

# BioPhotometer

## Bedienungsanleitung Operating Manual Mode d'emploi



**Bedienungsanleitung** ..... 1

**Operating Manual** ..... 47

**Mode d'emploi** ..... 93

**EG-Konformitätserklärung**  
**EG Conformity Declaration**  
**Déclaration de conformité**

Nachdruck und Vervielfältigung – auch auszugsweise – nur mit Genehmigung.

No part of this publication may be reproduced without the prior permission of the copyright owner.

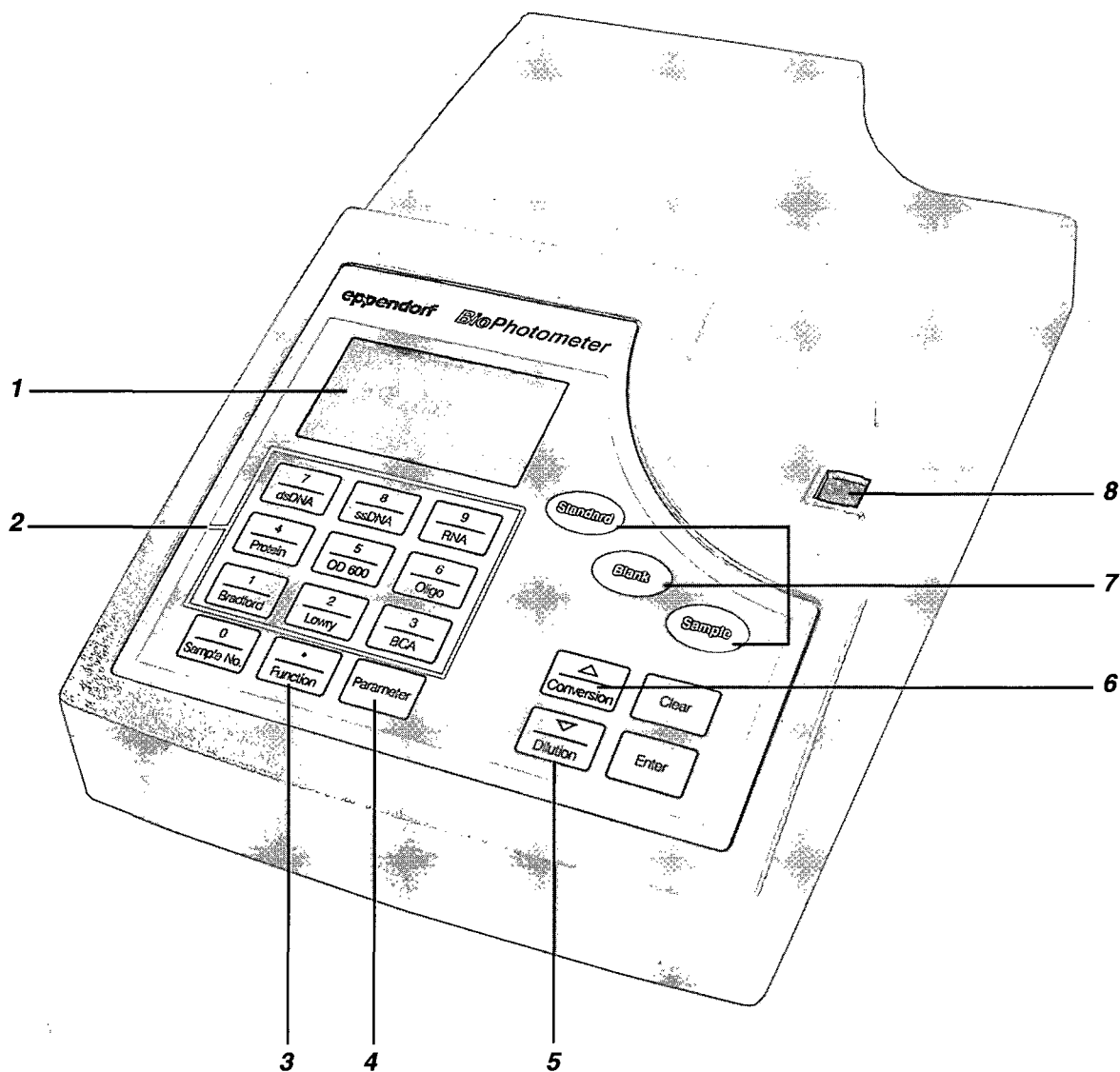
Toute reproduction, complète ou partielle et quel que soit le procédé est interdite,  
sauf autorisation expresse de notre part

Copyright® 1998 by Eppendorf – Netheler – Hinz GmbH, Hamburg

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Überblick</b> .....	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>Technische Daten</b> .....	<b>5</b>
<b>3</b>	<b>Sicherheitsmaßnahmen und Gefahrenhinweise</b> .....	<b>7</b>
<b>4</b>	<b>Installation</b> .....	<b>8</b>
4.1	BioPhotometer .....	8
4.2	Drucker .....	9
4.3	Küvetten .....	10
<b>5</b>	<b>Bedienung</b> .....	<b>11</b>
5.1	Tastatur .....	11
5.2	Messung von Nukleinsäuren .....	13
5.3	Messung von Proteinen direkt photometrisch .....	15
5.4	Messung von Proteinen nach Reagenzzugabe (Bradford, BCA, Lowry) .....	17
5.5	Messung von OD 600 .....	20
5.6	Messung von verdünnten Proben .....	21
5.7	Ändern der Probennummer .....	22
<b>6</b>	<b>Programmierung</b> .....	<b>23</b>
6.1	Programmieraablauf .....	23
6.2	Parameterübersicht .....	25
6.3	Erläuterung der Parameter .....	26
6.4	Ab Werk programmierte Werte .....	28
<b>7</b>	<b>Funktionen</b> .....	<b>29</b>
<b>8</b>	<b>Fehlermeldungen, Ergebniskennzeichnungen und Hilfetexte</b> .....	<b>31</b>
<b>9</b>	<b>Reinigung und Wartung</b> .....	<b>34</b>
<b>10</b>	<b>Kurzanleitung</b> .....	<b>35</b>
<b>11</b>	<b>Bestellinformationen</b> .....	<b>39</b>
<b>12</b>	<b>Auswertung</b> .....	<b>40</b>
12.1	Nukleinsäuren (dsDNA, ssDNA, RNA, Oligo) .....	40
12.2	Protein direkt photometrisch .....	41
12.3	Protein mit Reagenzzugabe .....	42
12.4	OD 600 .....	43
<b>13</b>	<b>Überprüfung des Photometers</b> .....	<b>44</b>
	<b>Konformitätsbescheinigung für BioPhotometer 6131</b> .....	<b>46</b>

# 1 Überblick



- |   |  |
|---|--|
| 1 Geräteanzeige                             | 5 Taste <b>Dilution</b> (Verdünnung)   |
| 2 9 Methodentasten                          | 6 Taste <b>Conversion</b> (Umrechnung) |
| 3 Taste <b>Function</b> (Gerätefunktionen)  | 7 Messtasten                           |
| 4 Taste <b>Parameter</b> (Programmiertaste) | 8 Küvetzenschacht                      |

Netzschalter, Netz- und Druckeranschluss befinden sich auf der Geräterückseite (siehe Kapitel 4 "Installation").

Das BioPhotometer von Eppendorf dient der schnellen, einfachen und komfortablen Messung der wichtigsten Methoden im molekularbiologischen und biochemischen Forschungslabor.

## Küvetten

In den Küvetzenschacht können handelsübliche Rechteckküvetten aus Glas oder Kunststoff, die bei den jeweiligen Messwellenlängen optisch durchlässig sind, eingesetzt werden. Mit der UVette® von Eppendorf können Sie erstmals auch Nukleinsäuren in einer Kunststoffküvette messen.

Die Höhe des Messfensters (8,5 mm) ist bei der Auswahl der Küvetten zu beachten. Um korrekte und präzise Ergebnisse zu erhalten, ist es erforderlich, dass die Küvetten sehr sauber sind und die Messflüssigkeit partikelfrei ist. Zum Schutz des Küvetten-schachtes vor Staub bei Nichtgebrauch wird ein Verschluss mitgeliefert.

# 1 Überblick

## Methoden

Zwölf Methoden sind ab Werk vorprogrammiert und werden auf Tastendruck aufgerufen:

### Nukleinsäuren

<b>dsDNA</b>	doppelsträngige DNA
<b>ssDNA</b>	einzelsträngige DNA
<b>RNA</b>	RNA
<b>Oligo</b>	Oligonukleotide

### Proteine

<b>Protein</b>	direkte photometrische Messung
<b>Bradford</b>	Bradford-Methode
<b>Bradford micro</b>	Bradford-Methode, niedriger Konzentrationsbereich
<b>Lowry</b>	Lowry-Methode
<b>Lowry micro</b>	Lowry-Methode, niedriger Konzentrationsbereich
<b>BCA</b>	BCA-Methode
<b>BCA micro</b>	BCA-Methode, niedriger Konzentrationsbereich

### Bakteriendichte

<b>OD 600</b>	Trübungsmessung
---------------	-----------------

## Methodenprogramm

Für jede Methode ist ein zugehöriges Programm, in dem Parameter – wie Konzentrationseinheiten und Art der Auswertung – festgelegt sind, ab Werk gespeichert. Die Methodenprogramme können jederzeit nach Aufruf der Taste  geändert werden. Bevor Sie das erste Mal eine Methode benutzen, sollten Sie das entsprechende Methodenprogramm aufrufen und – wenn erforderlich – an Ihre Erfordernisse anpassen. Für Methoden, die mit einer Standardreihe ausgewertet werden, sollten beispielsweise die Anzahl und die Sollkonzentrationen der Standards angepasst werden.

## Messung

Zur Messung wird die gewünschte Methode mit der zugehörigen Methodentaste aufgerufen. Für die Methoden Bradford, Lowry und BCA gilt eine Besonderheit: Für jede dieser Methoden können jeweils zwei verschiedene Auswertebereiche programmiert werden. Zwischen den beiden Methodenprogrammen (z. B. "BCA" und "BCA micro") wird durch wiederholtes Drücken der Methodentaste hin- und hergeschaltet.

Die Messung wird durch eine der drei ovalen Messtasten gestartet. Das Gerät ist nach Einschalten sofort messbereit. Welche der drei Messtasten jeweils für eine Messung freigegeben ist, sehen Sie im unteren Teil der Geräteanzeige (Beschreibung des Messablaufs siehe Kapitel 5 "Bedienung").

## Auswertung

Zur automatischen Auswertung der Messung werden methodenspezifisch programmierte Auswerteverfahren (Faktor, Kalibration, Warburg-Formel oder auch direkte Extinktionsausgabe) benutzt. Neben den berechneten Ergebnissen werden die Extinktionen und – für Nukleinsäuren – die gängigen Extinktionsquotienten auf einen Blick angezeigt.

Auch Probenverdünnungen können in die Auswertung einbezogen werden (Taste ). Über die Taste  können für Nukleinsäuren die berechneten Massenkonzentrationen in molare Konzentrationen umgerechnet werden. Weiterhin kann über diese Taste die gesamte Probenmenge ("Ausbeute") im Probenvorratsgefäß berechnet werden.

## Ergebnisausgabe

Die Ergebnisse werden über die Geräteanzeige und über den Drucker (sofern angeschlossen) ausgegeben. Für die Auswertung der Ergebnisse über ein Tabellenkalkulationsprogramm an Ihrem Computer ist ein Datentransfer-Programm bei Eppendorf erhältlich (vgl. Kapitel 11 "Bestellinformationen").

Proben- und Kalibrierungsergebnisse werden gespeichert; die gespeicherten Daten können über die Taste  abgerufen werden.

