			
Limiting values CV (%) / Grenzwerte VK (%)							
520 / 560 nm		≤ 3.0 %					
Filter auf NIST® rückführbar / Filter traceable to NIST®							
<p><u>Wavelength and photometric characterization of filters:</u> All characterizations are performed on a Cary 100 Bio reference UV/Vis spectrophotometer, serial number EL 99023107. The instrument is requalified regularly by the manufacturer, and is confirmed and documented to perform within manufacturer's specifications.</p>							
<p><u>Wellenlängen- und photometrische Bestimmung der Filter:</u> Alle Messungen werden auf einem Cary 100 Bio Referenz UV/Vis Spektrophotometer, Seriennummer EL 99023107 durchgeführt. Dieses Instrument wird regelmäßig vom Hersteller requalifiziert und die spezifikationsgemäße Funktion dokumentiert.</p>							
				21.12.2017			
				Signature Unterschrift			

Abb. 8-1: Deckel-Innenseite des Filterkastens (Muster)

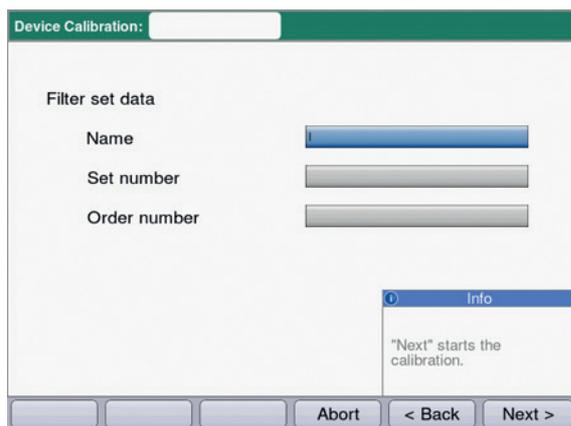
8.3.1.1 Prüfung auf photometrische Richtigkeit durchführen



1. Wählen Sie in der Gruppe **Device calibration** die Funktion **Spectrometer unit** und bestätigen Sie mit **enter**.



2. Wählen Sie aus, ob Sie die Wellenlängenrichtigkeit, die Photometrische Richtigkeit oder beides überprüfen wollen. Bestätigen Sie mit **enter**.
3. Wechseln Sie mit [Next >] zum nächsten Schritt.



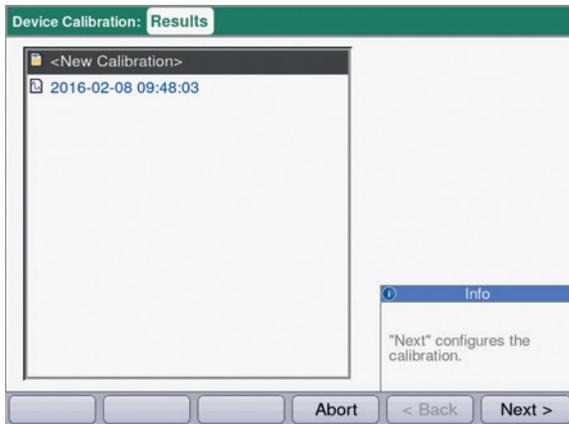
4. Füllen Sie die Eingabefelder aus. Die Angaben sind optional.
5. Wechseln Sie mit [Next >] zum nächsten Schritt.

Instandhaltung

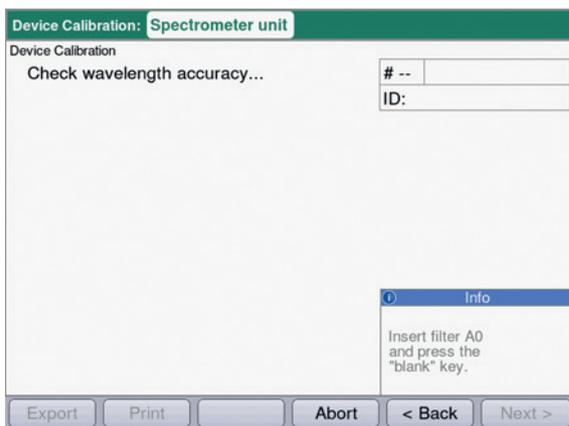
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)



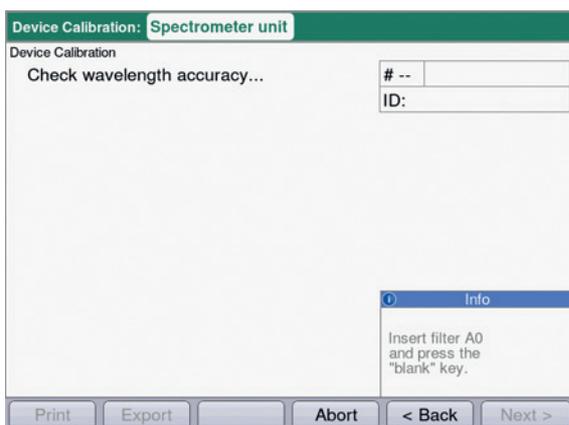
- Falls eine Kalibrierung zum ersten Mal durchgeführt wird, entfällt Schritt 6.
- Wurde bereits eine Kalibrierung durchgeführt, werden die Ergebnisse der letzten Kalibrierungen angezeigt.



6. Wählen Sie <New Calibration> und starten Sie mit [Next >] die neue Kalibrierung.



7. Folgen Sie den Anweisungen im Fenster *Info* und messen Sie zunächst das Leerwertfilter A0.



8. Nach dem Leerwert A0 starten Sie mit dem ersten Prüffilter.
In der Info-Box wird der erwartete Prüffilter angezeigt (hier: SAMPLE 260).

Device Calibration: **Spectrometer unit**
Device Calibration 2016-02-08 09:48:03
Check photometric accuracy... # 06
ID: SAMPLE A3

Wavelength	Mean	CV
260 nm	1.917 A	0.2 %
280 nm	1.847 A	0.3 %
320 nm	1.751 A	0.3 %
405 nm	1.661 A	0.3 %
550 nm	1.502 A	0.3 %
562 nm	1.489 A	0.2 %
595 nm	1.456 A	0.4 %
700 nm	1.376 A	0.6 %
800 nm	1.309 A	1.1 %

Info
Select results:
▲ and ▼ keys.

Print Export Finish < Back Next >

9. Ergebnisanzeige nach Messung aller 3 Prüffilter zum Test auf Photometrische Richtigkeit. Mit den Tasten ▲ und ▼ können Sie sich nochmals die Ergebnisse für die verschiedenen Prüffilter ansehen.

Softkeys

- [Finish]: Prüfung beenden.
- [Export]: Ergebnisse als PDF exportieren.
- [Print]: Ergebnisse ausdrucken.

10. Vergleichen Sie die Mittelwerte und VK-Werte mit der mitgelieferten Tabelle. Sollten die gemessenen Werte nicht mit dem zulässigen Wertebereich übereinstimmen, wenden Sie sich an den Eppendorf Service.

8.3.2 Fluoreszenzeinheit überprüfen

Functions

Main Groups	Sub Groups	Functions
User	Results memory	Spectrometer unit
	Gen. method param.	Fluorescence unit
	Abs. spectra library	Perform selftest
	Device settings	
	Device calibration	
	Info	

Info Method

1. Wählen Sie in der Gruppe **Device calibration** die Funktion **Fluorescence unit**. Bestätigen Sie mit **enter**.

2. Setzen Sie das Filter F1 in den Küvettenstoch. Drücken Sie den Softkey **Measure**. Das Gerät misst das Prüffilter 15-mal bei 2 Emissionswellenlängen. Nach der Messung zeigt das Display 2 Kennwerte an: "Ratio" als Maß für die korrekte Justierung sowie "CV" als Maß für das Rauschen.

Device Calibration:

Filter set data

Name

Set number

Order number

Info
"Next" starts the calibration.

