

Register your instrument!  
[www.eppendorf.com/myeppendorf](http://www.eppendorf.com/myeppendorf)



# Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence

Manual de operação

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*.

## Índice

<b>1</b>	<b>Indicações de uso</b>	<b>7</b>
1.1	Utilização deste manual	7
1.2	Símbolos de perigo e níveis de perigo	7
1.2.1	Símbolos de perigo	7
1.2.2	Níveis de perigo	7
1.3	Símbolos usados	8
1.4	Abreviaturas usadas	9
<b>2</b>	<b>Segurança</b>	<b>11</b>
2.1	Utilização de acordo com a finalidade	11
2.2	Exigências ao usuário	11
2.3	Perigos durante o uso conforme a finalidade	11
2.3.1	Danos pessoais	11
2.3.2	Danos ao equipamento	13
2.4	Informações sobre responsabilidade pelo produto	14
2.5	Indicações de segurança no equipamento	14
<b>3</b>	<b>Descrição do produto</b>	<b>15</b>
3.1	Vista geral de produtos	15
3.2	Material fornecido	15
3.3	Características	16
3.3.1	Métodos	16
3.3.2	Operação	16
3.3.3	Saída de resultados	16
3.3.4	Autoteste do equipamento	17
<b>4</b>	<b>Instalação</b>	<b>19</b>
4.1	Preparar a instalação	19
4.2	Selecionar o local de instalação	19
4.3	Conectando o equipamento à rede elétrica	19
4.4	Conectar o equipamento a uma rede	20
4.5	Conectando a impressora à porta USB	20
4.5.1	Impressora térmica DPU-S445	20
4.6	Conectando um pendrive USB para exportação de dados	21
<b>5</b>	<b>Operação</b>	<b>23</b>
5.1	Elementos de comando	23
5.1.1	Introduzindo texto	25
5.2	Inserindo a cubeta	25
5.3	Vista geral do procedimento de medição	27
5.3.1	Preparando a medição	27
5.3.2	Procedimento de medição	27
5.3.3	Indicações importantes sobre a medição	31

<b>6</b>	<b>Métodos</b>	<b>33</b>
6.1	Selecionando o método	33
6.2	Descrição do método Fotometria	34
6.2.1	Grupo de métodos Absorbance	34
6.2.2	Grupo de método Routine	35
6.2.3	Grupo de métodos Basic	36
6.2.4	Grupo de métodos Advanced	37
6.3	Descrição metódica fluorimetria	37
6.3.1	Grupo metódico Rotina	37
6.3.2	Grupo de métodos Basic	38
6.4	Parâmetros de métodos	39
6.5	Procedimento do método	44
6.5.1	check parameters	44
6.5.2	measure standards	45
6.5.3	measure samples	46
6.5.4	measure samples: Indicações de resultados	49
6.5.5	process results	55
6.5.6	process results: Opções	57
6.5.7	print & export	60
6.5.8	Terminando série de medição	63
<b>7</b>	<b>Funções</b>	<b>65</b>
7.1	Funções do grupo principal 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
<b>8</b>	<b>Manutenção</b>	<b>75</b>
8.1	Limpeza	75
8.1.1	Limpendo o compartimento da cubeta	76
8.2	Desinfecção/descontaminação	77
8.3	Verificando o equipamento	77
8.3.1	Verificando a unidade do espectrômetro	77
8.3.2	Verificando a unidade de fluorescência	81
8.3.3	Autoteste do equipamento	82
8.4	Substituir os fusíveis da rede	83
8.5	Descontaminação antes do envio	84
<b>9</b>	<b>Resolução de problemas</b>	<b>85</b>
9.1	Erros gerais	85
9.2	Mensagens de erro	87
9.3	Identificação de resultados	91
<b>10</b>	<b>Transporte, armazenamento e eliminação</b>	<b>95</b>
10.1	Transporte	95
10.2	Armazenamento	95
10.3	Eliminação	96

<b>11</b>	<b>Dados técnicos</b> .....	<b>97</b>
11.1	Alimentação de tensão .....	97
11.2	Condições ambientais .....	97
11.3	Peso/dimensões .....	97
11.4	Características fotométricas .....	98
11.5	Fluorímetro .....	98
11.6	Outros parâmetros técnicos .....	99
11.7	Parâmetros de aplicativo .....	100
<b>12</b>	<b>Processos de avaliação</b> .....	<b>101</b>
12.1	Valores de absorção .....	101
12.1.1	Blank .....	101
12.1.2	Correção de fundo .....	101
12.1.3	Correção de cubetas .....	102
12.2	Transmissão .....	102
12.3	Avaliação com fator ou padrão .....	103
12.4	Avaliação com curva/linha de padrões .....	104
12.5	Diluição .....	105
12.6	Processos de avaliação especiais para ácidos nucleicos e UV proteína .....	105
12.6.1	Correção $A_{260}$ e correção $A_{280}$ .....	105
12.6.2	Relação $A_{260}/A_{280}$ e relação $A_{260}/A_{230}$ .....	106
12.6.3	Conversão em concentrações molares e quantidades de ácidos nucleicos .....	106
12.6.4	Cálculo do fator para proteína em "General Method Parameter" .....	108
12.7	Processos de avaliação especiais para os métodos Dye .....	108
12.7.1	Cálculo do fator do corante a partir do coeficiente de absorção .....	108
12.7.2	Cálculo da FOI .....	109
12.7.3	Conversão em quantidades de corante .....	109
12.8	Dual wavelength .....	110
12.9	Fluorimetria .....	111
12.9.1	Valores RFU .....	111
12.9.2	Blank .....	111
12.9.3	A análise com curva padrão, diluição .....	111
<b>13</b>	<b>Informações para pedido</b> .....	<b>113</b>
	<b>Certificados</b> .....	<b>115</b>

**Índice**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

## 1 Indicações de uso






### 1.1 Utilização deste manual

- ▶ Leia o manual de operação antes de colocar o equipamento em funcionamento pela primeira vez. Se necessário observe o manual de operação dos acessórios.
- ▶ Este manual de operação faz parte do produto. Guarde-o em um local facilmente acessível.
- ▶ Em caso de entrega do aparelho a terceiros junte sempre o manual de operação.
- ▶ Você encontra a versão atual do manual de operação nas línguas disponíveis em nosso site na internet em [www.eppendorf.com/manuals](http://www.eppendorf.com/manuals).

### 1.2 Símbolos de perigo e níveis de perigo

#### 1.2.1 Símbolos de perigo

As indicações de segurança deste manual apresentam os seguintes símbolos de perigo e níveis de perigo:

	<b>Choque elétrico</b>		<b>Substâncias explosivas</b>
	<b>Substâncias tóxicas</b>		<b>Ponto de perigo</b>
	<b>Danos materiais</b>		




#### 1.2.2 Níveis de perigo

<b>PERIGO</b>	<i>Resulta em lesões graves ou morte.</i>
<b>ATENÇÃO</b>	<i>Poderá resultar em lesões graves ou morte.</i>
<b>CUIDADO</b>	<i>Poderá resultar em lesões de gravidade moderada a média.</i>
<b>AVISO</b>	<i>Poderá resultar em danos materiais.</i>

**Indicações de uso**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

**1.3 Símbolos usados**

Representação	Significado
1. 2.	Ações na sequência especificada
▶	Ações sem sequência especificada
•	Lista
 ou <b>sample</b>	Pressione a tecla para executar uma ação descrita.
 ou [Copy]	Pressione a tecla de funções para executar uma ação descrita.
	Informações adicionais



## 1.4 Abreviaturas usadas

### A

Absorbance – Extinção

### DNA

Deoxyribonucleic acid – Ácido desoxirribonucleico (ADN)

### dsDNA

double stranded DNA – ADN duplex

### Métodos de marcação

Métodos do grupo **Dye labels** para a medição de biomoléculas marcadas com corante

### FOI

Frequência de incorporação: Medida para a quantidade de moléculas de corantes relativa ao número de nucleotídeos em moléculas biológicas marcadas com corantes

### M

mol/L (*molar*)

### OD600

Densidade óptica com comprimento de onda de 600 nm

### RFU

Relative Fluorescence Unit – unidade de fluorescência relativa Medida para a intensidade em medições de fluorescência

### RNA

Ribonucleic acid – Ácido ribonucléico (ARN)

### ssDNA

single stranded DNA – ADN simplex

### P

Transmissão: A translucidez descrita como Transmissão (T) é calculada como quociente a partir de I (saída de luz da cubeta) e  $I_0$  (entrada de luz na cubeta):  $T = I/I_0$

### UV

Radiação ultravioleta

### Vis

Visible light – luz visível

### CV

Coefficiente de variação (erro padrão / média), em percentagem

**Indicações de uso**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

## 2 Segurança

### 2.1 Utilização de acordo com a finalidade

A área de aplicação do BioSpectrometer fluorescence são laboratórios de pesquisa na área da biologia molecular, bioquímica e biologia celular. O BioSpectrometer fluorescence destina-se exclusivamente à utilização em espaços interiores. Têm de ser cumpridos os requisitos de segurança específicos do país para a operação de aparelhos elétricos na área laboratorial.

O BioSpectrometer fluorescence destina-se à determinação fotométrica de concentrações de analitos em líquidos e ao registro de espectros de absorção de comprimento de onda em cubetas. Além disso é possível executar medições de fluorescência para a quantificação de biomoléculas.

Utilize apenas acessórios Eppendorf ou acessórios recomendados pela Eppendorf.

### 2.2 Exigências ao usuário

O instrumento e acessórios devem ser usados apenas por técnicos treinados.

Antes da utilização leia atentamente o manual de utilização e o manual de instruções dos acessórios e familiarize-se com o modo de trabalho do instrumento.

### 2.3 Perigos durante o uso conforme a finalidade

#### 2.3.1 Danos pessoais



**PERIGO! Choque elétrico devido a penetração de líquido.**

- ▶ Desligue o equipamento e desconecte o plugue antes de iniciar a limpeza ou desinfecção.
- ▶ Não deixe penetrar qualquer líquido no interior da caixa.
- ▶ Não use spray para limpar/desinfetar a carcaça.
- ▶ Apenas volte a ligar o equipamento se esse estiver completamente seco no interior e exterior.



**PERIGO! Perigo de explosão.**

- ▶ Não opere o equipamento em compartimentos onde sejam processadas substâncias explosivas.
- ▶ Não processe com o equipamento substâncias explosivas ou que reajam fortemente.
- ▶ Não processe com este equipamento substâncias que possam formar uma atmosfera explosiva.

**ATENÇÃO! Choque elétrico devido a danos ao equipamento ou no cabo elétrico.**

- ▶ Ligue o equipamento caso este e o cabo de alimentação não estejam danificados.
- ▶ Coloque em funcionamento apenas equipamentos devidamente instalados ou reparados.
- ▶ Em situação de perigo desconecte o equipamento da tensão da rede. Retire o plugue do equipamento ou da tomada. Utilize o dispositivo de interrupção previsto (p. ex., interruptor de emergência no laboratório).

**ATENÇÃO! Danos devido a radiação UV.**

Cubetas de microlitro, como Hellma® TrayCell (ou cubetas de microlitros de tipo semelhante) desviam a radiação da fonte de luz dentro da cubeta, de forma que a radiação da fonte de luz pode sair por cima se a tampa não estiver fechada.

- ▶ Antes do início de uma medição certifique-se de que a tampa está colocada na cubeta de microlitro.

**ATENÇÃO! Perigo para a saúde devido a químicos tóxicos, radioativos ou agressivos, assim como devido a líquidos infecciosos e germes patogênicos.**

- ▶ Respeite os regulamentos nacionais sobre a manipulação destas substâncias, os níveis de segurança biológica de seu laboratório, assim como as folhas de dados de segurança e as indicações de utilização do fabricante.
- ▶ Use seu equipamento de proteção individual.
- ▶ Consulte os regulamentos abrangentes sobre a manipulação de germes ou material biológico do grupo de risco II ou mais elevado em "Laboratory Biosafety Manual" (Fonte: World Health Organisation, Laboratory Biosafety Manual, na respectiva versão atualizada).

**ATENÇÃO! Perigo para a saúde devido a equipamento e acessórios contaminados.**

- ▶ Descontamine o equipamento e acessórios antes do armazenamento ou envio.

**CUIDADO! Falhas de segurança devido a acessórios e peças sobresselentes errados.**

Os acessórios e peças suplentes não aconselhadas pela Eppendorf reduzem a segurança, o funcionamento e a precisão do equipamento. A Eppendorf não assume nenhuma garantia e responsabilidade por danos provocados pela utilização de acessórios e peças suplentes não recomendados ou pelo uso indevido do equipamento.

- ▶ Use apenas acessórios recomendados pela Eppendorf e peças sobresselentes originais.

### 2.3.2 Danos ao equipamento

---



**AVISO! Danos devido a químicos agressivos.**

- ▶ Não utilize químicos agressivos no equipamento e acessórios, como por ex. bases fortes e fracas, ácidos fortes, acetona, formaldeído, hidrocarbonetos halogenados ou fenol.
- ▶ Limpe imediatamente o equipamento em caso de presença de químicos agressivos com um produto de limpeza suave.



**AVISO! Danos ao equipamento devido a fumigação com químicos agressivos.**

- ▶ Não execute desinfecção por fumigação.



**AVISO! Corrosão devido a produtos de limpeza e desinfecção agressivos.**

- ▶ Não utilize detergentes corrosivos, nem solventes agressivos ou polidores abrasivos.
- ▶ Não incubar os acessórios durante um longo período de tempo em detergentes de limpeza ou desinfecção agressivos.



**AVISO! Danos aos componentes elétricos devido a formação de condensação.**

Após o transporte do equipamento de um ambiente frio para um ambiente mais quente, pode-se formar condensação.

- ▶ Depois de montar o equipamento espere no mínimo 3 h. Ligue só depois o equipamento à fonte de energia.



**AVISO! Diminuição do funcionamento devido a danos mecânicos.**

- ▶ Verifique o equipamento após um dano mecânico para se certificar de que as funções de medição e avaliação do equipamento decorrem corretamente.



**AVISO! Danos devido a superaquecimento.**

- ▶ Não coloque o equipamento próximo de fontes de calor (p. ex. aquecimento, secador).
- ▶ O equipamento não deve ser exposto a luz solar direta.
- ▶ Garanta uma circulação de ar sem obstáculos. Mantenha livre uma distância mínima de 5 cm para todas as ranhuras de ventilação.



**AVISO! Danos materiais devido a utilização errada.**

- ▶ Apenas utilize o equipamento para os fins descritos no manual de instruções.
- ▶ Certifique-se de que está garantida a resistência suficiente do material durante o uso de substâncias químicas.
- ▶ Em caso de dúvida contate o fabricante deste produto.

**AVISO! Danos devido a embalagem incorreta.**

A Eppendorf AG não se responsabiliza por danos devido a embalagem incorreta.

- ▶ Armazene e transporte o equipamento sempre na embalagem original.

**AVISO! Danos devido a limpeza incorreta do compartimento da cubeta.**


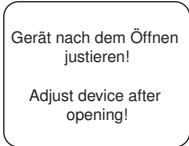
- ▶ Limpe o compartimento da cubeta apenas com uma zaragatoa úmida (aqui *Limpeza na pág. 75*).
- ▶ Não deixe penetrar líquidos no compartimento da cubeta.
- ▶ Não insira os dedos no compartimento da cubeta.

## 2.4 Informações sobre responsabilidade pelo produto

Nos casos descritos abaixo, as medidas de proteção previstas para o equipamento poderão ser comprometidas. A responsabilidade por danos físicos e materiais que venham a ocorrer recairá, então, sobre o operador.

- O equipamento não é utilizado de acordo com o manual de operação.
- A utilização do equipamento difere da utilização de acordo com a finalidade.
- O equipamento é usado com acessórios ou consumíveis que não foram aprovados pela Eppendorf AG.
- Pessoas que não foram autorizadas pela Eppendorf AG realizam a manutenção ou a reparação do equipamento.
- Foram realizadas alterações no equipamento não autorizadas pelo usuário.

## 2.5 Indicações de segurança no equipamento

Representação	Significado	Local
	Ponto de perigo ▶ Respeite o manual de instruções.	Lado traseiro do equipamento
	Quando o equipamento é aberto é necessário ajustá-lo novamente. ▶ Não abrir o equipamento.	Parte inferior do equipamento

### 3 Descrição do produto

#### 3.1 Vista geral de produtos

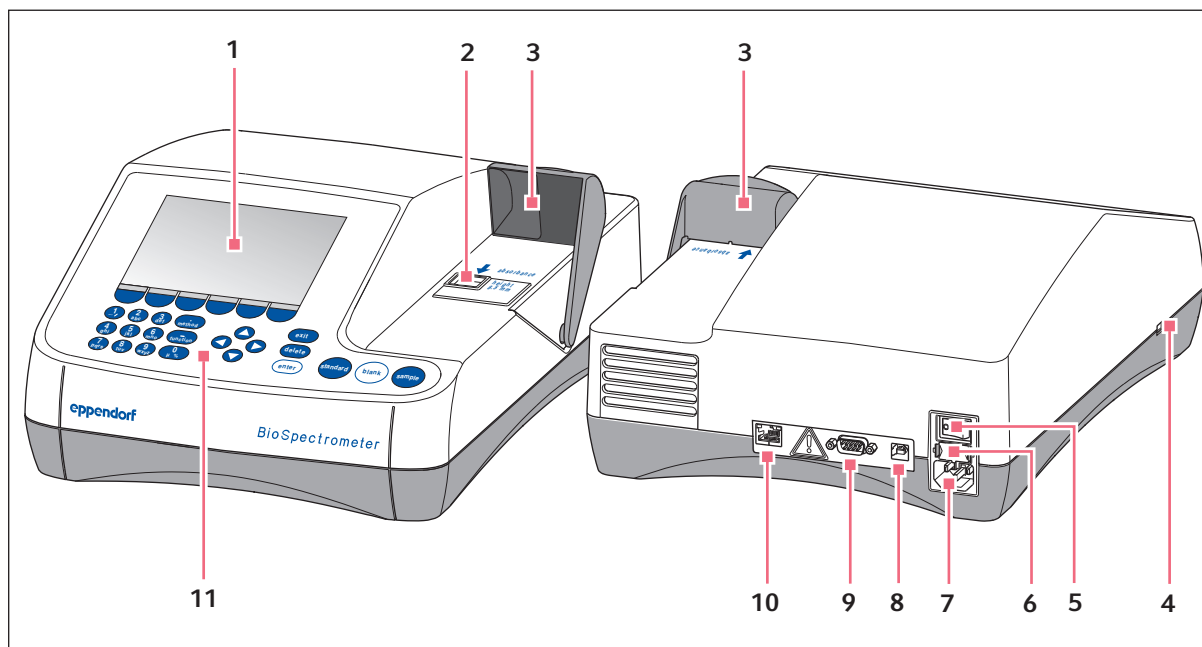


Fig. 3-1: Vista frontal e traseira

- |  |                                |
|--|--------------------------------|
| 1 Visor                                    | 7 Fonte de alimentação         |
| 2 Compartimento da cubeta                  | 8 Porta USB para computador    |
| 3 Cobertura do compartimento da cubeta     | 9 Porta RS-232 para impressora |
| 4 Porta USB para pendrive USB e impressora | 10 Tomada de conexão Ethernet  |
| 5 Interruptor de rede                      | 11 Painel de comando           |
| 6 Porta-fusível                            |                                |

A chapa de características encontra-se na parte inferior do equipamento no lado esquerdo atrás.

#### 3.2 Material fornecido

Número	Descrição
1	BioSpectrometer fluorescence
1	Cabo elétrico
4	4 UVetten Cubeta de plástico Eppendorf original, embalada individualmente, PCR clean, Protein-free
1	Manual de instruções, multilíngue

## Descrição do produto

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

### 3.3 Características

O BioSpectrometer fluorescence reúne dois processos de medição espectroscópicos: Espectrofotometria e fluorimetria. Consegue executar medições espectrofotométricas na faixa UV-Vis de 200 nm até 830 nm e medições fluorimétricas em duas combinações de comprimentos de onda definidos na área visível (470 nm excitação/520 nm emissão e 470 nm excitação/560 nm emissão). Destina-se à medição de líquidos em cubetas na área da biologia molecular, biotecnologia, bioquímica e biologia celular na pesquisa e desenvolvimento. É possível utilizar cubetas de vidro e cubetas plásticas na faixa de volume de 1 µL até 3000 µL (fotometria) ou 60 µL até 3000 µL (fluorimetria).

#### 3.3.1 Métodos

##### Fotometria

Já estão pré-programados vários métodos para a determinação da concentração de ácido nucleico, proteínas e ácidos nucleicos marcados com corantes e proteínas, assim como o método **OD 600** para a determinação da densidade bacteriana através da medição da turvação. Além disso estão pré-programados métodos para vários processos de medição e avaliação (medições de um ou multicomprimentos de onda, registro de espectros, avaliações com fator, padrão e curva de padrão). É possível criar métodos próprios com base nos métodos e modelos pré-programados. Com os modelos do grupo de métodos **Absorbance** é possível avaliar rapidamente absorções ou espectros sem mais avaliações. No grupo de métodos **Absorbance**, você encontra também um método para avaliar o grau de transmissão de uma amostra.

##### Fluorimetria

Estão pré-programados métodos para a determinação da concentração de ácidos nucleicos com reagentes PicoGreen, RiboGreen, OliGreen e o reagente Qubit, assim como a concentração de proteínas com NanoOrange. Também estão incluídas variantes curtas dos métodos de ácido nucleico para a medição rápida com apenas dois padrões. Como na espectrofotometria também estão pré-programados modelos de métodos para vários processos de avaliação (através de fator, padrão ou curva de padrão).

#### 3.3.2 Operação

Os métodos e modelos pré-programados estão resumidos em grupos organizados, nos quais pode selecionar rapidamente o método desejado. Depois de acessar o método é guiado através do procedimento de medição em passos claros. Uma caixa de ajuda no visor dá informações, se necessário. As 3 teclas redondas de medição (**standard**, **blank**, **sample**) permitem iniciar uma medição de forma rápida e direta.

#### 3.3.3 Saída de resultados

O BioSpectrometer fluorescence apresenta os resultados no visor do equipamento ou imprime-os em uma impressora disponível na Eppendorf. Através da porta USB é possível transferir os dados de resultados do equipamento para um pen drive USB, uma impressora ou diretamente para um PC. Quando o equipamento está conectado a uma rede é possível imprimir os resultados em uma impressora de rede ou serem enviados por e-mail. Não é possível salvar os resultados em uma unidade de rede.



### 3.3.4 Autoteste do equipamento

Diretamente após a ligação o equipamento verifica automaticamente o funcionamento da unidade do espectrômetro e da unidade de fluorescência. Para realizar uma verificação mais abrangente do equipamento, acesse a função **Device calibration** (aqui *Autoteste do equipamento na pág. 82*).

**Descrição do produto**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

## 4 Instalação

### 4.1 Preparar a instalação

- ▶ Conserve a caixa de transporte e o material da embalagem para um transporte futuro seguro ou para armazenamento.
- ▶ Verifique se a entrega está completa com base nos dados sobre o material fornecido (aqui *Material fornecido na pág. 15*).
- ▶ Verifique todas as peças com relação a eventuais danos de transporte.

### 4.2 Selecionar o local de instalação

Selecione o local de instalação do BioSpectrometer fluorescence de acordo com os seguintes critérios:

- 2 tomadas com condutor de proteção para o BioSpectrometer fluorescence e a impressora.
- Mesa de laboratório sólida com tampo de trabalho horizontal.  
Necessidade de espaço do equipamento: 50 cm (com impressora: 75 cm) largura, 50 cm profundidade.
- Temperatura: 15 °C a 35 °C.
- Evite oscilações de temperatura (por ex. devido a janelas abertas).
- Evite a luz solar direta.
- Umidade do ar: 25 % a 70 % umidade relativa.



Certifique-se de que não se encontram objetos debaixo do equipamento (por ex. folhas soltas, cadernos), que possam obstruir a entrada de ar.

### 4.3 Conectando o equipamento à rede elétrica

1. Coloque o BioSpectrometer fluorescence sobre uma área de trabalho adequada.
2. Verifique se a tensão de rede e a frequência de rede correspondem aos dados da chapa de características.
3. Conecte o equipamento à rede elétrica e ligue-o com o interruptor de rede.
4. Retire a película protetora do visor.

## 4.4 Conectar o equipamento a uma rede



A conexão do equipamento a uma rede é opcional. É possível usar o equipamento sem conexão a uma rede.

Informações sobre configurações de rede (aqui *Device settings* na *pág. 71*)

Requisito

Cabo Ethernet (RJ45)

1. Conecte o cabo Ethernet à tomada de conexão da rede.
2. Conecte o cabo Ethernet à tomada de conexão Ethernet **10** (aqui *Vista geral de produtos* na *pág. 15*).



### **Impressora de rede**

Uma impressora de rede é detectada automaticamente nas seguintes condições:

- A impressora se encontra no mesmo segmento de rede do equipamento.
- A impressora suporta o protocolo Zeroconf.
- A impressora é compatível com PostScript.

## 4.5 Conectando a impressora à porta USB

### 4.5.1 Impressora térmica DPU-S445

Requisito

No equipamento estar instalada a versão de software 3.4.4.0 ou superior.

Nas configurações da impressora estar selecionada a impressora térmica DPU-S445 (aqui *Device settings* na *pág. 71*).

Conecte a impressora térmica DPU-S445 à porta USB para impressoras.

1. Conecte o cabo da impressora à porta USB para impressoras **4** (aqui *Vista geral de produtos* na *pág. 15*).
2. Conecte o cabo da impressora à impressora.
3. Conecte a impressora à rede elétrica através do transformador e cabo elétrico fornecidos (acessórios da impressora) e ligue a impressora.

Encontra informações sobre a impressora no manual de instruções da impressora.