## 2 Technische Daten

### **Photometer**

Optisches System:	Absorption-Einstrahlphotometer mit Referenzstrahl und mehreren festen Wellenlängen
Lichtquelle:	Xenon-Blitzlampe
Spektrale Zerlegung:	Holographisches Konkavgitter
Messwellenlängen:	Xe 230, 260, 280, 320, 562, 595 nm
Wellenlängenwahl:	Methodenabhängig, programmgesteuert
Spektrale Bandbreite:	5 nm bei 230 bis 320 nm 7 nm bei 562 bis 595 nm
Wellenlängenunrichtigkeit:	± 1 nm bei 230 bis 280 nm ± 2 nm bei 320 bis 595 nm
Photometrischer Messbereich:	Quarzglasküvette: 0,000 bis 3,000 E UVette® (Eppendorf): 2,5 E bei 230 nm 2,6 E bei 260 nm 2,8 E bei 280 nm 2,9 E bei 320 nm
Photometrische Unpräzision:	≤ 0,002 E bei 0 E ≤ 0,005 E bei 1 E
Photometrische Unrichtigkeit:	± 1 % bei 1 E
Falschlichtanteil:	< 0,05 %

### **Messabläufe**

Messverfahren:	Endpunkt gegen Leerwert
Methodenabhängige Auswertung:	Extinktion Konzentration über Faktor Konzentration über Warburg-Formel Konzentration über Kalibration mit 1 bis 10 Standards Einpunktkalibration (1 Standard) Lineare Regression (2 bis 10 Standards) Nichtlineare Regression (Polynom 3. Grades; 4 bzw. 5 bis 10 Standards, siehe Kapitel 12 "Auswertung") 1x-, 2x- oder 3x-Bestimmung Für Nukleinsäuren: Ratio 260/280 Ratio 260/230 Molare Konzentration Gesamtausbeute

### **Speicher**

Methodenspeicher:	12 vorprogrammierte änderbare Methodenprogramme
Kalibrationsspeicher:	Für alle Kalibrationsverfahren
Ergebnisspeicher:	Für 100 Ergebnisse mit Extinktions- und Ratio-Werten, Proben-Nummer, Probenverdünnung, Datum und Uhrzeit (Kalender bis 2090)

## 2 Technische Daten

### **Bedienung**

Küvettenmaterial:	dsDNA, ssDNA, RNA, Oligo, Protein: Quarzglas oder Kunststoff (UVette® von Eppendorf)
	OD 600, Bradford, Lowry, BCA: Glas oder Kunststoff
Küvetten-schicht:	12,5 mm x 12,5 mm, untemperiert
Gesamthöhe der Küvetten:	Min. 36 mm
Höhe des Lichtstrahls in der Küvette:	8,5 mm
Lichtbündel in der Küvette:	Breite: 1 mm Höhe: 1,5 mm
Tastatur:	19 Folientasten
Anzeige:	Beleuchtete Graphikanzeige 33 mm x 60 mm
Bedienführung:	Deutsch, Englisch
Ergebnisausgabe:	Über Anzeige und Drucker Extinktion, Konzentration, Ratio

### **Allgemeine Daten**

Spannungsversorgung:	100 bis 240 V $\pm$ 10 %; 50 bis 60 Hz $\pm$ 5 %
Überspannungskategorie:	II (IEC 61010-1)
Verschmutzungsgrad:	2 (IEC 664)
Leistungsaufnahme / Leistungsabgabe:	Ca. 20 W im Betrieb, ca. 10 W im Standby
Stromaufnahme:	< 0,3 A
Zulässige Netzunterbrechung:	Ca. 10 ms bei 90 V Ca. 200 ms bei 220 V
Sicherungen:	T 1 A / 250 V, 5 mm x 20 mm (2 Stück)
Umgebungsbedingungen:	15 bis 35 °C bei definierter Präzision und Richtigkeit -25 bis 70 °C außer Betrieb, Lagerung 15 bis 70 % relative Feuchte Nicht tropenfest Vor direktem Sonnenlicht schützen
Druckeranschluss:	RS 232 C, seriell Der anzuschließende Drucker muss den Bestimmungen EN 60950 bzw. UL 1950 entsprechen.
Normen und Vorschriften:	Gemäß VDE, CE, IEC 1010-1
Abmessungen:	Breite: 20 cm (verpackt: 29 cm) Tiefe: 32 cm (verpackt: 43 cm) Höhe: 10 cm (verpackt: 20 cm)
Gewicht:	3 kg (verpackt: 4,8 kg)

Technische Änderungen vorbehalten!

### **3 Sicherheitsmaßnahmen und Gefahrenhinweise**

#### **Technische Sicherheit**

- Gerät nicht öffnen.
- Flüssigkeiten dürfen nicht in das Gerät gelangen.
- Vor Wartungsarbeiten oder Sicherungswchsel den Netzstecker ziehen. Lebensgefährliche elektrische Spannungen im Inneren des Geräts.
- Das Gerät darf nicht in explosionsgefährdeten Räumen betrieben werden.
- Gerät nicht benutzen, wenn es Schäden aufweist, insbesondere, wenn das Netzkabel beschädigt ist.
- Reparaturen dürfen nur vom Service der Firma Eppendorf – Netheler – Hinz GmbH und autorisierten Vertragspartnern durchgeführt werden.
- Das Gerät muss an eine Steckdose mit Schutzleiter angeschlossen werden.
- Bei nicht bestimmungsgemäßem Gebrauch des Geräts kann die Schutzfunktion des Geräts beeinträchtigt sein.

#### **Umgang mit biologischem und chemischem Material**

- Reagenzien und Verdünnungspuffer können Verätzungen und andere Gesundheitsschädigungen verursachen.
- Proben (Nukleinsäuren, Proteine, Bakterienkulturen) können infektiös sein oder andere Gesundheitsschädigungen verursachen.
- Bei der Probenvorbereitung, beim Messvorgang sowie bei der Reinigung oder Wartung des Geräts die im Labor erlassenen Schutzvorschriften (z. B. Schutzkleidung, Handschuhe, Desinfektion) für den Umgang mit Probenmaterial beachten.
- Messlösungen und zur Reinigung und Desinfektion benutzte Materialien entsprechend den im Labor erlassenen Vorschriften entsorgen.



# 4 Installation

## 4.2 Drucker

### **Drucker DPU 414**

An die serielle Schnittstelle RS 232 C des BioPhotometers kann der Eppendorf Thermodrucker DPU 414 angeschlossen werden. (Drucker und Druckerkabel, siehe Kapitel 11 "Bestellinformationen").

- Druckerkabel in die Druckeranschlussbuchse des BioPhotometers (siehe Abbildung) stecken und Sicherungsschrauben des Steckers festdrehen.
- Druckerkabel mit dem Drucker verbinden und Sicherungsschrauben des Steckers festdrehen.
- Mit Netzanschlusskabel 115 V oder 230 V an die Stromversorgung anschließen.

### **Druckerfunktion einstellen**

#### **BioPhotometer**

- In der Funktionsliste die Funktion "Drucker DPU 414" anwählen und bestätigen.

#### **Drucker DPU 414**

- Druckereinstellungen kontrollieren und ggf. für den Gebrauch mit dem BioPhotometer einstellen, wie im Druckerbeilageblatt beschrieben.

Druckereinstellungen für die Arbeit mit dem BioPhotometer:

#### **Dip SW-1**

- 1 (OFF) : Input = Serial
- 2 (ON) : Printing Speed = High
- 3 (ON) : Auto Loading = ON
- 4 (ON) : Auto LF = ON
- 5 (ON) : Setting Command = Enable
- 6 (OFF) : Printing
- 7 (ON) : Density
- 8 (ON) : = 100 %

#### **Dip SW-2**

Einstellungen durch den Anwender sind für die Gruppe "Dip SW-2" nicht relevant, da das BioPhotometer diese Einstellungen in Abhängigkeit von der ausgewählten Sprachversion automatisch vornimmt.

#### **Dip SW-3**

- 1 (ON) : Data Length = 8 bits
- 2 (ON) : Parity Settings = No
- 3 (ON) : Parity Conditions = Odd
- 4 (OFF) : Busy Control = XON/XOFF
- 5 (OFF) : Baud
- 6 (ON) : Rate
- 7 (ON) : Select
- 8 (ON) : =9600 bps

## 4 Installation

### **Anderer Drucker**

An die serielle Schnittstelle des BioPhotometers können außer dem DPU 414 auch andere serielle Drucker oder – über Adapterkabel – parallele Drucker angeschlossen werden.

### **BioPhotometer**

– In der Funktionsliste die Funktion "Drucker seriell" anwählen und bestätigen.

### **Drucker**

Anforderungen an den seriellen Drucker:

Busy Control : XON/XOFF  
Baud Rate(ON) : 9600 bps  
Data Bit Length : 8 bits  
Parity Permission : Without  
Parity Conditions : Odd

Parallele Drucker können mit einem Adapterkabel angeschlossen werden, das die obigen Anforderungen erfüllt.

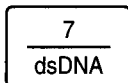
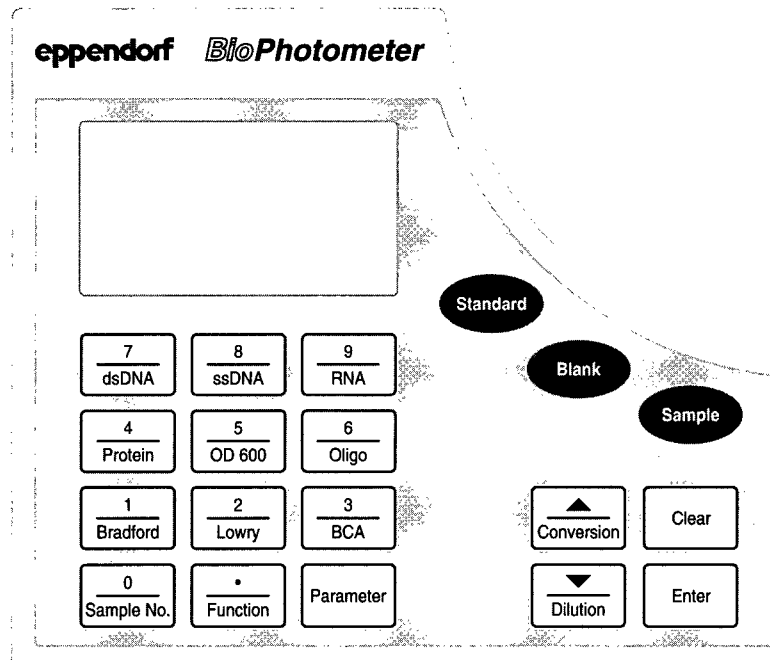
### **4.3 Küvetten**

In die Küvettenaufnahme können handelsübliche Rechteckküvetten eingesetzt werden, bei denen die Höhe des Messfensters bei 8,5 mm über dem Küvettenboden und die Gesamthöhe der Küvette bei mindestens 36 mm liegt (siehe Grafik in der Kurzanleitung). Die Abmessungen des Lichtbündels in der Küvette sind 1,0 mm Breite und 1,5 mm Höhe.

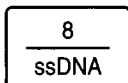
Zur Messung können Glas- oder Kunststoffküvetten eingesetzt werden, sofern sie bei der jeweiligen Messwellenlänge optisch durchlässig sind. Eppendorf bietet mit der UVette<sup>®</sup> eine Kunststoffküvette an, die bei Wellenlängen bis zu 220 nm herunter transparent ist und damit auch für die Messung von Nukleinsäuren geeignet ist.

