

DOSSIER TECHNIQUE

SPECTROPHOTOMÈTRE SHIMADZU UV-1280

Comporte les documents suivants :

- | | |
|--|-------------|
| A. Généralités sur les spectrophotomètres : | page 2 |
| B. Schéma optique du spectrophotomètre Beckman DU64 : | page 3 |
| C. Caractéristiques techniques du Shimadzu UV-1280 : | page 4 |
| D. Principe du "blanc" : | page 5 |
| E. Modes d'acquisition des données : | page 6 |
| F. Photos du Beckman DU64 : | pages 7 à 8 |

A. Généralités sur les spectrophotomètres

Un spectrophotomètre comprend 4 parties essentielles :

A.1. Source lumineuse

Elle est constituée par :

- Une lampe à décharge au deutérium utilisée dans le domaine de 190 à 400 nm avec un maximum d'émission à 652.1 nm (voir Cadre 1).
- Une lampe à filament de tungstène pour la région allant de 350 à 800 nm (Cadre 2).
- Parfois une lampe à décharge au xénon utilisée dans le domaine UV et visible. Ce type de lampe est très énergétique. Elle fonctionne sous forme de flash, juste au moment de faire une mesure.



Cadre 1



Cadre 2

A.2. Monochromateur

L'élément de base est un prisme, un réseau ou un filtre coloré. Le rôle du monochromateur est d'isoler le rayonnement sur lequel on fait la mesure. Il est composé principalement d'un système dispersif, d'une fente d'entrée et d'une fente de sortie (voir Cadre 3).

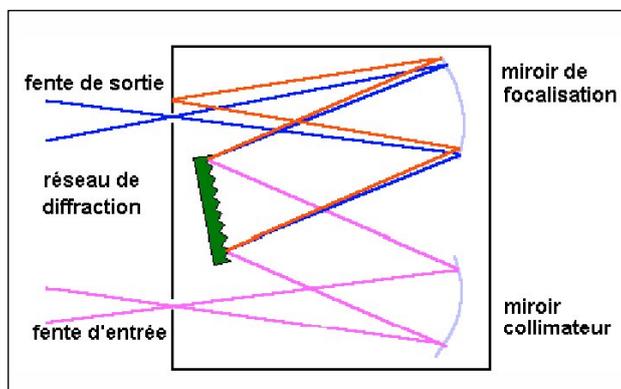
A.3. Cuve

Elle contient soit l'échantillon, soit la référence. La longueur de la cuve est définie (1, 2, 4 ou 5 cm de trajet optique). Elle doit être transparente aux radiations d'étude. Par exemple en UV, les cuves sont en quartz, elles ne peuvent ni être en verre, ni en plastique.

A.4. Détecteur

A.4.1. Photodiode (semi-conducteur)

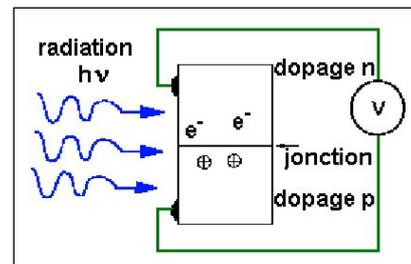
Lorsqu'un photon rencontre un semi-conducteur (voir Cadre 4), il peut transférer un électron de la bande de valence (niveau énergétique bas) vers la bande de conduction (niveau énergétique haut) en créant une paire électron-trou. Le nombre de paires électron-trou est fonction de la quantité de lumière reçue par le semi-conducteur qui peut donc être utilisé en tant que détecteur optique.