## 4.6 Conectando um pendrive USB para exportação de dados

É possível conectar um pendrive USB, com formatação **FAT-32** à porta USB **4** (aqui *Vista geral de produtos na pág. 15*).

Em alternativa é possível conectar o equipamento diretamente a um computador através de um cabo USB para a exportação de dados:

### Requisito

- Computador com Windows, Versão XP, SP2 ou versões posteriores.
- Cabo USB respetivamente com um conector tipo A e tipo B.
- ▶ Conecte o equipamento à porta USB do computador através do cabo USB **8** (aqui *Vista geral de produtos na pág. 15*).



- Não precisa de um software especial para a transferência de dados: Pacotes de dados transferidos são detectados pelo computador como um dispositivo de armazenamento removível, como um pendrive USB. Para visualizar os dados precisa apenas abrir o pacote de dados.
- A transferência de dados para o pendrive USB ou para o computador é iniciada após a série de medição no passo de método **print & export** (aqui *print & export na pág. 60*).

**Instalação**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

## 5 Operação

### 5.1 Elementos de comando














Fig. 5-1: Elementos de comando do BioSpectrometer fluorescence

Tecla	Função
	<p>Teclado: Introduzir números e texto.</p> <p>Teclas <b>1 a 9 e 0</b>: Na introdução de texto é possível introduzir números além de letras e caracteres especiais pressionando várias vezes a tecla. Em alternativa pode mudar para o teclado virtual com [Keyboard].</p>
	<p>Fora dos campos de introdução: Acessar seleção de métodos.</p> <p>Fora dos campos de introdução: Acessar seleção de funções.</p>
	<p>Tecla de funções: Selecionar funções.</p> <p>A ocupação das teclas muda com o diálogo do software. A função atual é indicada diretamente no visor através da tecla.</p>

**Operação**

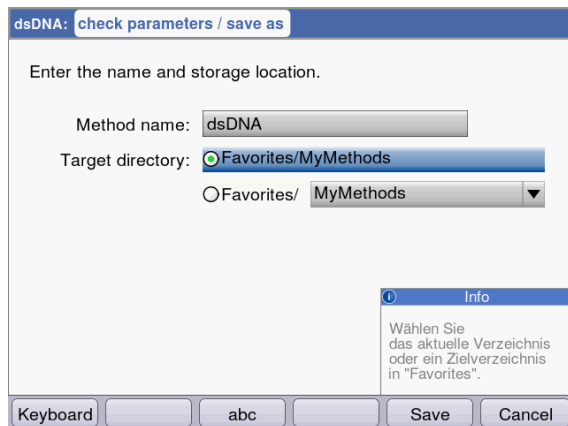
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

Tecla	Função
	<p>Mover o cursor para a esquerda, direita, para cima e para baixo.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Navegar entre campos de introdução.</li> <li>• Teclas de cursor  e  dentro de um campo de introdução: navegar dentro da sequência de caracteres.</li> <li>• Teclas  e  dentro de uma indicação de resultados: navegar entre os resultados de amostras da série de medição.</li> <li>• Teclas  e  dentro de um gráfico: navegar no eixo X de gráficos, para, por exemplo, indicar os valores de absorção dependentes do comprimento de onda em uma varredura.</li> </ul> <p>Teclas  e  em um espectro de absorção de comprimento de onda: alterar o detalhe da imagem (processo <b>SpectraZoom</b>) (aqui Tab. na pág. 57).</p>
	<p>Sair da seleção atual para o nível imediatamente superior.</p> <p>Eliminar a introdução. Dentro de uma sequência de caracteres é eliminado o caractere à esquerda do cursor</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Acessar o método ou função selecionada.</li> <li>• Abrir a lista de seleção.</li> <li>• Confirmar a introdução ou seleção.</li> </ul>
	<p>Indiciar a medição de padrões.</p> <p>Iniciar a medição de valor em branco.</p> <p>Iniciar a medição de amostras.</p>





### 5.1.1 Introduzindo texto

Os textos podem ser introduzidos na atribuição de nomes de métodos e unidades de resultados. Limitação: Para nomes de métodos são permitidos apenas números e letras, assim como o underscore "\_".

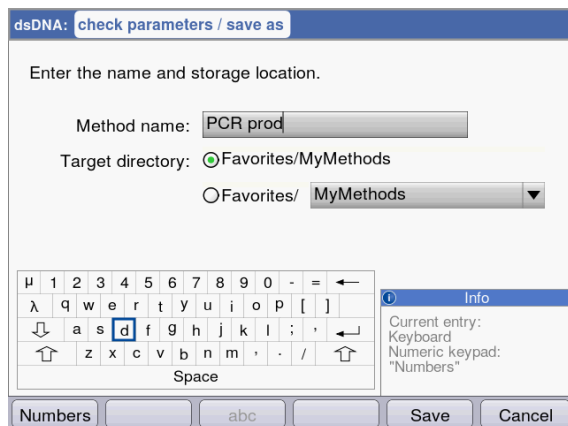


Introdução através do teclado:

Com as teclas de cursor  e  navega para um campo de introdução, podendo alterar posições individuais no nome.

Teclas de funções:

- [Keyboard]: Mostrar teclado.
- [abc]: Mudar entre maiúsculas e minúsculas na introdução através do teclado.
- [Save]: Salvar o texto introduzido.
- [Cancel]: Cancelar a introdução de texto.



Introdução através do teclado apresentado:

Com as teclas de cursor seleciona os caracteres apresentados e confirma respetivamente com a tecla **enter**. Como em um teclado de computador com a tecla "Shift" ou trava-maiúsculas pode mudar entre maiúsculas e minúsculas para a introdução seguinte ou para todas as introduções subsequentes.

Tecla de funções:

- [Numbers]: Mudar para a introdução através do teclado.
- [Save]: Salvar o texto introduzido.
- [Cancel]: Cancelar a introdução de texto.

### 5.2 Inserindo a cubeta

No encaixe de cubeta é possível inserir cubetas quadradas comuns de vidro ou plástico:

- Dimensões externas: 12,5 mm × 12,5 mm
- Altura do feixe de luz: 8,5 mm acima do fundo da cubeta
- Altura geral: mínimo 36 mm

As cubetas têm de ser opticamente transparentes no respetivo comprimento de onda. Para a medição no intervalo UV a Eppendorf oferece uma cubeta de plástico com a UVette, que é transparente em um comprimento de onda a partir de 220 nm, sendo assim também adequada à medição de ácidos nucleicos.

**Operação**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

**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

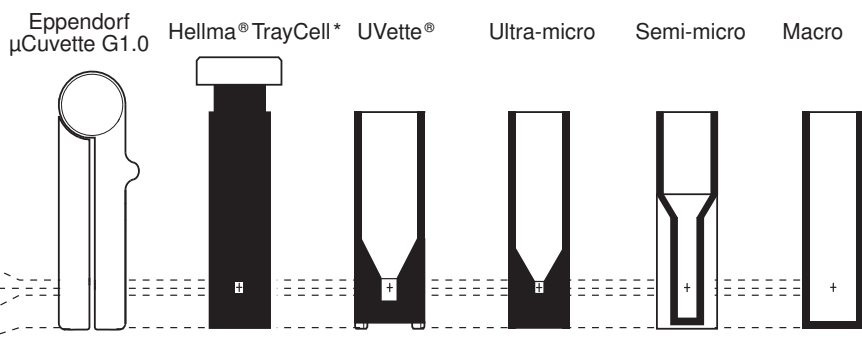
60 µL

70 µL

400 µL

1000 µL

\* or similar microliter cuvette

**Requisito**

- A cubeta está livre de contaminação por poeira ou impressões digitais e livre de riscos.
- O compartimento da cubeta está livre de partículas, poeira e líquido.
- O volume de medição na cubeta é suficiente. Observar o volume de medição mínimo.
- A solução de medição está livre de partículas e bolhas.
- Fluorimetria: A solução de medição está livre de substâncias, que apresentam fluorescência própria indesejada ou que inibam a fluorescência da substância a analisar.
- A temperatura da cubeta está acima da temperatura do ponto de condensação, que se aplica às condições ambientais (umidade e temperatura).



O sentido do feixe de luz está assinalado com uma seta na caixa.

- Fotometria: O sentido do feixe de luz de trás para a frente está assinalado na caixa: "absorbance".
- Fluorimetria: O sentido do feixe de luz da direita para a esquerda e de volta está assinalado na cobertura do compartimento da cubeta: "fluorescence".

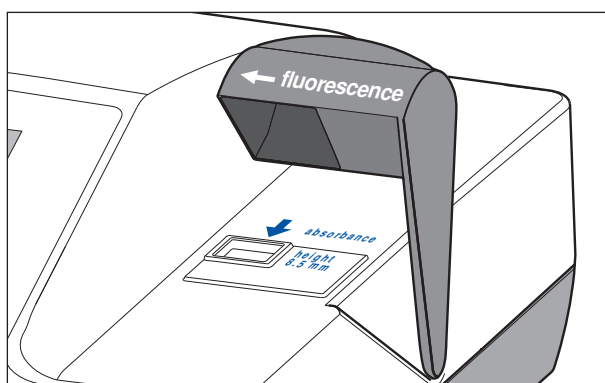


Fig. 5-2: Identificação dos feixes de luz

1. Posicione a cubeta de forma que a janela óptica da cubeta aponte no sentido do feixe de luz.
2. Na colocação pressione a cubeta completamente para baixo contra uma ligeira resistência.
3. Fluorimetria: Fechar a cobertura do compartimento da cubeta antes da medição.

## 5.3 Vista geral do procedimento de medição

### 5.3.1 Preparando a medição

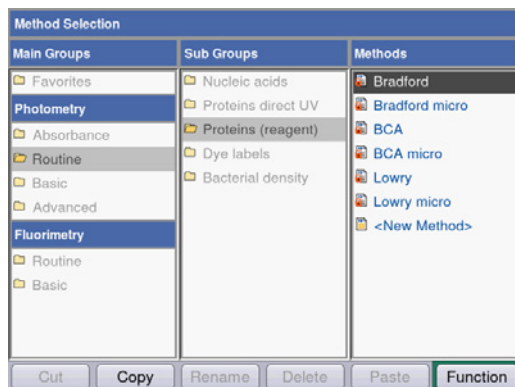
1. Ligue o equipamento e, se necessário, a impressora.  
O equipamento executa um autoteste (duração aprox. 1 minuto) e indica a seleção de métodos.
2. Prepare as cubetas para a medição (aqui *Inserindo a cubeta na pág. 25*).
3. Prepare as soluções de medição para as medições dos valores em branco ou dos padrões e das amostras.
4. Abra a cobertura do compartimento da cubeta.



Soluções de medição para padrões e amostras com absorções inferiores a 0,05 A não devem ser usadas. O limite de detecção do equipamento é significativamente inferior, porém a influência de interferências das soluções de medição (por ex. partículas, bolhas, turvações) sobre a confiabilidade dos resultados é muito grande nestas absorções reduzidas. Você encontra mais informações, como por. ex. sobre o Userguide Nr. 013 em nossa página da internet [www.eppendorf.com](http://www.eppendorf.com).

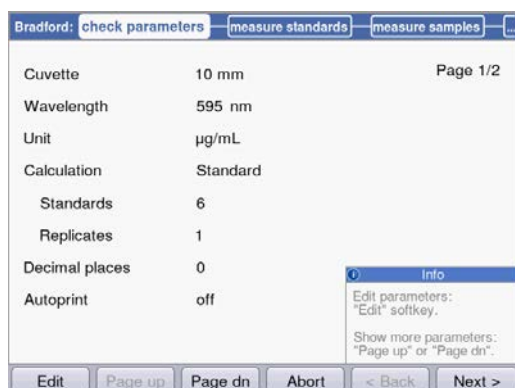
### 5.3.2 Procedimento de medição

#### 5.3.2.1 Selecionando o método



- ▶ Selecione o método desejado com as teclas de cursor e acesse o método com a tecla **enter**.

Você encontra um resumo e uma descrição detalhada dos métodos no capítulo seguinte (aqui *Métodos na pág. 33*).



**Wizard:** O Assistente no canto superior do visor acompanha você passo a passo através do procedimento do método.

**Caixa de ajuda:** em cada passo do procedimento aparecem textos de ajuda no canto inferior direito do visor.

**Tecla de funções:** com as teclas de funções [< Back] e [Next >] movimenta-se para a frente ou para trás no passo do método dentro do assistente.

## Operação

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

### 5.3.2.2 Verificando parâmetros

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 >

- ▶ Verifique a configuração dos parâmetros. Com as teclas de funções [Page dn] e [Page up] acessa as páginas da lista de parâmetros. Com [Edit] alterar e salvar parâmetros.

### 5.3.2.3 Medindo amostras em branco e padrões



Na avaliação sem padrões (por ex. medição DNA) este passo de método é omitido.

Bradford: measure standards / new

	Conc. µg/mL	Abs. A <sub>595</sub>
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 >

1. Meça primeiro um valor em branco (tecla **blank**).
2. Meça em sequência todos os padrões (tecla **standard**).

No visor está assinalado o padrão seguinte a medir. Com as teclas de funções [Graph] ou [Table] pode mudar a vista de resultados.

Bradford: measure standards / new

	Conc. µg/mL	Abs. A <sub>595</sub>
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 • A<sup>2</sup>  
-134.52 • A  
+123.14

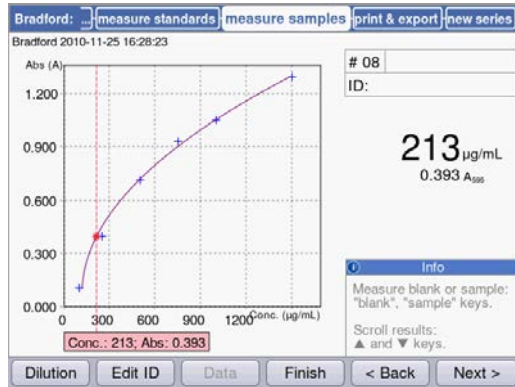
Coefficient of determination:  
R<sup>2</sup> = 0.9970

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

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

- ▶ Com [Next] aceita a avaliação calculada a partir dos resultados de padrões.

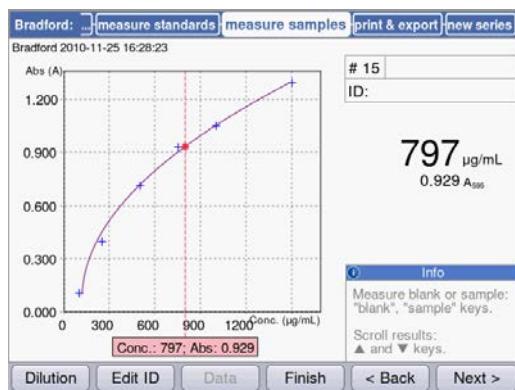
### 5.3.2.4 Medir amostras



- ▶ Com a tecla **sample** mede as amostras em sequência.

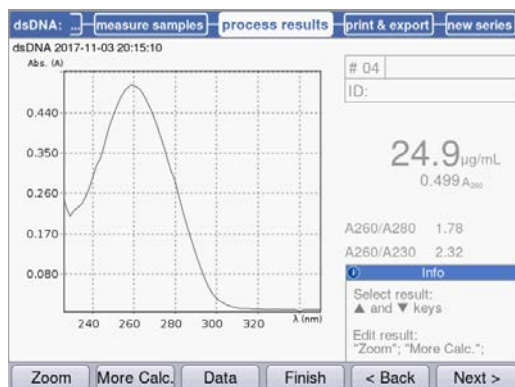
Os resultados de valores em branco permanecem armazenados para uma série de medição. Porém, uma nova medição de valor em branco é possível a qualquer momento. (Na imagem apresentada de um procedimento de medição com avaliação através de curva de padrão é indicado adicionalmente o gráfico da avaliação de padrões além do resultado das amostras.)

### 5.3.2.5 Terminando o método



1. Pressione [Finish] para terminar a série de medição e voltar à seleção de métodos.
2. Depois de terminadas todas as medições desligue o equipamento e feche a cobertura do compartimento da cubeta, para proteger o compartimento da cubeta contra contaminação.

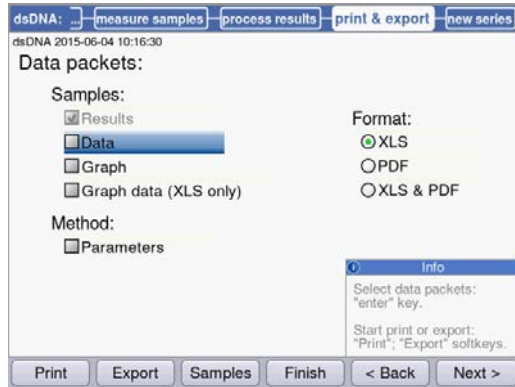
### 5.3.2.6 Opcional: Reprocessar resultados



Em alguns métodos é possível reprocessar os resultados no passo de método **process results**. Por exemplo pode utilizar a função **SpectraZoom** em espectros.

- ▶ Com as teclas de cursor ▲ e ▼ selecione resultados específicos da série de medição para o reprocessamento.

### 5.3.2.7 Imprimindo e exportando



1. Compile os pacotes de dados para todas as amostras ou amostras selecionadas.
2. Imprima os dados, armazene-os em um pendrive USB, transfira-os para um PC através de um cabo USB.

### 5.3.3 Indicações importantes sobre a medição



Observe em todas as medições:

- Em caso de cubetas de plástico: quantas medições consecutivas podem ser realizadas de forma confiável na cubeta?
- Antes de medições de amostras ou padrões meça primeiro o valor em branco da cubeta, para compensar também o valor em branco da cubeta além do valor em branco do reagente.
- Os resultados de valores em branco permanecem armazenados para uma série de medição, porém, uma nova medição do valor em branco é possível a qualquer momento, mesmo entre medições de amostras.
- Os valores de absorção indicados e os valores RFU correspondem sempre aos valores medidos diretamente. Fator de diluição ou fator de cubeta, assim como absorções de fundo são incluídos apenas para o cálculo subsequente do resultado (aqui *Valores de absorção na pág. 101*).
- A duração desde o início de uma medição até à indicação de um resultado de medição é tipicamente de aprox. 2 a 3 segundos. Se chega pouca luz ao receptor (valores de absorção elevados ou valores RFU baixos) é possível prolongar o tempo de medição automaticamente até 9 segundos (fotometria) ou 6 segundos (fluorimetria), para aumentar a precisão da medição.
- Certifique-se de que os valores de absorção medidos não excedem o limite superior da faixa de medição fotométrica. Nesse caso rejeite os resultados de medição. O limite superior da faixa de medição fotométrica não depende apenas do comprimento de onda (aqui *Características fotométricas na pág. 98*), mas também do valor em branco da cubeta. Cubetas ultra-micro com diafragma pequeno como **TrayCell** (Hellma) podem ter um valor em branco da cubeta de aprox.  $A = 1$ . A faixa de medição fotométrica disponível é reduzida em este valor. Você pode determinar o valor em branco da cubeta, se medir a cubeta cheia de água desmineralizada como amostra contra o compartimento vazio da cubeta como amostra em branco. O valor em branco da cubeta da Eppendorf  $\mu$ Cuvette G1.0 pode ser ignorado (aproximadamente  $A = 0$ ).  
Fluorimetria: a elevada fluorescência própria da cubeta (típico em cubetas de plástico) pode limitar a faixa de medição disponível.
- Após a medição retire totalmente a solução de medição, antes de encher a solução de medição seguinte, para reduzir a transferência. Se é expectável a transferência de uma amostra para outra devido a elevadas diferenças de concentração, lave a cubeta entre as medições.
- Em caso de diferenças de temperatura entre a lâmpada e o ambiente podem ocorrer desvios fotométricos. Por esse motivo, deixe um equipamento proveniente de um ambiente mais frio atingir primeiro a temperatura ambiente.  
Evite mudanças de temperatura bruscas. Em caso de séries de medição longas ou medições após um período de tempo mais prolongado realize uma nova medição do valor em branco.

**Operação**

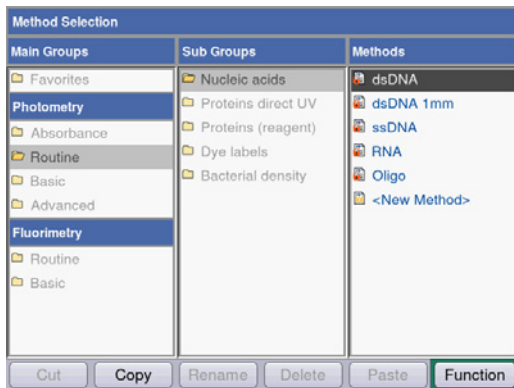
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)



## 6 Métodos

### 6.1 Selecionando o método

Métodos e modelos de métodos já se encontram pré-programados na entrega. Os dois grupos principais **Photometry** e **Fluorimetry** estão subdivididos em subgrupos.



Métodos protegidos contra escrita		Os métodos mais importantes da biologia molecular. É possível alterar os parâmetros, mas apenas salvando-os com novo nome de método.
Métodos não protegidos contra escrita		É possível alterar os parâmetros e depois de os armazenar iniciar diretamente a medição.
Modelos para métodos novos		Cada grupo de métodos contém um modelo, que já está pré-programado com conjuntos de parâmetros completos para facilitar a programação de novos métodos. Os parâmetros podem ser alterados livremente e armazenados com um novo nome.

Para acessar um método, selecione primeiro o grupo principal, subgrupo e o método com as teclas de cursor. Confirme respetivamente com **enter**.

Tab. 6-1: Métodos fotométricos

<b>Absorbance</b>	Métodos para medições rápidas e simples de extinção e transmissão sem mais avaliações.
<b>Routine</b>	Métodos utilizados frequentemente na biologia molecular. Os métodos estão pré-programados de forma fixa. A alteração de parâmetros é possível salvando com um novo nome.
<b>Basic</b>	Métodos para a avaliação de medições de absorção com fator, padrão ou curva/linha de padrão.
<b>Advanced</b>	Métodos para a avaliação de processos de medição de dois comprimentos de onda.
<b>Favorites</b>	Em <b>Favorites</b> pode criar pastas próprias com <b>&lt;New Folder&gt;</b> e copiar para esta pasta os métodos utilizados frequentemente, para poder acessar rapidamente esses métodos.

**Métodos**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

Tab. 6-2: Métodos fluorimétricos

<b>Routine</b>	Medições fluorimétricas de ácidos nucleicos e de proteínas com reagentes da Invitrogen. (A realização destes processos poderá exigir uma licença da Molecular Probes, Inc., Eugene, OR, EUA ou da Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, EUA.)
<b>Basic</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Métodos para a avaliação de medições de fluorescência com padrão ou curva/linha de padrão.</li> <li>• Método <b>Raw fluorescence</b> para a rápida medição da fluorescência sem mais avaliações.</li> </ul>

Em todas as pastas é possível criar métodos novos com **<New Method>**.

Em **Favorites** é possível criar pastas próprias (por ex. para atribuição por pessoa), mudar o nome e eliminar.

Tab. 6-3: Teclas de funções na seleção de métodos

[Cut] e [Paste]	Cortar e colar métodos.
[Copy] e [Paste]	Copiar e colar métodos.
[Delete]	Eliminar métodos.
[Rename]	Mudar o nome de métodos.

Métodos copiados ou cortados podem ser colados em uma outra pasta em **Favorites** ou colados na pasta original com um novo nome. Navegue com as teclas de cursor para a coluna **Methods** da pasta desejada e pressione [paste] para colar o método.

## 6.2 Descrição do método Fotometria

Nesta capítulo são descritos os métodos pré-programados e os modelos de métodos.

### 6.2.1 Grupo de métodos *Absorbance*

#### Single $\lambda$

- Medição de absorção com um comprimento de onda.
- Nenhuma avaliação contínua.
- É possível a determinação da Transmissão de uma amostra.

#### Multi $\lambda$

- Medições de absorção com um a seis comprimentos de onda.
- Nenhuma avaliação contínua.

### Scan

- Medição de um espectro de absorção de comprimento de onda através de uma faixa de comprimentos de onda definida.
- Indicação do comprimento de onda e absorção no espectro através de navegação com um cursor de comprimentos de onda.
- É possível a alteração do detalhe do espectro através de 3 variantes de zoom diferentes.
- É possível a detecção de pico.

## 6.2.2 Grupo de método *Routine*

Os métodos do grupo *Routine* estão pré-programados como métodos fixos. Depois da alteração de parâmetros de método nos métodos fixos pré-programados deve ser indicado um novo nome de método.

### Nucleic acids

- Determinação da concentração de ácidos nucleicos através de medição com 260 nm e avaliação através de fator.
- Estão pré-programados vários métodos de ácidos nucleicos, como dsDNA ou RNA. Os parâmetros diferem no fator.
- Método pré-programada para cubetas de microlitros: medição de DNA em volumes de amostras na faixa de microlitros com feixe de luz de 1 mm (com cubetas de microlitros, como Eppendorf  $\mu$ Cuvette G1.0 ou Hellma® TrayCell).
- São indicadas as seguintes informações adicionais da pureza do ácido nucleico medido e podem ser retiradas dos parâmetros de medição, se necessário:
  - Ratio A260/A280, Ratio A260/A230
  - Espectro de comprimentos de onda de extinção de ácidos nucleicos
  - absorção do comprimento de onda de fundo (pré-configurado: 320 nm; a extinção do ácido nucleico puro deverá ser próxima de zero)
- Correção parcial da opacidade através do parâmetro **Background** está pré-definida.
- É possível a conversão das concentrações em concentrações molares, assim como (após introdução do volume de amostra) em quantidades de ácido nucleico (Passo de método: **process results**).