# 5 Bedienung

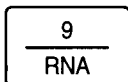
## 5.1 Tastatur



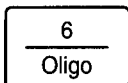
- Aufruf der Methode "doppelsträngige DNA"
- Eingabe der Ziffer 7



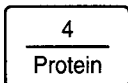
- Aufruf der Methode "einzelsträngige DNA"
- Eingabe der Ziffer 8



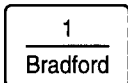
- Aufruf der Methode "RNA"
- Eingabe der Ziffer 9



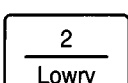
- Aufruf der Methode "Oligonukleotide"
- Eingabe der Ziffer 6



- Aufruf der Methode "Protein (direkte photometrische Messung)"
- Eingabe der Ziffer 4

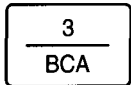


- Aufruf der Methoden "Bradford" und "Bradford micro"
- Wechsel zwischen den Methoden "Bradford" und "Bradford micro"
- Eingabe der Ziffer 1

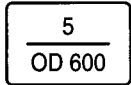


- Aufruf der Methoden "Lowry" und "Lowry micro"
- Wechsel zwischen den Methoden "Lowry" und "Lowry micro"
- Eingabe der Ziffer 2

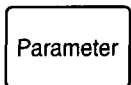
# 5 Bedienung



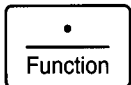
- Aufruf der Methoden "BCA" und "BCA micro"
- Wechsel zwischen den Methoden "BCA" und "BCA micro"
- Eingabe der Ziffer 3



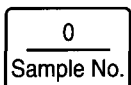
- Aufruf der Methode "OD 600 (Messung der Bakteriendichte)"
- Eingabe der Ziffer 5



- Aufruf der Programmierenebene
- Verlassen der Programmierenebene



- Aufruf der Funktionsebene
- Verlassen der Funktionsebene
- Eingabe des Punktes



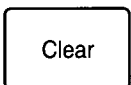
- Ändern der Probennummer
- Eingabe der Ziffer 0



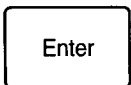
- Eingabe einer Verdünnung
- Bewegung des Cursors in die nächste Zeile (z. B. in der Parameter- oder Funktionsliste)



- Berechnen von molarer Konzentration und Gesamtmenge der Probe ("Ausbeute")
- Bewegung des Cursors in die vorhergehende Zeile (z. B. in der Parameter- oder Funktionsliste)



- Löschung von Eingaben



- Bestätigung von Eingaben



- Messung eines Standards



- Messung eines Leerwertes



- Messung einer Probe

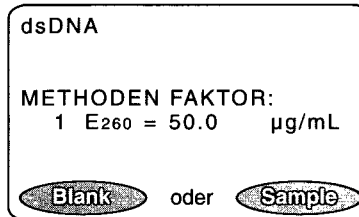
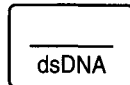
# 5 Bedienung

## 5.2 Messung von Nukleinsäuren

Die Beschreibung gilt für die Methoden

- dsDNA
- ssDNA
- RNA
- Oligo

**Methode aufrufen**



### Auswertung

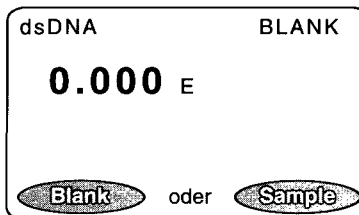
Bei Geräteauslieferung sind für die Nukleinsäuremethoden üblicherweise benutzte Faktoren für die Umrechnung von Extinktion in Konzentration (in diesem Beispiel: 50) gespeichert. Die Faktoren können über die Taste Parameter geändert werden (vgl. Kapitel Programmierung). Die Zahl der Nachkommastellen des einprogrammierten Faktors legt die Zahl der Nachkommastellen des Ergebnisses fest.

Wird eine andere Konzentrationseinheit als µg/mL gewählt (z. B. µg/µL), rechnet das BioPhotometer den Faktor intern um, um das korrekte Ergebnis auszugeben.

### Messablauf

Leerwertmessungen bleiben bis Datumswchsel gespeichert. Wurde bereits ein Leerwert am selben Tag gemessen, bietet das BioPhotometer daher nach Methodenaufruf in der letzten Zeile eine erneute Leerwertmessung oder aber direkt eine Probenmessung an. Wurde noch kein Leerwert gemessen, wird zunächst nur eine Leerwertmessung angeboten.

**Leerwert messen**



# 5 Bedienung

**Probe messen**



dsDNA	PROBE 001
<b>70.0</b> µg/mL	
	0.694 E <sub>230</sub>
	1.408 E <sub>260</sub>
1.97 <sub>260/280</sub>	0.715 E <sub>280</sub>
2.03 <sub>260/230</sub>	0.002 E <sub>320</sub>

### Ergebnisanzeige

Zusätzlich zum Konzentrationsergebnis und der Extinktion bei der Messwellenlänge 260 nm werden als Anhaltspunkt für die Reinheit der gemessenen Nukleinsäureprobe die Extinktionen bei 3 weiteren Wellenlängen (230, 280 und 320 nm) sowie die Quotienten E<sub>260</sub>/E<sub>280</sub> und E<sub>260</sub>/E<sub>230</sub> angezeigt. Die Extinktion bei 320 nm sollte bei reinen Proben nahe Null liegen.

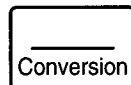
**Nächste Probe messen**

Zur Messung der nächsten Probe drücken Sie erneut die Taste

**Probenverdünnung**

Die Verdünnung der Probe in der Messküvette kann über die Taste vor Beginn der Messung eingegeben und anschließend vom Gerät bei der Ergebnisberechnung berücksichtigt werden (vgl. Abschnitt "Messen von verdünnten Proben").

**Taste Conversion**



Das zuletzt gemessene Konzentrationsergebnis kann in molare Konzentrationen und / oder in Nukleinsäuremengen (Masseneinheit oder Moleinheit) umgerechnet werden:

BERECH. MENGE:	
GESAMT PROBE	---- µL
BERECH. MOLARITÄT:	
BASENPAARE	----
MOL.MASSE	---- kDa

### Eingabe "GESAMT PROBE"

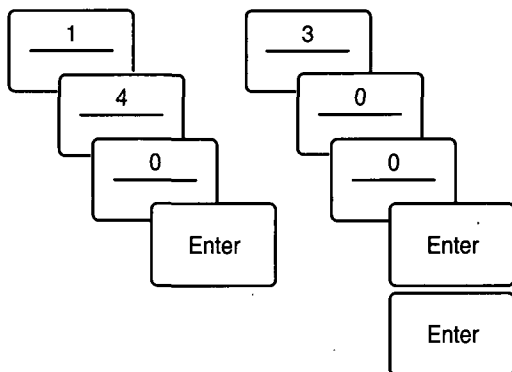
Der eingegebene Wert wird mit der gemessenen Konzentration umgerechnet. Als Ergebnis wird die in der Probe vorhandene Nukleinsäuremenge ausgegeben.

### Eingabe "BASENPAARE" bzw. "MOL.MASSE"

Eine Eingabe in einer der beiden Zeilen ist ausreichend. Mit dem eingegebenen Wert und der gemessenen Konzentration wird die molare Konzentration errechnet.

Nicht gewünschte Eingabefelder werden mit übersprungen.

## 5 Bedienung



Anzeige nach Eingabe von "140  $\mu$ L Probevolumen" und "300 Basenpaaren":

dsDNA	PROBE 001
<b>70.0</b> $\mu$ g/mL	
353.5 $\mu$ mol/mL	
9.8 $\mu$ g	
49.5 $\mu$ mol	

Die molare Konzentrationseinheit (hier: " $\mu$ mol/mL") ist vorprogrammiert, kann aber über die Taste  ausgewählt und geändert werden.

### 5.3 Messung von Proteinen direkt photometrisch

Methode aufrufen

PROTEIN
EXTINKTION
<input type="button" value="Blank"/> oder <input type="button" value="Sample"/>

#### Auswertung

Bei Auslieferung ist für die Methode "Protein" der Auswertemodus "Extinktion" gespeichert, d. h., es werden nur die direkt gemessenen Extinktionen ausgegeben. Über die Taste  können als weitere Auswertemethoden Berechnungen über

- Faktor
- Standard (Einpunktkalibration)
- Warburg-Formel

programmiert werden (vgl. Kapitel 6 "Programmierung").

Die Zahl der Nachkommastellen des einprogrammierten Faktors bzw. der einprogrammierten Sollkonzentration des Standards legt die Zahl der Nachkommastellen des Ergebnisses fest.

Bei der Programmierung des Faktors muss berücksichtigt werden, dass der Faktor an die Auswahl der Konzentrationseinheit angepasst werden muss.

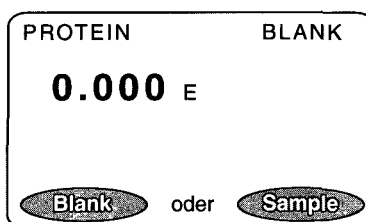
# 5 Bedienung

## Messablauf

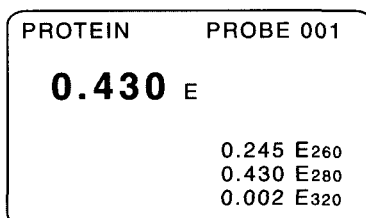
Das folgende Beispiel zeigt den Messablauf mit dem Auswertemodus "Extinktion". Zum Messablauf bei Auswertung über Standard (Einpunktkalibration) vgl. Abschnitt "Messung von Proteinen nach Reagenzzugabe".

Leerwertmessungen bleiben bis Datumswechsel gespeichert (Erläuterung vgl. Abschnitt "Messen von Nukleinsäuren").

Leerwert messen



Probe messen



## Ergebnisanzeige

Zusätzlich zum Konzentrationsergebnis und der Extinktion bei der Messwellenlänge 280 nm werden E260 und E320 als Anhaltspunkt für die Reinheit der gemessenen Proben angezeigt. Die Extinktion bei 320 nm sollte bei reinen Proben nahe Null liegen.

Nächste  
Probe messen

Zur Messung der nächsten Probe drücken Sie erneut die Taste

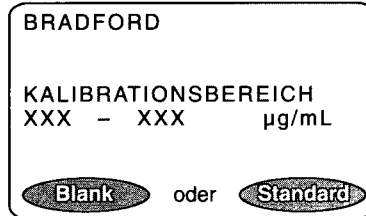
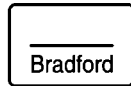
Probenverdünnung

Die Verdünnung der Probe in der Messküvette kann über die Taste vor Beginn der Messung eingegeben und anschließend vom Gerät bei der Ergebnisberechnung berücksichtigt werden (vgl. Abschnitt "Messen von verdünnten Proben").

# 5 Bedienung

## 5.4 Messung von Proteinen nach Reagenzzugabe (Bradford, BCA, Lowry)

Methode aufrufen




Wurde zu einem früheren Zeitpunkt bereits eine gültige und damit vom Gerät gespeicherte Kalibration durchgeführt, erscheinen Datum und Uhrzeit der gespeicherten Kalibration. In diesem Fall kann nach der Leerwertmessung entweder zunächst neu kalibriert werden oder aber direkt mit Probenmessungen begonnen und mit der früher gespeicherten Kalibration ausgewertet werden.

### Mikromethoden

Für die Methoden Bradford, Lowry und BCA gilt eine Besonderheit: Für jede dieser Methoden können jeweils zwei verschiedene Konzentrationsbereiche programmiert werden. Zwischen den beiden Methoden (z. B. "BCA" und "BCA micro") wird durch wiederholtes Drücken der Methodentaste hin- und hergeschaltet.