Cadre 3

A.4.2. Barrette CCD linéaire

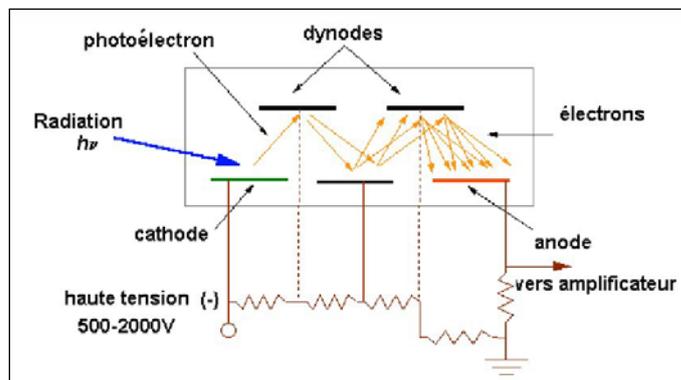
L'emploi d'une barrette de diodes permet une mesure simultanée sur toute l'étendue du spectre. Une barrette CCD est un alignement de photodiodes de petites dimensions (14 x 14 μm) qui fonctionnent en intégrateur de lumière. La charge qui apparaît dans une photodiode est proportionnelle à l'exposition, c'est à dire au produit de l'éclairement par le temps de pose et elle dépend de la longueur d'onde. A la fin de la pose, le contenu des capteurs est transféré dans un registre analogique à décalage et une nouvelle pose commence. Ce registre transmet les données mémorisées en mode série, c'est à dire l'une après l'autre à un rythme fixé par l'électronique de commande de la barrette CCD. Ces données apparaissent sous forme de grandeur électrique. Couplé à un ordinateur, le spectrophotomètre permet de tracer très rapidement des spectres d'absorption ou transmission. Le logiciel gère le temps de pose du capteur CCD.



Cadre 4

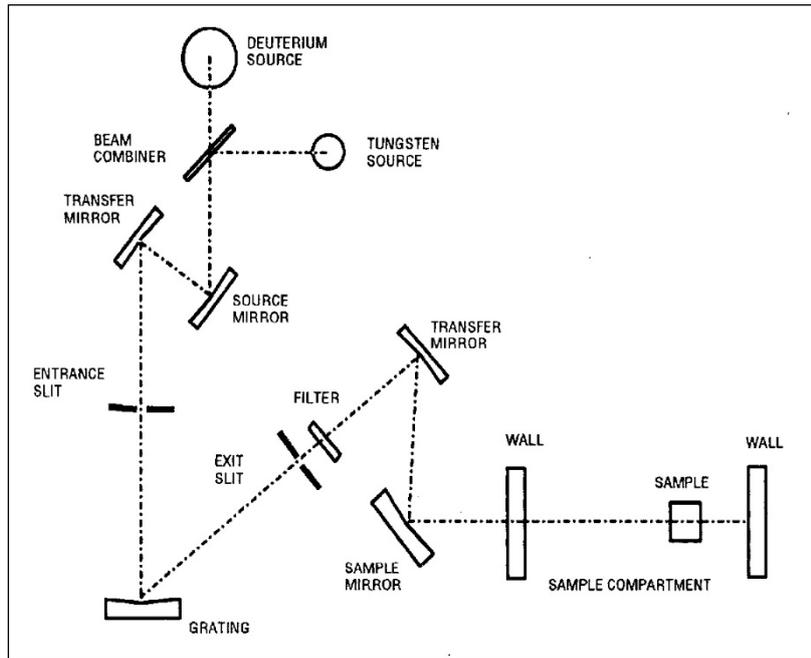
A.4.3. Photomultiplicateur

Une radiation (voir Cadre 5) incidente arrache un électron de la cathode par effet photoélectrique. Cet électron est alors accéléré vers une seconde électrode appelée dynode portée à un potentiel supérieur. L'énergie de l'électron incident est suffisante pour arracher plusieurs autres électrons et ainsi de suite, d'où l'effet multiplicatif. Pour un électron arraché sur la cathode on peut récupérer une centaine d'électrons sur l'anode.



Cadre 5.

B. Schéma optique du spectrophotomètre Beckman DU64



Cadre 6 : Schéma optique du spectrophotomètre Beckman DU64.

C. Caractéristiques techniques du Shimadzu UV-1280

Cadre 7 : Spécifications techniques.

Spectral bandwidth	5 nm
Wavelength range	190.0 to 1100.0 nm
Wavelength display	0.1 nm Increments
Wavelength setting	0.1 nm Increments (1 nm Increments when setting scanning range)
Wavelength accuracy	±1.0 nm
Wavelength repeatability	±0.3 nm
Wavelength slew rate	Approx. 6,000 nm/min Wavelength scanning speed: Approx. 9 nm/min to 1,600 nm/min
Light source switching	Select from the following three: •Automatic switching linked to the wavelength The switching wavelength can be selected between 295 nm and 364 nm, in 1 nm increments. The recommended wavelength is 340 nm. • Use the halogen (W1) lamp only, with no switching • Use the deuterium (D2) lamp only, with no switching
Stray light	0.05 % or less (220.0 nm NaI, 340.0 nm NaNO ₂)
Photometric system	Monitor double beam optics
Photometric range	Absorbance: -0.3 to 3.0 Abs Transmittance: 0.0 % to 200 %
Recording range	Absorbance: -4.0 to 4.0 Abs Transmittance: -400 % to 400 %
Photometric accuracy	±0.005 Abs at 1.0 Abs ±0.003 Abs at 0.5 Abs Using NIST 930D filter

Cadre 8 : Spécifications techniques.