### Proteins direct UV

- Determinação da concentração de proteínas através de medição com 280 nm e avaliação através de fator ou padrão.
- Métodos pré-programados para a produção direta das absorções como resultado (*Proteína A 280*), assim como avaliação através de coeficientes de absorção específicos de albumina (*Albumina A 280*).
- Método pré-programada para cubetas de microlitros: medição de proteínas em volumes de amostras na faixa de microlitros com feixe de luz de 1 mm (com cubetas de microlitros, como Eppendorf  $\mu$ Cuvette G1.0 ou Hellma® TrayCell).
- São indicadas as seguintes informações adicionais da pureza das proteínas medidas e podem ser retiradas dos parâmetros de medição, se necessário:
  - Espectro de comprimentos de onda de extinção da proteína
  - absorção do comprimento de onda de fundo (pré-configurado: 320 nm; a absorção da proteína pura deverá ser próxima de zero).
- Correção parcial da opacidade através do parâmetro **Background** está pré-definida.
- Na programação de métodos é importado o respetivo fator através da seleção da proteína em uma lista especificada. A definição dos fatores é feita em separado nas funções do grupo **Gen. method param.** Estão pré-programadas várias proteínas em **Gen. method param.** É possível adicionar mais.

## Métodos

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

### Proteins (with reagent)

- Determinação de concentrações de proteínas através da medição de reações de cor e avaliação através de padrões ou fator (tipicamente: avaliação com curva de padrão).
- Os métodos *Bradford*, *Bradford micro*, *Lowry*, *Lowry micro*, *BCA* e *BCA micro* já estão pré-programados. Dependendo do fabricante do reagente poderá ser necessário alterar a "Curve fit" (tipo de curva de padrão).

### Dye labels

- Biomoléculas marcadas para corante: Determinação da concentração da biomolécula (ácido nucleico ou proteína) através de medição com 260 ou 280 nm, assim como do corante em um ciclo de medição.
- Avaliação com fator. Além da biomolécula também é possível medir em paralelo até dois corantes com comprimentos de onda diferentes.
- Avaliação adicional da taxa de utilização do corante (FOI). Seleção entre dois processos de cálculo FOI diferentes.
- Métodos já pré-programados: *ssDNA*, marcado com *Cy 3* ou *Cy 5*.
- É possível a correção da influência do espectro do corante para a exatidão da medição da biomolécula.
- É possível a correção parcial de turvação através do parâmetro **Background**.
- Informações adicionais sobre a pureza das substâncias medidas: relação A260/A280 e relação A260/A230 (valores de relação apenas para ácidos nucleicos), espectro de absorção de comprimento de onda.
- Na programação de métodos são importados vários parâmetros correspondentes, como comprimentos de onda e fatores de avaliação através da seleção da biomolécula e do corante em uma lista especificada. A definição desses parâmetros é feita em separado nas funções do grupo **Gen. method param**. Estão pré-programados vários ácidos nucleicos, proteínas e corantes em **Gen. method param..** É possível adicionar mais ácidos nucleicos, proteínas e corantes.
- Apenas para ácidos nucleicos marcados É possível a conversão das concentrações em concentrações molares, assim como (após introdução do volume de amostra) em quantidades de ácido nucleico e corantes (Passo de método: **process results**).

### Bacterial density

- Medição da turvação para determinação da densidade bacteriana.
- A medição com 600 nm já está pré-programada.
- Informações adicionais: Espectro de absorção de comprimento de onda.



A medição da densidade bacteriana a 600 nm não é uma medição absoluta. Existem diversos fatores que podem influenciar o resultado da medição. Você encontra informações detalhadas em nossa página da internet [www.eppendorf.com](http://www.eppendorf.com)

## 6.2.3 Grupo de métodos *Basic*

### Factor, standard

- Medição com um comprimento de onda e avaliação através de fator e padrão.
- Estão pré-programados métodos para a avaliação através de fator e padrão.
- Indicação do espectro de comprimentos de onda de emissões
- É possível a correção parcial de turvação através do parâmetro **Background**.

### Calibration curve

- Medição com um comprimento de onda e avaliação subsequente com uma série de 2 a 12 padrões.
- É possível selecionar vários processos de avaliação ("Curve fit") como regressão linear e regressão não linear.
- Indicação gráfica e em tabela dos resultados padrão.
- É possível a utilização da última análise padrão salva.
- Está pré-programado um método para a avaliação com curva de padrão.

## 6.2.4 Grupo de métodos *Advanced*

### Dual wavelength

- Medição com dois comprimentos de onda e avaliação dos valores de absorção medidos através de duas fórmulas básicas (subtração, divisão)
- É possível definir variantes das fórmulas básicas.
- O resultado pode ser avaliado com um fator, com um padrão ou série de padrões.
- Estão pré-programados métodos para o cálculo através de subtração, assim como divisão e avaliação subsequente com fator.

## 6.3 Descrição metódica fluorimetria

### 6.3.1 Grupo metódico *Rotina*

Os métodos do grupo *Rotina* estão pré-programados como métodos fixos. Depois da alteração de parâmetros metódicos nos métodos fixos pré-programados deve ser indicado um novo nome de métodos.

Os seguintes métodos pré-programados se baseiam em regras de trabalho da empresa Invitrogen para o respetivo reagente. A elaboração desses processos poderá requerer uma licença da empresa Molecular Probes, Inc., Eugene, OR, USA ou Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, USA.

### Nucleic acids

Regulamentos de concentração fluorométricos de ácidos nucleicos depois da reação com reagentes.

- Medição de DNA com PicoGreen, análise com curva padrão.
- Medição de RNA com RiboGreen, análise com curva padrão.
- Medição de Oligonucleotídeos com OliGreen, análise com curva padrão.

Variante dos programas metódicos foram programados como "short methods". Em "short methods" você apenas pode medir com dois padrões (padrão zero e outro padrão). Os resultados não são tão exatos como na medição com vários padrões, mas a exatidão é suficiente para muitas finalidades, por que a curva padrão (relação entre sinal de medição e concentração) na aproximação é linear.

- Medição de DNA com reagentes Qubit, análise com curva padrão.  
Nenhum "short method", por que a curva padrão não é linear.

**Métodos**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

**Proteins**

Regulamentos de concentração fluorométricos de proteínas depois da reação com reagentes.

- Medição de proteínas com NanoOrange, análise com curva padrão.  
O método se baseia na regra de trabalho da empresa Invitrogen para esse reagente.  
Nenhum "short method", por que a curva padrão não é linear.



Os métodos com reagentes Qubit se desviam das regras de trabalho da empresa Invitrogen.  
Devem ser criadas adicionalmente duas diluições padrão.

Para a preparação e elaboração de amostras você pode obter mais informações da Eppendorf. Você encontra os dados de contato do Application Support na traseira destas instruções de utilização.

**6.3.2 Grupo de métodos *Basic*****Raw fluorescence**

- Medição do valor RFU.
- Um método para a medição no comprimento de onda de emissão 520 nm está pré-programado.

**Padrão**

- Medição do valor RFU e análise com padrão.
- Está pré-programado um método para análise com padrão.

**Calibration curve**

- Medição dos valores RFU e análise de 2 a 12 padrões
- Podem ser selecionados vários processos de análise como regressão linear ("Curve fit") ou regressão não linear.
- Indicação gráfica e em tabela dos resultados padrão.
- É possível a utilização da última análise padrão salva.
- Está pré-programado um método para análise com curva de calibração.

## 6.4 Parâmetros de métodos

Neste capítulo são explicados os parâmetros para a programação de métodos. Em alguns métodos a sequência dos parâmetros no visor do equipamento pode ser ligeiramente diferente em comparação com a sequência na tabela, para apresentar os parâmetros de forma clara no visor. A tabela representa a totalidade de todos os parâmetros disponíveis para os vários métodos. Para o respetivo método é necessária apenas uma reduzida quantidade de parâmetros, que é representada no visor.

Parâmetro	Introdução	Explicação
Cubeta	Seleção: 10   5   2   1   0,5   0,2   0,1 mm	Espessura óptica da camada da cubeta. Os valores de absorção são convertidos automaticamente pelo equipamento para a espessura de camada de 10 mm de uma cubeta padrão (aqui <i>Valores de absorção na pág. 101</i> ). Por esse motivo não é necessário alterar fatores como "50" para o cálculo de concentrações de dsDNA, se alterar o parâmetro <b>Cuvette</b> .
N.º de comprimentos de onda	Introdução de valores: Área: 2 a 6.	Apenas para o grupo de métodos <b>Multi λ</b> . Número de comprimentos de onda a medir.
Wavelength	Introdução de valores: Comprimento de onda em nm. Área: 200 a 830 nm.	Comprimento de onda de medição: Com base na extinção medida nesse comprimento de onda é calculada a concentração. Nos grupos de métodos <b>Multi λ</b> e <b>Dual wavelength</b> introduz mais de um comprimento de onda. Para alguns grupos de métodos (por ex. <b>Nucleic acids</b> e <b>Proteins direct UV</b> ) os comprimentos de onda estão pré-programados. Nos grupos de métodos <b>Dye labels</b> não introduz os comprimentos de onda individualmente no procedimento de método. Você importa-os automaticamente selecionando a biomolécula ou corante da função <b>General Method Parameters</b> .
Wavelength (em)	Seleção: 520 nm   560 nm	Apenas para grupos de métodos fluorométricos <b>Basic</b> : Comprimento de onda de medição: Com base na fluorescência medida nesse comprimento de onda (onda de emissão) é calculada a concentração. O comprimento de onda está pré-programado nos métodos do grupo <b>Routine</b> .
Wavelength (ex)	Introdução impossível. Comprimento de onda: 470 nm	Apenas para grupos de métodos fluorométricos: É indicado o comprimento de onda de excitação 470 nm.

**Métodos**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

Parâmetro	Introdução	Explicação
Unit	<p>Seleção: 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</p> <p>Programabilidade livre adicional de outras unidades na função <b>General Method Parameters/Units</b>. Máx. 7 dígitos.</p>	<p>Unidade para o resultado da concentração.</p> <p>Nos métodos pré-programados do grupo <b>Routine</b>, a seleção está limitada a unidades razoáveis para estes métodos.</p>
Formula type	<p>Seleção: division   subtraction</p>	<p>Apenas para o grupo de métodos <b>Dual wavelength</b>.</p> <p>Tipo de fórmula para o cálculo da absorção nos dois comprimentos de onda antes da avaliação com fator ou padrão.</p>
Fórmula: a	<p>Introdução de valores: Valor para <i>a</i> na fórmula de avaliação. Limite: máx. 5 dígitos incluindo o ponto decimal.</p>	<p>Apenas para o grupo de métodos <b>Dual wavelength</b>.</p> <p>Valor para <i>a</i> nas fórmulas: <math>[(a \cdot A1) / (b \cdot A2)] \cdot c + d</math> e <math>[(a \cdot A1) - (b \cdot A2)] \cdot c + d</math>.</p>
Fórmula: b	<p>Introdução de valores: Valor para <i>b</i> na fórmula de avaliação. Limite: máx. 5 dígitos incluindo o ponto decimal.</p>	<p>Apenas para o grupo de métodos <b>Dual wavelength</b>.</p> <p>Valor para <i>b</i> nas fórmulas: <math>[(a \cdot A1) / (b \cdot A2)] \cdot c + d</math> e <math>[(a \cdot A1) - (b \cdot A2)] \cdot c + d</math>.</p>
Fórmula: c	<p>Introdução de valores: Valor para <i>c</i> na fórmula de avaliação. Limite: máx. 5 dígitos incluindo o ponto decimal.</p>	<p>Apenas para o grupo de métodos <b>Dual wavelength</b>.</p> <p>Valor para <i>c</i> nas fórmulas: <math>[(a \cdot A1) / (b \cdot A2)] \cdot c + d</math> e <math>[(a \cdot A1) - (b \cdot A2)] \cdot c + d</math>.</p>
Fórmula: d	<p>Introdução de valores: Valor para <i>d</i> na fórmula de avaliação. Limite: máx. 5 dígitos incluindo o ponto decimal.</p>	<p>Apenas para o grupo de métodos <b>Dual wavelength</b>.</p> <p>Valor para <i>d</i> nas fórmulas: <math>[(a \cdot A1) / (b \cdot A2)] \cdot c + d</math> e <math>[(a \cdot A1) - (b \cdot A2)] \cdot c + d</math>.</p>
Calculation	<p>Seleção: Factor   Standard</p>	<p>Processo de avaliação para o cálculo da concentração da amostra a partir da absorção medida.</p>



Parâmetro	Introdução	Explicação
Factor	Introdução de valores: Fator. Limite: máx. 6 dígitos incluindo o ponto decimal.	Fator para a conversão dos valores de absorção/valores RFU na concentração. Nos seguintes grupos de métodos você também pode introduzir fatores negativos: <b>Dual wavelength, Factor</b> . Nos grupos de métodos <b>Dye labels</b> não introduz os fatores individualmente no procedimento de método. Você importa-os automaticamente selecionando a biomolécula ou corante da função <b>General Method Parameters</b> .
Proteína	Seleção: Lista de tipos de proteínas, que se encontram na função <b>General Method Parameters/Proteins</b> .	Apenas para os grupos de métodos <b>Dye labels</b> e <b>Proteins direct UV</b> . Na seleção da proteína também é importado da função <b>General Method Parameters/Proteins</b> o parâmetro <b>Factor</b> correspondente aí programado.
Standards	Introdução de valores: Número de padrões. Área: 1 a 12.	Número das várias concentrações de padrões para a avaliação com padrões. Em alguns métodos a faixa para o número de padrões está limitada a uma faixa menor que 1 a 12.
Replicates	Introdução de valores: Número de réplicas por padrão. Área: 1 a 3.	Número das medições repetidas para as várias concentrações de padrões.
Std. Conc.	Introdução de valores: Valores de concentrações dos padrões. Limite: máx. 6 dígitos incluindo o ponto decimal.	Dependendo do número de Standards, esse parâmetro é disponibilizado para todos os Standards (p. ex.,:Std. Conc. 1, Std. Conc. 2, ...).
Decimal places	Introdução de valores: Número de casas decimais para o resultado. Área: 0 a 3.	Número de casas decimais para o resultado de concentração calculado.
Dye 1	Seleção: Lista de tipos de corantes, que se encontram na função <b>General Method Parameters/Proteins</b> .	Apenas para o grupo de métodos <b>Dye labels</b> . Na seleção do corante, também serão importados os parâmetros correspondentes ao corante e programados na função <b>General Method Parameters/Dyes</b> : Fator, comprimento de onda, fatores de correção para a medição a 260 e 280 nm (consulte a descrição do seguinte parâmetro).

**Métodos**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

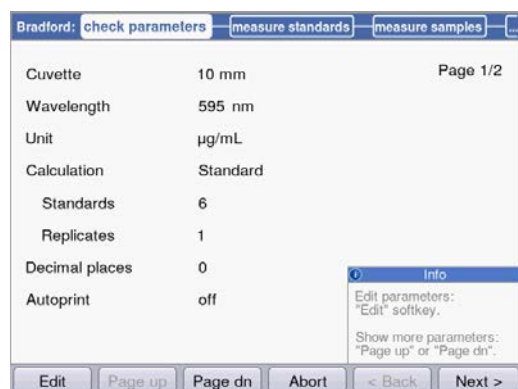
<b>Parâmetro</b>	<b>Introdução</b>	<b>Explicação</b>
Correct A260 1	Seleção: ativar   desativar	Apenas para o grupo de métodos <b>Dye labels</b> . Correção da influência do espectro do corante sobre a absorção com o comprimento de onda da biomolécula (260 ou 280 nm). Os espectros de corantes têm parcialmente uma reduzida absorção com 260 e 280 nm. Estas absorções falseiam os cálculos para os ácidos nucleicos ou proteínas destes métodos. Para reduzir esse falseamento são utilizados fatores de correção, desde que sejam conhecidos para o respetivo corante. Se o parâmetro for ativado, o fator de correção da função <b>General Method Parameters/Dyes</b> é importado.
Correct A 280 1	Seleção: ativar   desativar	Apenas para o grupo de métodos <b>Dye labels</b> . Para uma melhor explicação consulte a descrição do parâmetro acima <b>Correct A 260 1</b> .
Dye 2 active	Seleção: ativar   desativar	Apenas para o grupo de métodos <b>Dye labels</b> . Possibilidade de medir também em paralelo um segundo corante. Utilização: Marcação de molécula biológica com dois corantes.
Dye 2	Seleção: Lista de tipos de corantes, que se encontram na função <b>General Method Parameters/Proteins</b> .	Apenas para grupo de métodos <b>Dye labels</b> na medição de 2 corantes. Seleção do segundo corante (cif. parâmetro <b>Dye 1</b> ).
Correct A260 2	Seleção: ativar   desativar	Apenas para grupo de métodos <b>Dye labels</b> na medição de 2 corantes. Semelhante ao parâmetro <b>Correct A 260 1</b> .
Correct A 280 2	Seleção: ativar   desativar	Apenas para grupo de métodos <b>Dye labels</b> na medição de 2 corantes. Semelhante ao parâmetro <b>Correct A 280 1</b> .
Show scan	Seleção: ativar   desativar	Indicação de uma varredura (gráfico de absorção de comprimento de onda) adicionalmente ao resultado na medição de amostras.
Start $\lambda$	Introdução de valores: Comprimento de onda em nm. Área: 200 a 830 nm.	Comprimento de onda inicial para o registro da varredura.
Stop $\lambda$	Introdução de valores: Comprimento de onda em nm. Área: 200 a 830 nm. O valor deve ser maior que o valor para <b>Start <math>\lambda</math></b> .	Comprimento de onda final para o registro da varredura.

<b>Parâmetro</b>	<b>Introdução</b>	<b>Explicação</b>
A260/A280	Seleção: ativar   desativar	Apenas para ácidos nucleicos. Indicação das relações A260/A280 adicionalmente ao resultado na medição de amostras.
A260/A230	Seleção: ativar   desativar	Apenas para ácidos nucleicos. Indicação das relações A260/A230 adicionalmente ao resultado na medição de amostras.
FOI	Seleção: none   dye/kb   pmole/ µg	Apenas para o grupo de métodos <b>Dye labels</b> . Indicação da FOI adicionalmente ao resultado na medição de amostras. A FOI (Frequency of Incorporation) é uma medida para o número de moléculas cromóforas integrado no ácido nucleico por molécula de ácido nucleico. As unidades são "dye/kb" (moléculas de corante por 1000 bases) ou "pmole/µg" (pmol de corante por µg de ácido nucleico). "none": nenhum cálculo FOI.
Background	Seleção: ativar   desativar	Antes do cálculo do resultado de uma amostra, a absorção de um comprimento de onda de fundo, na qual o analito a medir deve indicar absorção zero, é subtraída da absorção do comprimento de onda de medição. Utilização frequente: Correção parcial da opacidade na medição de ácidos nucleicos (comprimento de onda Background é: 320 nm ou 340 nm).
Wavelength	Comprimento de onda em nm. Área: 200 a 830 nm.	Comprimento de onda, no qual se pretende medir o fundo. O analito a medir em forma pura deve apresentar o valor de absorção zero.
Background for dyes	Seleção: ativar   desativar	Apenas para o grupo de métodos <b>Dye labels</b> . Aplicação da correção de fundo para a medição do corante (consulte o parâmetro <b>Background</b> ).
Wavelength	Comprimento de onda em nm. Área: 200 a 830 nm.	Apenas para o grupo de métodos <b>Dye labels</b> . Comprimento de onda, no qual se pretende medir o fundo do corante. O corante a medir em forma pura, não contaminada deve apresentar o valor de absorção zero com este comprimento de onda.
Autoprint	Seleção: ativar   desativar	Impressão de um resultado de medição diretamente após a medição com uma impressora térmica. São impressos apenas os dados de resultado essenciais. Para saída de dados detalhados é possível compilar e imprimir os pacotes de dados desejados no final da série de medição no passo de método <b>print &amp; export</b> .
Transmissão	Seleção: ativar   desativar	Se for selecionado o parâmetro <b>Calculate Transmission</b> , a transmissão é indicada (em %) da amostra.

## Métodos

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

### 6.5 Procedimento do método



O "Assistente" no canto superior do visor acompanha você através do procedimento do método. O passo do método ativo é realçado.

Um procedimento de método abrange no máximo 5 passos. O passo ativo é realçado visualmente. Após o último passo **print & export** de uma série de medição é oferecido como passo seguinte o início de uma nova série de medição. Essa começa com a medição de amostras.

Passo do método	Explicação
<b>check parameters</b>	Verificar parâmetros do método. Alteração se necessário.
<b>measure standards</b>	Apenas em métodos com avaliação padrão: Medir e avaliar padrões. Em alternativa é possível utilizar a última avaliação padrão salva.
<b>measure samples</b>	Medir amostras
<b>process results</b>	Apenas em alguns métodos: reprocessar resultados, por ex. zoom de gráficos de varreduras.
<b>print &amp; export</b>	Compilar dados de dados para impressão e exportação de dados.

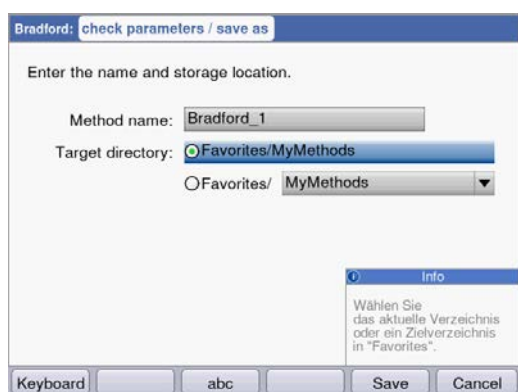
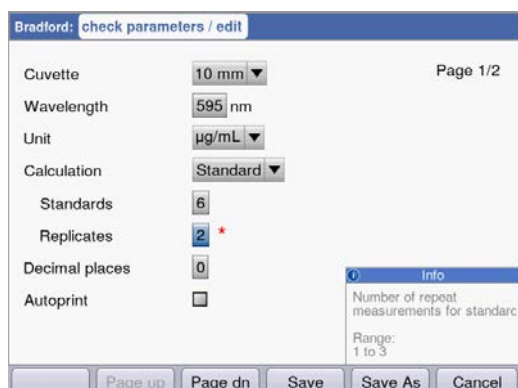
Com as teclas de funções [Next >] e [< Back] navega entre os passos do método. Com [Abort] e [Finish] pode cancelar ou terminar o procedimento de medição. Após a primeira medição de amostra, o nome desta tecla de funções muda de [Abort] para [Finish].

#### 6.5.1 check parameters

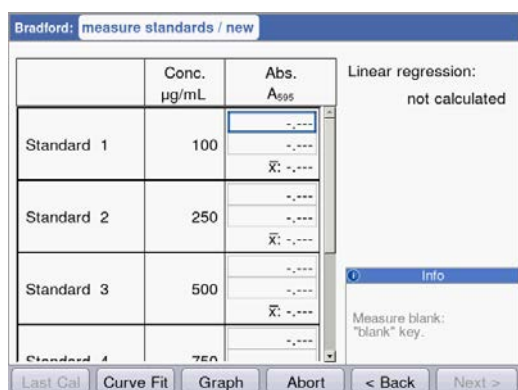


#### Tecla de funções

- [Page dn] e [Page up]: mudar entre as páginas de parâmetro 1 a 3.
- [Edit]: mudar para o modo de edição de parâmetros.



## 6.5.2 measure standards



### Tecla de funções

- [Last call]: acessar a última medição de padrão salva para este método, para a utilizar para medições de amostras.
- [Curve fit]: selecionar o processo para a avaliação de padrões. É possível alterar o processo posteriormente, enquanto o resultado não é armazenado. Encontra indicações sobre a seleção de processos de avaliação no capítulo Processos de avaliação (aqui *Avaliação com curva/linha de padrões na pág. 104*).
- [Graph]: mudar para a indicação em forma de gráfico dos resultados de padrões.

### Modo de edição do parâmetro:

Os parâmetros alterados são marcados com uma estrela vermelha, enquanto a alteração não é armazenada.

### Tecla de funções

- [Save] e [Save as]: Salvar alterações. Em [Save as] tem de atribuir um nome ao método. Este é sempre o caso quando você altera os métodos pré-programados pela Eppendorf do grupo **Routine**.
- [Cancel]: sair do modo de edição sem salvar as alterações.

### Salvando o método com um novo nome:

Você pode salvar o método na mesma pasta, na qual acessou o método, ou salvar no grupo de métodos **Favorites** em uma pasta de seleção livre.

O nome (máximo 20 caracteres) pode ser introduzido através do teclado virtual (teclas de funções [Keyboard]) ou através do teclado (aqui *Introduzindo texto na pág. 25*).

Depois de salvar volta ao visor **check parameters**.

### O primeiro padrão a medir está marcado no visor.

Após o valor em branco (tecla **blank**) meça todos os padrões em sequência (tecla **standard**).

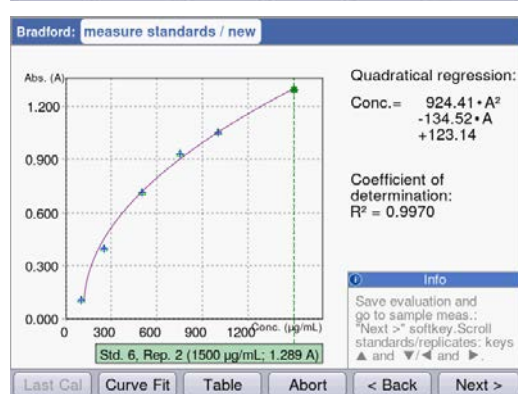
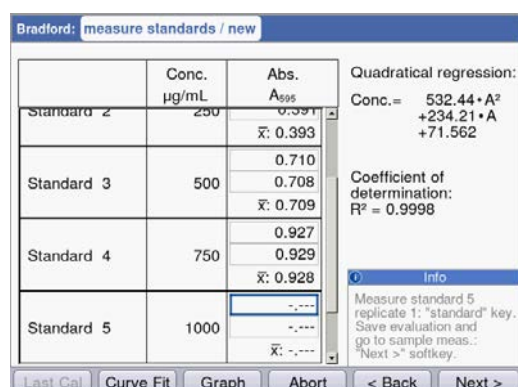
Se medir mais de uma réplica por padrão é calculada e indicada automaticamente a média para cada padrão.