Abort < Back Next >

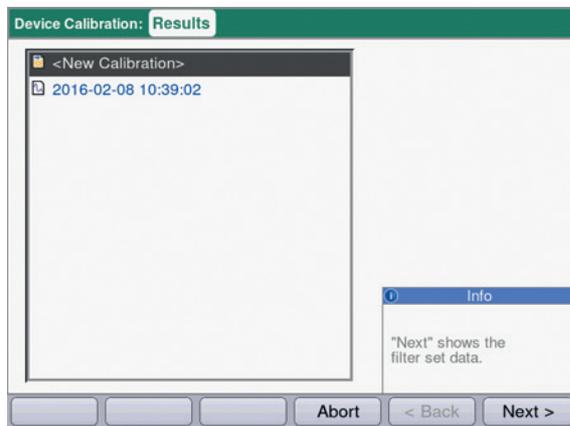
3. Füllen Sie die Eingabefelder aus. Die Angaben sind optional.
4. Wechseln Sie mit [Next >] zum nächsten Schritt.

Instandhaltung

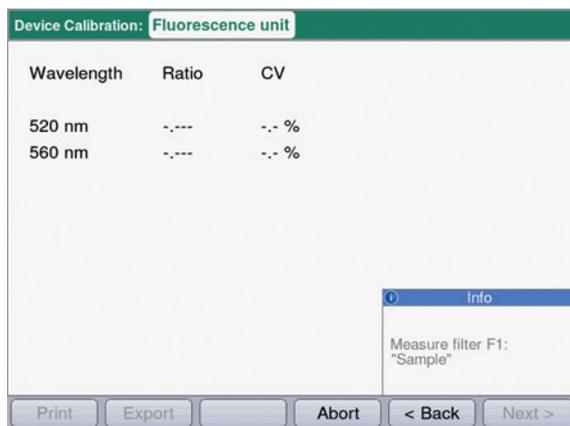
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)



- Falls eine Kalibrierung zum ersten Mal durchgeführt wird, entfällt Schritt 5.
- Wurde bereits eine Kalibrierung durchgeführt, werden die Ergebnisse der letzten Kalibrierungen angezeigt.



5. Wählen Sie <New Calibration> und starten Sie mit [Next >] die neue Kalibrierung.



6. Vergleichen Sie die Kennwerte mit den Werten in der mitgelieferten Tabelle. Sollten die gemessenen Werte nicht mit dem zulässigen Wertebereich übereinstimmen, wenden Sie sich an den Eppendorf Service.

8.3.3 Selbsttest des Geräts

Die Häufigkeit des automatischen Selbsttests (Dauer ca. 1 Minute) können Sie mit der Funktion **Device settings** einstellen (siehe *Device Settings auf S. 71*). Ab Werk ist als **Selbsttest-Intervall** "wöchentlich" eingestellt.

Beim Selbsttest werden die folgenden Punkte überprüft:

- Überprüfung des Detektors
 - Bestimmung der zufälligen Messabweichung über das gesamte verfügbare Spektrum
- Überprüfung der Lichtquelle
 - Überprüfung der maximal verfügbaren Energie der Lichtquelle und der Qualität der Lichtleitung durch das Gerät
 - Bestimmung der zufälligen Messabweichung eines Signals am Referenzsensor
 - Bestimmung der Signalthöhe am Referenzsensor
 - Separate Bestimmung der Lichtintensität im UV-Bereich

- Bestimmung der systematischen und zufälligen Messabweichung der Wellenlänge
 - Position eines Intensitätspeaks im UV-Bereich des Spektrums
 - Präzision der Position eines Intensitätspeaks im UV-Bereich des Spektrums
 - Bestimmung der zufälligen Messabweichung des Anregungslichts ("Rauschen")
 - Bestimmung der Signalhöhe und -abweichung des emittierten Lichts
- ▶ Wählen Sie in der Gruppe **Device calibration** die Funktion **Perform selftest** und bestätigen Sie mit **enter**.

Nach Ablauf des Selbsttest zeigt das Display die Meldung **PASSED**.

Wenn das Display die Meldung **FAILED** zeigt, ist der Selbsttest fehlgeschlagen. Wenn sich dieser Fehler nicht beheben lässt (siehe *Fehlermeldungen auf S. 87*), wenden Sie sich an den Eppendorf-Service.

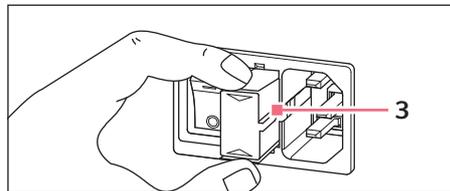
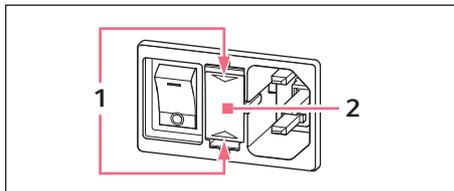
8.4 Sicherungen ersetzen



GEFAHR! Stromschlag.

- ▶ Schalten Sie das Gerät aus und ziehen Sie den Netzstecker, bevor Sie mit der Wartung bzw. Reinigung beginnen.

Der Sicherungshalter befindet sich zwischen der Netzanschlussbuchse und dem Netzschalter.



1. Ziehen Sie den Netzstecker.
2. Drücken Sie die Kunststoffedern **1** oben und unten zusammen und ziehen Sie den Sicherungshalter **2** vollständig heraus.
3. Ersetzen Sie defekte Sicherungen und setzen Sie den Sicherungshalter wieder ein. Achten Sie auf die korrekte Position der Führungsschiene **3**.

8.5 Dekontamination vor Versand

Wenn Sie das Gerät im Reparaturfall zum autorisierten Technischen Service oder im Entsorgungsfall zu Ihrem Vertragshändler schicken, beachten Sie Folgendes:



WARNUNG! Gesundheitsgefahr durch kontaminiertes Gerät.

1. Beachten Sie die Hinweise der Dekontaminationsbescheinigung. Sie finden diese als PDF-Datei auf unserer Internetseite (www.eppendorf.com/decontamination).
 2. Dekontaminieren Sie alle Teile, die Sie versenden.
 3. Legen Sie der Sendung die vollständig ausgefüllte Dekontaminationsbescheinigung bei.
-

9 Problembhebung
9.1 Allgemeine Fehler

Fehler	Mögliche Ursache	Abhilfe
Messergebnisse sind unpräzise.	<ul style="list-style-type: none"> • Haltbarkeit des Reagenzes überschritten. • Reagenz nicht richtig vorbereitet. • Pipettierung nicht richtig. • Ablauf der Inkubation vor der Messung nicht richtig. • Küvette verschmutzt. • Küvette nicht vollständig und blasenfrei mit Messlösung befüllt. • Trübungen in der Messlösung. • Spektralphotometer driftet. • Küvettenschacht verschmutzt. • Fluorimetrie: Störende Substanzen stärken oder schwächen das Fluoreszenzsignal. • Fluorimetrie: Die Küvettenschachtabdeckung ist nicht geschlossen. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Stellen Sie sicher, dass das Reagenz noch haltbar ist und richtig vorbereitet wird. ▶ Benutzen Sie für die Vorbereitung – sofern benötigt – sauberes, demineralisiertes Wasser von ausreichender Qualität. ▶ Stellen Sie sicher, dass die Pipette kalibriert ist und richtig pipettiert. ▶ Sofern der Methodenablauf vor der Messung eine Inkubation erfordert, stellen Sie sicher, dass die Temperatur und Zeit für die Inkubation korrekt eingehalten werden. ▶ Reinigen und spülen Sie die Küvette. Achten Sie bei einem Küvettenwechsel darauf, dass das optische Fenster der Küvette sauber bleibt und nicht mit den Fingern berührt wird. ▶ Wenn das Küvettenfenster durch Fingerabdrücke verschmutzt ist, reinigen Sie es durch Abwischen mit einem fusselfreien Labortuch, das mit Ethanol oder Isopropanol getränkt ist. ▶ Stellen Sie sicher, dass das erforderliche Mindestvolumen der Küvette für eine Messung erreicht wird und dass keine Blasen in der Messlösung sind. ▶ Zentrifugieren Sie trübe, partikelhaltige Messlösungen und benutzen Sie den klaren Überstand. ▶ Wenden Sie sich an den Eppendorf-Service. ▶ Halten Sie die Umgebungsbedingungen ein. ▶ Vermeiden Sie Temperaturschwankungen. ▶ Reinigen Sie den Küvettenschacht. ▶ Entfernen Sie die störenden Substanzen. Wenn die störenden Substanzen nicht entfernt werden können, kann die Messtechnik Fluorimetrie nicht verwendet werden. ▶ Schließen Sie die Küvettenschachtabdeckung vor der Messung.