Photometric repeatability	±0.002 Abs at 1.0 Abs
Baseline stability	±0.001 Abs/h or less (700 nm, two hours after the power is turned ON)
Baseline flatness	±0.010 Abs or less (one hour after the power is turned ON, at 1,100 nm to 200 nm)
Noise level	P-P 0.002 Abs or less, RMS 0.0005 Abs or less
Baseline correction	Automatic correction via computer memory
Light source	20 W halogen lamp (2,000 hour operating life) Deuterium lamp (socket type) Built-in light source auto position adjustment
Monochromator	Uses an aberration correcting concave holographic grating
Detector	Silicon photodiode
Sample compartment	Internal dimensions: 110.0 (W) × 230.0 (D) × 105.0 (H) mm (Depth of one part is 155.0 mm.) Attachment method: two fastening screws
Display	6-Inch LCD (320×240 pixels) With LED illumination With contrast adjustment function
Output device	USB memory (optional) Data files saved in CSV format or UV-1280 dedicated format.
Power requirements	100 to 240 V, 50/60 Hz, 140 VA
Dimensions	W416 × D379 × H274 mm
Weight	10 kg
Environmental requirements	Temperature: 15 °C to 35 °C Humidity: 30 % to 80 % Humidity of 70 % or less at temperatures of 30 °C or higher

D. Principe du "blanc"

A blank is always required before data collection; any reading taken without a blank is invalid. A blank reading is taken when **< <BLANK> >** (located in the permanent menu bar on the bottom of the window) is clicked on.

NOTICE

In the RediRead Mode the blank command is **<ReadBlank>**. In the RediScan Mode, the blank command is **< ScanBlank>**.

When the instrument blanks, the following steps are performed:

1. The monochromator is moved to the proper wavelength. This is the specified wavelength for a single wavelength reading.
2. The proper detector gain value is selected automatically. This minimizes the noise level and maximizes photometric accuracy.
3. Dark current is measured and corrected. This compensation assures accurate readings at high absorbance.
4. In the Wavelength Scan mode, only, a background scan is made. The blank (or reference) is automatically scanned over the same range at the same speed that the samples will be scanned, so that the background correction is optimal.

This calibration assures repeatable readings every time the instrument is used.

In all modes, a blank solution should be in the sample compartment during the blank. It is suggested that the solvent used to prepare the samples be used for the blank. However, air (no sample) may be used. A new blank reading should be taken each time the solvent is changed.

NOTICE

Plastic cuvettes, glass (Pyrex) cuvettes, and some solvents have significant absorption in the UV region. Verify that they transmit UV light by scanning them versus air before using them in the UV region.

To re-zero the instrument at any time between samples, insert the same blank solution and click on **< <BLANK> >**.

The instrument stores the blank and uses it until either the sources are turned off or another blank reading is taken. For best results, the instrument should be blanked frequently, allowing the blank reading to be taken shortly before the sample measurement is taken. A new blank should be read if the instrument has not been used for an hour.

E. Modes d'acquisition des données

Avec de nombreuses méthodes intégrées, l'UV-1280 peut être utilisé pour tout, des mesures photométriques, spectrales et cinétiques aux quantifications d'ADN, de protéines et de dosages multi-composants.