Com as teclas de cursor **▲** e **▼** também pode selecionar determinados padrões para medição.

Desta forma também é possível a nova medição de padrões individuais.

## Métodos

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

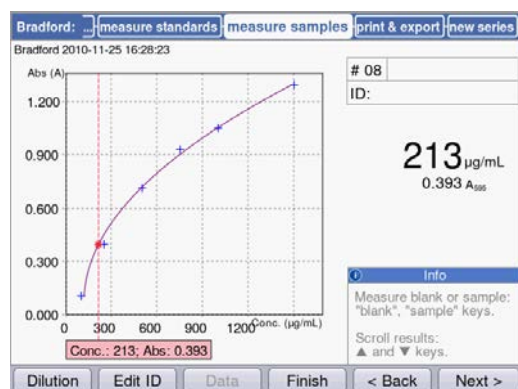


### Tecla de funções

- [Table]: mudar para a indicação em forma de tabela dos resultados de padrões.
- [Next >]: salvar a avaliação de padrões e mudar para a medição de amostras.

### 6.5.3 measure samples

Com a tecla **sample** mede as amostras em sequência. Os resultados de valores em branco permanecem armazenados para uma série de medição, porém, uma nova medição do valor em branco é possível a qualquer momento. Com as teclas ▲ e ▼ pode navegar entre os resultados de amostras já obtidos na série de medição.



Assim que existir o número mínimo de resultados para a avaliação com o processo selecionado (Curve fit), o resultado da avaliação é apresentado na parte direita do visor. Agora é possível salvar antecipadamente a avaliação e mudar para a medição de amostras através da tecla [Next >].

Vista de gráficos da avaliação de padrões.

Com as teclas de cursor ▲ e ▼ navegue entre os padrões, para indicar os resultados. Em caso de várias réplicas por padrão é possível mudar entre os resultados das réplicas com ▲ e ▼. A partir da vista de gráficos também é possível selecionar e medir ou medir de novo padrões individuais.

Indicação de resultados:

- O resultado da concentração (6 dígitos com separador flutuante) é realçado claramente.
- Com gráfico: resultado no lado direito do visor.
- Sem gráfico: resultado no lado esquerdo do visor.
- Além do resultado, o valor de absorção subjacente é indicado em tamanho de letra mais pequeno.

### Outros dados

- Canto superior direito; 1.<sup>a</sup> linha:  
Número de amostras: é contado continuamente e reposto a "1" em cada nova série de medição.  
Diluição de amostra (se introduzida)
- Canto superior direito; 2.<sup>a</sup> linha:  
Identificação de amostras (**ID**) (se introduzida)
- Canto superior esquerdo:  
Nome do arquivo, com o qual os dados são exportados como arquivo Excel no passo de método **print and export** (aqui na pág. 60).

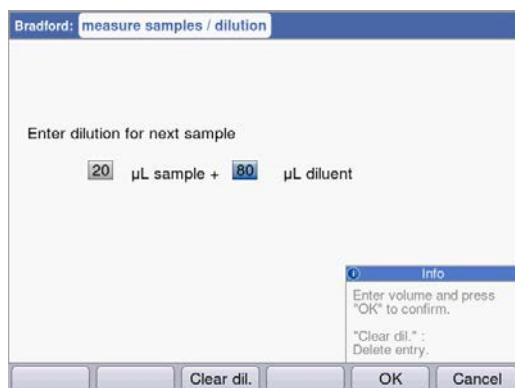
### Tecla de funções

- [Dilution]: introduzir a diluição de amostras.
- [Edit ID]: Introduzindo a identificação de amostras
- [Data]: indicar dados adicionais de resultados (não está disponível em todos os métodos).
- [Finish]: terminar série de medição e voltar à seleção de métodos.



Os valores de absorção indicados correspondem sempre aos valores medidos diretamente. Fator de diluição ou fator de cubeta, assim como absorções de fundo são incluídos apenas para o cálculo subsequente do resultado (aqui *Valores de absorção na pág. 101*).

### Introduzindo a diluição



A tecla de funções [Dilution] está ativa depois de medido o valor em branco (tecla **blank**).

1. Pressione a tecla de funções [Dilution].
2. Introduza os volumes para a amostra (máximo 3 dígitos) e para o tampão de diluição (máximo 4 dígitos).

Os resultados subsequentes de amostras são multiplicados pelo equipamento pelo fator de diluição calculado.

### Tecla de funções

- [Clear dil.]: apagar os valores da diluição de amostras.
- [OK]: confirmar a diluição de amostras e voltar à medição de amostras.
- [Cancel]: cancelar a introdução e voltar à medição de amostras.

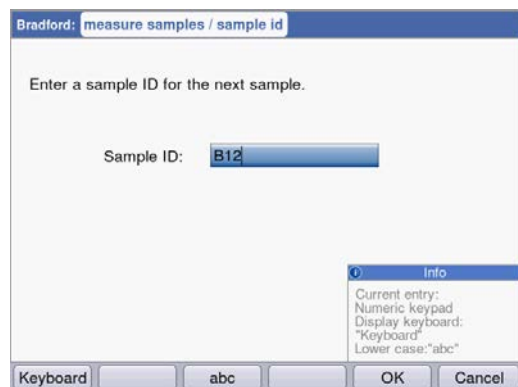
A diluição é utilizada para os resultados subsequentes de amostras, até ser alterada através de uma nova introdução.

## Métodos

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

### Introduzindo a identificação de amostras

É utilizada a identificação para o resultado subsequente da amostra. Na introdução de uma identificação é indicada a última identificação introduzida, para ser possível introduzir rapidamente identificações estruturadas contínuas. A atribuição duplicada da mesma identificação dentro de uma série de medição não é possível.



1. Pressione a tecla de funções [Edit ID].
2. Introduza a identificação da amostra (máximo 12 dígitos).

Alternativas à introdução de texto:

- Teclado: pressionado repetidamente a tecla são percorridas as possibilidades de introdução dessa tecla.
- Mostrar teclado com tecla de funções [Keyboard]: Selecionar caractere com as teclas de cursor e confirmar com **enter**.

### Tecla de funções

- [Keyboard]: mostrar teclado.
- [abc]: mudar entre maiúsculas e minúsculas na introdução através do teclado.
- [OK]: confirmar a introdução da identificação e voltar à medição de amostras.
- [Cancel]: cancelar a introdução e voltar à medição de amostras.

### Imagem de resultados com diluição e identificação

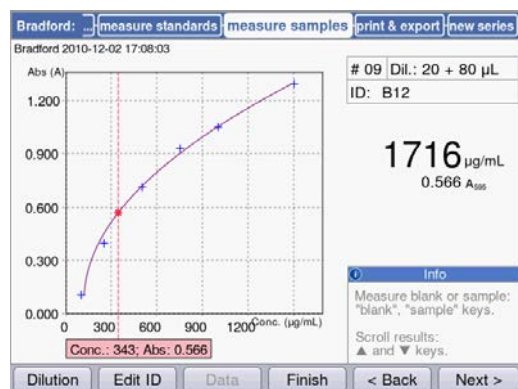
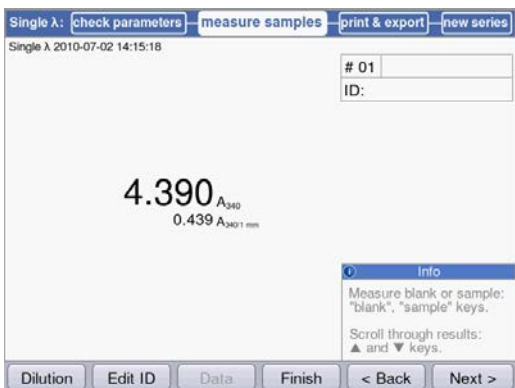
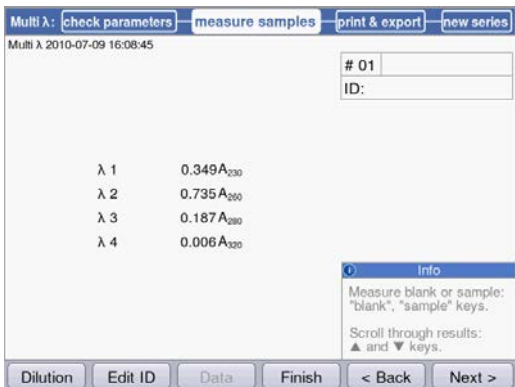
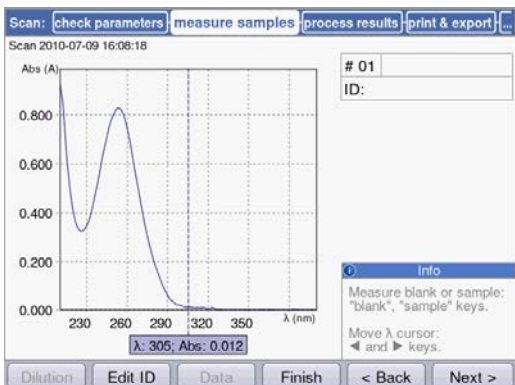


Imagem de resultados com diluição e identificação da amostra.



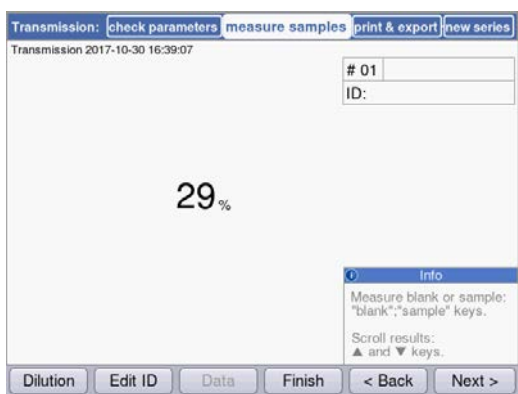

### 6.5.4 measure samples: Indicações de resultados

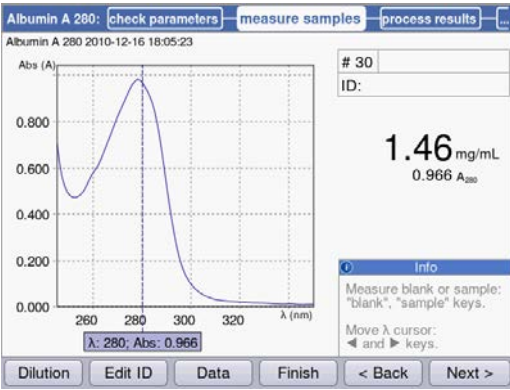
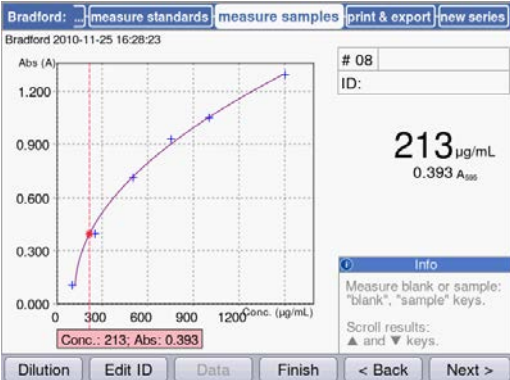
Nesta seção obtém uma apresentação de indicações típicas de resultados para todos os grupos de métodos, assim como uma vista geral sobre todos os dados de resultados acessíveis através da tecla de funções [Data].

Grupo de métodos Fotometria	Indicação de resultados	Explicação
<b>Grupo principal Absorbance</b>		
<b>Single <math>\lambda</math></b>		Indicação de resultados: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Absorção no comprimento de onda de medição</li> <li>• Apenas na diluição ou cubeta diferente de 10 mm indicação adicional do valor de absorção antes da conversão.</li> </ul>
<b>Multi <math>\lambda</math></b>		Indicação de resultados: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Absorções nos comprimentos de onda de medição</li> </ul> Dados adicionais (Tecla de funções [Data]): <ul style="list-style-type: none"> <li>• Apenas na diluição ou cubeta diferente de 10 mm Valores de absorção antes da conversão.</li> </ul>
<b>Scan</b>		Indicação de resultados: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Scan (gráfico com indicação da absorção de comprimento de onda)</li> <li>• Navegue entre os pontos de medição no gráfico com ◀ e ▶.</li> </ul>

## Métodos

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

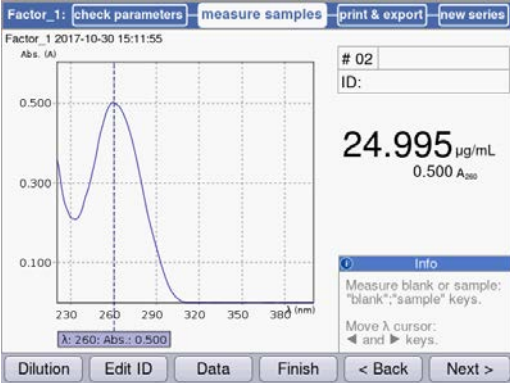
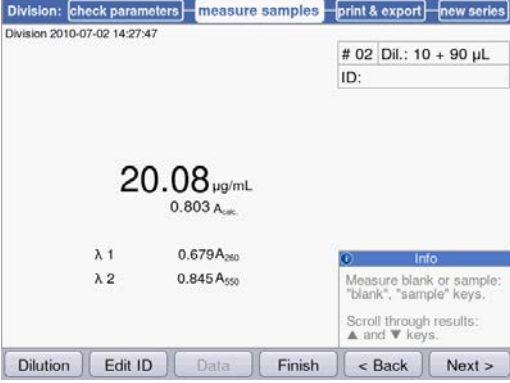
Grupo de métodos Fotometria	Indicação de resultados	Explicação
Transmissão		<p>Indicação de resultados:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Transmissão da amostra em [%]</li> <li>• Os resultados de cubetas com espessura de camada inferior a 10 mm serão assinalados.</li> </ul>
<b>Grupo principal Routine</b>		
Nucleic acids		<p>Indicação de resultados:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Resultado da concentração com absorção no comprimento de onda de medição</li> <li>• Pode ser desativado nos parâmetros: Relação A260/A280</li> <li>• Pode ser desativado nos parâmetros: Relação A260/A230.</li> <li>• Pode ser desativado nos parâmetros: Scan.</li> </ul> <p>Navegue entre os pontos de medição no gráfico, que podem ser utilizados para o cálculo do resultado, com ◀ e ▶.</p> <p>Dados adicionais (tecla de funções [Data]).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Valor de absorção para 280 nm.</li> <li>• Valor de absorção para 230 nm.</li> <li>• Valor de absorção para comprimento de onda de fundo.</li> </ul>

Grupo de métodos Fotometria	Indicação de resultados	Explicação
Proteins direct UV		<p>Indicação de resultados:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Resultado da concentração com absorção no comprimento de onda de medição</li> <li>• Pode ser desativado nos parâmetros: Scan.</li> </ul> <p>Navegue entre os pontos de medição no gráfico, que podem ser utilizados para o cálculo do resultado, com <b>◀</b> e <b>▶</b>.</p> <p>Dados adicionais (tecla de funções [Data]).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Valor de absorção para 260 nm.</li> <li>• Valor de absorção para comprimento de onda de fundo.</li> </ul>
Proteins (with reagent)		<p>Indicação de resultados:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Resultado da concentração com absorção no comprimento de onda de medição.</li> <li>• Na avaliação com uma série padrão: Gráfico da avaliação de padrões com resultado de amostra assinalado.</li> </ul>

## Métodos

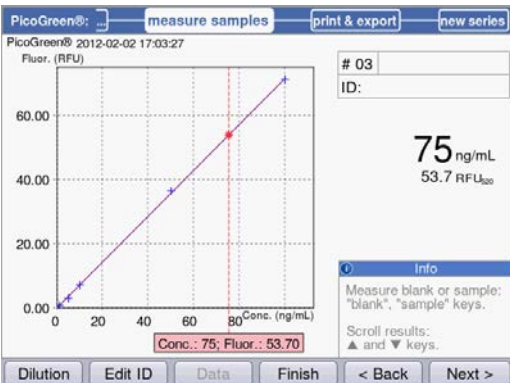
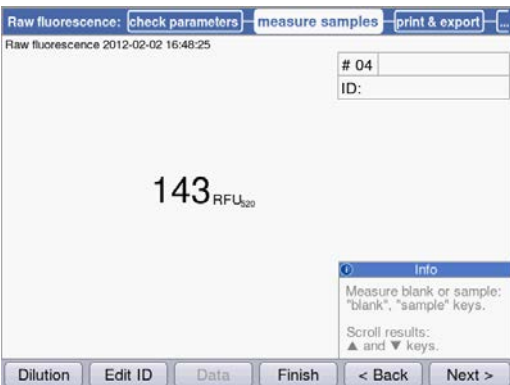
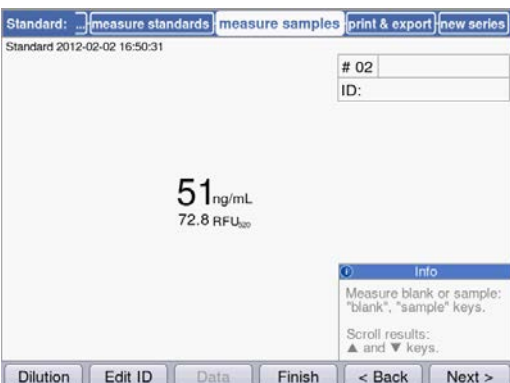
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

Grupo de métodos Fotometria	Indicação de resultados	Explicação
Dye labels		<p>Indicação de resultados:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Resultados de concentrações com absorção no comprimento de onda de medição da biomolécula.</li> <li>• Se ativado nos parâmetros: Scan. Navegue entre os pontos de medição no gráfico com ◀ e ▶.</li> </ul> <p>Dados adicionais (tecla de funções [Data]). Desde que os parâmetros correspondentes tenham sido ativados:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Relação A260/A280 e relação A260/A230.</li> <li>• Valores de absorção para 280 nm e 230 nm, assim como para o comprimento de onda de medição do corante.</li> <li>• Valor FOI.</li> <li>• Valores de absorção para os comprimentos de onda de fundo.</li> </ul> <p>Na medição de proteínas marcadas com corante não são indicadas relações nem FOI.</p>
Bacterial density		<p>Indicação de resultados:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Resultado calculado com absorção no comprimento de onda de medição.</li> <li>• Se ativado nos parâmetros: Scan. Navegue entre os pontos de medição no gráfico com ◀ e ▶.</li> </ul>

Grupo de métodos Fotometria	Indicação de resultados	Explicação
<b>Grupo principal <i>Basic</i></b>		
<b>Factor, standard</b>		<p>Indicação de resultados:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Resultado da concentração com absorção no comprimento de onda de medição.</li> <li>• Se ativado nos parâmetros: Scan. Navegue entre os pontos de medição no gráfico com ◀ e ▶.</li> <li>• Através da tecla [Data] são indicados os valores de extinção para os comprimentos de onda Background.</li> </ul>
<b>Calibration curve</b>	Semelhante a <i>Proteins (with reagent)</i> (ver acima)	<p>Indicação de resultados:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Resultado da concentração com absorção no comprimento de onda de medição.</li> <li>• Gráfico da avaliação de padrões com resultado de amostra assinalado.</li> </ul>
<b>Grupo principal <i>Advanced</i></b>		
<b>Dual wavelength</b>		<p>Indicação de resultados:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• O resultado da concentração: é calculado a partir de <math>A_{calc}</math>, com fator ou avaliação de padrões.</li> <li>• <math>A_{calc}</math>: é calculado com a fórmula definida nos parâmetros resultante das absorções medidas em ambos os comprimentos de onda.</li> <li>• Valores de absorção, medidos em ambos os comprimentos de onda.</li> </ul> <p>Dados adicionais (tecla de funções [Data]). Desde que os parâmetros correspondentes tenham sido ativados:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Valor de absorção para comprimento de onda de fundo.</li> </ul>

**Métodos**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)



Grupo de métodos Fluorimetria	Indicação de resultados	Explicação
<b>Grupo principal Routine</b>		
<b>Nucleic acids</b>		<p>Indicação de resultados:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Resultado da concentração com valor RFU no comprimento de onda de medição</li> <li>• Gráfico da avaliação de padrões com resultado de amostra assinalado.</li> </ul>
<b>Proteins</b>	Semelhante a <i>Nucleic acids</i> (ver acima).	<p>Indicação de resultados:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Resultado da concentração com valor RFU no comprimento de onda de medição</li> <li>• Gráfico da avaliação de padrões com resultado de amostra assinalado.</li> </ul>
<b>Grupo principal Basic</b>		
<b>Raw fluorescence</b>		<p>Indicação de resultados:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Valor RFU no comprimento de onda de medição</li> <li>• Apenas em diluição: indicação adicional do valor RFU antes da conversão.</li> </ul>
<b>Padrão</b>		<p>Indicação de resultados:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Resultado da concentração com valor RFU no comprimento de onda de medição</li> </ul>

Grupo de métodos Fluorimetria	Indicação de resultados	Explicação
Calibration curve	Semelhante a <i>Nucleic acids</i> (ver acima).	Indicação de resultados: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Resultado da concentração com valor RFU no comprimento de onda de medição</li> <li>• Gráfico da avaliação de padrões com resultado de amostra assinalado.</li> </ul>

### 6.5.5 process results

No procedimento do método, após a medição de amostras, se seguem dois passos opcionais: **process results** e **print & export**.

No passo **process results** é possível reprocessar os resultados de alguns métodos. Exemplo: alteração do detalhe de um espectro de uma varredura.

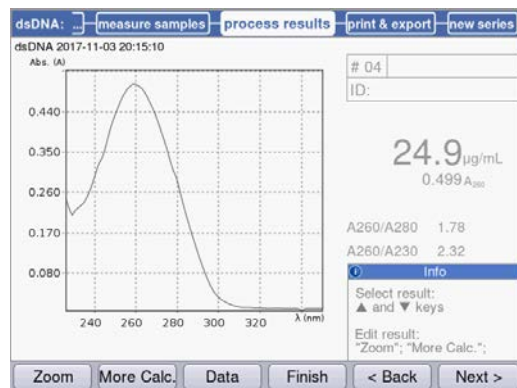
Como na indicação dos resultados é possível navegar com as teclas de cursor  e  entre os resultados de amostras da série de medição e selecionar resultados específicos para reprocessar.

Tab. 6-4: Opções: Visão geral

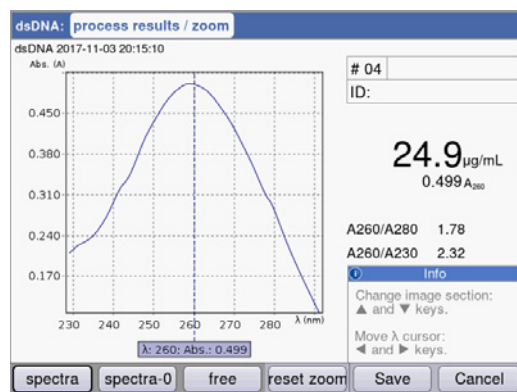
Opção	Explicação	Disponível no método
Zoom	Alterar os limites de eixos nos gráficos de absorção de comprimento de onda, para limitar a apresentação a detalhes ampliados do gráfico.	Basicamente todos os métodos para os quais o parâmetro <b>Scan</b> é oferecido e tiver sido ativado. <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Multi <math>\lambda</math></b></li> <li>• <b>Scan</b></li> <li>• <b>Nucleic acids</b></li> <li>• <b>Proteins direct UV</b></li> <li>• <b>Dye labels</b></li> </ul>
More calculations	Converter resultados de concentrações em concentrações molares, assim como (após introdução do volume) em quantidades totais.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Nucleic acids</b></li> <li>• <b>Dye labels</b> (com ácidos nucleicos como biomolécula)</li> </ul>
Peak detection	Detectar picos nos espectros de absorção de comprimento de onda.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Scan</b></li> </ul>

## Métodos

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

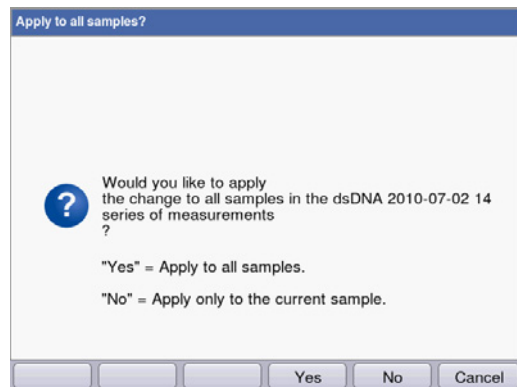


As opções para o reprocessamento são oferecidas nas duas teclas de funções esquerdas. Neste exemplo: [Zoom] e [More Calculations].



Após a realização de alterações é possível sair do modo atual com as duas teclas de funções direitas:

- [Save]: salvar a alteração e voltar ao passo de método **process results**.
- [Cancel]: cancelar e voltar ao passo de método **process results**.



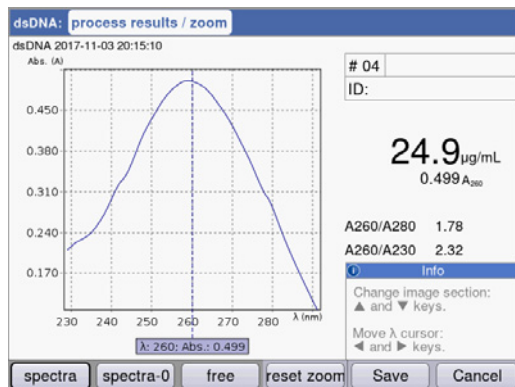
Depois de salvar as alterações é possível aplicá-las a todas as amostras da série de medição com [Yes].