Problembehebung

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

Fehler	Mögliche Ursache	Abhilfe
Messergebnisse sind unrichtig.	<ul style="list-style-type: none"> • Methode falsch programmiert. • Standardlösung nicht richtig vorbereitet. • Extinktion des Reagenz driftet. • Die Küvette ist nicht richtig positioniert. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Stellen Sie sicher, dass die Methodenparameter richtig eingegeben sind. ▶ Stellen Sie sicher, dass der richtige Standard benutzt wird und die Messlösung für den Standard richtig vorbereitet wird. ▶ Bei instabiler Reagenzextinktion und Endpunkt-Methoden: Messen Sie bei der Messung einer langen Probenserie den Reagenzleerwert nicht nur zu Beginn, sondern auch während der Probenserie. Bei stärkerer Drift des Reagenzleerwerts ist das Reagenz nicht geeignet für fehlerfreie Messungen und muss durch neues Reagenz ersetzt werden. ▶ Positionieren Sie die Küvette so im Küvettenschacht, dass die optischen Fenster in Lichtwegrichtung zeigen. ▶ Lichtweg Photometrie: von hinten nach vorn ▶ Lichtweg Fluorimetrie: von rechts nach links

9.2 Fehlermeldungen

Geräteanzeigen mit Fehlermeldungen können Sie mit dem Softkey [OK] verlassen.

Systemfehler erfordern eine Beurteilung durch den Technischen Service. Diese Fehler werden in Englisch dargestellt (**System error ...**). Bitte wenden Sie sich in diesen Fällen an den Technischen Service. Andere Fehlermeldungen, bei denen Sie selbst Maßnahmen ergreifen können, sind in der folgenden Tabelle erläutert.

Symptom/Meldung	Mögliche Ursache	Abhilfe
Selbsttest fehlgeschlagen.	<ul style="list-style-type: none"> • Küvettenschachtabdeckung war beim Selbsttest offen. • Der Küvettenschacht war beim Selbsttest nicht leer. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Wiederholen Sie den Selbsttest mit leerem Küvettenschacht und geschlossener Küvettenschachtabdeckung.
	<ul style="list-style-type: none"> • Gerät ist defekt. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Wenden Sie sich an den Eppendorf-Service.
Die Datei konnte nicht exportiert werden.	Beim Export von Daten: <ul style="list-style-type: none"> • USB-Stick falsch formatiert oder defekt. • USB-Stick zu früh (während des Exports) aus dem Gerät entfernt. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ USB-Stick neu formatieren oder ersetzen. ▶ USB-Stick erneut anschließen und Export wiederholen.
Der Drucker konnte nicht initialisiert werden.	<ul style="list-style-type: none"> • Drucker nicht angeschlossen oder ausgeschaltet. • Drucker falsch konfiguriert. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Drucker anschließen und anschalten. ▶ Drucker neu konfigurieren. Die Druckereinstellungen zur richtigen Konfiguration finden Sie in der Installationsbeschreibung (siehe <i>Drucker am USB-Anschluss anschließen auf S. 20</i>).
Blank-Messung: Eine Intensität an einem eine Haupt- oder Neben- oder Scanwellenlänge beeinflussenden Pixel ist zu niedrig.	<ul style="list-style-type: none"> • Die für die Blank-Messung benutzte Leerwertlösung hat eine zu hohe Extinktion. • Falsche oder trübe Leerwertlösung. • Bei Scans: Wellenlängenbereich zu groß, da die Probe in einem Teil des Wellenlängenbereichs sehr stark absorbiert. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Leerwertlösung überprüfen und Blank ggf. neu messen. ▶ Bei Scans: Wellenlängenbereich an Spektrum der Probe anpassen.
Blank-Messung: Die Emission an der Messwellenlänge ist zu hoch.	<ul style="list-style-type: none"> • Die für die Blank-Messung benutzte Leerwertlösung hat eine zu hohe Fluoreszenz. • Falsche oder trübe Leerwertlösung. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Leerwertlösung überprüfen und Blank neu messen.
Der eingegebene Name ist nicht gültig.	<ul style="list-style-type: none"> • Fehler bei der Eingabe von Namen. Verschiedene Ursachen sind möglich. Zur konkreten Ursache bitte die Information in der Hilfebox beachten. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Siehe Information in der Hilfebox.

Problembhebung

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

Symptom/Meldung	Mögliche Ursache	Abhilfe
Es existiert bereits eine Methode (oder ein Ordner, Dye, Protein, Nucleic acid, Unit) mit diesem Namen.	<ul style="list-style-type: none"> • Der Name, unter dem die Methode abgespeichert werden soll, wurde bereits für eine andere Methode in demselben Ordner verwendet. • Die Meldung erscheint auch, wenn bereits vergebene Namen für einen Ordner oder (unter General Method Parameter) für eine Nukleinsäure (Farbstoff, Protein, Konzentrationseinheit) editiert wurden. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Anderen Namen vergeben.
Folgende Parameterwerte sind in General Method Parameter nicht definiert:	<ul style="list-style-type: none"> • Beim Öffnen einer Methode, deren Parameter auf General Method Parameter zurückgreift, wurde festgestellt, dass mindestens ein Parameter (Farbstoff, Nukleinsäure, Protein, Einheit) dort nicht mehr existiert, also vermutlich gelöscht wurde. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Wählen Sie einen anderen Parameter aus der vorhandenen Liste. Falls erforderlich, programmieren Sie in General Method Parameter einen neuen Listeneintrag, um bei der Programmierung einer Methode darauf zurückgreifen zu können.
Der Wert des mit * markierten Parameters ist nicht in den Gen. Meth. Param. definiert. Bitte korrigieren Sie den Parameter.	<p>Diese Fehlermeldung erscheint beim Editieren von Methodenparametern.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Parameter in General Method Parameter ist nicht definiert. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Wählen Sie einen anderen Parameter aus der vorhandenen Liste. Falls erforderlich, programmieren Sie in General Method Parameter einen neuen Listeneintrag, um bei der Programmierung einer Methode darauf zurückgreifen zu können.
Ungültiges Zoom-Intervall.	<p>Beim Zoom-Vorgang mit freier Eingabe der Grenzen (Softkey [Free]):</p> <ul style="list-style-type: none"> • Die Untergrenzen für den Zoombereich wurden unterschritten. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Werte so eingeben, dass das Intervall nicht die Bereichsgrenzen von 0,02 A und 10 nm unterschreitet.
Die eingegebenen Standardkonzentrationen sind nicht monoton steigend bzw. monoton fallend. Bitte Standardkonzentrationen korrigieren.	<ul style="list-style-type: none"> • Siehe Fehlertext. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Die Standardkonzentrationen so eingeben, dass der erste Standard die niedrigste Konzentration erhält und die weiteren Standardkonzentrationen eine aufsteigende Folge bilden.
Mindestens zwei eingegebene Standardkonzentrationen sind gleich. Bitte Standardkonzentrationen korrigieren.	<ul style="list-style-type: none"> • Siehe Fehlertext. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Die Standardkonzentrationen so eingeben, dass der erste Standard die niedrigste Konzentration erhält und die weiteren Standardkonzentrationen eine aufsteigende Folge bilden.