Mode Photo-métrique	Mesure l'absorption ou la transmission à une longueur d'onde unique ou multiple (jusqu'à huit longueurs d'onde). L'instrument est également capable d'une simple quantification en utilisant la méthode du facteur K. Pour une mesure multi-longueurs d'onde, les calculs peuvent être effectués sur les données obtenues jusqu'à quatre longueurs d'onde, y compris le calcul de la différence, ou du rapport, des mesures obtenues pour deux longueurs d'onde.
Mode Spectre	Le spectre de l'échantillon est enregistré avec un balayage en longueur d'onde. La répétition des analyses permet de suivre l'évolution de l'échantillon au fil du temps. Zoomez sur le spectre acquis pour une meilleure vue; Utilisez ensuite la fonction d'intégration des pics et des vallées pour choisir un maxima et un minima, ou choisissez parmi une grande variété de fonctions de traitement de données.
Mode Quantification	Génère une courbe d'étalonnage à partir de la mesure des standards, puis calcule les concentrations inconnues. Permet diverses combinaisons de longueurs d'onde (1 à 3, longueurs d'onde et dérivés) et de courbes d'étalonnage (Facteur K et équation d'ordre 1 à 3). En suivant les variations d'absorbance en fonction du temps, on obtient les valeurs de l'activité enzymatique. La méthode de mesure de la cinétique calcule automatiquement le nombre de changements par minute, puis calcule une valeur d'activité à partir d'un coefficient spécifié. La méthode de mesure de la pente, qui détermine si l'absorbance change linéairement, peut également être sélectionnée. En outre, on peut ajouter le passeur automatique thermostaté par effet Peltier (CPS-100) pour la mesure de plusieurs échantillons consécutifs.
Mode Cinétique	
Mode TimeScan	Mesure la variation de l'absorbance, de la transmission ou de l'énergie en fonction du temps. Ajouter le passeur automatique thermostaté par effet Peltier (CPS-100) pour la mesure simultanée de plusieurs échantillons dans des conditions constantes de température.
Mode Quantification multi-composants	Quantifie jusqu'à huit composants mélangés dans un seul échantillon. L'équation d'étalonnage est déterminée en utilisant des composés purs ou mélangés avec des valeurs connues.
	Détermine les concentrations d'ADN et de protéines avec les méthodes de dosage incluses dans ce mode dédié aux sciences de la vie et à la Biologie Moléculaire :