## 6.5.6 process results: Opções

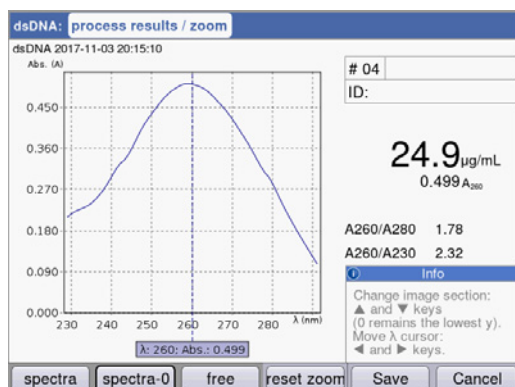
### Zoom

Pressione a tecla de funções [Zoom] e selecione uma das seguintes variantes.



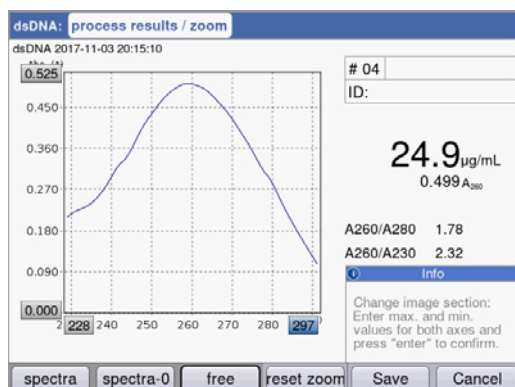
Variante [spectra]:

- Teclas de cursor  $\leftarrow$  e  $\rightarrow$ : Mover o cursor Comprimento de onda. Este determina o ponto central do zoom através do eixo X.
- Teclas de cursor  $\uparrow$  e  $\downarrow$ : Ampliar e reduzir o detalhe apresentado do eixo X em incrementos de acordo com o processo SpectraZoom. O detalhe apresentado do eixo Y é adaptado automaticamente em cada passo de modo que o máximo e o mínimo dos dados a representar utilizem de forma ótima o espaço do detalhe.



Variante [spectra-0]:

Corresponde à variante [spectra] com a exceção: O limite inferior do detalhe apresentado do eixo Y corresponde sempre a "0 A".



Variante [free]:

Os limites de intervalo para os dois eixos podem ser introduzidos livremente. Navegação entre os campos de introdução com as teclas de cursor ( $\uparrow$ ,  $\downarrow$ ,  $\leftarrow$ ,  $\rightarrow$ ).

Nas 3 variantes volta à apresentação inicial do espectro com a tecla de funções [reset zoom].

## Métodos

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

### More calculations

Pressione a tecla de funções [More calc.].

The image shows two screenshots of the software interface for 'More calculations'.

**Top Screenshot: dsDNA**  
 Title: dsDNA: process results / more calc.  
 Date/Time: dsDNA 2012-05-01 17:04:47  
 Entries:  
 - Total volume of sample: 100 µL  
 - Molecular mass: 297 basepairs / 196 kDa  
 Calculations:  
 - dsDNA: 6.0 µg/mL  
 - 0.6 µg total amount in sample  
 - 30.7 pmol/mL  
 - 3.1 pmol total amount in sample  
 Result: 6.0 µg/mL (0.120 A<sub>260</sub>)  
 Info: Press "enter" to confirm. Result: Total amounts or molar concentrations.  
 Buttons: Save, Cancel

**Bottom Screenshot: ssDNA - Cy 3**  
 Title: ssDNA - Cy 3: process results / more calc.  
 Date/Time: ssDNA - Cy 3 2010-11-29 12:08:12  
 Entries:  
 - Total volume of sample: 50 µL  
 - Molecular mass: 300 bases / 0 kDa  
 Calculations:  
 - ssDNA: 9.0 µg/mL  
 - 0.5 µg total amount in sample  
 - Dye 1: 0.214 pMol/µL  
 - Cy3: 0.214 pMol/µL  
 - 10.7 pmol total amount in sample  
 Result: 9.0 µg/mL (0.244 A<sub>260</sub>)  
 Info: Press "enter" to confirm. Result: Total amounts or molar concentrations.  
 Buttons: Save, Cancel

Grupo de métodos **Nucleic acids**:

- Após a introdução da massa molar (em alternativa em bases/pares de bases ou em kDa): converter o resultado da concentração em concentração molar.
- Após a introdução do volume de amostra: calcular a quantidade total na amostra.

Grupo de método **Dye labels**:

Ácido nucleico:

- Após a introdução da massa molar (em alternativa em bases/pares de bases ou em kDa): converter o resultado da concentração em concentração molar.
- Após a introdução do volume de amostra: calcular a quantidade total na amostra.

Corante:

- Após a introdução do volume da amostra: calcular a quantidade total na amostra.



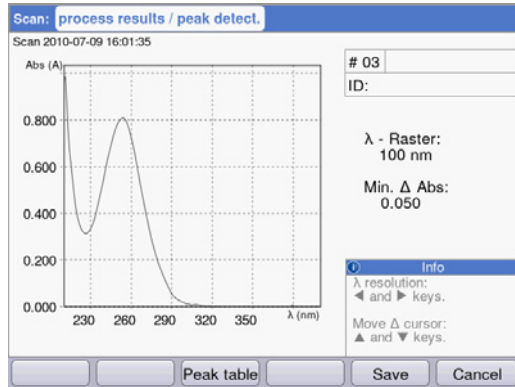
- Para **dsDNA** é pressuposto um ácido nucleico bicatenário para o cálculo da concentração molar. Para os métodos **ssDNA**, **RNA** e **Oligo** é pressuposto um ácido nucleico monocatenário.
- Para métodos que foram reprogramados no grupo principal **Routine**, grupo de métodos **Nucleic acids** através de <New Method>, são pressupostos sempre ácidos nucleicos bicatenários para o cálculo da concentração molar.

### Peak detection

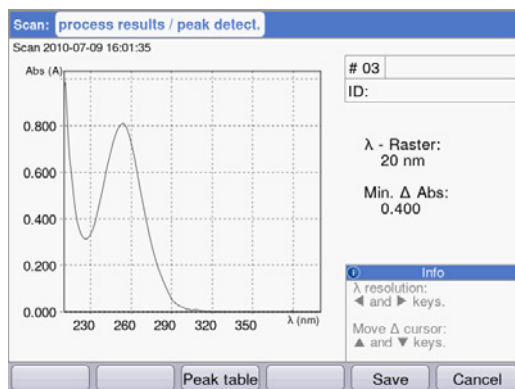
Pressione a tecla de funções [Peaks]. Para a detecção de picos é possível variar dois critérios:

- **Grelha λ**: grelha de avaliação na escala de comprimentos de onda para a detecção de picos (por ex. 10 nm).  
Exemplo 10 nm: é avaliado o detalhe do espectro de -5 nm a +5 nm com relação ao pico a detectar.
- **Min. Δ Abs**: diferença mínima entre o pico a detectar e a absorção mais baixa na grelha de avaliação. Simultaneamente nenhum valor de absorção na grelha pode ser superior ao valor do pico (por ex.: 0.5).

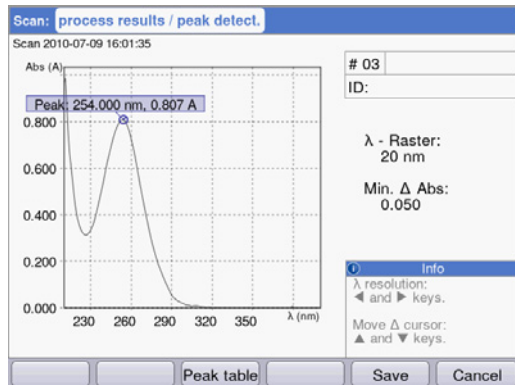
Exemplos:



Grelha  $\lambda$ : 100 nm, mín.  $\Delta$  Abs: 0.050:  
O pico não é detectado, porque a grelha  $\lambda$  é demasiado grande: as absorções no canto esquerdo da grelha são maiores do que a absorção do pico.



Grelha  $\lambda$ : 20 nm, mín.  $\Delta$  Abs: 0.200:  
O pico não é detectado, porque o valor especificado para **Min.  $\Delta$  Abs** ser demasiado grande. A diferença da absorção do pico e a absorção mais baixa na grelha é inferior a 0,2 A.



Grelha  $\lambda$ : 20 nm, mín.  $\Delta$  Abs: 0.050:  
O pico é detectado.

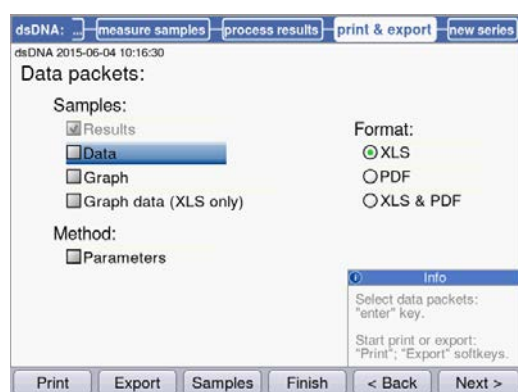
## Métodos

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

### 6.5.7 print & export

Na último passo de método opcional é possível compilar os pacotes de dados de todas as amostras ou de amostras selecionadas de uma série de medição:

- para impressão na impressora
- para a exportação em pendrive USB
- para a exortação através do cabo USB diretamente para um PC
- para a exportação através de e-mail



#### Selecionar pacotes de dados

- Navegue com as teclas de cursor e confirme com **enter**.

#### Selecionar formato

- XLS: exportar todas as tabelas Excel.
- PDF: exportar como arquivo PDF ou imprimir.

#### Tecla de funções

- [Print]: iniciar a impressão.
- [Export]: iniciar a exportação.
- [Sample]: selecionar resultados de amostras individuais.

#### Selecionar pacotes de dados

Results	Dados de resultados principais; não são selecionáveis, porque são sempre transferidos.
Data	Dados de resultados adicionais, são indicados nos visores de resultados com a tecla de funções [Data] durante a medição.
Graph	Espectro de absorção de comprimento de onda.
Graph data	Os dados básicos numéricos do gráfico. "export only": apenas para exportação, não disponível para impressão.
Parameters	Parâmetros de métodos
Standards/Results	Dados de resultados da avaliação de padrões.
Standards/Graph	(Apenas nas avaliações de padrões com vários padrões:) gráfico de concentração da absorção.

Dependendo do método e da configuração dos parâmetros são oferecidos apenas os respectivos pacotes de dados disponíveis.

## Selecionar resultados de amostras individuais



### Selecionar amostras

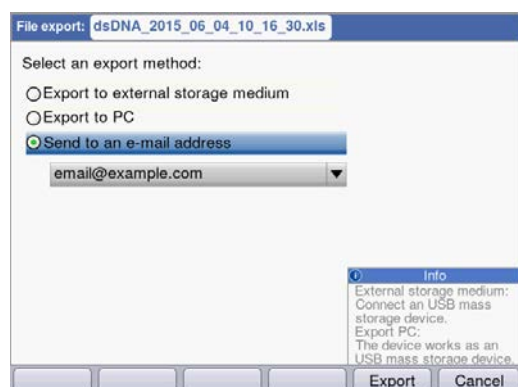
- Pressione a tecla de funções [Samples] para acessar a seleção de amostras.
- Navegue com as teclas de cursor e confirme com **enter**.

### Tecla de funções

- [Select all]: selecionar todas as amostras
- [De-Sel. all]: repor a seleção.

## Iniciando a exportação

Os dados são transmitidos como arquivo Excel (xls) ou PDF. Os arquivos Excel são legíveis com as versões de Excel a partir de Excel 97. Para cada um dos pacotes de dados selecionados é criada uma planilha em Excel. O nome do arquivo é composto por o nome do método, hora e data da série de medição.



### Selecionando a variante de exportação

- Navegue com as teclas de cursor e confirme com **enter**.
- Export to external storage medium: salvar os dados em um pen drive USB. Esta variante não está disponível se não estiver conectado um pen drive USB.
- Export to PC: Salvar dados em um PC.
- Export via email: enviar os dados para um endereço de e-mail.

## Exportação em pendrive USB

1. Conecte um pendrive USB, com formatação FAT-32 à porta USB **4** (aqui *Vista geral de produtos na pág. 15*).
2. Inicie com [Export] a "Exportação para um dispositivo de armazenamento externo".

### Exportação para PC

Requisito para o sistema operacional do PC; Windows XP, SP2 ou versões posteriores.

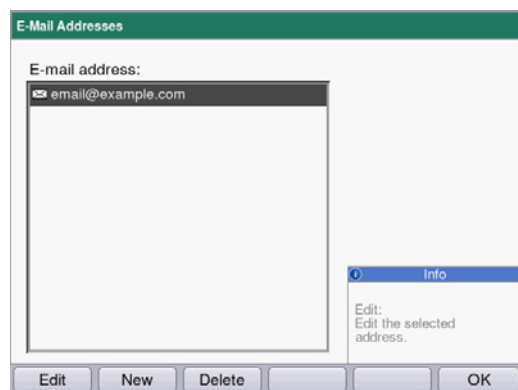
1. Conecte o equipamento à porta USB do computador através do cabo USB **8** (aqui *Vista geral de produtos na pág. 15*).
2. Em caso de exportação repetida verifique que os dados exportados previamente estão armazenados no disco rígido do computador, porque esses são substituídos pela nova exportação.
3. Inicie com [Export] a "Exportação para o PC".
4. O pacote de dados exportado é indicado no computador como dispositivo de armazenamento removível com o nome "eppendorf". Abra o arquivo nessa unidade e salve-o no disco rígido.

## Métodos

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

### Exportação para um endereço de e-mail

1. Selecione um endereço de e-mail a partir da lista ou selecione "Edit", para criar um novo endereço de e-mail.
2. Inicie com [Export] o envio para um endereço de e-mail".



### Editar endereço de e-mail

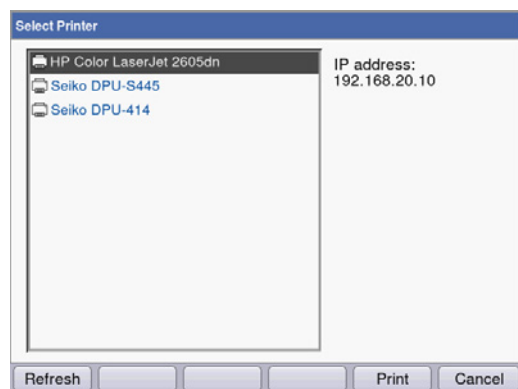
- Selecione na lista suspensa "Edit" e confirme com **enter**.  
Abre uma janela na qual é possível editar os endereços de e-mail.
- [Edit]: Editar endereço de e-mail.
- [New]: Criar novo endereço de e-mail.
- [Delete]: Apagar endereço de e-mail.

### Iniciando a impressão

Os dados podem ser impressos através da impressora na rede ou através de uma impressora USB conectada.



Quando o equipamento está ligado a uma rede são detectados e indicados automaticamente na rede todas as impressoras compatíveis. Se não existir uma conexão à rede apenas é possível selecionar uma impressora USB conectada.

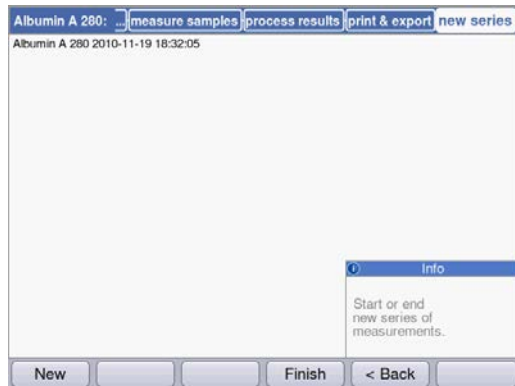


1. Selecione uma impressora.
2. Inicie a impressão dos dados com [Print].

## 6.5.8 Terminando série de medição

Em seguida ao último passo do método **print & export** é possível iniciar uma série de medição nova com o método selecionado ou selecionar um novo método.

### Terminando série de medição e iniciando nova série de medição



- Tecla de funções [Next >]: acessar o passo do método **new series**
- Tecla de funções [New]: acessar o passo do método **measure samples** e iniciar uma nova série de medição.

### Terminando série de medição e selecionando um novo método

- Tecla de funções [Finish]: terminar série de medição e acessar a seleção de métodos.

**Métodos**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

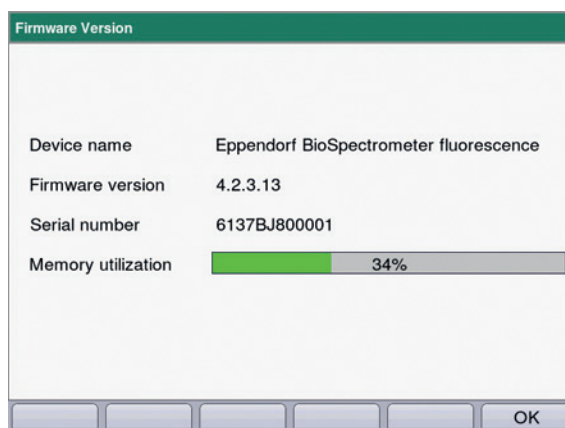
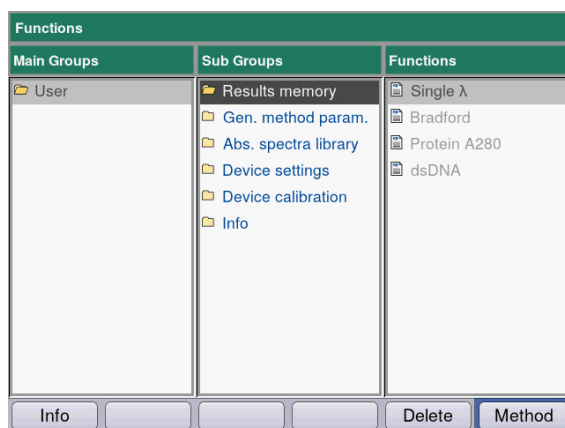


## 7 Funções

### 7.1 Funções do grupo principal *User*

Com a tecla **function** ou a tecla de funções [Function] acessa um menu com funções para configurações do equipamento ou acessar resultados armazenados.

As funções estão estruturadas em 3 colunas de forma semelhante à seleção de métodos. Você tem acesso às funções do grupo principal *User*. Como na seleção de métodos você navega com as teclas de cursor, para selecionar inicialmente o subgrupo desejado e, em seguida, selecionar a função desejada na coluna direita. Com **enter** acessa a função.



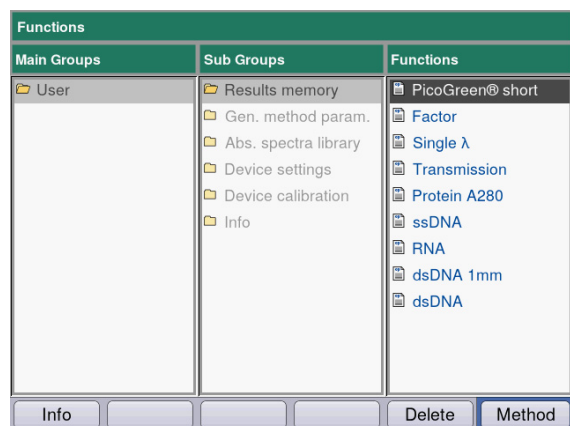
Tecla de funções [Info]:

- Versão do firmware
- Número de série do BioSpectrometer fluorescence
- Espaço de memória atual

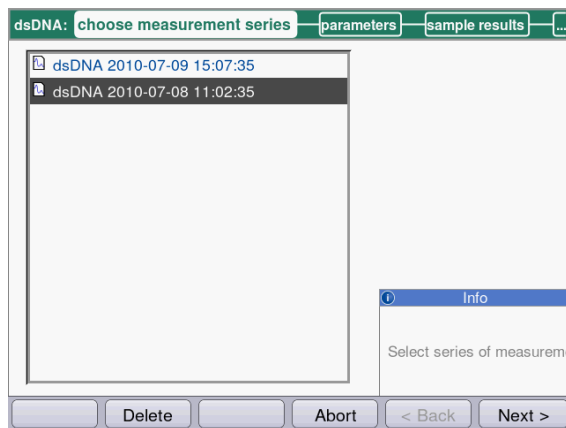
Tab. 7-1: Vista geral das funções

Subgrupo	Explicação
<b>Results memory</b>	<p>Apresentar os resultados armazenados. Os resultados podem ser acessados de acordo com os métodos e sequências e podem ser imprimidos, exportados ou descartados. É possível descartar medições individuais, todas as medições de um método ou todos os resultados da memória.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Para descartar o método e todas as medições correspondentes, pressione a tecla <b>Delete</b>.</li> <li>▶ Confirme com <b>enter</b>.</li> </ul>
<b>General method parameters</b>	<p>Parâmetros abrangentes utilizados para vários métodos estão armazenados centralmente na área <b>Functions</b>. Os parâmetros de fábrica não podem ser descartados. Os novos parâmetros podem ser alterados. No passo de método <b>Check parameters</b> é possível selecionar parâmetros abrangentes através de caixas de seleção.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Proteins, Nucleic acids, Dyes</b> contêm parâmetros utilizados para os métodos dos grupos <b>Dye labels</b> e <b>Proteins direct UV</b>.</li> <li>• <b>Units</b>: unidades para resultados de concentrações utilizadas para vários métodos.</li> </ul>
<b>Absorbance spectra library</b>	<p>Espectros de absorção de comprimento de onda de substâncias importantes, por ex. DNA. Os espectros se destinam a informação e podem ser utilizados como comparação com o espectro de um resultado de amostra.</p>
<b>Device settings</b>	Configurações editáveis do equipamento, por ex. idioma.
<b>Device calibration</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Possibilidade de verificação do espectrofotômetro. Para tal é necessário um conjunto de filtros da Eppendorf.</li> <li>• Possibilidade de verificação da unidade de fluorescência.</li> </ul>
<b>Info</b>	Licenças Open Source.

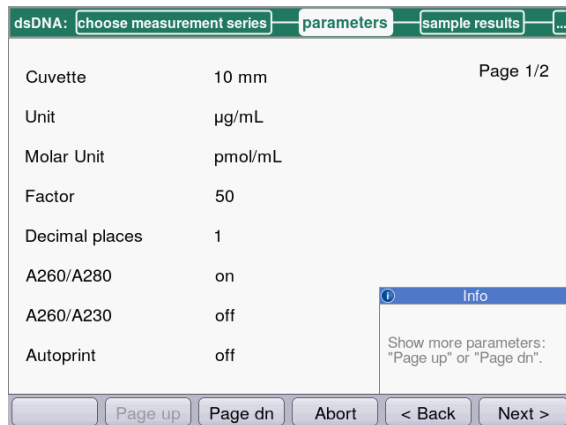
### 7.1.1 Results memory



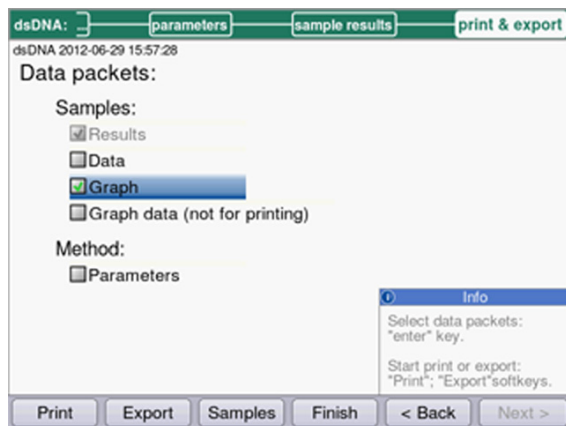
- ▶ Selecione na coluna direita o método, cujos resultados armazenados deseja acessar.
- ▶ Para descartar o método e todas as medições correspondentes, pressione a tecla **Delete**.
- ▶ Confirme com **enter**.



- ▶ Selecione a série de medição desejada com as teclas de cursor.
- ▶ Para descartar o método e todas as medições correspondentes, pressione a tecla **Delete**.
- ▶ Confirme com **enter**.

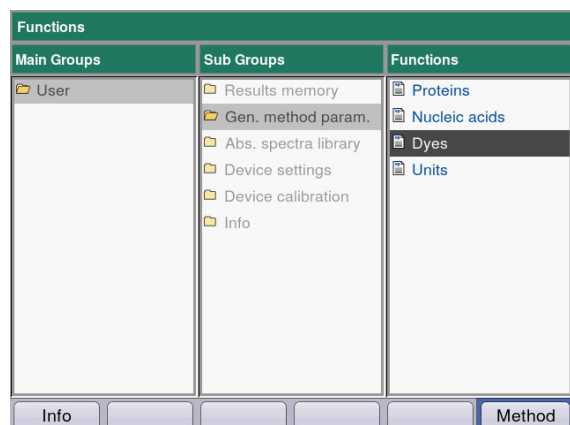


Como no procedimento de métodos também aqui é possível alternar entre as indicações de parâmetros, padrões, resultados de amostras e pacotes de dados para impressão e exportação. A atribuição das teclas de funções corresponde à atribuição no procedimento de métodos.

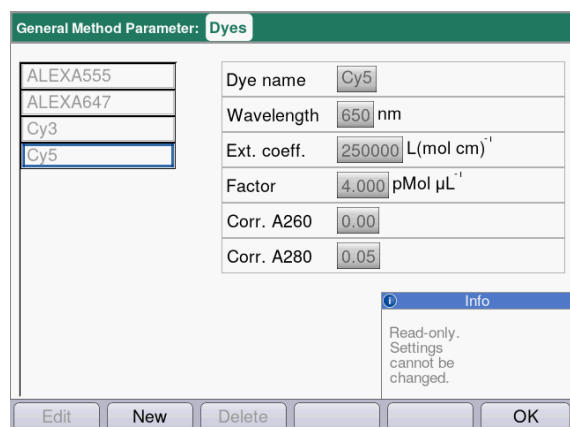


- ▶ Selecione os pacotes de dados se desejar imprimir ou exportar os resultados.
- O procedimento para a impressão e a exportação, assim como o significado das teclas de funções corresponde ao passo do método **print & export**.

## 7.1.2 General method parameters



- ▶ Selecione na coluna direita o grupo de parâmetros, para o qual deseja editar parâmetros.
- ▶ Confirme com **enter**.