Symptom/Meldung	Mögliche Ursache	Abhilfe
Die Messwerte sind nicht streng monoton!	<ul style="list-style-type: none"> Fehler bei der Messung einer Standardreihe: Die gemessenen Extinktionswerte der Standardreihe sind nicht kontinuierlich steigend oder fallend. 	<ul style="list-style-type: none"> Standardmessungen wiederholen oder einzelnes, fehlerhaft gemessenes Standardergebnis löschen.
Die ID kann nicht gesetzt werden.	<ul style="list-style-type: none"> Fehler bei der Eingabe der Proben-ID. Verschiedene Ursachen sind möglich. Zur konkreten Ursache bitte die Information in der Hilfebox beachten. 	<ul style="list-style-type: none"> Siehe Information in der Hilfebox.
Die Verdünnung kann nicht gesetzt werden.	<ul style="list-style-type: none"> Fehler bei der Eingabe der Verdünnung. Verschiedene Ursachen sind möglich. Zur konkreten Ursache bitte die Information in der Hilfebox beachten. 	<ul style="list-style-type: none"> Siehe Information in der Hilfebox.
Berechnung ist nicht möglich, weil durch Null geteilt wird. Extinktionsergebnis oder Parameter Formula "b" ist Null.	<ul style="list-style-type: none"> Bei der Auswertung einer Methode des Typs Division (Methodengruppe Dual wavelength) musste durch ein Extinktionsergebnis mit dem Wert "Null" geteilt werden. Das ist mathematisch nicht zulässig. 	<ul style="list-style-type: none"> Überprüfen Sie die verwendeten Reagenzien und Proben und wiederholen Sie die Messung. Geben Sie als Wert für den Parameter Formula b nicht "Null" ein.
Es kann nur noch eine Messung in dieser Messreihe durchgeführt werden. Die maximale Anzahl an Messungen in einer Messreihe ist erreicht.	<ul style="list-style-type: none"> Die Zahl an Messungen in einer Messreihe ist auf 99 begrenzt. 	<ul style="list-style-type: none"> Nach maximal 99 Messungen eine neue Messreihe starten.

Problembehebung

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

Symptom/Meldung	Mögliche Ursache	Abhilfe
Ungültiges Zoom-Intervall!	<p>Fehler im Methodenschritt process results im Zoom-Modus.</p> <p>Zulässiger Zoom-Bereich für die Wellenlängenskala:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Wellenlängenintervall mindestens 10 nm • Eingaben für Wellenlängen nur innerhalb des für die Methode in den Parametern programmierten Bereichs. <p>Zulässiger Zoom-Bereich für die Extinktionsskala:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Extinktionsintervall mindestens 0,02 A • Ober- und Untergrenze für Extinktionsintervall +3 A bzw. -3 A 	<p>► Beachten Sie beim Zoom-Ablauf die genannten Grenzen.</p>

9.3 Ergebniskennzeichnungen

Warnungen und Fehlermeldungen zu Ergebnissen erscheinen in der Hilfebox unten rechts im Display. Bei Warnungen ist die Kopfzeile der Hilfebox gelb unterlegt, bei Fehlermeldungen rot.

Warnungen: Entscheiden Sie unter Berücksichtigung der angezeigten Warnung, ob das Ergebnis für Sie nutzbar ist.

Fehlermeldungen: Es wird kein Ergebnis dargestellt; die Begründung wird in der Fehlermeldung angezeigt.

Symptom/Meldung	Mögliche Ursache	Abhilfe
Standardkurve ist nicht monoton. Bitte anderen Curve Fit wählen.	<ul style="list-style-type: none"> • Bei Auswertung einer Standardkurve mit den Curve Fit-Verfahren "spline interpolation", "quadratical regression" oder "cubical regression" wurde kein verwertbares Ergebnis erhalten. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Anderes Curve Fit-Verfahren wählen.
Einige Extinktionswerte bei Nebenwellenlängen sind zu hoch und werden nicht angezeigt.	<ul style="list-style-type: none"> • Bei mindestens einer Nebenwellenlänge war die Extinktion oberhalb des Messbereichs. • Nebenwellenlängen werden nicht für die Berechnung des Konzentrationsergebnisses herangezogen, sondern für andere Zwecke benutzt. Z. B. Methode dsDNA: Extinktion bei 280 nm für die Berechnung von Ratio 260/280. • Trübungen in der Messlösung • Messungen an den Grenzen des photometrischen Messbereichs. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Wenn die Extinktionswerte der Nebenwellenlängen relevant sind: Probe verdünnen bzw. durch Zentrifugation Trübung beseitigen und Messung wiederholen.
Das Ergebnis liegt außerhalb des Bereichs der Standardkonzentrationen.	<ul style="list-style-type: none"> • Bei Methoden mit Auswertung über Standardkurven (nichtlineare Auswerteverfahren): Das Probenergebnis liegt um bis zu 5 % außerhalb des Bereichs der Standardkonzentrationen. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Messergebnis akzeptieren oder Probe unter Bedingungen neu messen, bei denen das Ergebnis im Bereich der Standardkonzentrationen liegt (Probe verdünnen oder Standardkonzentrationen verändern und neu messen).

Problembehebung

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

Symptom/Meldung	Mögliche Ursache	Abhilfe
Das Bestimmtheitsmaß ist $< 0,8$.	<ul style="list-style-type: none"> • Bei Methoden mit Auswertung von Standardreihen über Regressionsverfahren: Das Bestimmtheitsmaß für die Regressionsauswertung deutet auf eine erhebliche Abweichung der Messpunkte von der Regressionsgeraden hin. • Trübungen in der Messlösung. • Messungen an den Grenzen des photometrischen Messbereichs. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Ergebnis der Standardauswertung akzeptieren oder Standards neu messen. ▶ Auf klare Messlösungen achten.
Das Bestimmtheitsmaß für die Regressionsauswertung der Standardreihe ist $< 0,8$.	<ul style="list-style-type: none"> • Bei Methoden mit Auswertung von Standardreihen über Regressionsverfahren: Warnung erscheint nach Messungen von Proben, wenn die Regressionsauswertung für die Standardreihe nichtlinear war, die Standardauswertung aber vom Anwender akzeptiert wurde. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Probenergebnisse unter dem genannten Vorbehalt verwenden oder Standardreihe und Proben neu messen.
Scan: Einige gemessene Extinktionen sind zu hoch und werden nicht angezeigt.	<ul style="list-style-type: none"> • Bei mindestens einer Wellenlänge des Scans war die Extinktion oberhalb des Messbereichs. • Trübungen in der Messlösung. • Messungen an den Grenzen des photometrischen Messbereichs. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Wenn die nicht angezeigten Bereiche des Scans relevant sind: Probe verdünnen bzw. durch Zentrifugation Trübung beseitigen und Messung wiederholen.
Extinktion bei der Messwellenlänge ist zu hoch. Emission bei der Messwellenlänge ist zu hoch.	<ul style="list-style-type: none"> • Trübungen in der Messlösung. • Optische Flächen der Küvette verschmutzt. • Küvette in falscher Orientierung in den Küvettenschacht gesteckt. • Photometrie: zu hohe Extinktion der Messlösung. Fluorimetrie: zu hohe Emission der Messlösung. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Unter Berücksichtigung der möglichen Ursachen neu messen.
Das berechnete Ergebnis ist negativ.	<ul style="list-style-type: none"> • Messlösung falsch angesetzt. • Faktor falsch eingegeben (falsches Vorzeichen). 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Unter Berücksichtigung der möglichen Ursachen neu messen.
Mindestens eines der Ergebnisse ist negativ.	<ul style="list-style-type: none"> • Bei Methoden mit mehreren Ergebnissen (z. B. Dye labels). • Messlösung falsch angesetzt. • Faktor falsch eingegeben (falsches Vorzeichen). 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Unter Berücksichtigung der möglichen Ursachen neu messen.

Symptom/Meldung	Mögliche Ursache	Abhilfe
Ergebnis hat mehr als 6 Vorkommastellen.	<ul style="list-style-type: none"> • Sehr hohe Probenkonzentration. • Konzentrationseinheit passt nicht zu dem erwarteten Bereich der Probenkonzentrationen. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Probe verdünnen und neu messen. ▶ Konzentrationseinheit (Parameter Unit) ändern und neu messen.
Das Ergebnis liegt um mehr als 5 % außerhalb des Bereichs der Standardkonzentrationen.	<ul style="list-style-type: none"> • Bei Methoden mit Auswertung über Standardkurven (nichtlinearen Auswerteverfahren): Das Probenergebnis liegt um mehr als 5 % außerhalb des Bereichs der Standardkonzentrationen. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Probe unter Bedingungen neu messen, unter denen das Ergebnis im Bereich der Standardkonzentrationen liegt (Probe verdünnen, Standardkonzentrationen verändern und neu messen).
<ul style="list-style-type: none"> • Berechnung ist nicht möglich, weil durch Null geteilt wird. Extinktionsergebnis ist Null. • Fehler bei der Berechnung. Division durch Null. 	<ul style="list-style-type: none"> • Bei der Auswertung musste durch ein Extinktionsergebnis mit dem Wert "Null" geteilt werden. Das ist mathematisch nicht zulässig. Beispiele: Berechnung eines Faktors bei Einpunktkalibrierung; Berechnung einer Ratio 260/280 bei Nukleinsäuremessungen. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Überprüfen Sie die verwendeten Reagenzien und Proben und wiederholen Sie die Messung.
Berechnung ist nicht möglich, weil durch Null geteilt wird. Extinktionsergebnis oder Parameter Formula b ist Null.	<ul style="list-style-type: none"> • Bei der Auswertung einer Methode des Typs Division (Methodengruppe Dual wavelength) musste durch ein Extinktionsergebnis mit dem Wert "Null" geteilt werden. Das ist mathematisch nicht zulässig. 	<ul style="list-style-type: none"> ▶ Überprüfen Sie die verwendeten Reagenzien und Proben und wiederholen Sie die Messung. ▶ Geben Sie als Wert für den Parameter Formula b nicht "Null" ein.