### Auswertung

Bei Auslieferung ist für die Methoden Bradford, Lowry und BCA sowie für die zugehörigen Mikromethoden als Auswertemodus ein Kalibrationsverfahren über Mehrpunktkalibration und Berechnung einer Kalibrationskurve mittels nichtlinearer Regression gespeichert. Über die Taste  können alternativ andere Auswertemethoden programmiert werden (vgl. Kapitel 6 "Programmierung"):

- Faktor (Berechnung von Konzentrationswerten mittels Faktor).
- Extinktion (gemessene Werte werden ohne weitere Auswertung nur als Extinktionswerte ausgegeben).

Bei dem ab Werk vorprogrammierten Auswerteverfahren über Standard können folgende Parameter geändert werden (vgl. Kapitel 6 "Programmierung"):

- Zahl der Standards (1 bis 10).
- Anzahl der Mehrfachmessungen pro Standard (1 bis 3).
- Auswerteverfahren bei Mehrpunktkalibration (lineare oder nichtlineare Kalibration).
- Sollkonzentrationen der Standards.

Die Zahl der Nachkommastellen des einprogrammierten Faktors bzw. der einprogrammierten Sollkonzentration des ersten Standards legt die Zahl der Nachkommastellen des Ergebnisses fest.

Soll über Faktor ausgewertet werden, muss bei der Programmierung berücksichtigt werden, dass der Faktor an die Auswahl der Konzentrationseinheit angepasst werden muss.

# 5 Bedienung

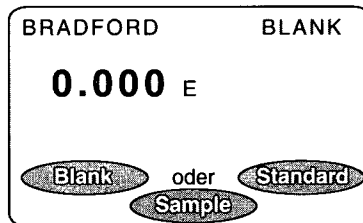
## Messablauf

Leerwertmessungen bleiben bis Datumswchsel gespeichert (Erläuterung vgl. Abschnitt "Messen von Nukleinsäuren").

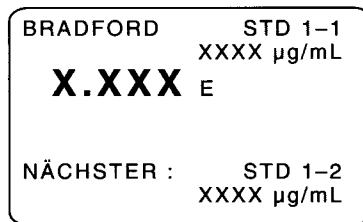
Standardmessungen bleiben unbegrenzt solange gespeichert, bis sie durch neue Standardmessungen überschrieben werden. Zur Auswertung von Probenmessungen wird jeweils die zuletzt gespeicherte Kalibration herangezogen.

Im folgenden Beispiel wurde für die Methode Bradford als Auswertverfahren Mehrpunktkalibration mit 5 Standards in Doppelbestimmung und Kalibrationsberechnung über nichtlineare Regression programmiert:

Leerwert messen

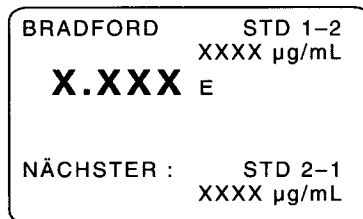


Standards messen



Standard 1 / 1. Messung

In den ersten beiden Zeilen der Anzeige ist der soeben gemessene Standard, in den letzten beiden Zeilen der als nächster zu messende Standard mit Sollkonzentration benannt.



Standard 1 / 2. Messung

## 5 Bedienung

Geräteanzeige nach Abschluss aller Standardmessungen:

BRADFORD      STD 5-2  
                    XXXX µg/mL  
**X.XXX** E  
  
VK: 2.8%  
KALIBRATION GESPEICHERT

Der VK (Variationskoeffizient) ist ein Maß für die Streuung der Standardwerte um die Regressionskurve. Ist der VK kleiner als 10 %, wird die Kalibration automatisch gespeichert. Ist der VK größer als 10 %, erscheint die Frage "SPEICHERN? ENT/CLR" und Sie können die berechnete Kalibration akzeptieren oder löschen. Probenmessungen werden mit der jeweils letzten gültigen Kalibration ausgewertet.

**Probe messen**



BRADFORD      PROBE 001  
**X.XXX** µg/mL  
  
                    X.XXX E595


### **Ergebnisanzeige**

Zusätzlich zum Konzentrationsergebnis wird die Extinktion bei der Messwellenlänge (für Bradford: 595 nm) angezeigt.

**Nächste  
Probe messen**

Zur Messung der nächsten Probe drücken Sie erneut die Taste .

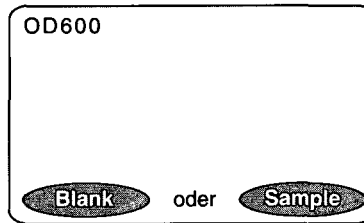
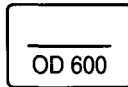
**Probenverdünnung**

Die Verdünnung der Probe in der Messküvette kann über die Taste  vor Beginn der Messung eingegeben und anschließend vom Gerät bei der Ergebnisberechnung berücksichtigt werden (vgl. Abschnitt "Messen von verdünnten Proben").

# 5 Bedienung

## 5.5 Messung von OD 600

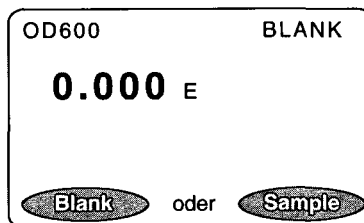
Methode aufrufen



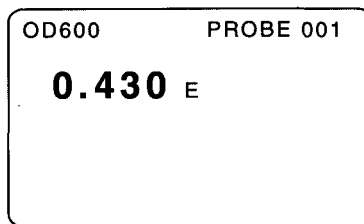
### Messablauf

Leerwertmessungen bleiben bis Datumswchsel gespeichert (Erläuterung vgl. Abschnitt "Messen von Nukleinsäuren").


Leerwert messen




Probe messen



Nächste  
Probe messen

Zur Messung der nächsten Probe drücken Sie erneut die Taste .


Probenverdünnung

Die Verdünnung der Probe in der Messküvette kann über die Taste  vor Beginn der Messung eingegeben und anschließend vom Gerät bei der Ergebnisberechnung berücksichtigt werden (vgl. Abschnitt "Messen von verdünnten Proben").

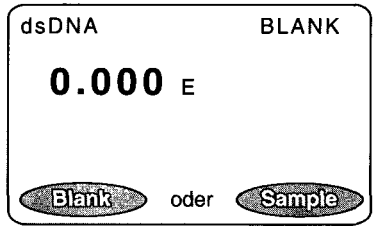
Die OD 600-Messung ist eine Streulichtmessung; das Ergebnis ist daher stark abhängig von der Geometrie des Lichtwegs, die sich bei Photometern verschiedener Hersteller unterscheiden kann.

# 5 Bedienung

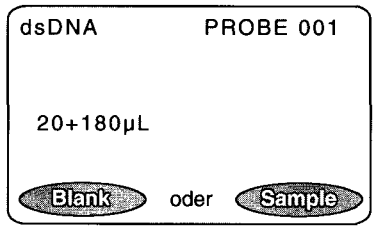
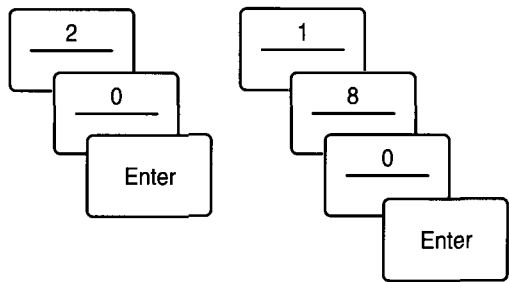
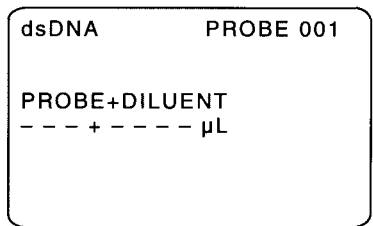
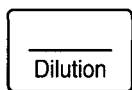
## 5.6 Messung von verdünnten Proben

Probenverdünnungen können vor der Messung über die Taste  eingegeben werden. Bei der Ergebnisberechnung und -ausgabe wird dann der Verdünnungsfaktor automatisch berücksichtigt.

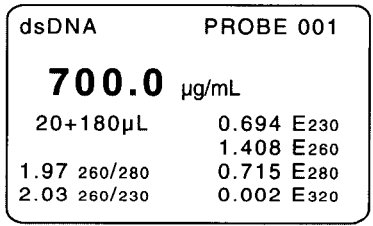
Im folgenden Beispiel wurde bereits ein Leerwert gemessen:



Verdünnung eingeben





Verdünnte Probe messen



Im Ergebnis wurde die Probenverdünnung mit berücksichtigt. Der eingegebene Verdünnungsfaktor bleibt solange auch für die Berechnung von weiteren Probenergebnissen gespeichert, bis er überschrieben wird.

Verdünnungseingabe löschen

Zur Löschung des Verdünnungsfaktors wird die Taste  erneut gedrückt, und anschließend werden die Werte für "Sample" und "Diluent" mit der Taste  gelöscht oder mit "Null" überschrieben.

# 5 Bedienung

## 5.7 Ändern der Probennummer

In der Geräteanzeige wird oben rechts bei Probenmessungen die laufende Nummer der Probe angezeigt. Die Probennummer wird für jede Methode separat fortlaufend gezählt und bei Datumwechsel wieder auf "1" gesetzt.

Die Probennummer kann auf Wunsch – zum Beispiel bei Wiederholungsmessungen – geändert werden:

dsDNA	PROBE 005
<b>70.0</b> µg/mL	
2+180µL	0.694 E230
	1.408 E260
1.97 260/280	0.715 E280
2.03 260/230	0.002 E320

**Probennummer ändern**

0
Sample No.

dsDNA	PROBE 005

3
---

Enter
-------

dsDNA	PROBE 003	
Blank	oder	Sample

Für die nächste zu messende Probe wurde die Probennummer auf "3" gesetzt. Weitere Proben werden ab der neu eingegebenen Nummer fortlaufend gezählt.

# 6 Programmierung

## 6.1 Programmierablauf

Für jede Methode sind Parameter wie die Art der Auswertung oder die Konzentrationseinheit gespeichert. Die ab Werk gespeicherten Methodenprogramme können über die Taste  geändert werden.

**Methode aufrufen**

```
OLIGO
METHODEN FAKTOR:
  1 E260 = 30.0 µg/mL

Blank oder Sample
```

**Parameterliste aufrufen**

```
OLIGO          SEITE 1-3
▶FAKTOR          30.0
KORR. MIT E320  AUS *
.....          EIN -
```

Für die verschiedenen Methoden gibt es unterschiedliche Listen von Parametern, die geändert werden können (Übersicht siehe nächster Abschnitt). Die Parameter für die Methode "Oligo" erstrecken sich über 3 Seiten der Geräteanzeige.

### Beispiel: Ändern des Faktors

Zahleneingaben werden durch  gespeichert:

**Faktor eingeben und speichern**

```
OLIGO          SEITE 1-3
FAKTOR          20.0
▶KORR. MIT E320  AUS *
.....          EIN -
```

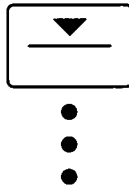
Nach Speicherung des Faktors ist der Cursor zum nächsten Parameter-Auswahlblock ("Korrektur mit E320") gesprungen.