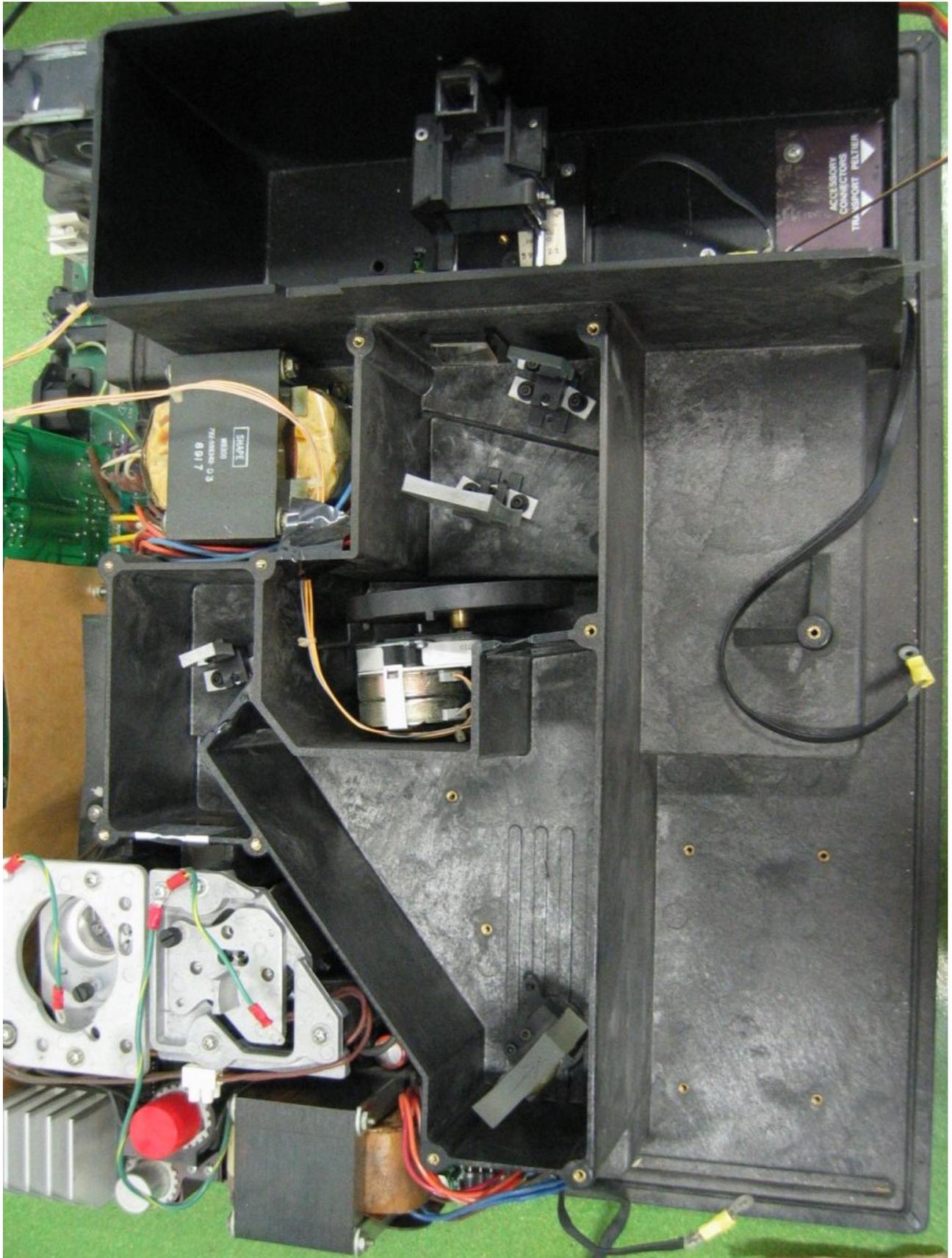
Quantification ADN/Protéine

- Quantifie l'ADN ou les protéines en utilisant une absorbance à 260/230 nm ou à 260/280 nm.

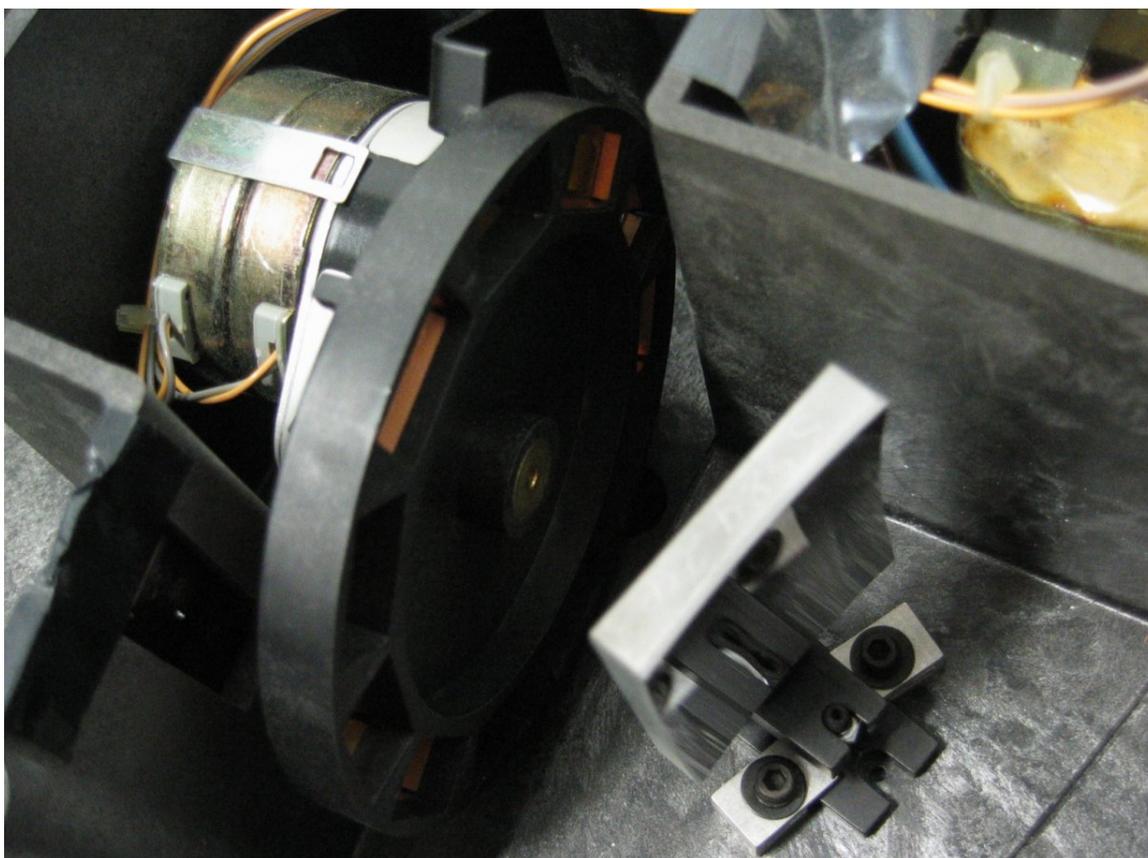
Mode BioMéthodes Quantification des Protéines