Problembehebung

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

10 Transport, Lagerung und Entsorgung

10.1 Transport

- Verwenden Sie die Originalverpackung für den Transport.

	Lufttemperatur	Relative Luftfeuchte	Luftdruck
Allgemeiner Transport	-25 °C – 60 °C	10 % – 95 %	30 kPa – 106 kPa
Luftfracht	-40 °C – 55 °C	10 % – 95 %	30 kPa – 106 kPa

10.2 Lagerung

	Lufttemperatur	Relative Luftfeuchte	Luftdruck
in Transportverpackung	-25 °C – 55 °C	25 % – 75 %	70 kPa – 106 kPa
ohne Transportverpackung	-5 °C – 45 °C	25 % – 75 %	70 kPa – 106 kPa

10.3 Entsorgung

Bei einer Entsorgung des Produkts sind die einschlägigen gesetzlichen Vorschriften zu beachten.

Hinweise zur Entsorgung von elektrischen und elektronischen Geräten in der Europäischen Gemeinschaft:

Innerhalb der Europäischen Gemeinschaft wird die Entsorgung von elektrischen Geräten durch nationale Vorschriften geregelt, die auf der EU-Richtlinie 2012/19/EU über Elektro- und Elektronik-Altgeräte (WEEE) basieren.

Nach diesen Vorschriften dürfen alle nach dem 13. August 2005 gelieferten Geräte im Business-to-Business-Bereich, in den dieses Produkt einzuordnen ist, nicht mehr im kommunalen Abfall oder Hausmüll entsorgt werden. Um dies zu dokumentieren, sind sie mit folgendem Symbol gekennzeichnet:



Da sich die Entsorgungsvorschriften innerhalb der EU von Land zu Land unterscheiden können, bitten wir Sie, sich bei Bedarf bei Ihrem Lieferanten zu informieren.

11 Technische Daten

11.1 Stromversorgung

Spannungsversorgung	100 V bis 240 V \pm 10 %, 50 Hz bis 60 Hz
Überspannungskategorie	II
Verschmutzungsgrad	2
Leistungsaufnahme	Maximal auftretende Leistung laut Typenschild: 25 W Ca. 15 W im Bedienablauf Ca. 5 W mit gedimmtem Display
Zulässige Netzunterbrechung	Ca. 10 ms bei 90 V Ca. 20 ms bei 230 V
Schutzklasse	I
Sicherungen	T 2,5 A/250 V, 5 mm \times 20 mm (2 Stück)

11.2 Umgebungsbedingungen

Betrieb	Umgebungstemperatur: 15 °C bis 35 °C Rel. Luftfeuchte: 25 % bis 70 % Luftdruck: 86 kPa bis 106 kPa
Luftdruck	Verwendung bis zu einer Höhe von 2000 m über Meereshöhe

Vor direktem Sonnenlicht schützen.

11.3 Gewicht/Maße

Gewicht	5,4 kg
Abmessungen	Breite: 295 mm Tiefe: 400 mm Höhe: 150 mm
Benötigter Raum	Breite: 500 mm (mit Thermodrucker: 750 mm) Tiefe: 500 mm

Technische Daten

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

11.4 Photometrische Eigenschaften

Messprinzip	Absorptions-Einstrahlspektrophotometer mit Referenzstrahl
Lichtquelle	Xenon-Blitzlampe
Spektrale Zerlegung	Holographisches aberrationskorrigiertes Konkavgitter
Strahlungsempfänger	CMOS Photodiodenarray
Wellenlängen	200 nm bis 830 nm
Wellenlängenwahl	Methodenabhängig, frei wählbar
Spektrale Bandbreite	≤ 4 nm
Kleinste Schrittweite	1 nm
Systematische Messabweichung der Wellenlänge	±1 nm
Zufällige Messabweichung der Wellenlänge	≤ 0,5 nm
Photometrischer Messbereich	0 A bis 3,0 A bei 260 nm
Ablesegenauigkeit	ΔA = 0,001
Zufällige Messabweichung des Photometers	≤ 0,002 bei A = 0 ≤ 0,005 (0,5 %) bei A = 1
Systematische Messabweichung des Photometers	±1 % bei A = 1
Falschlichtanteil	< 0,05 %

11.5 Fluorimeter

Messprinzip	Konfokales Filterfluorimeter mit Referenzstrahl
Lichtquelle	LED
Spektrale Zerlegung	Filteranordnung aus Dichroiden und Langpassfilter
Strahlungsempfänger	Photodiode
Anregungswellenlänge	470 nm Bandbreite: 25 nm
Emissionswellenlänge I	520 nm Bandbreite: 15 nm
Emissionswellenlänge II	560 nm Bandbreite: 40 nm
Messbereich	0,5 nM bis 1 000 nM Fluorescein (Emissionswellenlänge 520 nm)
Zufällige Messabweichung des Fluorimeters	±2 % bei 1 nM Fluorescein (Emissionswellenlänge 520 nm)

11.6 Weitere technische Parameter

Küvettenmaterial	Für Messungen im UV: Quarzglas oder UV-transparenter Kunststoff (UVette von Eppendorf, 220 nm bis 1600 nm) Für Messungen im sichtbaren Bereich: Glas oder Kunststoff
Küvettschacht	12,5 mm × 12,5 mm, untemperiert
Gesamthöhe der Küvetten	Mind. 36 mm
Höhe des Lichtstrahls in der Küvette	8,5 mm
Tastatur	22 Folientasten 6 Folientasten als Softkeys
Ergebnisausgabe	Extinktion, Transmission, Konzentration, Scan (Extinktions-Wellenlängen-Spektrum) Methodenabhängig weitere Zusatzdaten (Ratio, FOI, Background-Extinktionen) Fluorimetrie: RFU, Konzentration
Display	VGA TFT-Display 5,7"
Sprachen für Bedienung	Englisch, Französisch, Spanisch, Italienisch, Deutsch, Japanisch
Schnittstellen	USB Master: Für USB-Stick und Thermodrucker DPU-S445 USB Slave: Für Verbindung mit einem PC Serielle Schnittstelle RS 232: Für Thermodrucker DPU-414 Ethernet-Schnittstelle RJ45: Für Verbindung mit einem Netzwerk Angeschlossene Geräte müssen den Sicherheitsanforderungen gemäß IEC 60950-1 entsprechen.

11.7 Anwendungsparameter

Methoden	<p>Vorprogrammierte und frei programmierbare Methoden für alle Mess- und Auswerteverfahren:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Extinktionsmessungen bei einer oder mehreren Wellenlängen, Scans • Transmissionsmessung bei einer Wellenlänge • Fluoreszenzmessungen bei 520 nm oder 560 nm • Nukleinsäuren und Proteine, OD600, Dye-Methoden (parallele Messung von Biomolekül und Farbstoff-Markierung) • Methoden mit Auswertung über Faktor, Standard und Standardreihe • Zweiwellenlängen-Verfahren mit Subtraktions- und Divisionsauswertung
Methodenabhängige Auswertung	<p>Extinktion, Konzentration über Faktor und Standard. RFU, Konzentration über Standard Konzentration über Standardreihe:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Lineare Regression • Nichtlineare Regression (Polynom 2. und 3. Grades) • Spline-Auswertung • Lineare Interpolation (Punkt-zu-Punkt Auswertung) <p>Extinktionsverrechnungen über Subtraktion und Division Zusatzdaten für Nukleinsäuren: Ratio 260/280 und 260/230; Molare Konzentration, Gesamtausbeute Zusatzdaten für Dye-Methoden: FOI (Frequency of incorporation, Markierungsdichte) Scans: Zoom, Peak-Auswertung</p>
Methodenspeicher	> 100 Methodenprogramme
Messwertspeicher und Kalibrationsspeicher	<p>Speicher für > 1 000 Ergebnisse mit allen Daten der Ergebnis- und Standardauswertung, Probennummer, Probenname, Datum und verwendetem Parametersatz des Methodenprogramms (Die Anzahl der gespeicherten Ergebnisse ist abhängig von der Anzahl der gespeicherten Methoden.)</p>

12 Auswerteverfahren

Dieses Kapitel beschreibt die in den Methodenprogrammen verfügbaren Auswerteverfahren sowie die Berechnung einer Verdünnung durch die Geräte-Software.