Neste exemplo estão resumidos grupos de parâmetros para vários Dyes (componentes de corantes para métodos Dye) e arquivados respetivamente com um nome. Com este nome é possível importar o grupo de parâmetros desejado para o programa de métodos na edição de um método Dye.

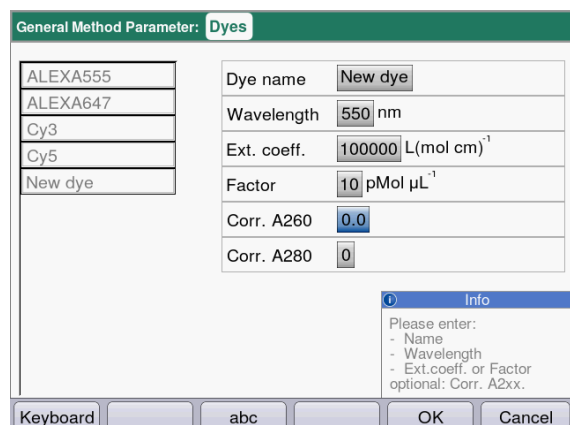
Os Dyes originais estão protegidos contra escrita e não podem ser editados ou descartados.

Visor:

- esquerda: Nome do Dye. Selecione com ▲ e ▼.
- direita: parâmetros correspondentes

### Tecla de funções

- [Edit]: editar o grupo de parâmetros selecionado.
- [New]: criar novo grupo de parâmetros.
- [Delete]: eliminar grupo de parâmetros selecionado.
- [OK]: voltar à seleção de funções.



- ▶ Para editar um grupo de parâmetros, selecione o parâmetro a editar com ▲ e ▼.
- ▶ Confirme com **enter**.

### Tecla de funções

- [OK]: salvar a introdução e voltar à seleção do grupo de parâmetros.
- [Cancel]: voltar à seleção do grupo de parâmetros sem alteração.

Na programação de um método dos grupos de métodos **Dye labels** ou **Proteins direct UV** pode acessar os registros em **General Method Parameter**:

Selecione o nome do Dye, para importar o respectivo grupo de parâmetros para o programa de métodos. Através da seleção "edit" no parâmetro "Nucleic acid" é possível acessar diretamente a função **General Method Parameter** e visualizar e editar os parâmetros.

Tab. 7-2: Parâmetros em General Method Parameter

Parâmetro	Explicação
<b>Proteins</b>	Estes parâmetros são carregados nos parâmetros de métodos na seleção de uma proteína na programação de um método do grupo <b>Dye labels</b> , assim como <b>Proteins direct UV</b> . Os parâmetros originais programados estão protegidos contra escrita e não podem ser editados ou descartados.
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Protein name</li> <li>• Factor</li> <li>• <math>A_{0.1\%}</math></li> <li>• Ext.coeff.</li> <li>• Molecular mass</li> </ul>	Junto ao nome e comprimento de onda é possível introduzir os seguintes dados para a definição do fator de cálculo da concentração da absorção: Fator <b>ou</b> $A_{0.1\%}$ <b>ou</b> Coeficiente de absorção e massa molar.
<b>Nucleic acids</b>	Estes parâmetros são carregados nos parâmetros de métodos na seleção de um ácido nucleico na programação de um método do grupo <b>Dye labels</b> . Os parâmetros originais programados estão protegidos contra escrita e não podem ser editados ou descartados.
<ul style="list-style-type: none"> <li>• NA name</li> <li>• Factor</li> <li>• Double-stranded</li> </ul>	O fator é utilizado para o cálculo da concentração da absorção. O parâmetro Double-stranded tem influência sobre o cálculo da concentração molar de ácido nucleico (aqui <i>Conversão em concentrações molares e quantidades de ácidos nucleicos na pág. 106</i> )

**Funções**

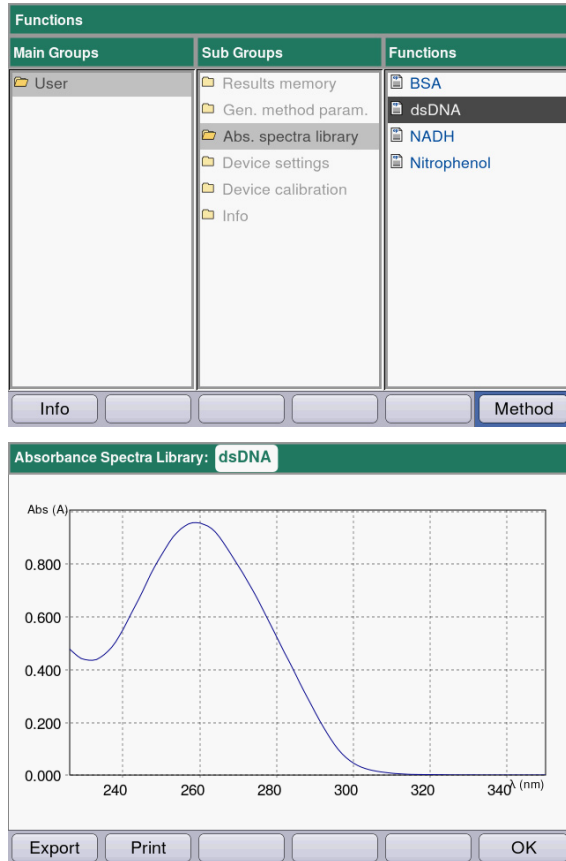
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

Parâmetro	Explicação
<b>Dyes</b>	Estes parâmetros são carregados nos parâmetros de métodos na seleção de um corante (Dye) na programação de um método do grupo <b>Dye labels</b> . Os parâmetros originais programados estão protegidos contra escrita e não podem ser editados ou descartados.
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dye name</li> <li>• Wavelength</li> <li>• Ext.coeff.</li> <li>• Factor</li> <li>• Corr. A260</li> <li>• Corr. A280</li> </ul>	<p>Junto ao nome é possível introduzir os seguintes dados para a definição do fator do cálculo da concentração da absorção:</p> <p>Fator <b>ou</b> Coeficiente de absorção.</p> <p>Os fatores de correção para a absorção a 260 ou 280 nm são utilizados quando a função de correção está ativada nos parâmetros de métodos. Descrito em maior pormenor no capítulo relativo à avaliação (aqui <i>Correção A<sub>260</sub> e correção A<sub>280</sub> na pág. 105</i>).</p>
<b>Units</b>	Na programação dos parâmetros de métodos é possível selecionar uma unidade entre todas as unidades disponíveis. As unidades utilizadas em métodos pré-programados estão assinalados em cinzento e não podem ser descartados.
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Unit</li> </ul>	Introduzida uma unidade para o resultado da concentração ainda não programada.



- Características para proteínas, que não são programadas na fábrica, podem ser determinadas no banco de dados expasy: <http://www.expasy.org/tools/protparam.html>.
- Encontra também uma tabela com valores  $A_{1\%}$  para muitas proteínas em: C.N.Pace et al., Protein Science (1995), 4: 2411–2423 (Tabela 5). Os valores  $A_{1\%}$  têm de ser multiplicados por 0,1, para obter os valores  $A_{0,1\%}$  necessários.

### 7.1.3 Absorbance spectra library

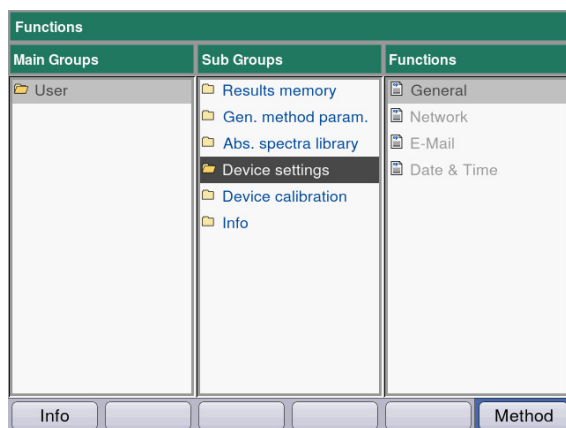


Na coluna direita seleciona o espectro que pretende abrir e confirma com **enter**.

#### Tecla de funções

- [Export] e [Print]: exportar ou imprimir para um computador a partir de um pendrive USB ou cabo USB (aqui *print & export na pág. 60*).
- [OK]: voltar à seleção de funções.

### 7.1.4 Device settings



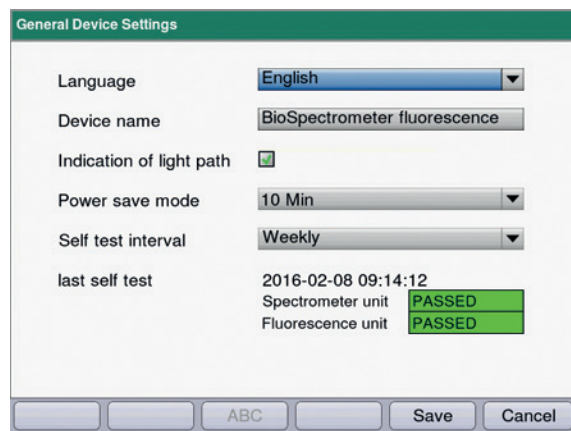
As seguintes configurações podem ser adaptadas:

#### Device Settings

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

## Funções

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)



### General Device Settings

- Selecionar língua: Alemão, Inglês, Francês, Espanhol, Italiano, Japonês\*).
- Nome do equipamento
- Configurar o Intervalo de tempo para a ativação do modo de economia de energia.
- Configurar a frequência do autoteste automático depois de ligar o equipamento.
- Aviso sobre indicação do feixe de luz.
- São indicadas informações sobre o último autoteste.

\*) Se alterar a língua, p. ex., para Japonês, será alterado o tipo da letra. Pode acontecer que partes do texto não são indicados corretamente.

- ▶ Desligar o instrumento e voltar a ligá-lo. Depois de reiniciar, as línguas serão representadas corretamente.

### Tecla de funções

- [Save]: Salvar alterações e voltar à seleção de funções.
- [Cancel]: voltar à seleção do grupo de parâmetros sem alteração.



**Network Settings**

IP  Get IP settings via DHCP

IP address 192.168.20.61

Subnet mask 255.255.255.0

Default gateway 192.168.20.1

DNS  Get DNS settings via DHCP

Primary DNS server 192.168.20.1

Secondary DNS server 192.168.20.1

Test MAC Info Save Cancel

## Network Settings

Pergunte a seu administrador de rede quais são as configurações necessárias.

- Selecionar se as configurações IP devem ser aplicadas automaticamente através de DHCP. As configurações IP também podem ser introduzidas manualmente.
  - Endereço IP
  - Máscara de subrede
  - Gateway standard
- Selecionar se as configurações DNS devem ser aplicadas automaticamente através de DHCP (apenas disponível se as configurações IP forem adquiridas automaticamente por DHCP). As seguintes configurações DNS podem ser introduzidas manualmente:
  - Servidor DNS principal
  - Servidor DNS secundário

## Tecla de funções

- [MAC Info]: Informações sobre configurações de rede.
- [Save]: Salvar alterações e voltar à seleção de funções.
- [Cancel]: voltar à seleção do grupo de parâmetros sem alteração.

**E-Mail Settings**

SMTP server mailserver.example.com

Port 25

Sender e-mail address biospec@example.com

Use SMTP authentication

User name

Password

Recipient e-mail address email@example.com

Test ABC Save Cancel

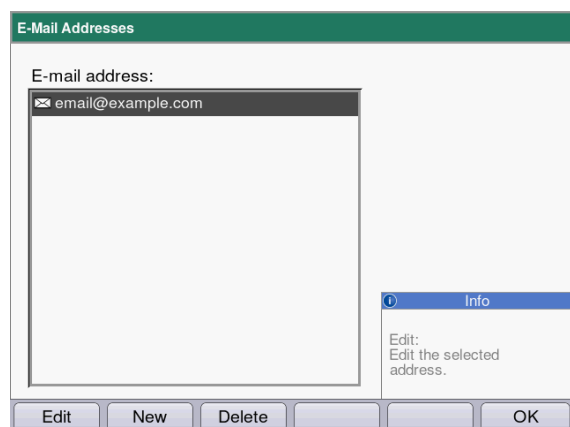
## Email Settings

Pergunte a seu administrador de rede quais são as configurações necessárias.

- Servidor SMTP: Introduzir o servidor de e-mail.
- Introduzir a porta.
- Remetente: Introduzir o nome do equipamento.
- Usar a autenticação SMTP: Se for necessária uma autenticação é necessário introduzir um nome de usuário e uma senha.
- Endereço de e-mail do destinatário: Lista com endereços de e-mail.

## Funções

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)



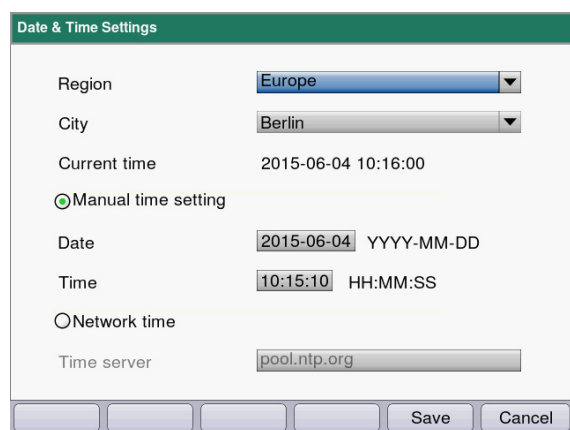
### Editar endereço de e-mail

- Selecione na lista suspensa "Edit" e confirme com **enter**.

Abre uma janela na qual é possível editar os endereços de e-mail.

### Tecla de funções

- [Edit]: Editar endereço de e-mail.
- [New]: Criar novo endereço de e-mail.
- [Delete]: Apagar endereço de e-mail.



### Date and Time Settings

- Selecionar a região.
  - Selecionar a cidade.
  - Indicação da hora atual
  - Configuração manual da hora: Introduzir a data e hora.
  - Hora da rede
- Servidor de hora: Indicar o servidor de hora desejado.

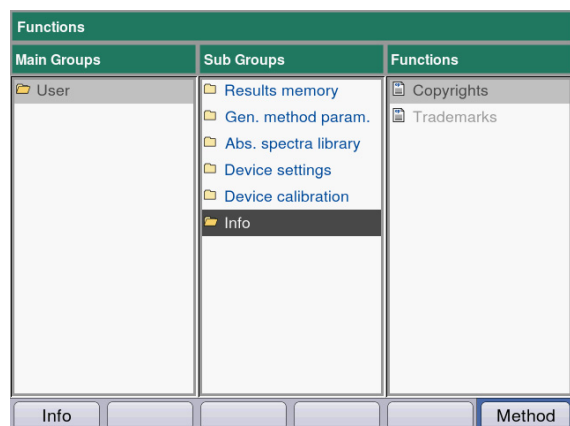
### Tecla de funções

- [Save]: Salvar alterações e voltar à seleção de funções.
- [Cancel]: voltar à seleção do grupo de parâmetros sem alteração.

## 7.1.5 Device calibration

A calibração do equipamento está descrita em separado (aqui *Verificando o equipamento na pág. 77*).

## 7.1.6 Info



No item do menu **Copyright** encontra informações sobre a licença do software Open Source.

## 8 Manutenção

### 8.1 Limpeza

---



#### **PERIGO! Choque elétrico devido a penetração de líquido.**

- ▶ Desligue o equipamento e desconecte o plugue antes de iniciar a limpeza ou desinfecção.
  - ▶ Não deixe penetrar qualquer líquido no interior da caixa.
  - ▶ Não use spray para limpar/desinfetar a carcaça.
  - ▶ Apenas volte a ligar o equipamento se esse estiver completamente seco no interior e exterior.
- 



#### **AVISO! Corrosão devido a produtos de limpeza e desinfecção agressivos.**

- ▶ Não utilize detergentes corrosivos, nem solventes agressivos ou polidores abrasivos.
  - ▶ Não incubar os acessórios durante um longo período de tempo em detergentes de limpeza ou desinfecção agressivos.
- 

1. Limpe as superfícies com um pano umedecido com um produto de limpeza suave.

#### **Limpendo o compartimento da cubeta**

2. Limpe o compartimento da cubeta apenas com uma zaragatoa, que não largue fibras, embebida em etanol ou isopropanol. Evite que o líquido penetre no compartimento da cubeta. Se for necessário utilizar água para a remoção da contaminação, limpe no final com uma zaragatoa embebida em etanol ou isopropanol, para acelerar a secagem do compartimento da cubeta.

No lado interior esquerdo do compartimento da cubeta está colocado um vidro no feixe de luz. Limpe o vidro cuidadosamente.

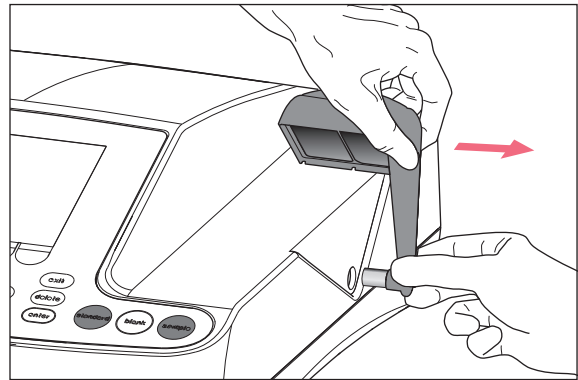
### 8.1.1 Limpando o compartimento da cubeta

Se não pretender limpar apenas a superfície diretamente acessível da cobertura do compartimento da cubeta é possível desmontar a cobertura.



- ▶ Não impregne a cobertura do compartimento da cubeta em produto de limpeza.
- ▶ Limpe a cobertura do compartimento da cubeta como descrito.

1. Levante a cobertura do compartimento da cubeta com uma mão.
2. Com a outra mão agarre a cobertura à altura do pino de retenção e puxe a cobertura para a direita até o pino de retenção sair completamente.



- Puxe a cobertura em um ângulo de 90 graus para a direita.

3. Limpe a cobertura com um pano ou uma zaragatoa, que não largue fibras, umedecida com um produto de limpeza suave.
4. Empurre o pino de retenção novamente para dentro da caixa até ao encosto  
O pino de retenção desapareceu completamente dentro da caixa.



Em caso de não utilização do fotômetro feche o compartimento da cubeta com a cobertura de compartimento de cubeta azul, para o proteger contra poeira e outras contaminações.

## 8.2 Desinfecção/descontaminação



### PERIGO! Choque elétrico devido a penetração de líquido.

- ▶ Desligue o equipamento e desconecte o plugue antes de iniciar a limpeza ou desinfecção.
- ▶ Não deixe penetrar qualquer líquido no interior da caixa.
- ▶ Não use spray para limpar/desinfetar a carcaça.
- ▶ Apenas volte a ligar o equipamento se esse estiver completamente seco no interior e exterior.

1. Limpe o equipamento antes da desinfecção com um detergente suave (aqui *Limpeza na pág. 75*).
2. Selecione um método de desinfecção que atenda às diretivas e regulamentos legais relativos à área de aplicação.
3. Utilize, por exemplo, álcool (etanol, isopropanol) ou desinfetantes contendo álcool.
4. Limpe as superfícies com um pano umedecido com desinfetante.
5. Se for necessário desmontar a cobertura do compartimento da cubeta para a desinfecção, proceda à desmontagem e montagem como descrito em (aqui *Limpendo o compartimento da cubeta na pág. 76*).
6. A cobertura do compartimento da cubeta desmontada pode ser desinfetada através de desinfecção por pulverização.

## 8.3 Verificando o equipamento

### Requisitos:

- Manter as condições ambientais (aqui *Condições ambientais na pág. 97*).
- Realizar a verificação a aprox. 20 °C. Evitar oscilações de temperatura (por ex. devido a janelas abertas).
- Retirar o filtro apenas brevemente da caixa do filtro e proteger contra contaminação ou danos da superfície do filtro.
- Proteger o filtro contra poeira, calor, líquidos e vapores agressivos.
  - Verificação da unidade do espectrômetro: adesivo aponta para a frente.
  - Verificação da unidade de fluorescência: adesivo aponta para a direita.
- Compartimento da cubeta não apresenta contaminação.

### 8.3.1 Verificando a unidade do espectrômetro

A Eppendorf oferece um conjunto de filtros (conjunto de filtros BioSpectrometer) para a verificação da exatidão fotométrica e da exatidão do comprimento de onda. O conjunto contém um filtro de valor em branco A0 e três filtros A1, A2 e A3 para a verificação da exatidão fotométrica, assim como 3 filtros para a verificação da exatidão do comprimento de onda na faixa de 260 nm até 800 nm. As absorções dos filtros são medidas contra o filtro de valor em branco A0. Além das informações sobre exatidão obtém também informações sobre a precisão: a partir das 15 medições por comprimento de onda é calculado também o coeficiente de variação (valor VK) além da média.

Para a medição coloque primeiro o filtro de valor em branco (para a medição do valor em branco) e depois os filtros de teste e cubetas no compartimento de cubetas. Os valores de medição medidos para os filtros de teste são comparados contra a faixa de valores admissível. Os valores limite para a faixa admissível estão impressos para cada filtro em uma tabela na tampa da caixa do filtro.

## Manutenção

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

Se pretender documentar os valores poderá imprimir ou exportar os valores após a medição. São salvas no máximo 12 verificações. Os valores da verificação mais antiga são sobrescritos se a memória estiver cheia.

### BioSpectrometer fluorescence reference filter set

**eppendorf**

Function : Device calibration/Spectrometer unit

Order No./Best. Nr.: 6137 928.009

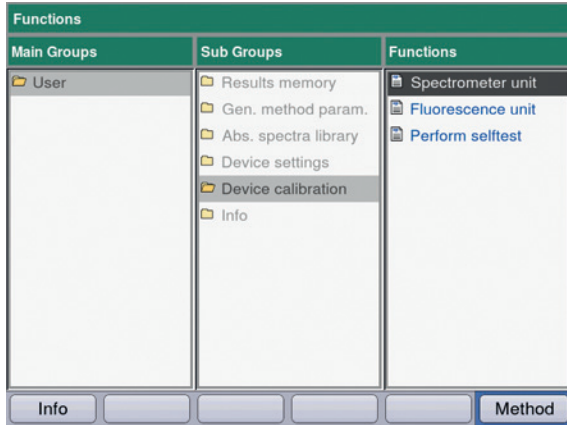
Set No./Satz Nr.: 958

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 %	≤ 1.5 %
550 - 800 nm		≤ 3.0 %		≤ 3.0 %		≤ 2.0 %	≤ 3.0 %
<b>Fluorescence unit</b>							
Filter Type	F0147 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			

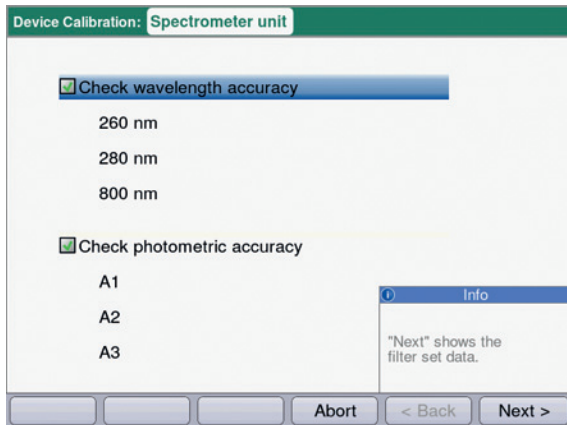
Fig. 8-1: Lado interno da tampa da caixa do filtro (exemplo)

### 8.3.1.1 Realizando a verificação da exatidão fotométrica

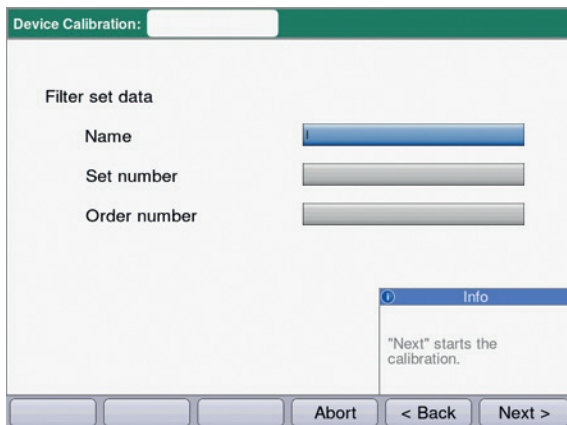
1. Selecione no grupo **Device calibration** a função **Spectrometer unit** e confirme com **enter**.



2. Selecione se deseja verificar a exatidão do comprimento de onda, a exatidão fotométrica ou ambas. Confirme com **enter**.  
 3. Avance para o próximo passo com [Next >].