- Méthode de Lowry
- Méthode BCA (méthode utilisant l'acide bicinchoninique)
- Méthode du biuret
- Méthode CBB (méthode utilisant du Bleu de Coomassie - Brilliant Blue G-250)
- Méthode d'absorption UV (mesure directe à 280 nm)

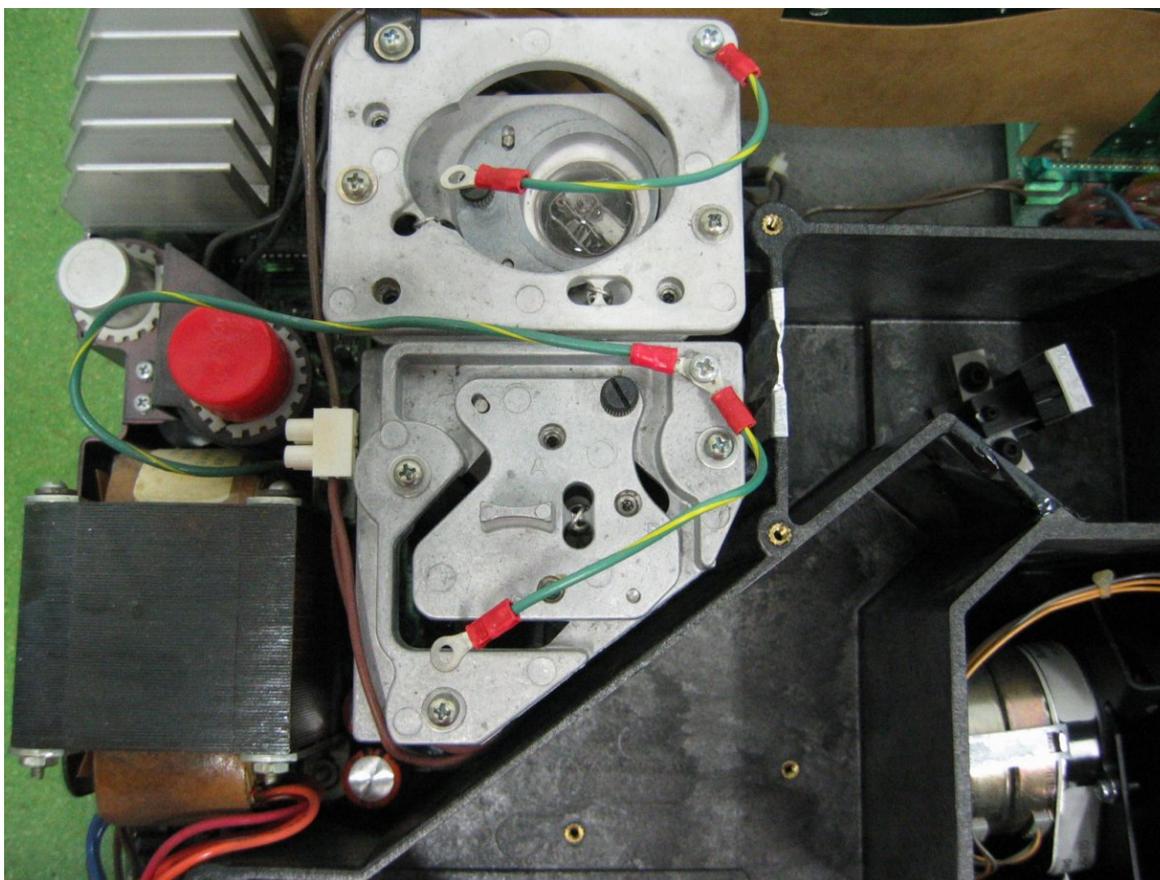
F. Photos du Beckam DU64



Cadre 9 : Spectrophotomètre Beckam DU64 (vue globale).



Cadre 10 : Spectrophotomètre Beckamn DU64 (zoom 1).



Cadre 11 : Spectrophotomètre Beckamn DU64 (zoom 2).