# 6 Programmierung

## Beispiel: Ändern der Einheit

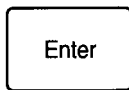
Auswahlparameter werden mit den Cursortasten angewählt und mit  bestätigt, die jeweils gespeicherte Einstellung ist mit einem "\*" markiert:

**Gewünschten  
Parameter anwählen**



OLIGO	SEITE 2-3
EINHEIT	µg/mL *
.....	ng/µL -
▶.....	µg/µL -
M. EINHEIT	pmol/µL *
.....	µmol/L -

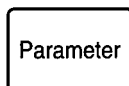
**Parameter  
speichern**



OLIGO	SEITE 2-3
EINHEIT	µg/mL -
.....	ng/µL -
.....	µg/µL *
▶M. EINHEIT	pmol/µL *
.....	µmol/L -

Nach Speicherung der Konzentrationseinheit "µg/µL" ist der Cursor zum nächsten Auswahlblock ("molare Einheit") gesprungen.

**Parameterebene  
verlassen**



Zum Verlassen der Parameterebene können Sie entweder die Zeile "PARAMETER ENDE" anwählen und  drücken oder aus jeder beliebigen Parameterzeile die Taste  drücken.

OLIGO
METHODEN FAKTOR:
1 E <sub>260</sub> = 20.0 µg/mL
<input type="button" value="Blank"/> oder <input type="button" value="Sample"/>

# 6 Programmierung

## 6.2 Parameterübersicht

	<i>dsDNA</i> <i>ssDNA</i> <i>RNA</i>	<i>Oligo</i>	<i>Protein</i>	<i>Bradford</i> <i>Brad.micro</i> <i>Lowry</i> <i>Low.micro</i> <i>BCA</i> <i>BCA micro</i>	<i>OD 600</i>
<b>Berechnung</b>	(Anmerkung 1)	(Anmerkung 1)	Extinktion Standard Faktor Warburg-Formel	Extinktion Standard Faktor	(Anmerkung 1)
<b>Korr. mit E320</b>	aus ein	aus ein	aus ein		
<b>Einheit</b>	µg/mL ng/µL µg/µL	µg/mL ng/µL µg/µL	mg/mL µg/mL	mg/mL µg/mL µg	(Anmerkung 2)
<b>Molare Einheit</b>	pmol/µL µmol/L pmol/mL	pmol/µL µmol/L			
<b>Küvette</b>	10 mm 5 mm 2 mm 1 mm	10 mm 5 mm 2 mm 1 mm	10 mm 5 mm 2 mm 1 mm	10 mm 5 mm 2 mm 1 mm	10 mm 5 mm 2 mm 1 mm

(Nur bei Auswerteverfahren "Faktor":)

<b>Faktor</b>	Zahleneingabe	Zahleneingabe	Zahleneingabe	Zahleneingabe	Zahleneingabe
---------------	---------------	---------------	---------------	---------------	---------------

(Nur bei Auswerteverfahren "Standard":)

<b>Std. Anzahl</b>			(Anmerkung 3)	Zahleneingabe	
<b>Std. Messung</b>			1x 2x 3x	1x 2x 3x	
<b>Regression</b> (Anmerkung 4)				linear nicht linear	
<b>Standard</b>			Zahleneingabe	Zahleneingabe	

Anmerkung 1: Keine Auswahl; Auswerteverfahren "Faktor" fest programmiert.

Anmerkung 2: Keine Auswahl; Einheit "Extinktion" fest programmiert.

Anmerkung 3: Keine Auswahl; Anzahl der Standards "1" fest programmiert.

Anmerkung 4: Auswahlmöglichkeit nur, wenn für den Parameter "Std. Anzahl" mindestens "4" (bzw. bei Einfachbestimmung des Standards mindestens "5") eingegeben wurde.

# 6 Programmierung

## 6.3 Erläuterung der Parameter

Parameter sind als Auswahlparameter oder als Parameter für Zahleneingaben definiert. Bei Auswahlparametern sind die programmierbaren Alternativen methodenabhängig (siehe Übersicht im vorhergehenden Abschnitt).

<b>Parameter</b>	<b>Eingaben</b>	<b>Erläuterung</b>
Berechnung	Auswahl	Auswahl aus den Auswertungsverfahren Extinktion, Faktor, Standard und Warburg-Formel. Bei Auswertung über Warburg-Formel wird der Messwert für E <sub>260</sub> in der Ergebnisanzeige und im Ergebnisausdruck mit einem "◀" gekennzeichnet.
Faktor	Zahleneingabe (5stellig)	(Nur wenn als Berechnungsverfahren "Faktor" gewählt wurde.) Eingabe eines Faktors; die Zahl der Nachkommastellen bestimmt die Zahl der Nachkommastellen des Ergebnisses.
Korr. mit E <sub>320</sub>	Auswahl	(Nur für Nukleinsäuremethoden und Protein direkt photometrisch.) Auswahl aus "Korr. mit E <sub>320</sub> aus" und "Korr. mit E <sub>320</sub> ein"; "Korr. ein" bedeutet: von den Extinktionsergebnissen bei 260, 280 und 230 nm wird die bei 320 nm gemessene Extinktion abgezogen; Anwendung z. B. als Trübungskorrektur. Bei eingeschalteter Korrektur wird der Messwert für E <sub>320</sub> in der Ergebnisanzeige und im Ergebnisausdruck mit einem "◀" gekennzeichnet.
Einheit	Auswahl	Auswahl aus vorgegebenen Konzentrationseinheiten ist methodenabhängig.
M. Einheit (Molare Einheit)	Auswahl	Auswahl ist methodenabhängig (nur für Nukleinsäuremethoden); wird benötigt für Umrechnung von Konzentrationen in molare Konzentrationen (Taste <input type="button" value="Conversion"/> ).
Küvette	Auswahl	Auswahl aus den Schichtdicken 10, 5, 2 und 1 mm; das Ergebnis wird immer auf eine Schichtdicke von 10 mm umgerechnet (vgl. Kapitel 12 "Auswertung").

## 6 Programmierung

Die folgenden Parameter werden nur angeboten, wenn als Berechnungsverfahren "Standard" programmiert wurde:

<b>Parameter</b>	<b>Eingaben</b>	<b>Erläuterung</b>
Std. Anzahl	Zahleneingabe ("1" bis "10")	Zahl der unterschiedlichen Standards.
Std. Messung	Auswahl	Auswahl aus "1x", "2x", "3x" Wiederholungsmessung jedes Standards; aus den Wiederholungsmessungen wird für die weitere Berechnung jeweils ein Mittelwert gebildet.
Regression	Auswahl	(Nur bei Standardanzahl von mindestens 4 bzw. bei Einfachbestimmung der Standards von mindestens 5.) Auswahl aus den Berechnungsverfahren lineare und nicht-lineare Regression. Bei Standardanzahl von mehr als 1 und weniger als 4 bzw. 5 wird immer über lineare Regression ausgewertet (siehe Kapitel 12 "Auswertung").
Std. 1 bis Std. 10	Zahleneingabe (5stellig)	Sollwerteingabe der Standardkonzentrationen; die Zahl der Nachkommastellen der Sollkonzentration für den ersten Standard bestimmt die Zahl der Nachkommastellen des Ergebnisses.
















### 6.4 Ab Werk programmierte Werte

	<i>dsDNA</i>	<i>ssDNA</i>	<i>RNA</i>	<i>Oligo</i>	<i>Protein</i>	<i>Bradford</i>	<i>Bradford micro</i>	<i>Lowry</i>	<i>Lowry micro</i>	<i>BCA</i>	<i>BCA micro</i>	<i>OD 600</i>
Berechnung					Extinktion	Standard	Standard	Standard	Standard	Standard	Standard	
Faktor	50.0	37.0	40.0	30.0	----- 1)	----- 1)	----- 1)	----- 1)	----- 1)	----- 1)	----- 1)	1.000
Korr. mit E320	aus	aus	aus	aus	aus							
Std. Anzahl						6	6	6	6	8	5	
Std. Messung					1x <sup>2)</sup>	1x	1x	1x	1x	1x	1x	
Regression						nicht linear	nicht linear	nicht linear	nicht linear	nicht linear	nicht linear	
Einheit	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/µL	µg/mL <sup>3)</sup>	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	
Molare Einheit	pmol/mL	pmol/mL	pmol/mL	pmol/µL								
Standard 1					----- 4)	100	1.00	100	1.00	25	0.50	
Standard 2						250	2.5	250	2.5	125	2	
Standard 3						500	5	500	5	250	5	
Standard 4						750	10	750	10	500	10	
Standard 5						1000	15	1000	15	750	20	
Standard 6						1500	25	1500	25	1000		
Standard 7										1500		
Standard 8										2000		
Küvette	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm

- Anmerkungen:
- 1) Bei Berechnung "Faktor": Eingabe durch Anwender erforderlich
  - 2) Bei Berechnung "Standard"
  - 3) Bei Berechnung "Standard" oder "Faktor"
  - 4) Bei Berechnung "Standard": Eingabe durch Anwender erforderlich

# 7 Funktionen

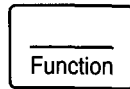
## Funktionsliste

<b>Funktion</b>	<b>Eingaben</b>	<b>Erläuterung</b>
Ergebnisse anzeigen	Aufruf mit 	Anzeige der letzten 100 Ergebnisse (das zuletzt gemessene Ergebnis wird zuerst angezeigt);   : Auswahl der Ergebnisse  : Ausdruck des gerade angezeigten Ergebnisses  : Zurück in die Funktionsliste
Kalibrationsreport	Aufruf mit 	Ausdruck der gespeicherten Kalibrationen;   : Auswahl der Methode  : Ausdruck des Kalibrationsreports  : Zurück in die Funktionsliste
Datum	Zahleneingaben	 : Speichern
Uhrzeit	Zahleneingaben	 : Speichern
Gespeicherte Ext.	Aufruf mit 	Ausdruck der zuletzt gemessenen Extinktionen (max. 100 Messungen). Für die Werte der zuletzt gemessenen Methode werden Mittelwert, Standardabweichung und VK berechnet und ausgedruckt.
Präzisionsmessung	Aufruf mit 	Messung und Präzisionsberechnung von 10 aufeinanderfolgenden Messwerten einer Probe. Für die Auswertung wird das Methodenprogramm der zuletzt aufgerufenen Methode benutzt.
Photometertest	Aufruf mit 	Prüfung der photometrischen Richtigkeit und der Wellenlängenrichtigkeit (vgl. Kapitel 13 "Überprüfung des Photometers").
Sprache Deutsch Language English Language U.S.English langue française	Auswahl	Anwahl der Sprachversion; "English" und "U.S.English" unterscheiden sich durch das Format des Datums.
Drucker DPU 414 Drucker seriell	Auswahl	DPU 414: Anschluss des Eppendorf Thermodruckers DPU 414 (siehe Kapitel 4.2 "Drucker"). seriell: Anschluss eines anderen Druckers (siehe Kapitel 4.2 "Drucker").
Service		Funktion ist nur für den Service zugänglich.

# 7 Funktionen

## Beispiel: Ändern der Sprachversion

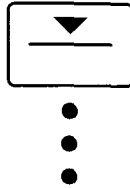
**Funktionsliste aufrufen**



```
FUNKTION   SEITE 1-4
▶ERGEBNISSE ANZEIGEN
  KALIBRATIONS REPORT

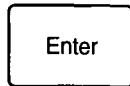
DATUM       27.06.1998
UHRZEIT     20:44
```

**Gewünschte Funktion anwählen**





```
FUNKTION   SEITE 3-4
  SPRACHE  DEUTSCH  *
▶LANGUAGE  ENGLISH -
  LANGUAGE U.S.ENGL -
  langue française -
```

**Funktion speichern**

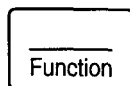


```
FUNKTION   PAGE 4-4
▶PRINTER DPU 414  *
  PRINTER SERIAL -

SERVICE    - - - -
FUNCTION EXIT
```

Zum Verlassen der Funktionsebene können Sie entweder die Zeile "FUNCTION EXIT" anwählen und  drücken oder aus jeder beliebigen Zeile der Funktionsliste die Taste  drücken. Danach kehrt das BioPhotometer in die zuletzt aufgerufene Methode zurück.