Beachten Sie beim Vergleich von Messergebnissen mit den Ergebnissen anderer Photometer/ Spektralphotometer, dass die Werte von der Bandbreite der Geräte abhängen können. In den folgenden Fällen können die Unterschiede erheblich sein:

- Das Extinktionsspektrum weist bei der Messwellenlänge einen schmalen Peak auf.
- Es wird nicht am Maximum, sondern auf der Flanke eines Peaks gemessen.

Kontrollieren Sie daher die Richtigkeit der Methode durch die Messung von Standards. In der Fluorimetrie sind die RFU-Werte nicht von Gerät zu Gerät vergleichbar, sondern müssen immer auf Standards bekannter Fluoreszenz oder Konzentration bezogen werden.

12.1 Extinktionswerte

Extinktionswerte werden als A_{XXX} (XXX steht für die Wellenlänge) dargestellt. Diese Anzeigen entsprechen immer den direkt gemessenen Werten, d.h. ohne Korrekturen, die in die anschließende Auswertung einfließen, wie z.B. Korrekturen für optische Schichtdicken der Küvette oder Background-Korrekturen.

12.1.1 Blank

Alle Extinktionswerte sind immer auf den zuletzt gemessenen Blank (Leerwert) bezogen. Eine Blank-Messung ist daher zu Beginn einer jeden Messreihe obligatorisch und auch während einer Messreihe jederzeit möglich. Die Blank-Messung sollte idealerweise alle Einflussmöglichkeiten auf den Extinktionswert der Messlösung kompensieren können. Der Blank sollte daher mit dem auch für die Probenmessung benutzten Puffer sowie in derselben Küvette wie der Probenwert gemessen werden – es sei denn, die für Blank- und Probenmessung benutzten Küvetten sind optisch gegeneinander abgeglichen, haben also denselben Extinktionswert bei der Messwellenlänge.

12.1.2 Background-Korrektur

Hauptanwendung: Partielle Korrektur von Verfälschungen der Extinktion bei Nukleinsäuremessungen durch Trübungen in der Messlösung. Beispielsweise wird die Extinktion bei 320 nm, die bei reinen Nukleinsäuren etwa bei 0 A liegen sollte, von der Extinktion bei 260 nm, der Messwellenlänge für Nukleinsäuren, subtrahiert.

$$A_{XXX,corrBkgr} = A_{XXX} - A_{Bkgr}$$

$A_{XXX, korrBkgr}$ = rechnerisch korrigierte Extinktion bei der Wellenlänge XXX nm.

A_{XXX} = gemessene Extinktion bei der Wellenlänge XXX nm.

A_{Bkgr} = gemessene Extinktion bei der Background-Wellenlänge.

Auswerteverfahren

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

12.1.3 Küvettenkorrektur

Sämtliche Extinktionswerte, die in Ergebnisberechnungen eingehen, sind auf die Küvetten-Schichtdicke 10 mm normiert. Wird eine Küvette mit einer anderen Schichtdicke benutzt, muss diese Schichtdicke im Parameter **Cuvette** definiert werden. In diesem Fall werden die gemessenen Extinktionen vor der Umrechnung in Probenergebnisse auf Messergebnisse mit einer Küvette der Schichtdicke 10 mm korrigiert.

Diese Korrektur wird angewendet auf:

- Methoden mit Auswertung über Faktor.
- Methoden der Gruppe **Absorbance**, bei denen nur Extinktionswerte ausgegeben werden.

Die Korrektur wird nicht angewendet auf:

- Methoden mit Auswertung über Standards, da vorausgesetzt wird, dass Standards und Proben in Küvetten derselben Schichtdicke gemessen werden.
- Berechnungen mit Division: Methode **Division** (Methodengruppe **Dual wavelength**) sowie Berechnung von Ratios wie A_{260}/A_{280} (bei Nukleinsäuremessungen).

$$A_{XXX, \text{corrCuv}} = A_{XXX} \times \frac{10}{Cuv}$$

$A_{XXX, \text{corrCuv}}$ = rechnerisch korrigierte Extinktion bei der Wellenlänge XXX nm.

A_{XXX} = gemessene Extinktion bei der Wellenlänge XXX nm.

Cuv = Schichtdicke der Küvette.

12.2 Transmission

In der Methodengruppe **Absorbance** kann neben der reinen Extinktion auch die prozentuale Transmission (T%) bestimmt werden.

$$T [\%] = 10^{-A} \times 100$$

A = Extinktion

T = Transmission

12.3 Auswertung mit Faktor oder Standard

$$C = A \times F$$

C = berechnete Konzentration.

A = Extinktion.

F = Faktor.

Der Faktor ist in der Parameterliste programmiert und kann verändert werden. Er bezieht sich immer auf die Küvettschichtdicke 10 mm. Wenn Sie den Parameter **Cuvette** ändern, wird die Änderung vom Gerät bei der Ergebnisberechnung berücksichtigt. Sie müssen den Faktor für die Auswertung also nicht ändern.

Wenn Sie die Konzentrationseinheit ändern, müssen Sie dagegen darauf achten, dass der Faktor an die gewählte Einheit angepasst ist.

Der Faktor wird entweder beim Auswerteverfahren "Factor" direkt als Parameter eingegeben oder beim Auswerteverfahren "Standard" (Auswertung mit einer Standardkonzentration) berechnet:

$$F = \frac{C_S}{A_S}$$

F = berechneter Faktor.

C_S = Konzentration des Standards (als Parameter eingegeben).

A_S = gemessene Extinktion des Standards.

Wurde für den Standard Mehrfachmessung (2 oder 3 Replikate) programmiert, wird aus den gemessenen Extinktionen der Replikate der Mittelwert gebildet und als A_S eingesetzt.

12.4 Auswertung mit Standardkurve/-gerade

Wird mit mehr als einem Standard ausgewertet, können mit dem [Curve fit] im Methodenschritt **measure standards/new** folgende Auswerteverfahren für die Standardkurve/-gerade ausgewählt werden:

Auswerteverfahren	Beschreibung	Erforderliche Mindestzahl an Standardpunkten
linear interpolation	Lineare Punkt-zu-Punkt-Verbindung im Extinktions-Konzentrations-Graphen der Standardauswertung.	Mindestens 2 Standards.
linear regression	Polynomregression für Polynom ersten Grades.	Mindestens 3 Standards.
quadratical regression	Polynomregression für Polynom zweiten Grades.	Mindestens 4 Standards.
cubical regression	Polynomregression für Polynom dritten Grades.	Mindestens 5 Standards.
spline interpolation	Interpolation durch natürliche kubische Splines.	Mindestens 3 Standards.

Zusätzlich kann für Regressionsverfahren gewählt werden, dass die Regressionsgerade (Regressionskurve) durch den Nullpunkt geht.



- Verwenden Sie für Kalibrationsgeraden das Verfahren "linear regression".
- Testen Sie bei kurvenförmigen Verläufen, welches Auswerteverfahren (quadratische Regression, kubische Regression, Spline Interpolation) die für die Standardauswertung am besten geeignete Funktion ergibt. Die Spline Interpolation verbindet die Messpunkte durch kubische Polynome, während die Regressionsverfahren eine quadratische bzw. kubische Funktion so zwischen die Messpunkte legen, dass für die Messpunkte möglichst geringe Abweichungen von der Funktion resultieren.
- Bei den Regressionsverfahren wird neben der berechneten Regressionsgleichung auch das Bestimmtheitsmaß (coefficient of determination) als Maß für die Streuung der Messpunkte um die berechnete Funktion angezeigt. Bei einem Wert von < 0.8 für das Bestimmtheitsmaß wird das Ergebnis mit einer Warnung versehen.
- Wenn der erste Standard die Konzentration "0" hat, wählen Sie die Einstellung, dass die Regressionsgerade (Regressionskurve) durch den Nullpunkt geht.
- Wenn keines der für kurvenförmige Verläufe empfohlenen Verfahren zufriedenstellende Ergebnisse bringen, wählen Sie das Verfahren "linear interpolation".