4. Preencha os campos de introdução. O valores são opcionais.  
 5. Avance para o próximo passo com [Next >].

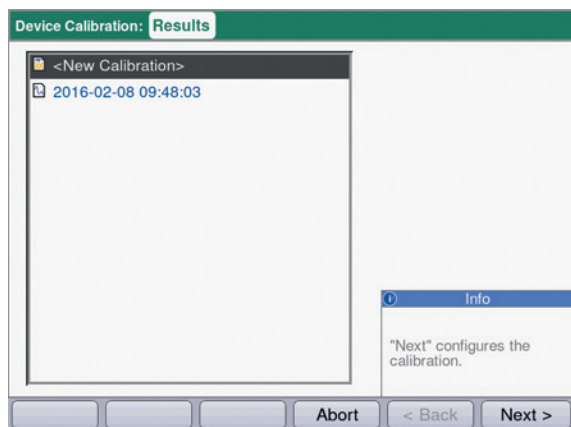


## Manutenção

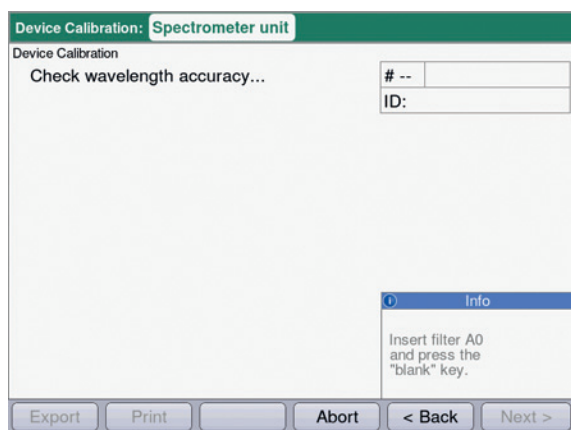
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)



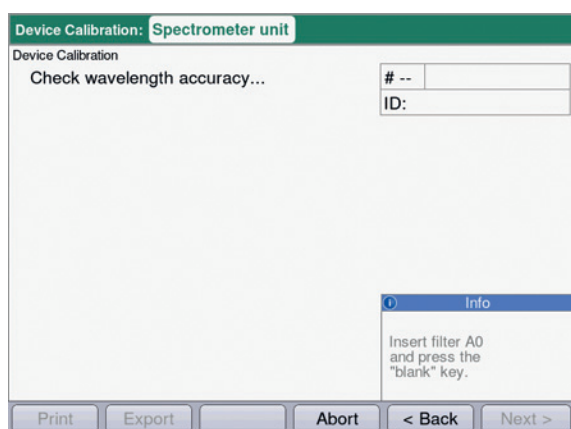
- O passo 6 é omitido se a calibração for realizada pela primeira vez.
- Se já tiver sido realizada uma calibração são indicados os resultados das últimas calibrações.



6. Selecione <New Calibration> e inicie a nova calibração com [Next >].



7. Siga as instruções na janela *Info* e meça primeiro o filtro de valor em branco A0.



8. Após o valor em branco A0 inicie com o primeiro filtro de teste.  
Na caixa Info é indicado o filtro de teste esperado (aqui: 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. Indicação do resultado após medição dos 3 filtros de teste para testar a exatidão fotométrica. Com as teclas ▲ e ▼ é possível visualizar novamente os resultados dos vários filtros de teste.

**Tecla de funções**

- [Finish]: terminar a verificação.
- [Export]: exportar os resultados como arquivo PDF.
- [Print]: imprimir os resultados.

10. Compare as médias e os coeficientes de variação com a tabela fornecida. Se os valores medidos não corresponderem à faixa de valores admissível, contate o Eppendorf Service.

### 8.3.2 Verificando a unidade de fluorescência

Functions

Main Groups	Sub Groups	Functions
<ul style="list-style-type: none"> <li>User</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Results memory</li> <li>Gen. method param.</li> <li>Abs. spectra library</li> <li>Device settings</li> <li>Device calibration</li> <li>Info</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Spectrometer unit</li> <li>Fluorescence unit</li> <li>Perform selftest</li> </ul>

Info Method

1. Selecione no grupo **Device calibration** a função **Fluorescence unit**. Confirme com **enter**.
2. Coloque o filtro F1 no compartimento de cubetas. Pressione a tecla de funções **Measure**.

O equipamento mede o filtro de teste 15 vezes com 2 comprimentos de onda de emissão. Após a medição o visor indica 2 parâmetros: "Ratio" como medida para o ajuste correto, assim como "CV" como medida para o ruído.

Device Calibration:

Filter set data

Name

Set number

Order number

Info  
"Next" starts the calibration.

Abort < Back Next >

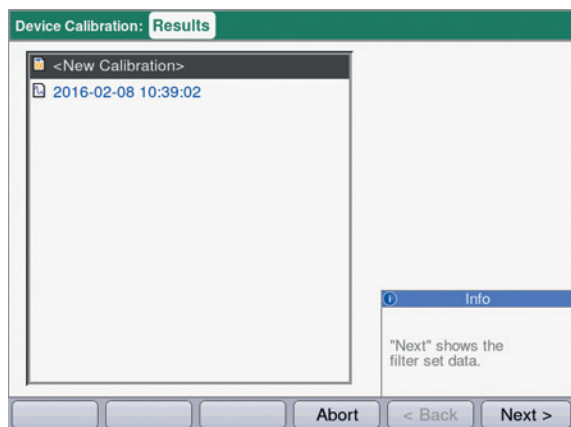
3. Preencha os campos de introdução. O valores são opcionais.
4. Avance para o próximo passo com [Next >].

## Manutenção

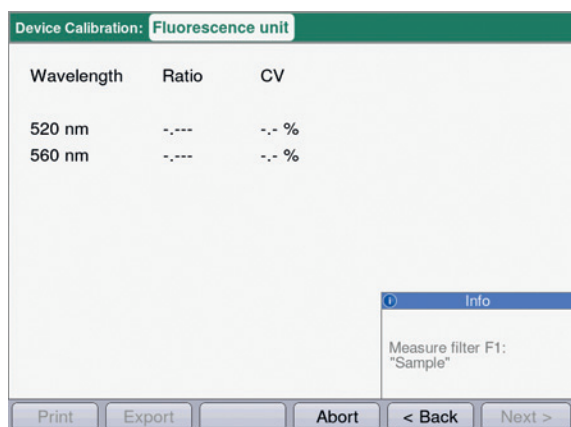
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)



- O passo 5 é omitido se a calibração for realizada pela primeira vez.
- Se já tiver sido realizada uma calibração são indicados os resultados das últimas calibrações.



5. Selecione <New Calibration> e inicie a nova calibração com [Next >].



6. Compare os parâmetros com os valores indicados na tabela fornecida. Se os valores medidos não corresponderem à faixa de valores admissível, contate o Eppendorf Service.

### 8.3.3 Autoteste do equipamento

A frequência do autoteste automático (duração aprox. 1 minuto) pode ser configurada com a função **Device settings** (aqui *Device settings* na pág. 71). A partir da fábrica o **intervalo de autoteste** está configurado para "semanal".

No autoteste são verificados os seguintes pontos:

- Verificação do detector
  - Determinação do erro aleatório da medição ao longo de todo o espectro disponível
- Verificação da fonte de luz
  - Verificação da energia máxima disponível da fonte de luz e a qualidade da condução de luz através do equipamento
  - Determinação do erro aleatório da medição de um sinal no sensor de referência
  - Determinação da altura do sinal no sensor de referência
  - Determinação separada da intensidade luminosa na faixa UV

- Determinação do erro sistemático e aleatório da medição do comprimento de onda
  - Posição de um pico de intensidade na área UV do espectro
  - Precisão da posição de um pico de intensidade na área UV do espectro
- Determinação do erro aleatório da medição da luz de excitação ("ruído")
- Determinação da altura e erro do sinal da luz emitida

▶ Selecione no grupo **Device calibration** a função **Perform selftest** e confirme com **enter**.

Depois de decorrido o autoteste o visor indica a mensagem **PASSED**.

Se o visor indicar a mensagem **FAILED**, o autoteste falhou. Se não for possível eliminar este erro (aqui *Mensagens de erro na pág. 87*), entre em contato com o Eppendorf Service.

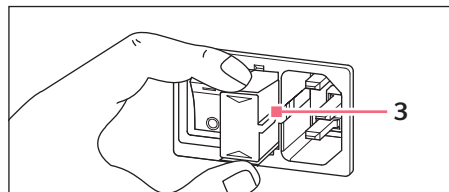
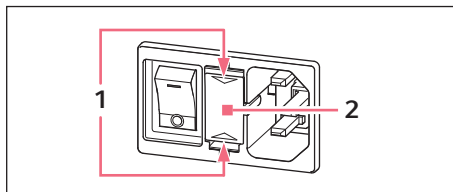
## 8.4 Substituir os fusíveis da rede



**PERIGO! Choque elétrico.**

▶ Desligue o equipamento e desconecte o plugue antes de iniciar a limpeza ou manutenção.

O suporte do fusível encontra-se entre a tomada de ligação à rede e o interruptor de rede.



1. Retire a ficha de rede.
2. Comprima as molas de plástico **1** do lado superior e inferior e puxe o suporte do fusível **2** completamente para fora.
3. Substitua os fusíveis da rede defeituosos e insira novamente o suporte do fusível. Certifique-se da correta posição da calha guia **3**.

## 8.5 Descontaminação antes do envio

Ao enviar o aparelho para reparação ao serviço de assistência autorizado ou para ser eliminado pelo seu distribuidor autorizado, observe o seguinte:



**ATENÇÃO! Perigo para a saúde devido a contaminação do equipamento.**

1. Respeite as indicações do certificado de descontaminação. Você encontra essas indicações no arquivo PDF em nossa página de internet ([www.eppendorf.com/decontamination](http://www.eppendorf.com/decontamination)).
  2. Descontamine todas as peças que deseja enviar.
  3. Envie o certificado de descontaminação completamente preenchido.
-

## 9 Resolução de problemas

### 9.1 Erros gerais

Erro	Causa possível	Solução
Resultados de medição são imprecisos.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Validade do reagente expirou.</li> <li>• Reagente não está preparado corretamente.</li> <li>• Pipetagem incorreta.</li> <li>• Procedimento de incubação antes da medição incorreto.</li> <li>• Cubeta suja.</li> <li>• Encher a cubeta, não totalmente, com solução de medição sem bolhas.</li> <li>• Turvações na solução de medição.</li> <li>• O espectrofotômetro apresenta desvios.</li> <li>• Compartimento da cubeta sujo.</li> <li>• Fluorimetria: Substâncias interferentes reforçam ou inibem o sinal de fluorescência.</li> <li>• Fluorimetria: A cobertura do compartimento da cubeta não está fechada.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Certifique-se de que o reagente está dentro do prazo de validade e que é preparado corretamente.</li> <li>▶ Para a preparação utilize – se necessário – água desmineralizada limpa de qualidade suficiente.</li> <li>▶ Certifique-se de que a pipeta está calibrada e dispensa corretamente.</li> <li>▶ Se o procedimento do método exigir uma incubação antes da medição, assegure que são cumpridos corretamente a temperatura e o tempo de incubação.</li> <li>▶ Limpe e lave a cubeta. Na troca de cubetas assegure-se que a janela óptica da cubeta permanece limpa e que não é tocada com os dedos.</li> <li>▶ Se a janela da cubeta estiver suja com impressões digitais, limpe a janela com um pano de laboratório, que não largue fibras, embebido com etanol ou isopropanol.</li> <li>▶ Verifique que é atingido o volume mínimo necessário da cubeta para uma medição e que a solução de medição não apresente bolhas.</li> <li>▶ Centrifugue soluções de medição turvas contendo partículas e utilize o remanescente limpo.</li> <li>▶ Entre em contato com a assistência Eppendorf.</li> <li>▶ Cumpra as condições ambientais.</li> <li>▶ Evite oscilações de temperatura.</li> <li>▶ Limpe o compartimento da cubeta.</li> <li>▶ Remova as substâncias interferentes. Se não for possível remover as substâncias interferentes não é possível utilizar a técnica de medição de fluorimetria.</li> <li>▶ Feche a cobertura do compartimento da cubeta antes da medição.</li> </ul>

Erro	Causa possível	Solução
Os resultados da medição são incorretos.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Método incorretamente programado.</li> <li>• Solução do padrão não está preparada corretamente.</li> <li>• Absorção do reagente apresenta desvios.</li>   <li>• A cubeta não está corretamente posicionada.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Verifique que os parâmetros do método estão introduzidos corretamente.</li> <li>▶ Verifique que é utilizado o padrão correto e que a solução de medição é preparada corretamente para o padrão.</li> <li>▶ Em caso de absorção de reagente instável e métodos de ponto final: Na medição de uma longa série de amostras não meça o valor em branco do reagente apenas antes do início, mas também durante a série de amostras. Em caso de desvio acentuado do valor em branco do reagente, o reagente não é adequado para medições sem erros e tem de ser substituído por um reagente novo.</li> <li>▶ Posicione a cubeta no compartimento da cubeta de forma que as janelas ópticas apontem para o sentido do feixe de luz.</li> <li>▶ Feixe de luz fotometria: de trás para a frente</li> <li>▶ Feixe de luz fluorimetria: da direita para a esquerda</li> </ul>

## 9.2 Mensagens de erro

Pode sair das mensagens de erro no visor do equipamento com tecla de funções [OK].

Os erros de sistema exigem uma avaliação pelo serviço técnico. Esses erros são apresentados em inglês (**System error ...**). Nestes casos contate o serviço técnico. Outras mensagens de erro, nas quais você próprio pode tomar medidas, estão explicadas na tabela seguinte.

Sintoma/ mensagem	Causa	Ajuda
Autoteste falhou.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• A cobertura do compartimento da cubeta estava aberta durante o autoteste.</li> <li>• O compartimento da cubeta não estava vazio durante o autoteste.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Repita o autoteste com o compartimento da cubeta vazio e a cobertura do compartimento da cubeta fechada.</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Equipamento defeituoso.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Entre em contato com a assistência Eppendorf.</li> </ul>
Não foi possível exportar o arquivo.	Na exportação de dados: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pendrive USB formatada incorretamente ou defeituosa.</li> <li>• Pendrive USB removida demasiado cedo (durante a exportação) do equipamento.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Reformatar ou substituir o pendrive USB.</li> <li>▶ Conectar novamente o pendrive USB e repetir a exportação.</li> </ul>
Não foi possível iniciar a impressora.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Impressora não conectada ou desligada.</li> <li>• Impressora configurada incorretamente.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Conectar e ligar a impressora.</li> <li>▶ Configurar novamente a impressora. As configurações da impressora para a configuração correta encontram-se na descrição da instalação (aqui <i>Conectando a impressora à porta USB na pág. 20</i>).</li> </ul>
Medição de amostras em branco: Uma intensidade em um pixel que influencia o comprimento de onda principal, secundário ou de varredura é demasiado baixa.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• A solução de valor em branco para a medição de amostras em branco tem uma absorção demasiado alta.</li> <li>• Solução de valor em branco incorreta ou turva.</li> <li>• Nas varreduras: Faixa de comprimento demasiado grande, porque a amostra é fortemente absorvida em uma parte da faixa do comprimento de onda.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Verificar a solução de valor em branco e, se necessário, medir novamente a amostra em branco.</li> <li>▶ Nas varreduras: Adaptar a faixa do comprimento de onda ao espectro da amostra.</li> </ul>
Medição de amostras em branco: A emissão no comprimento de onda de medição é demasiado alta.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• A solução de valor em branco utilizada para a medição de amostras em branco tem uma fluorescência demasiado alta.</li> <li>• Solução de valor em branco incorreta ou turva.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Verificar a solução de valor em branco e medir novamente a amostra em branco.</li> </ul>

## Resolução de problemas

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

Sintoma/ mensagem	Causa	Ajuda
O nome introduzido não é válido.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Erro na introdução de nomes. São possíveis várias causas. Sobre a causa concreta consulte as informações na caixa de ajuda.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Consultar as informações na caixa de ajuda.</li> </ul>
Já existe um método (ou uma pasta, Dye, Protein, Nucleic acid, Unit) com este nome.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• O nome, com o qual o método foi armazenado, já foi utilizado para um outro método na mesma pasta.</li> <li>• A mensagem também aparece, se tiverem sido editados nomes já atribuídos a uma pasta ou (em <b>General Method Parameter</b>) a um ácido nucleico (corante, proteína, unidade de concentração).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Atribuir outros nomes.</li> </ul>
Os seguintes valores de parâmetros não estão definidos em <b>General Method Parameter</b> :	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Na abertura de um método, cujos parâmetros acessam a <b>General Method Parameter</b>, foi verificado que pelo menos um parâmetro (corante, ácido nucleico, proteína, unidade) já não existe lá, tendo sido provavelmente eliminado.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Selecionar outro parâmetro na lista existente. Se necessário, programar um novo registro de lista em <b>General Method Parameter</b>, para o acessar na programação de um método.</li> </ul>
O valor do parâmetro marcado com * não está definido nos Gen. Meth. Param.. Corrigir o parâmetro.	<p>Esta mensagem de erro aparece na edição de parâmetros de métodos.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• O parâmetro em <b>General Method Parameter</b> não está definido.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Selecionar outro parâmetro na lista existente. Se necessário, programar um novo registro de lista em <b>General Method Parameter</b>, para o acessar na programação de um método.</li> </ul>
Intervalo zoom inválido.	<p>No procedimento Zoom com introdução livre dos limites (tecla de funções [Free]):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Os limites inferiores para a faixa zoom foram ultrapassados.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Introduzir os valores de forma que o intervalo não ultrapasse os limites de faixa de 0,02 A e 10 nm.</li> </ul>
As concentrações de padrões introduzidos não são monotonamente ascendentes ou descendentes. Corrigir as concentrações de padrões.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Consultar o texto de erro.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Introduzir as concentrações de padrões de forma que o primeiro padrão obtenha a concentração mais reduzida e as restantes concentrações de padrões formem uma sequência ascendente.</li> </ul>



Sintoma/ mensagem	Causa	Ajuda
Pelo menos duas concentrações de padrões introduzidas são iguais. Corrigir as concentrações de padrões.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Consultar o texto de erro.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Introduzir as concentrações de padrões de forma que o primeiro padrão obtenha a concentração mais reduzida e as restantes concentrações de padrões formem uma sequência ascendente.</li> </ul>
Os valores medidos são estritamente monótonos!	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Erro na medição de uma série de padrões: Os valores de absorção medidos da série de padrões não são continuamente ascendentes ou descendentes.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Repetir as medições de padrões ou eliminar um resultado de padrão medido individual e incorreto.</li> </ul>
Não é possível definir a identificação.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Erro na introdução das identificações de amostras. São possíveis várias causas. Sobre a causa concreta consulte as informações na caixa de ajuda.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Consultar as informações na caixa de ajuda.</li> </ul>
Não é possível definir a diluição.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Erro na introdução da diluição. São possíveis várias causas. Sobre a causa concreta consulte as informações na caixa de ajuda.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Consultar as informações na caixa de ajuda.</li> </ul>
O cálculo não é possível, porque foi dividido por zero. Resultado da absorção ou fórmula do parâmetro "b" é zero.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Na avaliação de um método do tipo <b>Division</b> (grupo de métodos <b>Dual wavelength</b>) teve de ser dividido por um resultado de absorção com o valor "Zero". Isto não é permitido matematicamente.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Verifique os reagentes e amostras utilizados e repita a medição.</li> <li>▶ Não introduza "Zero" como valor para a fórmula de parâmetro <b>b</b>.</li> </ul>
Apenas é possível realizar mais uma medição nesta série de medição. Foi atingido o número máximo de medições em uma série de medição.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• O número de medições em uma série de medição está limitado a 99.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Iniciar uma nova série de medição após um máximo de 99 medições.</li> </ul>

**Resolução de problemas**Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

Sintoma/ mensagem	Causa	Ajuda
Intervalo zoom inválido!	<p>Erro no passo de método <b>process results</b> no modo Zoom.</p> <p>Faixa de zoom admissível para a escala de comprimentos de onda:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Intervalo de comprimento de onda mínimo 10 nm</li><li>• Introduções para comprimentos de onda apenas dentro da faixa programada nos parâmetros do método.</li></ul> <p>Faixa de zoom admissível para a escala de absorção:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Intervalo de absorção mínimo 0,02 A</li><li>• Limite superior e inferior do intervalo de absorção +3 A ou -3 A</li></ul>	<p>► Observe os limites especificados no procedimento zoom.</p>

### 9.3 Identificação de resultados

Na caixa de ajuda no canto inferior direito do visor aparecem advertências e mensagens de erro para os resultados. Em caso de advertências, o cabeçalho da caixa de ajuda está realçado a amarelo, em caso de mensagens de erro a vermelho.

Advertências: Decida se o resultado é utilizável tendo em consideração a advertência indicada.

Mensagens de erro: Não é apresentado nenhum resultado; o motivo é indicado na mensagem de erro.

Sintoma/ mensagem	Causa	Ajuda
A curva de padrões não é monótona. Seleccionar outro Curve Fit.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Na avaliação de uma curva de padrões com os processos <b>Curve Fit</b> "spline interpolation", "quadratical regression" ou "cubical regression" não foi obtido nenhum resultado utilizável.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Seleccionar outro processo <b>Curve Fit</b>.</li> </ul>
Alguns valores de absorção em comprimentos de onda secundários são demasiado altos e não são indicados.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Em pelo menos um comprimento de onda secundário, a absorção está acima da faixa de medição.</li> <li>Os comprimentos de onda secundários não são utilizados para o cálculo do resultado de concentração, mas são utilizados para outros fins. Por ex. método <b>dsDNA</b>: absorção a 280 nm para o cálculo de <b>Ratio 260/280</b>.</li> <li>Turvações na solução de medição</li> <li>Medições nos limites da faixa de medição fotométrica.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se os valores de absorção dos comprimentos de onda secundários forem relevantes: diluir as amostras ou eliminar a turvação através de centrifugação e repetir a medição.</li> </ul>
O resultado está fora da faixa das concentrações de padrões.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Nos métodos com avaliação através de curvas de padrões (processo de avaliação não linear): O resultado da amostra está em até 5 % fora da faixa das concentrações de padrões.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Aceitar o resultado da medição ou, se necessário, medir a amostra novamente, nas quais o resultado está na faixa das concentrações de padrões (diluir a amostra ou alterar as concentrações de padrões e medir novamente).</li> </ul>

## Resolução de problemas

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

Sintoma/ mensagem	Causa	Ajuda
O coeficiente de determinação é < 0,8.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Nos métodos com avaliação de séries de padrões através de processos de regressão: O coeficiente de determinação para a avaliação da regressão apresenta um erro considerável dos pontos de medição das linhas de regressão.</li> <li>Turvações na solução de medição.</li> <li>Medições nos limites da faixa de medição fotométrica.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Aceitar o resultado da avaliação de padrões ou medir os padrões novamente.</li> <li>Verificar que a solução de medição está transparente.</li> </ul>
O coeficiente de determinação para a avaliação da regressão da série de padrões é < 0,8.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Nos métodos com avaliação de séries de padrões através de processos de regressão: Aparece uma advertência após a medição de amostras, se a avaliação da regressão para a série de padrões não tiver sido linear, mas a avaliação de padrões ter sido aceite pelo usuário.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Utilizar os resultados de padrões sob a reserva referida ou medir a série de padrões e amostras novamente.</li> </ul>
Varredura: Algumas absorções medidas são demasiado altas e não são indicadas.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Em pelo menos um comprimento da varredura, a absorção está acima da faixa de medição.</li> <li>Turvações na solução de medição.</li> <li>Medições nos limites da faixa de medição fotométrica.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se as áreas da varredura não indicadas forem relevantes: diluir as amostras ou eliminar a turvação através de centrifugação e repetir a medição.</li> </ul>
Absorção no comprimento de onda de medição demasiado alta. Emissão no comprimento de onda de medição demasiado alta.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Turvações na solução de medição.</li> <li>Superfícies ópticas da cubeta contaminadas.</li> <li>Cubeta inserida no compartimento da cubeta com orientação incorreta.</li> <li>Fotometria: Absorção demasiado alta da solução de medição.</li> <li>Fluorimetria: Emissão demasiado alta da solução de medição.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Medir novamente tendo em consideração as causas possíveis.</li> </ul>
O resultado calculado é negativo.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Solução de medição preparada incorretamente.</li> <li>Introduzido fator incorreto (sinal incorreto).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Medir novamente tendo em consideração as causas possíveis.</li> </ul>
Pelo menos um dos resultados é negativo.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Nos métodos com vários resultados (por ex. <b>Dye labels</b>).</li> <li>Solução de medição preparada incorretamente.</li> <li>Introduzido fator incorreto (sinal incorreto).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Medir novamente tendo em consideração as causas possíveis.</li> </ul>

Sintoma/ mensagem	Causa	Ajuda
Resultado tem mais de 6 posições antes do separador decimal.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Concentração de amostra muito alta.</li> <li>• A unidade de concentração não corresponde à faixa esperada da concentração da amostra.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Diluir a amostra e medir novamente.</li> <li>▶ Alterar a unidade de concentração (parâmetro <b>Unit</b>) e medir novamente.</li> </ul>
O resultado está em mais de 5 % fora da faixa das concentrações de padrões.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Nos métodos com avaliação através de curvas de padrões (processo de avaliação não linear): O resultado da amostra está em mais de 5 % fora da faixa das concentrações de padrões.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Se necessário, medir a amostra novamente, nas quais o resultado está na faixa das concentrações de padrões (diluir a amostra, alterar as concentrações de padrões e medir novamente).</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• O cálculo não é possível, porque foi dividido por zero. Resultado da absorção é zero.</li> <li>• Erro no cálculo. Divisão por zero.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Na avaliação foi necessário dividir por um resultado de absorção com o valor "Zero". Isto não é permitido matematicamente. Exemplos: Cálculo de um fator na calibração de um ponto; cálculo de uma relação 260/280 em medições de ácidos nucleicos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Verificar os reagentes e amostras utilizados e repetir a medição.</li> </ul>
O cálculo não é possível, porque foi dividido por zero. Resultado da absorção ou fórmula do parâmetro <b>b</b> é zero.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Na avaliação de um método do tipo <b>Division</b> (grupo de métodos <b>Dual wavelength</b>) teve de ser dividido por um resultado de absorção com o valor "Zero". Isto não é permitido matematicamente.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Verifique os reagentes e amostras utilizados e repita a medição.</li> <li>▶ Não introduza "Zero" como valor para a fórmula de parâmetro <b>b</b>.</li> </ul>

**Resolução de problemas**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

## 10 Transporte, armazenamento e eliminação

### 10.1 Transporte

- ▶ Utilize a embalagem original para o transporte.

	Temperatura do ar	Umidade relativa	Pressão atmosférica
Transporte geral	-25 °C – 60 °C	10 % – 95 %	30 kPa – 106 kPa
Transporte aéreo	-40 °C – 55 °C	10 % – 95 %	30 kPa – 106 kPa

### 10.2 Armazenamento

	Temperatura do ar	Umidade relativa	Pressão atmosférica
na embalagem de transporte	-25 °C – 55 °C	25 % – 75 %	70 kPa – 106 kPa
sem embalagem de transporte	-5 °C – 45 °C	25 % – 75 %	70 kPa – 106 kPa

### 10.3 Eliminação

No caso de eliminação do produto devem ser observados os regulamentos legais aplicáveis.