**Funktionsebene verlassen**



```
OLIGO
PROGRAMMED FACTOR:
  1 A260 = 20.0    µg/mL

(Blank) or (Sample)
```

## 8 Fehlermeldungen, Ergebniskennzeichnungen und Hilfetexte

### Ergebniskennzeichnungen

Kennzeichnung	Erläuterung
1.586 E260 ◀	Markierung von E260 in der Anzeige oder im Ausdruck (nur bei der Methode "Protein direkt"): Die Messung wurde über die Warburg-Formel ausgewertet.
0.015 E320 ◀	Markierung von E320 in der Anzeige oder im Ausdruck (nur bei der Methode "Protein direkt" und bei Nukleinsäuremethoden): Die Extinktionen bei 260, 280 und 230 nm werden mit der Extinktion bei 320 nm korrigiert (siehe Kapitel 6 "Programmierung").

### Fehlertexte bei der Ergebnisanzeige




Fehlertext	Erläuterung / Ursache	Behebung
+++++	Die gemessene Extinktion liegt über 3.0 E.	<ul style="list-style-type: none"><li>– Probe verdünnen.</li><li>– Küvette prüfen (Lichtweghöhe 8,5 mm).</li><li>– Küvettenschacht reinigen (siehe Kapitel 9).</li><li>– Küvette richtig herum einsetzen (Messfenster in Richtung des Lichtweges).</li><li>– Küvette aus Material benutzen, das für die Messwellenlängen optisch durchlässig ist, z. B. Quarzglas oder UVette® von Eppendorf für Nukleinsäuremessungen.</li></ul>
!!!!	Berechneter Wert nicht darstellbar (zu hoher Wert).	Parameter prüfen (Faktor zu groß?)
-----	(Anstelle eines Wertes für die Ratio:) Ratio kann nicht berechnet werden, da einer der für die Berechnung der Ratio herangezogenen Extinktionswerte 0 E oder > 3.0 E beträgt.	Messung wiederholen, evt. mit verdünnter Probe.

## 8 Fehlermeldungen, Ergebniskennzeichnungen und Hilfetexte

### Fehlertexte im Messablauf

<b>Fehlertext</b>	<b>Erläuterung / Ursache</b>	<b>Behebung</b>
Zuerst Blank messen	Für die angewählte Methode wurde noch kein Leerwert gemessen.	Leerwert messen.
Zuerst Standard messen	Für die angewählte Methode gibt es noch keine gültige Kalibration.	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Standards messen.</li> <li>– Andere Auswertung (Festfaktor oder direkte Extinktionsmessung) programmieren.</li> </ul>
außerhalb der Kalibration	(Nur bei Auswertung über nichtlineare Regression:) Das Probenergebnis liegt außerhalb des Kalibrationsbereichs.	Messung wiederholen, evt. mit verdünnter Probe.
Messmodul Fehler 1 Messmodul Fehler 2 Messmodul Fehler 3	Unterschiedliche Fehler im Messmodul.	Service benachrichtigen.

### Fehlertexte im Kalibrationsablauf

<b>Fehlertext</b>	<b>Erläuterung / Ursache</b>	<b>Behebung</b>
Keine STD-Methode	Die Messtaste  wurde gedrückt, obwohl für die aufgerufene Methode als Auswerteverfahren nicht "Standard" programmiert wurde.	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Methoden ohne Standardanforderung neu messen.</li> <li>– Auswerteverfahren "Standard" programmieren.</li> </ul>
Gemessene Werte nicht plausibel	(Bei Einpunktkalibration:) Gemessene Extinktion ist 0 E.	Standard noch einmal messen, evt. vorher neu ansetzen.
Gemessene Werte nicht monoton	(Bei Mehrpunktkalibration:) Die gemessenen Werte ergeben keine monoton steigende oder fallende Folge.	Standards überprüfen und nochmals in richtiger Reihenfolge (aufsteigende Konzentration) messen.
Kalibrationskurve ist nicht monoton	(Bei nichtlinearer Regression:) Die berechnete Kurve ist nicht monoton.	Standards überprüfen und nochmals in richtiger Reihenfolge (aufsteigende Konzentration) messen.
VK ist größer als 10 %	(Nach Abschluss von Standardmessungen:) Kalibrationsergebnis überprüfen. Die Streuung der Messwerte um die berechnete Kalibrationsgerade oder -kurve ist erheblich (vergleiche Kapitel 12 "Auswertung").	<ul style="list-style-type: none"> <li>–  : Kalibration speichern.</li> <li>–  : Kalibration abrechnen, anschließend neu kalibrieren oder gespeicherte Kalibration benutzen.</li> </ul>

## 8 Fehlermeldungen, Ergebniskennzeichnungen und Hilfetexte

### Fehlertexte im Programmierablauf

<b>Fehlertext</b>	<b>Erläuterung / Ursache</b>	<b>Behebung</b>
Methodenparameter fehlerhaft, bitte überprüfen	Methodenparameter wurden nicht korrekt eingegeben.	Parameter überprüfen und ggf. neu eingeben.
Standards aufsteigend programmieren	(Bei Mehrpunktkalibration:) Standard-Sollwerte wurden nicht in aufsteigender Reihenfolge programmiert.	Programmierung überprüfen und Sollwerte in aufsteigender Folge eingeben.

### Sonstige Fehlertexte

<b>Fehlertext</b>	<b>Erläuterung / Ursache</b>	<b>Behebung</b>
Ungültige Eingabe	(Bei Eingabe einer laufenden Probennummer über die Taste <input type="text" value="Sample No."/> ) Eine Nummer außerhalb der Grenzen von 1 bis 999 wurde eingegeben.	Eingabe der Nummer in den genannten Grenzen wiederholen.

### Hilfetexte

<b>Hilfetext</b>	<b>Erläuterung / Ursache</b>	<b>Behebung</b>
Standard bitte programmieren	(In der Anzeige nach Methodenaufruf:) Für die Methode wurden zwar als Auswerteverfahren "Standard", aber bisher keine Sollkonzentrationen für die Standards programmiert.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sollkonzentrationen für die Standards programmieren (Taste <input type="text" value="Parameter"/>).</li> <li>- Anderes Auswerteverfahren ohne Standard programmieren.</li> </ul>
Faktor bitte programmieren	(In der Anzeige nach Methodenaufruf:) Für die Methode wurde zwar als Auswerteverfahren "Faktor", aber bisher kein Zahlenwert für den Faktor programmiert.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Wert für den Faktor programmieren (Taste <input type="text" value="Parameter"/>).</li> <li>- Anderes Auswerteverfahren programmieren.</li> </ul>

## 9 Reinigung und Wartung

### **Photometer**

- Vor Wartungsarbeiten oder Sicherungswechsel den Netzstecker ziehen. Lebensgefährliche elektrische Spannungen im Inneren des Geräts.
- Das gesamte Gerät mit einem leicht feuchten Tuch und mildem Reinigungsmittel abwischen.
- Zur Desinfektion mit einem leicht feuchten Tuch und 70 %-igen Ethanol / Wassergemisch abwischen.
- Flüssigkeiten dürfen nicht in das Gerät gelangen.

### **Küvettschacht**

- Den Küvettschacht nur mit einem feuchten Wattestäbchen, nicht mit größeren Flüssigkeitsmengen (z. B. Spritzflasche) reinigen.
- Wenn das Gerät nicht benutzt wird, den Küvettschacht mit dem mitgelieferten Verschluss vor Staub schützen. Staub oder Rückstände von Messlösungen im optischen Lichtweg können Falschmessungen verursachen.

### **Sicherungswechsel**

- Netzstecker ziehen.
- Oberhalb des Netzanschlusses befindet sich der Sicherungshalter (siehe Bild in Kapitel 4.1.). Die Position des Halters wird durch einen kleinen federnden Rasthebel am unteren Teil des Halters gesichert.
- Rasthebel nach oben drücken und Halter herausziehen.
- Sicherungen wechseln (Spezifikation siehe Kapitel 2 "Technische Daten").
- Halter wieder in die Aufnahme hineinschieben, bis der Rasthebel einrastet.
- Netzstecker anschließen.

# 10 Kurzanleitung

## Vorbereitung

Das Gerät ist sofort nach dem Einschalten messbereit.

## Methoden

7 dsDNA	8 ssDNA	9 RNA
4 Protein	5 OD 600	6 Oligo
1 Bradford	2 Lowry	3 BCA

7 dsDNA	8 ssDNA	9 RNA
		6 Oligo

5 OD 600
-------------

4 Protein
--------------

1 Bradford	2 Lowry	3 BCA
---------------	------------	----------

### dsDNA ssDNA RNA Oligo

- Direkte Messung der Nukleinsäuren bei 260 nm.
- Quotienten E<sub>260</sub>/E<sub>280</sub> und E<sub>260</sub>/E<sub>230</sub>.
- Wahlweise Korrektur der Extinktionswerte durch E<sub>320</sub>.
- Messung mit Quarzglasküvette oder UVette® von Eppendorf.

### OD 600

- Direkte Messung der Dichte von Bakteriensuspensionen bei 600 nm (Trübungsmessung).
- Messung mit Glas- oder Kunststoffküvette.

### Protein

- Direkte Messung von Protein bei 280 nm.
- Direkte Messung der Extinktion oder Auswertung über Faktor, Standard oder Warburg-Formel.
- Wahlweise Korrektur der Extinktionswerte durch E<sub>320</sub>.
- Messung mit Quarzglasküvette oder UVette® von Eppendorf.

### Bradford Lowry BCA Bradford micro Lowry micro BCA micro

- Messung von Protein mit Bradford-, Lowry- oder BCA-Reagenz.
- Direkte Messung der Extinktion oder Auswertung über Faktor oder Kalibration (Einpunktkalibration, lineare Regression oder nichtlineare Regression).
- Zahl und Sollwerte der Kalibratoren programmierbar.
- Die Protein-Methoden stehen auch im Mikromaßstab zur Verfügung (Methodentaste 2x drücken).
- Messung mit Glas- oder Kunststoffküvette.