12.5 Verdünnung

Im Methodenschritt **measure samples** eingegebene Verdünnungen werden bei der Ergebnisberechnung berücksichtigt:

$$C_{Dil,korr} = C \times \frac{V_P + V_{Dil}}{V_P}$$

$C_{Dil, korr}$ = mit Verdünnungsfaktor umgerechnetes Ergebnis

V_P = Volumen der Probe in der Messlösung

V_{Dil} = Volumen des Diluents in der Messlösung

12.6 Spezielle Auswerteverfahren für Nukleinsäuren und Protein UV

Dieser Abschnitt bezieht sich auf die Auswertung von Nukleinsäuren bzw. Proteinen in den Methodengruppen **Nucleic acids** und **Proteins direct UV** sowie der entsprechenden Biomolekülkomponenten in der Methodengruppe **Dye labels**.

12.6.1 Korrektur A_{260} und Korrektur A_{280}

Anwendung: Korrektur des Einflusses der Farbstoffextinktion auf die Nukleinsäure- bzw. Proteinextinktion bei 260 und 280 nm bei den Methoden der Gruppe **Dye labels**.

Die Anwendung des Auswerteverfahrens kann in den Parametern **Correct A260** bzw. **Correct A280** aktiviert werden.

$$A_{XXX,corr} = A_{XXX} - CF \times A_{YYY}$$

$A_{XXX, korr}$ = rechnerisch korrigierte Extinktion bei der Wellenlänge 260 nm bzw. 280 nm

A_{XXX} = gemessene Extinktion bei der Wellenlänge 260 nm bzw. 280 nm

CF = Korrekturfaktor für die Wellenlänge 260 nm bzw. 280 nm (die beiden Korrekturfaktoren für 260 nm und für 280 nm sind für einen Farbstoff spezifisch und werden in **General Method Parameter: Dyes** im Bereich **Functions** programmiert).

A_{YYY} = gemessene Extinktion bei der Wellenlänge des Farbstoffs.



Die in den Ergebnisanzeigen dargestellten Extinktionswerte sind die direkt gemessenen, nicht korrigierten Extinktionswerte.

Auswerteverfahren

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

12.6.2 Ratio A260/A280 und Ratio A260/A230

Anwendung: Information zur Reinheit der gemessenen Nukleinsäure. In den Methodenparametern ist die Auswertung der Ratios **A260/A280** und **A260/A230** aktiviert.

"Ratio" bezeichnet den Quotienten der gemessenen Extinktionen bei den genannten Wellenlängen.

Literaturwerte für die Ratio-Werte bei reinen Nukleinsäuren:

A260/A280

- DNA: 1,8 bis 1,9
 - RNA: 1,9 bis 2,0
- (Current Protocols in Molecular Biology, 1994)

A260/A230

Für die Ratio A260/A230 findet man in der Literatur unterschiedliche Angaben für reine Nukleinsäuren:

- DNA: 2,3 bis 2,5
(The Nucleic Acids, 1955)
- DNA: 1,9
(Current Protocols in Molecular Biology, 1994)

Die Werte sind stark vom pH-Wert abhängig. Nukleinsäuren sollten daher nicht in Wasser, sondern in einem Puffer mit pH-Wert 7 bis 7,2 gemessen werden (z.B. TE-Puffer).

12.6.3 Umrechnung in molare Konzentrationen und Nukleinsäuremengen

Die Umrechnung kann nur für Nukleinsäuren und Dye-Methoden mit Nukleinsäuren als Biomolekülkomponente angewendet werden. Sie erfolgt im Methodenschritt **process results/More calculations**.

12.6.3.1 Berechnung der Menge

Anwendung: Berechnung der Menge (Masse) an Nukleinsäure im gesamten Probenvolumen.

$$M = C \times V_{P,gesamt}$$

M = berechnete Gesamtmenge (Masse) der Nukleinsäure im Probengefäß. Einheit: μg .

C = aus der Messung berechnete Konzentration der Nukleinsäure. Einheit: $\mu\text{g/mL}$ oder $\text{ng}/\mu\text{L}$.

$V_{P,gesamt}$ = Gesamtvolumen der Probe im Probengefäß. Geben Sie diesen Wert in **More calculations** ein. Einheit: μL .

12.6.3.2 Berechnung der molaren Konzentration

Anwendung: Berechnung der molaren Konzentration der Nukleinsäure aus Massenkonzentration und relativer Molmasse. Die Molmasse wird entweder direkt eingegeben oder vom Gerät aus der eingegebenen Zahl der Basen bzw. Basenpaare pro Nukleinsäuremolekül errechnet.

$$C_{Mol} = \frac{C \times 10^3}{MM}$$

C_{Mol} = berechnete molare Konzentration der Nukleinsäure. Einheit: pmol/mL.

C = aus der Messung berechnete Massenkonzentration der Nukleinsäure. Einheit: µg/mL oder ng/µL.

MM = relative Molmasse. Einheit: kDa

Falls in **More calculations** statt der relativen Molmasse die Zahl der Basen bzw. Basenpaaren pro Nukleinsäuremolekül eingegeben wurde, wird MM aus der Zahl der Basen bzw. Basenpaaren berechnet:

Für **dsDNA**:

$$MM = bp \times 2 \times 330 \times 10^{-3}$$

Für **ssDNA, RNA, Oligo**:

$$MM = b \times 330 \times 10^{-3}$$

MM = berechnete relative Molmasse; Einheit: kDa

bp = eingegebene Zahl der Basenpaare pro Molekül

b = eingegebene Zahl der Basen pro Molekül



- Für **dsDNA** wird bei der Berechnung der molaren Konzentration eine doppelsträngige Nukleinsäure angenommen. Für die Methoden **ssDNA, RNA** und **Oligo** wird eine einzelsträngige Nukleinsäure angenommen.
- Für Methoden, die in der Hauptgruppe **Routine**, Methodengruppe **Nucleic acids** über **<New Method>** neu programmiert wurden, werden für die Berechnung der molaren Konzentration immer doppelsträngige Nukleinsäuren angenommen.

12.6.4 Berechnung des Faktors für Protein in "General Method Parameter"

Dieser Abschnitt gilt nur für Berechnung der Proteinkomponente in den Methodengruppen **Dye labels** und **Proteins direct UV**. Bei diesen Methodengruppen wird in den Parametern die Proteinkomponente ausgewählt (siehe *Methodenparameter auf S. 39*). Der Proteinkomponente ist ein Faktor zugeordnet, der in der Funktion **General Method Parameter/Proteins** für jedes Protein eingegeben wird. Alternativ zur Eingabe des Faktors kann entweder $A_{0.1\%}$ oder der Extinktionskoeffizient plus die Molmasse des Proteins eingegeben werden. In diesem Fall wird der Faktor wie folgt berechnet:

$$F_P = \frac{1}{A_{0.1\%}}$$

F = Faktor für das Protein; Einheit: g/L.

$A_{0.1\%}$ = Extinktion des Proteins bei einer Konzentration von 0,1 % (1 g/L).

Bei Eingabe des molaren Extinktionskoeffizienten und der relativen Molmasse des Proteins kann $A_{0.1\%}$ hieraus berechnet werden:

$$A_{0.1\%} = \frac{\varepsilon_P}{MM_P}$$

ε_P = molarer Extinktionskoeffizient des Proteins; Einheit: $\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}$.

MM_P = relative Molmasse des Proteins; Einheit: Da (Eingabe in **General Method Parameter** in kDa).