#### **Informação sobre eliminação de equipamentos elétricos e eletrônicos na Comunidade Europeia:**

Dentro da Comunidade Europeia, a eliminação de equipamentos elétricos está regulamentado por regulamentos nacionais baseados na Diretriz UE 2012/19/UE relativa a resíduos de equipamento elétrico e eletrônico (WEEE).

De acordo com estes regulamentos, quaisquer equipamentos fornecidos após 13 de agosto de 2005, na área do business-to-business, à qual este produto pertence, não podem continuar sendo descartados juntamente com resíduos municipais ou domésticos. Para documentar este fato, foram marcados com a seguinte identificação:



Como os regulamentos sobre eliminação podem variar de país para país dentro da UE, entre em contato com seu fornecedor se necessário.



## **11 Dados técnicos**

### **11.1 Alimentação de tensão**

Fonte de alimentação	100 V a 240 V $\pm$ 10 %, 50 Hz a 60 Hz
Categoria de sobretensão	II
Grau de contaminação	2
Consumo de energia	Potência máxima presente de acordo com a chapa de características: 25 W Aprox. 15 W no procedimento operacional Aprox. 5 W com intensidade luminosa reduzida do visor
Corte de energia admissível	Aprox. 10 ms a 90 V Aprox. 20 ms a 230 V
Classe de proteção	I
Fusíveis	T 2,5 A/250 V, 5 mm $\times$ 20 mm (2 unidades)

### **11.2 Condições ambientais**

Funcionamento	Temperatura ambiente: 15 °C a 35 °C Umidade rel. do ar: 25 % a 70 % Pressão atmosférica: 86 kPa a 106 kPa
Pressão atmosférica	Utilização até uma altitude de 2000 m acima do nível do mar

Proteger contra luz solar direta.

### **11.3 Peso/dimensões**

Peso	5,4 kg
Dimensões	Largura: 295 mm Profundidade: 400 mm Altura: 150 mm
Espaço necessário	Largura: 500 mm (com impressora térmica: 750 mm) Profundidade: 500 mm

**Dados técnicos**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

**11.4 Características fotométricas**

Princípio de medição	Espectrofotômetro monofeixe de absorção com feixe de referência
Fonte de luz	Lâmpada de flash xênon
Decomposição espectral	Retícula holográfica com correção de aberração
Receptor de radiação	Matriz de fotodiodos CMOS
Comprimentos de onda	200 nm a 830 nm
Seleção de comprimento de onda	Dependendo do método, seleção livre
Largura de banda espectral	$\leq 4$ nm
Incremento mínimo	1 nm
Erro sistemático da medição do comprimento de onda	$\pm 1$ nm
Erro aleatório da medição do comprimento de onda	$\leq 0,5$ nm
Faixa de medição fotométrica	0 A a 3,0 A com 260 nm
Precisão de varredura	$\Delta A = 0,001$
Erro aleatório da medição do fotômetro	$\leq 0,002$ a $A = 0$ $\leq 0,005$ (0,5 %) a $A = 1$
Erro sistemático da medição do fotômetro	$\pm 1$ % a $A = 1$
Porcentagem de ofuscamento de véu	$< 0,05$ %

**11.5 Fluorímetro**

Princípio de medição	Fluorímetro de filtro confocal com feixe de referência
Fonte de luz	LED
Desmancha espectral	Atribuição de filtro de dicróicos e filtro longa passagem
Receptor de feixe	Fotodiodo
Comprimento de onda de excitação	470 nm Largura de banda: 25 nm
Comprimento de onda de emissão I	520 nm Largura de banda: 15 nm
Comprimento de onda de emissão II	560 nm Largura de banda: 40 nm
Área de medição	0,5 nM a 1 000 nM fluorescência (comprimento onda de emissão 520 nm)
Desvio de medição aleatório do fluorímetro	$\pm 2$ % a 1 nM fluorescência (comprimento onda de emissão 520 nm)

## 11.6 Outros parâmetros técnicos

Material das cubetas	Para medições na faixa UV: Vidro de quartzo ou plástico transparente a UV (UVette da Eppendorf, 220 nm a 1600 nm) Para medições na faixa visível: Vidro ou plástico
Compartimento da cubeta	12,5 mm × 12,5 mm, não temperado
Altura geral das cubetas	Min. 36 mm
Altura do feixe de luz na cubeta	8,5 mm
Teclado	22 teclas de membrana 6 teclas de membrana como teclas de funções
Saída de resultados	Extinção, transmissão, concentração, rastreio (espectro de comprimentos de onda de extinção) Dependendo do método existem mais dados adicionais (relação, FOI, absorções de fundo) Fluorimetria: RFU, concentração
Visor	Visor TFT VGA 5,7"
Idiomas para orientação do usuário	Inglês, Francês, Espanhol, Italiano, Alemão, Japonês
Interfaces	USB Master: Para dispositivo USB e impressora térmica DPU-S445 USB Slave: Para conexão ao PC Interface em série RS 232: Para impressora térmica DPU-414 Interface Ethernet RJ45: Para conexão a uma rede Os equipamentos conectados têm de atender aos requisitos de segurança conforme a norma CEI 60950-1.

## 11.7 Parâmetros de aplicativo

Métodos	<p>Métodos pré-programados e programáveis livremente para todos os processos de medição e avaliação:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Medições de absorção com um ou mais comprimentos de onda, varreduras</li> <li>• Medição de transmissão em um comprimento de onda</li> <li>• Medições de fluorescência a 520 nm ou 560 nm</li> <li>• Ácidos nucleicos e proteínas, OD600, métodos Dye (medição paralela de biomolécula e marcação de corantes)</li> <li>• Métodos com avaliação através de fator, padrão e série de padrões</li> <li>• Processo de dois comprimentos de onda com avaliação de subtração e divisão</li> </ul>
Avaliação dependente do método	<p>Absorção, concentração através de fator e padrão. RFU, concentração através de padrão Concentração através de série de padrões:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Regressão linear</li> <li>• Regressão não linear (polinômio de 2.º e 3.º grau)</li> <li>• Avaliação Spline</li> <li>• Interpolação linear (avaliação ponto a ponto)</li> </ul> <p>Cálculos de absorção através de subtração e divisão Dados adicionais para ácidos nucleicos: Ratio 260/280 e 260/230; concentração molar, rendimento global Dados adicionais para métodos Dye: FOI (Frequency of incorporation, espessura de marcação) Rastreios: Zoom, avaliação Peak</p>
Memória de métodos	> 100 programas de métodos
Memória de valores medidos e memória de calibrações	Memória para > 1 000 resultados com todos os dados da avaliação de resultados e padrões, número de amostras, nome de amostra, data e conjunto de parâmetros utilizado do programa de método (O número de resultados armazenados depende do número de métodos armazenados.)

## 12 Processos de avaliação

Este capítulo descreve os processos de avaliação disponíveis nos programas de métodos, assim como o cálculo de uma diluição através do software do equipamento.



Na comparação de resultados de medição com resultados de outros fotômetros/ espectrofotômetros tenha em consideração que os valores podem depender da largura de banda do equipamento. Nos casos seguintes as diferenças podem ser consideráveis:

- O espectro de absorção apresenta um pequeno pico no comprimento de onda de medição.
- A medição foi realizada no flanco de um pico e não no máximo.

Controle a correção do método através da medição de padrões.

Na fluorimetria os valores RFU não são comparáveis de equipamento para equipamento, mas têm de ser relacionados sempre com padrões de uma fluorescência ou concentração conhecida.

### 12.1 Valores de absorção

Os valores de absorção são apresentados como  $A_{XXX}$  (XXX representa o comprimento de onda). Estas indicações correspondem sempre aos valores medidos diretamente, isto é sem correções, que são utilizados na avaliação seguinte, por ex. correções de espessuras de camadas ópticas da cubeta ou correções de fundo.

#### 12.1.1 Blank

Todos os valores de absorção se referem sempre ao último Blank medido (valor em branco). Por esse motivo a medição Blank é obrigatória no início de cada série de medição e também é possível a qualquer momento durante uma série de medição. Idealmente a medição Blank deve conseguir compensar todas as possibilidades de influências sobre o valor de absorção da solução de medição. Por esse motivo o Blank deve ser medido com o tampão utilizado para a medição das amostras, assim como na mesma cubeta do valor de amostras – excepto, as cubetas utilizadas para a medição Blank e a medição de amostras são equivalentes a nível óptico, têm portanto o mesmo valor de absorção no comprimento de onda.

#### 12.1.2 Correção de fundo

Aplicação principal: correção parcial de erros da absorção nas medições de ácidos nucleicos devido a turvação na solução de medição. Por exemplo, a absorção a 320 nm, que em ácidos nucleicos puros deve rondar 0 A, é subtraída da absorção a 260 nm, o comprimento de onda para ácidos nucleicos.

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

$A_{XXX, corrBkgr}$  = Absorção corrigida aritmeticamente no comprimento de onda XXX nm.

$A_{XXX}$  = Absorção medida no comprimento de onda XXX nm.

$A_{Bkgr}$  = Absorção medida no comprimento de onda de fundo.

### 12.1.3 Correção de cubetas

Todos os valores de absorção, que são utilizados nos cálculos de resultados, estão padronizados para a espessura de camada de cubeta de 10 mm. Se for utilizada uma cubeta com uma outra espessura de camada, essa espessura de camada precisa ser definida no parâmetro **Cuvette**. Neste caso as absorções medidas são corrigidas antes da conversão em resultados de amostras para resultados de medição com uma cubeta com uma espessura de camada de 10 mm.

#### Esta correção é aplicada em:

- Métodos com avaliação através de fator.
- Métodos do grupo **Absorbance**, nos quais apenas são emitidos valores de absorção.

#### A correção não é aplicada em:

- Métodos com avaliação através de padrões, porque se pressupõe, que os padrões e amostras são medidos em cubetas de camada de espessura igual.
- Cálculos com divisão: Método **Division** (Grupo de método **Dual wavelength**), assim como cálculo de relações como  $A_{260}/A_{280}$  (em medições de ácidos nucleicos).

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

$A_{XXX, corrCuv}$  = absorção corrigida aritmeticamente no comprimento de onda XXX nm.

$A_{XXX}$  = Absorção medida no comprimento de onda XXX nm.

$Cuv$  = Espessura da camada das cubetas.

## 12.2 Transmissão

No grupo de métodos **Absorbance**, para além da extinção pura, pode ainda ser calculada a Transmissão percentual (T%).

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

A = Extinção

T = Transmissão

### 12.3 Avaliação com fator ou padrão

$$C = A \times F$$

$C$  = Concentração calculada.

$A$  = Absorção.

$F$  = Fator.

O fator está programado na lista de parâmetros e pode ser alterado. Ele se refere sempre à espessura da camada da cubeta de 10 mm. Se alterar o parâmetro **Cuvette**, o equipamento tem essa alteração em consideração no cálculo do resultado. Portanto, não precisa de alterar o fator para a avaliação.

Se alterar a unidade de concentração, precisa de ter em consideração, que o fator está adaptado à unidade selecionada.

O fator é introduzido diretamente como fator no processo de avaliação "Factor" ou calculado no processo de avaliação "Standard" (avaliação com uma concentração de padrão):

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

$F$  = Fator calculado.

$C_S$  = Concentração do padrão (introduzido como parâmetro).

$A_S$  = Absorção medida do padrão.

Se foi programada a medição repetida para o padrão (2 ou 3 réplicas), a partir das absorções medidas é formada a média das réplicas e utilizada como  $A_S$ .

## 12.4 Avaliação com curva/linha de padrões

Se a avaliação é realizada com mais de um padrão é possível selecionar os seguintes processos de avaliação para a curva/linha de padrões com [Curve fit] no passo de método **measure standards/new**:

Processos de avaliação	Descrição	Número mínimo necessário em pontos de padrão
linear interpolation	União linear ponto a ponto no gráfico de concentração da absorção das avaliação de padrões.	No mínimo 2 padrões.
Linear regression	Regressão polinomial para polinômios de primeiro grau.	No mínimo 3 padrões.
quadratical regression	Regressão polinomial para polinômios de segundo grau.	No mínimo 4 padrões.
cubical regression	Regressão polinomial para polinômios de terceiro grau.	No mínimo 5 padrões.
spline interpolation	Interpolação através de splines cúbicos naturais.	No mínimo 3 padrões.

Além disso é possível selecionar que a linha de regressão (curva de regressão) atravessasse o ponto zero para processos de regressão.



- Para linhas de calibração utilize o processo "linear regression".
- Em procedimentos em forma de curva, teste qual o processo de avaliação (regressão quadrática, regressão cúbica, interpolação spline) que produz a função mais adequada para a avaliação de padrões. A interpolação spline liga os pontos de medição através de polinômios cúbicos, enquanto os processos de regressão colocam uma função quadrática ou cúbica entre os pontos de medição de forma que para os pontos de medição resultem erros mínimos da função.
- Nos processos de regressão, além da equação de regressão calculada é também indicado o coeficiente de determinação (coefficient of determination) como coeficiente para a dispersão dos pontos de medição à volta da função calculada. Com um valor de  $< 0,8$  para o coeficiente de determinação é indicada uma advertência no resultado.
- Quando o primeiro padrão tiver a concentração de "0", selecione a configuração de forma que a linha de regressão (curva de regressão) atravessasse o ponto zero.
- Se nenhum dos procedimentos em forma de curva recomendados produzir resultados satisfatórios, selecione o processo "linear interpolation".



## 12.5 Diluição

As diluições introduzidas no passo de método **measure samples** são tidas em consideração no cálculo do resultado:

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

$C_{Dil,corr}$  = Resultado convertido com fator de diluição

$V_P$  = Volume da amostra na solução de medição

$V_{Dil}$  = Volume do diluente na solução de medição

## 12.6 Processos de avaliação especiais para ácidos nucleicos e UV proteína

Esta seção se refere à avaliação de ácidos nucleicos ou proteínas nos grupos de métodos **Nucleic acids** e **Proteins direct UV**, assim como os componentes de biomoléculas correspondentes no grupo de métodos **Dye labels**.

### 12.6.1 Correção $A_{260}$ e correção $A_{280}$

Utilização: Correção da influência da extinção de corantes no ácido nucleico ou extinção de proteínas a 260 e 280 nm nos métodos do grupo **Dye labels**.

A aplicação do processo de avaliação pode ser ativada nos parâmetros **Correct A260** ou **Correct A280**.

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

$A_{XXX,corr}$  = Absorção corrigida aritmeticamente no comprimento de onda 260 nm ou 280 nm

$A_{XXX}$  = Absorção medida no comprimento de onda 260 nm ou 280 nm

$CF$  = Fator de correção para o comprimento de onda 260 nm e 280 nm (ambos os fatores de correção para 260 nm e para 280 nm são específicos para um corante e são programados em **General Method Parameter: Dyes** na área **Functions**).

$A_{YYY}$  = Absorção medida no comprimento de onda do corante.



Os valores de absorção apresentados nas indicações de resultados são os valores de absorção medidos diretamente e não corrigidos.

**Processos de avaliação**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

**12.6.2 Relação A260/A280 e relação A260/A230**

Utilização: Informação sobre a pureza do ácido nucleico medido. Nos parâmetros dos métodos está ativada a avaliação dos rácios **A260/A280** e **A260/A230**.

"Relação" se refere ao coeficiente das absorções medidas nos comprimentos de onda referidos.

Valores de literatura para os valores de relação em ácidos nucleicos puros:

**A260/A280**

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

**A260/A230**

Relativamente à relação A260/A230 encontra vários dados sobre ácidos nucleicos na literatura:

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

Os valores dependem em grande medida do valor de pH. Por esse motivo, os ácidos nucleicos não devem ser medidos em água, mas em um tampão com valor de pH de 7 a 7,2 (por ex. tampão TE).

**12.6.3 Conversão em concentrações molares e quantidades de ácidos nucleicos**

Apenas é possível aplicar a conversão a ácidos nucleicos e métodos Dye com ácidos nucleicos como componentes de biomoléculas. Realiza-se no passo de método **process results/More calculations**.

**12.6.3.1 Cálculo da quantidade**

Utilização: Cálculo da quantidade (massa) de ácidos nucleicos no volume de amostras total.

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

$M$  = Quantidade total calculada (massa) do ácido nucleico no tubo de reação. Unidade: µg.

$C$  = Concentração do ácido nucleico calculado a partir da medição. Unidade: µg/mL ou ng/µL.

$V_{P, total}$  = Volume total da amostra no tubo de reação. Introduza este valor em **More calculations**.  
Unidade: µL.

### 12.6.3.2 Cálculo da concentração molar

Utilização: Cálculo da concentração molar do ácido nucleico da concentração em massa e massa molar relativa. A massa molar é introduzida diretamente ou calculada pelo equipamento com base no número introduzido de bases ou pares de bases por molécula de ácido nucleico.

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

$C_{Mol}$  = Concentração molar calculada do ácido nucleico. Unidade: pmol/mL.

$C$  = Concentração mássica do ácido nucleico calculada a partir da medição. Unidade: µg/mL ou ng/µL.

$MM$  = Massa molar relativa. Unidade: kDa

Se em **More calculations** foi introduzido o número de bases ou pares de bases por molécula de ácido nucleico em vez da massa molar relativa,  $MM$  é calculado a partir do número de bases ou pares de bases:

Para **dsDNA**:

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

Para **ssDNA, RNA, Oligo**:

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

$MM$  = massa molar relativa calculada; unidade: kDa

$bp$  = Número introduzido de pares de bases por molécula

$b$  = Número introduzido de bases por molécula



- Para **dsDNA** é pressuposto um ácido nucleico bicatenário para o cálculo da concentração molar. Para os métodos **ssDNA, RNA e Oligo** é pressuposto um ácido nucleico monocatenário.
- Para métodos que foram reprogramados no grupo principal **Routine**, grupo de métodos **Nucleic acids** através de **<New Method>**, são pressupostos sempre ácidos nucleicos bicatenários para o cálculo da concentração molar.

### 12.6.4 Cálculo do fator para proteína em "General Method Parameter"

Esta seção aplica-se apenas ao cálculo de componentes de proteínas nos grupos de métodos **Dye labels** e **Proteins direct UV**. Nestes grupos de métodos é selecionado o componente de proteína nos parâmetros (aqui *Parâmetros de métodos na pág. 39*). Ao componente de proteína está atribuído um fator, que é introduzido para cada proteína na função **General Method Parameter/Proteins**. Em alternativa à introdução do fator é possível introduzir  $A_{0,1\%}$  ou o coeficiente de absorção mais a massa molar da proteína. Nesse caso o fator é calculado da seguinte forma:

$$F_P = \frac{1}{A_{0,1\%}}$$

$F$  = Fator para a proteína; unidade: g/L.

$A_{0,1\%}$  = Absorção da proteína a uma concentração de 0,1 % (1 g/L).

Na introdução do coeficiente de absorção molar e da massa molar relativa da proteína,  $A_{0,1\%}$  pode ser calculado a partir daí:

$$A_{0,1\%} = \frac{\epsilon_P}{MM_P}$$

$\epsilon_P$  = coeficiente de extinção molar da proteína; unidade:  $\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ .

$MM_P$  = massa molar relativa da proteína; unidade: Da (introdução em **General Method Parameter** em kDa).

## 12.7 Processos de avaliação especiais para os métodos Dye

### 12.7.1 Cálculo do fator do corante a partir do coeficiente de absorção

Nos métodos Dye a concentração do corante é calculada com um fator a partir da absorção medida (aqui *Avaliação com fator ou padrão na pág. 103*). O fator é introduzido na função **General Method Parameter/Dyes** para cada corante. Além da introdução do fator é possível introduzir o coeficiente de absorção. Nesse caso o fator é calculado da seguinte forma:

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

$F$  = Fator para o corante; unidade: pmol/ $\mu\text{L}$ .

$\epsilon$  = Coeficiente de absorção para o corante; unidade:  $\text{cm}^{-1}\text{Mol}^{-1}\text{L}$ .

### 12.7.2 Cálculo da FOI

Nos métodos Dye como valor para a relação entre moléculas cromóforas e a quantidade de nucleótidos no ácido nucleico é calculada e indicada a taxa de utilização (FOI = Frequency of Incorporation). O cálculo pode ser selecionado para duas unidades de resultado diferentes:

**Unidade MOLÉCULAS dye/kb**

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

**Unidade pmol/µg DNA (ou RNA)**

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

$A_{YYY}$  = Absorção do corante.

$A_{XXX}$  = Absorção do ácido nucleico.

$MM_{nt}$  = Massa molar média dos nucleótidos: 330 g/mol.

$F_{NA}$  = Fator para o cálculo do ácido nucleico

$\epsilon_{Dye}$  = Coeficiente de absorção para o corante; unidade:  $\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}$

### 12.7.3 Conversão em quantidades de corante

O cálculo da quantidade (massa) de corante no volume total da amostra realiza-se no passo de método **process results/More calculations**.

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

$M$  = Quantidade total calculada (massa) do corante no tubo de ensaio. Unidade: pmol.

$C$  = Concentração do ácido nucleico calculado a partir do corante. Unidade: pmol/µL.

$V_{P, total}$  = Volume total da amostra no tubo de ensaio; é introduzido pelo usuário em **More calculations**.  
Unidade: µL.

## 12.8 Dual wavelength

Para métodos do grupo **Dual Wavelength** é possível calcular absorções, que foram medidas em dois comprimentos de onda, antes de a absorção calculada ser incluída na avaliação com fator ou com padrão.

Para a determinação da absorção calculada é possível definir uma avaliação através de divisão ou subtração nos parâmetros:

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

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

$A_1, A_2$  = absorção medida.

$a, b, c, d$  = fatores que são introduzidos nos parâmetros. Também é possível introduzir números negativos.

## 12.9 Fluorimetria

### 12.9.1 Valores RFU

**Relative Fluorescence Unit:** Valores RFU são a medida para a fluorescência medida. Ao contrário dos valores de extinção, na fotometria os valores RFU não podem ser comparados de dispositivo para dispositivo, mas devem ser sempre relativos aos padrões de fluorescência ou concentração conhecidos.

### 12.9.2 Blank

Todos os valores RFU se referem sempre ao último Blank (valor vazio) medido.

Desse modo, uma medição Blank é obrigatória no início de cada sequência de medição e também é possível durante a sequência de medição. A medição Blank deverá conseguir compensar todas as possibilidades de influência do valor RFU da solução de medição. Desse modo, o Blank deverá ser medido com o tampão também utilizado para a medição da amostra bem como na mesma tina como o valor da amostra - a não ser que as tinas utilizadas para a medição Blank e da amostra estão comparadas opticamente, têm portanto o mesmo valor RFU na medição do comprimento de onda.

### 12.9.3 A análise com curva padrão, diluição

A análise com curva padrão é análoga à análise dos métodos fotométricos (aqui *Avaliação com fator ou padrão na pág. 103*).

Se analisar com mais que um padrão, podem ser selecionados através do [Curve fit] na etapa de métodos **measure standards/new** vários processos de análise para a curva padrão (aqui *Avaliação com curva/linha de padrões na pág. 104*).

O cálculo do resultado da diluição é feita como em métodos fotométricos (aqui *Diluição na pág. 105*).

**Processos de avaliação**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)



### 13 Informações para pedido

N.º de encomenda (Internacional)	N.º de encomenda (América do Norte)	Descrição
6135 000.009	–	<b>Eppendorf BioSpectrometer basic</b> 230 V/50 – 60 Hz, mains/power plug Europe, more types of mains/power connection available
6135 000.017	6135000017	120 V/50 – 60 Hz, mains/power plug North America
6137 000.006	–	<b>Eppendorf BioSpectrometer fluorescence</b> 230 V/50-60 Hz, 230 V/50 – 60 Hz, mains/power plug Europe, more types of mains/power connection available
6137 000.014	6137000014	120 V/50-60 Hz, mains/power plug North America
6137 928.009	6137928009	<b>BioSpectrometer fluorescence reference filter set</b> Filter set for checking photometric precision and wavelength accuracy (according to NIST) and for checking fluorimetric accuracy (random error) and linearity.
6135 011.000 6135 010.004 6135 012.007	6135010004	<b>Thermal Printer DPU-S445</b> including power supply and printer cable 230 V, EU 115 V/110V, USA, JP 230 V, UK
0013 021.566	952010409	<b>Thermo paper</b> 5 rolls
0030 106.300	952010051	<b>Eppendorf UVette 220 nm – 1 600 nm</b> Original Eppendorf plastic cuvette, PCR clean, Protein-free 50 - 2 000 µL, 80 pieces, individually packaged
0030 106.318	952010069	<b>Eppendorf UVette routine pack 220 nm – 1 600 nm</b> Eppendorf Quality 50 - 2 000 µL, 200 pieces, reclosable box
0030 079.345	0030079345	<b>Eppendorf macro Vis Cuvettes</b> 10 × 100 pieces
0030 079.353	0030079353	<b>Eppendorf semi-micro Vis Cuvettes</b> 10 × 100 pieces
0030 119.851	0030119851	<b>Eppendorf Cuvette Rack</b> 36 locations, for glass and plastic cuvettes, numbered locations 2 pieces, polypropylene, autoclavable

**Informações para pedido**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Português (PT)

# 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](http://www.eppendorf.com/contact)  
Eppendorf AG · 22331 Hamburg · Germany  
[eppendorf@eppendorf.com](mailto: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](http://www.eppendorf.com/ip).  
All rights reserved, incl. graphics and pictures. Copyright 2015 © by Eppendorf AG.

[www.eppendorf.com](http://www.eppendorf.com)

ISO 9001  
Certified

ISO  
13485  
Certified

ISO  
14001  
Certified





# Evaluate Your Manual

Give us your feedback.  
[www.eppendorf.com/manualfeedback](http://www.eppendorf.com/manualfeedback)