## Küvetten

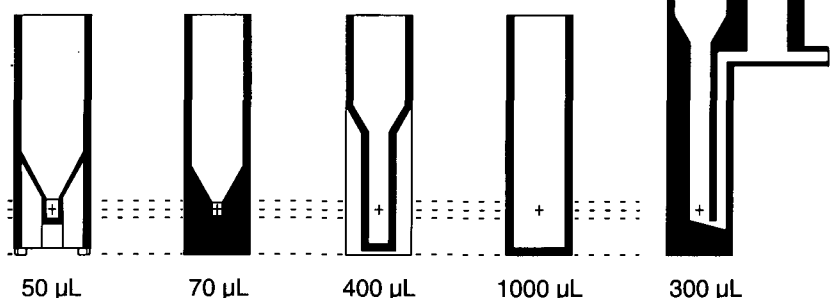
Grundfläche  
12,5 mm x 12,5 mm

Min. Gesamthöhe 36 mm

Min. Füllhöhe 10 mm  
Lichtstrahl 8,5 mm  
Max. Bodendicke 7 mm

Min. Volumen 0 mm

UVette® Ultramikro Halbmikro Makro Absaug



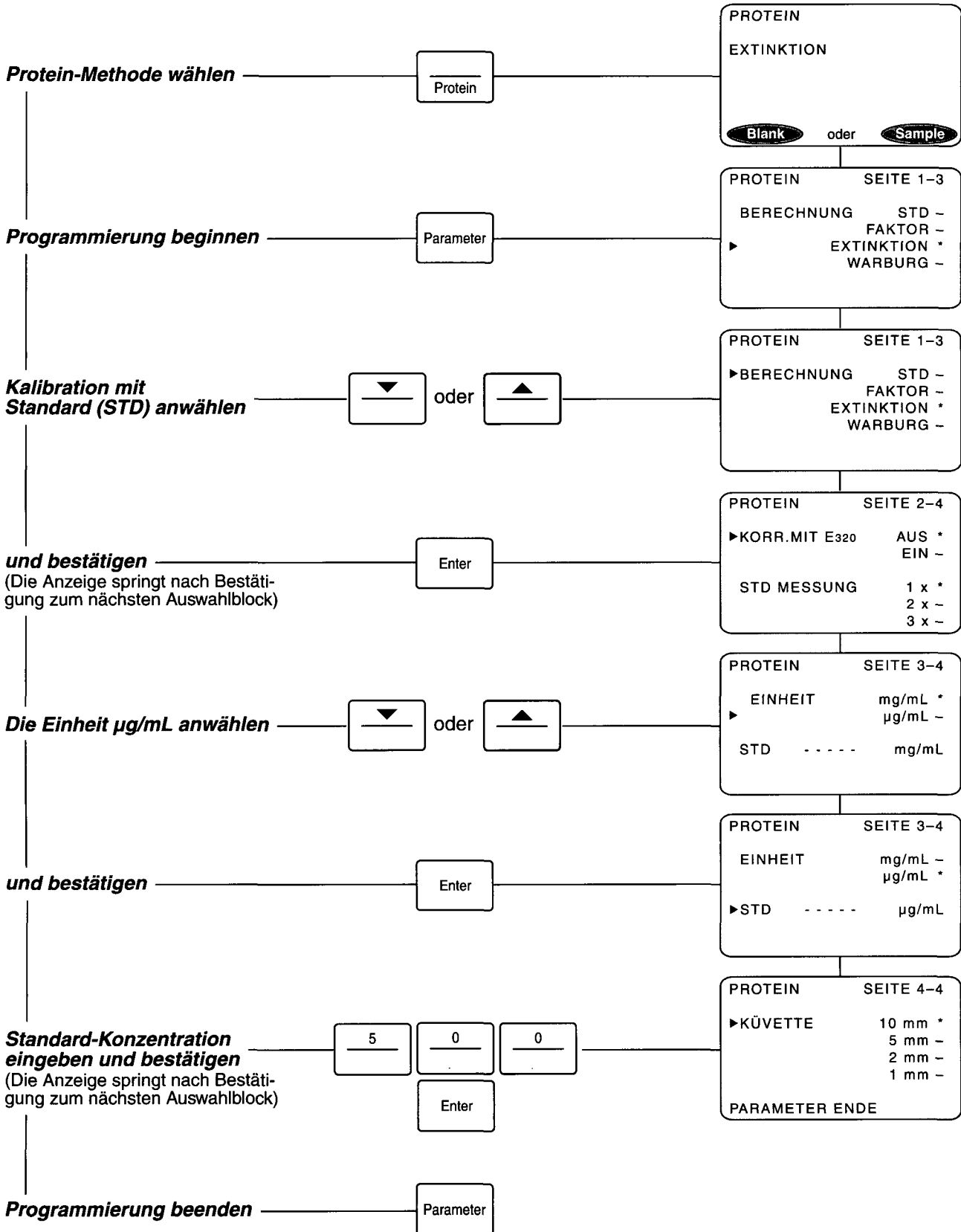
# 10 Kurzanleitung

## Programmierung

Die ab Werk gespeicherten Methodenprogramme können geändert werden.

### Beispiel:

Programmierungen der Einheit "µg/mL" und eines Auswerteverfahrens über Standard (500 µg/mL) für die Methode Protein.



# 10 Kurzanleitung

## Messablauf dsDNA

dsDNA-Methode wählen

dsDNA

dsDNA  
 METHODEN FAKTOR  
 1 E260 = 50.0 µg/mL  
 Blank oder Sample

Leerwert messen

Blank

dsDNA BLANK  
 0.000 E  
 Blank oder Sample

Wenn die Probe verdünnt ist:  
 Beispiel: 20 + 200 µL

Dilution   Enter  
   Enter

dsDNA PROBE 001  
 20+200 µL  
 Blank oder Sample

Probe messen

Sample

dsDNA PROBE 001  
 563.20 µg/mL  
 20+200 µL 0.694 E230  
 1.408 E260  
 1.97 260/280 0.715 E280  
 2.03 260/230 0.002 E320

Wenn das Ergebnis der Probe  
 umgerechnet werden soll:

Conversion     
 Enter  
    
 Enter  
 Enter

BERECH. MENGE:  
 GESAMT PROBE 140 µL  
 BERECH. MOLARITÄT:  
 BASENPAARE 300  
 MOL.MASSE 198 kDa

dsDNA PROBE 001  
 563.20 µg/mL  
 20+200 µL  
 79 µg  
 2843 pmol/mL  
 398 pmol

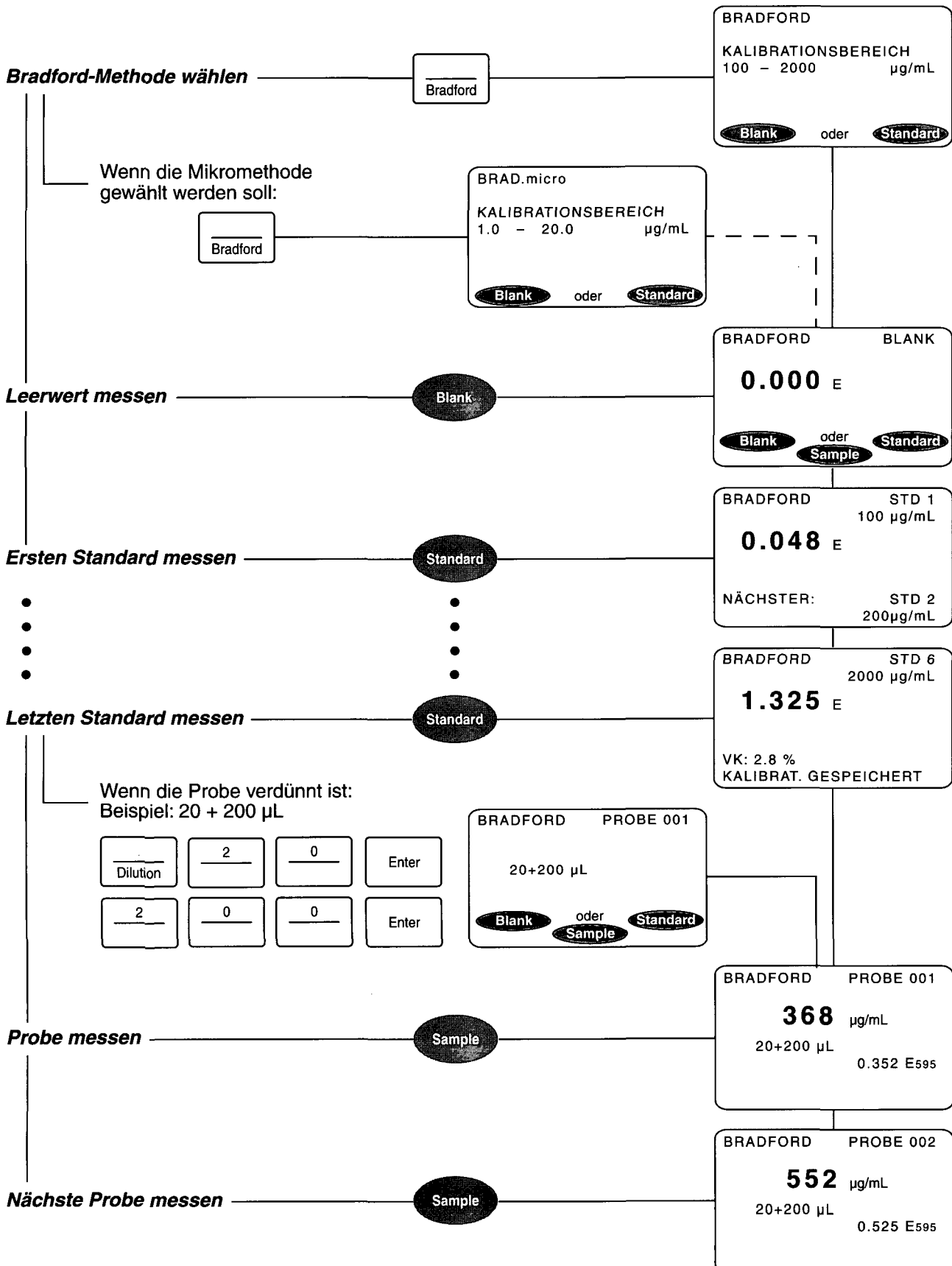
Nächste Probe messen

Sample

dsDNA PROBE 002  
 249.70 µg/mL  
 20+200 µL 0.689 E230  
 0.788 E260  
 1.85 260/280 0.623 E280  
 2.19 260/230 0.003 E320

# 10 Kurzanleitung

## Messablauf Bradford



# 11 Bestellinformationen

## **Bestell-Nr.**

### **Photometer**

6131 000.012	BioPhotometer
6131 900.102	Bedienungsanleitung
6131 810.006	BioPhotometer Software-Paket, Software für den Datentransfer vom BioPhotometer zu einem Tabellenkalkulationsprogramm (z. B. Excel unter Windows)
6131 928.007	Sekundär-UV-VIS-Filter, 1 Satz, zur Überprüfung des BioPhotometers

### **Drucker**

0013 608.148	Thermodrucker DPU 414
0013 608.164	Netzteil 115 V für Drucker DPU 414
0013 608.172	Netzteil 230 V für Drucker DPU 414
0013 610.517	VGA/Druckerkabel, 9-polig, Stift/Buchse
6547 001.018	Thermopapier (10 Rollen)

### **UVette®**

**(Kunststoff-Einmalküvette für UV / VIS, 220 bis 1 600 nm)**

0030 106.300	UVette®, 80 Stück, einzeln verpackt
4308 078.006	Küvettenständer für 16 Küvetten

# 12 Auswertung

## 12.1 Nukleinsäuren (dsDNA, ssDNA, RNA, Oligo)

### Auswertung über Faktor

$$C = E_{260} \times F$$

C = berechnete Konzentration

E<sub>260</sub> = gemessene Extinktion bei 260 nm

F = Faktor (methodenspezifische Programmierung über Taste )

Besonderheit bei den Nukleinsäuremethoden: Der programmierte Faktor bezieht sich immer auf die Konzentrationseinheit "µg/mL". Wird die Konzentrationseinheit "µg/µL" gewählt, wird der Faktor intern umgerechnet:

$$F' = F / 1000$$

F' = umgerechneter Faktor; wird für die Berechnung der Konzentration benutzt.

### Probenverdünnung

$$C_{\text{Dil, kor}} = C \times (V_P + V_{\text{Dil}}) / V_P$$

C<sub>Dil, kor</sub> = mit Verdünnungsfaktor umgerechnetes Ergebnis

V<sub>P</sub> = Volumen der Probe in der Messlösung (Eingabe über Taste )

V<sub>Dil</sub> = Volumen des Diluents in der Messlösung (Eingabe über Taste )

### Schichtdicke der Küvette

Anwendung: Benutzung von Küvetten mit Schichtdicke 1, 2 oder 5 mm.