12.7 Spezielle Auswerteverfahren für die Dye-Methoden

12.7.1 Berechnung des Faktors für den Farbstoff aus dem Extinktionskoeffizienten

Bei den Dye-Methoden wird die Konzentration des Farbstoffs mit einem Faktor aus der gemessenen Extinktion errechnet (siehe *Auswertung mit Faktor oder Standard auf S. 103*). Der Faktor wird in der Funktion **General Method Parameter/Dyes** für jeden Farbstoff eingegeben. Alternativ zur Eingabe des Faktors kann der Extinktionskoeffizient eingegeben werden. In diesem Fall wird der Faktor wie folgt berechnet:

$$F_{Dye} = \frac{10^6}{\varepsilon_{Dye}}$$

F = Faktor für den Farbstoff; Einheit: pmol/ μL .

ε = Extinktionskoeffizient für den Farbstoff; Einheit: $\text{cm}^{-1}\text{Mol}^{-1}\text{L}$.

12.7.2 Berechnung der FOI

Als Wert für das Verhältnis von Farbstoffmolekülen zur Menge der Nukleotide in der Nukleinsäure wird bei den Dye-Methoden die Einbaurate (FOI = Frequency of Incorporation) berechnet und angezeigt. Die Berechnung kann für zwei verschiedene Ergebniseinheiten ausgewählt werden:

Einheit MOLEKÜLE dye/kb

$$FOI = \frac{A_{YYY}}{\epsilon_{Dye}} \times \frac{10^6 \times MM_{nt}}{A_{XXX} \times F_{NA}}$$

Einheit pmol/µg DNA (bzw. RNA)

$$FOI = \frac{A_{YYY}}{\epsilon_{Dye}} \times \frac{10^9}{A_{XXX} \times F_{NA}}$$

A_{YYY} = Extinktion des Farbstoffs.

A_{XXX} = Extinktion der Nukleinsäure.

MM_{nt} = durchschnittliche Molmasse der Nukleotide: 330 g/mol.

F_{NA} = Faktor zur Berechnung der Nukleinsäure

ϵ_{Dye} = Extinktionskoeffizient für den Farbstoff; Einheit: $\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}$

12.7.3 Umrechnung in Farbstoffmengen

Die Berechnung der Menge (Masse) an Farbstoff im gesamten Probenvolumen erfolgt im Methodenschritt **process results/More calculations**.

$$M = C \times V_{P, total}$$

M = berechnete Gesamtmenge (Masse) des Farbstoffs im Probengefäß. Einheit: pmol.

C = aus der Messung berechnete Konzentration des Farbstoffs. Einheit: pmol/µL.

$V_{P, gesamt}$ = Gesamtvolumen der Probe im Probengefäß; wird vom Anwender in **More calculations** eingegeben. Einheit: µL.

12.8 Dual wavelength

Für Methoden der Gruppe **Dual Wavelength** können Extinktionen, die bei zwei Wellenlängen gemessen wurden, miteinander verrechnet werden, bevor die berechnete Extinktion in die weitere Auswertung mit Faktor oder mit Standard eingeht.

Für die Ermittlung der berechneten Extinktion kann in den Parametern eine Auswertung über Division oder über Subtraktion definiert werden:

$$A_{calc} = \frac{a \times A_1}{b \times A_2} \times c + d$$

$$A_{calc} = [(a \times A_1) - (b \times A_2)] \times c + d$$

A_1, A_2 = gemessene Extinktionen.

a, b, c, d = Faktoren, die in den Parametern eingegeben werden. Es können auch negative Zahlen eingegeben werden.

12.9 Fluorimetrie

12.9.1 RFU-Werte

Relative Fluorescence Unit: RFU-Werte sind ein Maß für die gemessene Fluoreszenz. Anders als die Extinktionswerte bei der Photometrie sind die RFU-Werte nicht von Gerät zu Gerät vergleichbar, sondern müssen immer auf Standards bekannter Fluoreszenz oder Konzentration bezogen werden.

12.9.2 Blank

Alle RFU-Werte sind immer auf den zuletzt gemessenen Blank (Leerwert) bezogen.

Eine Blank-Messung ist daher zu Beginn einer jeden Messreihe obligatorisch und auch während einer Messreihe jederzeit möglich. Die Blank-Messung sollte idealerweise alle Einflussmöglichkeiten auf den RFU-Wert der Messlösung kompensieren können. Der Blank sollte daher mit dem auch für die Probenmessung benutzten Puffer sowie in derselben Küvette wie der Probenwert gemessen werden – es sei denn, die für Blank- und Probenmessung benutzten Küvetten sind optisch gegeneinander abgeglichen, haben also denselben RFU-Wert bei der Messwellenlänge

12.9.3 Auswertung mit Standard und Standardkurve/-gerade, Verdünnung

Die Auswertung mit einem Standard bzw. mit Standardkurve/-gerade ist analog zur Auswertung photometrischer Methoden (siehe *Auswertung mit Faktor oder Standard auf S. 103*).

Wird mit mehr als einem Standard ausgewertet, können mit dem [Curve fit] im Methodenschritt **measure standards/new** verschiedene Auswerteverfahren für die Standardkurve/-gerade ausgewählt werden (siehe *Auswertung mit Standardkurve/-gerade auf S. 104*).

Die Ergebnisberechnung der Verdünnung erfolgt wie bei photometrischen Methoden (siehe *Verdünnung auf S. 105*).

Auswerteverfahren

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

13 Bestellinformationen

Best.-Nr. (International)	Best.-Nr. (Nordamerika)	Beschreibung
6135 000.009	–	Eppendorf BioSpectrometer basic 230 V/50 – 60 Hz, Netzstecker Europa, weitere Netzanschlussvarianten erhältlich
6135 000.017	6135000017	120 V/50 – 60 Hz, Netzstecker Nordamerika
6137 000.006	–	Eppendorf BioSpectrometer fluorescence 230 V/50-60 Hz, Netzstecker Europa, weitere Netzanschlussvarianten erhältlich
6137 000.014	6137000014	120 V/50-60 Hz, Netzstecker Nordamerika
6137 928.009	6137928009	BioSpectrometer fluorescence Referenzfiltersatz Filtersatz zur Überprüfung der photometrischen Richtigkeit und Wellenlängenrichtigkeit (gemäß NIST) sowie zur Überprüfung der fluorimetrischen Präzision (zufällige Messabweichung) und Linearität.
6135 011.000 6135 010.004 6135 012.007	6135010004	Thermodrucker DPU-S445 inkl. Netzteil und Druckerlabel 230 V, EU 115 V/110V, USA, JP 230 V, UK
0013 021.566	952010409	Thermopapier 5 Rollen
0030 106.300	952010051	Eppendorf UVette 220 nm – 1 600 nm Original Eppendorf Kunststoffküvette, PCR clean, Protein-free 50 - 2 000 µL, 80 Stück, einzeln verpackt
0030 106.318	952010069	Eppendorf UVette routine pack 220 nm – 1 600 nm Eppendorf Quality 50 - 2 000 µL, 200 Stück, wiederverschließbare Box
0030 079.345	0030079345	Eppendorf macro Vis Cuvettes 10 × 100 Stück
0030 079.353	0030079353	Eppendorf semi-micro Vis Cuvettes 10 × 100 Stück
0030 119.851	0030119851	Eppendorf Cuvette Rack 36 Plätze, für Glas- und Kunststoffküvetten, nummerierte Plätze 2 Stück, Polypropylen, autoklavierbar

Bestellinformationen

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence
Deutsch (DE)

Declaration of Conformity

The product named below fulfills the requirements of directives and standards listed. In the case of unauthorized modifications to the product or an unintended use this declaration becomes invalid.

Product name:

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence

Product type:

Photometer

Relevant directives / standards:

2014/35/EU: EN 61010-1

UL 61010-1, CAN/CSA C22.2 No. 61010-1

2014/30/EU: EN 55011, EN 61326-1

2011/65/EU: EN 50581

Date: December 28, 2015



Management Board



Portfolio Management

Your local distributor: www.eppendorf.com/contact
Eppendorf AG · 22331 Hamburg · Germany
eppendorf@eppendorf.com

Eppendorf® and the Eppendorf logo are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany.
U.S. Design Patents are listed on www.eppendorf.com/ip.
All rights reserved, incl. graphics and pictures. Copyright 2015 © by Eppendorf AG.

www.eppendorf.com

ISO 9001
Certified

ISO
13485
Certified

ISO
14001
Certified

Evaluate Your Manual

Give us your feedback.
www.eppendorf.com/manualfeedback