Die Schichtdicke der Küvette wird methodenspezifisch über die Taste  programmiert.

$$E_{\text{Küv, kor}} = E \times 2 \text{ (bei Schichtdicke 5 mm)}$$

$$E_{\text{Küv, kor}} = E \times 5 \text{ (bei Schichtdicke 2 mm)}$$

$$E_{\text{Küv, kor}} = E \times 10 \text{ (bei Schichtdicke 1 mm)}$$

E<sub>Küv, kor</sub> = auf Schichtdicke 10 mm umgerechnete Extinktion

### Korrektur E<sub>320</sub>

Anwendung: Partielle Korrektur von Verfälschungen der Extinktion durch Trübungen in der Messlösung.

Das Auswerteverfahren mit bzw. ohne Korrektur E<sub>320</sub> wird methodenspezifisch über die Taste  programmiert.

$$E_{x, \text{kor}} = E_x - E_{320}$$

E<sub>x, kor</sub> = rechnerisch korrigierte Extinktion bei der Wellenlänge 230, 260 und 280 nm

E<sub>x</sub> = gemessene Extinktion bei der Wellenlänge 230, 260 und 280 nm

E<sub>320</sub> = gemessene Extinktion bei der Wellenlänge 320 nm

Die korrigierte Extinktion wird für die weitere Ergebnisberechnung benutzt.

### Taste Conversion: Berechnung der Menge

Anwendung: Berechnung der Nukleinsäuremenge im gesamten Probenvolumen

$$M = C \times V_{P, \text{ges}}$$

M = berechnete Gesamtmenge an Nukleinsäure im Probengefäß

C = berechnete Konzentration

V<sub>P, ges</sub> = Volumen der Probe im Probengefäß (Eingabe über Taste )

# 12 Auswertung

## **Taste Conversion: Berechnung der molaren Konzentration**

Anwendung: Berechnung der molaren Konzentration aus Massenkonzentration und relativer Molmasse. Die Molmasse wird entweder direkt eingegeben oder vom Gerät aus der eingegebenen Zahl von Basen bzw. Basenpaaren pro Molekül berechnet.

$$C_{\text{Mol}} = C / N$$

$C_{\text{Mol}}$  = molare Konzentration (berechnet)

N = relative Molmasse in kDa (Eingabe über Taste )

Falls anstelle der relativen Molmasse die Zahl der Basen bzw. Basenpaare pro Molekül eingegeben wurde, wird N aus der Zahl der Basen (-paare) berechnet:

$$\text{dsDNA: } N = \text{bp} \times 2 \times 330 \times 10^{-3}$$

$$\text{ssDNA, RNA, Oligo: } N = b \times 330 \times 10^{-3}$$

N = berechnete relative Molmasse in kDa

bp = eingegebene Zahl der Basenpaare pro Molekül (dsDNA)

b = eingegebene Zahl der Basen pro Molekül (ssDNA, RNA, Oligo)

Die Einheit für die molare Konzentration wird über die Taste  methodenspezifisch programmiert.

## **12.2 Protein direkt photometrisch**

Auswahl für die Ergebnisausgabe:

- Extinktion
- Berechnung der Konzentration über Faktor
- Berechnung der Konzentration über Einpunktkalibration
- Berechnung der Konzentration über Warburg-Formel

### **Berechnung der Konzentration über Faktor**

Siehe Abschnitt 12.1; Messwellenlänge: 280 nm

Bei der Eingabe des Faktors über die Taste  muss die programmierte Konzentrationseinheit berücksichtigt werden.

### **Berechnung der Konzentration über Standard (Einpunktkalibration)**

$$F = C_S / E_S$$

F = berechneter Faktor

$C_S$  = Sollkonzentration des Standards (methodenspezifische Programmierung über Taste )

$E_S$  = gemessene Extinktion des Standards

Wurde für den Standard Mehrfachmessung (2x, 3x) programmiert, erfolgt die Auswertung aus den gemessenen Extinktionen unter Einbeziehung des Nullwerts über lineare Regression. Nach Berechnung der Regression wird ein VK-Wert (Variations-Koeffizient in "%") als Maß für die Streuung der Messwerte gebildet. Ist der VK-Wert größer als 10 %, wird er angezeigt. In diesem Fall wird die Kalibration erst nach Bestätigung gespeichert (siehe Abschnitt 12.3).

Die Berechnung der Probenkonzentration erfolgt mit dem berechneten Faktor:

$$C = E_{280} \times F$$

### **Berechnung der Konzentration über Warburg-Formel**

$$C = 1.55 \times E_{280} - 0.76 \times E_{260} \text{ für Konzentrationseinheit "mg/mL"}$$

$$C = (1.55 \times E_{280} - 0.76 \times E_{260}) \times 1000 \text{ für Konzentrationseinheit "µg/mL"}$$

# 12 Auswertung

## **Probenverdünnung, Schichtdicke der Küvette und Korrektur E320**

Siehe Abschnitt 12.1.

### **12.3 Protein mit Reagenzzugabe**

Methoden: Bradford, Bradford micro, BCA, BCA micro, Lowry, Lowry micro

Auswahl für die Ergebnisausgabe:

- Extinktion
- Berechnung der Konzentration über Faktor
- Berechnung der Konzentration über Standard

Auswahl der Auswerteverfahren über Standard:

- Einpunktkalibration
- Mehrpunktkalibration (Standardgerade)
- Mehrpunktkalibration (Standardkurve)

#### **Berechnung der Konzentration über Faktor und Berechnung der Konzentration über Standard (Einpunktkalibration)**

Siehe Abschnitt 12.2; Messwellenlänge: 595 nm (Bradford; Lowry) bzw. 562 nm (BCA)

#### **Berechnung der Konzentration über Standard (Mehrpunktkalibration; Kalibrationsgerade)**

Aus 2 bis 10 Standards, die in Einzel-, Doppel- oder Dreifachbestimmung gemessen werden, wird eine Kalibrationsgerade (Konzentration als Funktion der Extinktion) berechnet. Die Geradengleichung wird über lineare Regression berechnet.

$$C = a_0 + a_1 E$$

$a_1$  = Steigung der Kalibrationsgeraden (Faktor)

$a_0$  = Schnittpunkt der Kalibrationsgeraden mit der Konzentrationsachse  
(Konzentration einer Probe mit der Extinktion "0" [Offset])

Nach Berechnung einer Kalibration wird vom Gerät der "VK"-Wert (Variationskoeffizient in "%") berechnet (Ausnahme: Zweipunktkalibration mit Einfachbestimmung der beiden Standards). Der VK-Wert ist ein Maß für die Streuung der Messwerte um die berechnete Kalibrationsgerade herum. Liegt der Wert höher als 10 %, wird die Kalibration nicht automatisch, sondern erst nach Bestätigung durch den Anwender gespeichert. Bei mehr als 2 Standards wird der VK-Wert immer (auch bei einem Wert < 10 %) angezeigt.

Über die Taste  können die berechneten Parameter (" $a_0$ " und " $a_1$ ") der gespeicherten Kalibrationsgerade ausgedruckt werden.


#### **Berechnung der Konzentration über Standard (Mehrpunktkalibration; Kalibrationskurve)**

Aus 5 bis 10 Standards, die in Einzelbestimmung bzw. aus 4 bis 10 Standards, die in Doppel- oder Dreifachbestimmung gemessen werden, wird eine Kalibrationskurve (Konzentration als Funktion der Extinktion) berechnet. Die nichtlineare Regression wird über ein Polynom 3. Grades berechnet.

$$C = a_0 + a_1 E + a_2 E^2 + a_3 E^3 + \dots$$

$a$  = Koeffizienten (Die Koeffizienten werden mit der Methode der kleinsten Quadrate bestimmt)

VK-Wert: siehe oben (lineare Regression)

Über die Taste  können die berechneten Parameter der gespeicherten Kalibrationsgerade ausgedruckt werden.

# 12 Auswertung

## ***Probenverdünnung und Schichtdicke der Küvette***

Siehe Abschnitt 12.1.

## **12.4 OD 600**

Die gemessenen Werte werden als bei der Wellenlänge 595 nm gemessene Extinktionswerte ausgegeben.

## ***Probenverdünnung und Schichtdicke der Küvette***

Siehe Abschnitt 12.1.

# 13 Überprüfung des Photometers

Zur Überprüfung der photometrischen Richtigkeit und der Wellenlängenrichtigkeit wird von Eppendorf ein Filtersatz (Sekundär-UV-VIS-Filter, Best.-Nr. 6131 928.007) angeboten. Der Satz enthält drei Filter ("Sample A1", "Sample A2" und "Sample A3") zur Überprüfung der photometrischen Richtigkeit und zwei Filter ("Sample 260 nm" und "Sample 280 nm") zur Überprüfung der Wellenlängenrichtigkeit. Die Extinktionen der Filter werden gegen ein Leerwertfilter ("Blank A0") gemessen.

Zur Messung werden Leerwertfilter und "Probenfilter" (Prüffilter) wie Küvetten in den Küvettenhalter eingesetzt. Dabei muß der Aufkleber mit der Filterbezeichnung zum Anwender hin zeigen. Die für die Prüffilter gemessenen Extinktionswerte werden gegen den zulässigen Wertebereich verglichen. Die Grenzwerte für den zulässigen Bereich sind für die einzelnen Filter in einer Tabelle im Deckel des Filterkastens abgedruckt (siehe in der Abbildung: "X.XXX – X.XXX A").

eppendorf				BioPhotometer		
Secondary -UV - VIS - Filter				Order No./Best.Nr.:6131 928.007		
		Limits Grenzwerte		measured against <b>Blank A0</b> at approx. 20 °C gemessen gegen <b>Blank A0</b> bei ca. 20 °C		
		Photometric accuracy Photometrische Richtigkeit			Wavelength accuracy Wellenlängenrichtigkeit	
Filter Type	Blank A0	Sample A1	Sample A2	Sample A3	Sample 260 nm	Sample 280 nm
230nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A		
260nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	
280nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A		X.XXX - X.XXX A
320nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A		
562nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A		
595nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A		
Code	914 XXX	921 XXX	922 XXX	923 XXX	916 XXX	917 XXX
Please protect against dust, heat and liquid Bitte vor Staub, Hitze und Flüssigkeiten schützen The limits are valid for max. 2 years as of the date on the right. Die Grenzwerte gelten für max. 2 Jahre ab Datum.				Date/Datum	Signature/Unterschrift	

Abb.: Deckel des Filterkastens 6131 928.007 (Innenseite)

# 13 Überprüfung des Photometers

## Prüfablauf

- Prüfung bei ca. 20 °C durchführen.
- Filter nur kurzfristig dem Filterkasten entnehmen und vor Verschmutzung oder Beschädigung der Filteroberflächen schützen.
- Filter vor Staub, Hitze, Flüssigkeit und aggressiven Dämpfen schützen.
- Filter immer so einsetzen, daß der Aufkleber mit der Filterbezeichnung zum Anwender hin zeigt.
- Funktion "Photometertest" aufrufen.  
Diese Funktion ist in Geräten mit der Software-Version ab V 1.20 enthalten. Für den Gebrauch der Prüffilter mit älterer Software-Version wenden Sie sich bitte an Eppendorf.
- Prüffilter anwählen
  - "A1", "A2" oder "A3" für die Messung der photometrischen Richtigkeit bei 230, 260, 280, 320, 562 und 595 nm.
  - "A260" oder "A280" für die Messung der Wellenlängenrichtigkeit bei 260 bzw. 280 nm.
  - "A??" ist nur für Prüfungen durch den Eppendorf-Service vorgesehen.
- Den Anweisungen im Display des Photometers für die Messung von "Blank" und "Probe" folgen. Das Gerät führt 10 Messzyklen durch und druckt danach die Mittelwerte für die Extinktionen bei den jeweiligen Wellenlängen aus.
- Extinktionswerte mit dem zulässigen Wertebereich vergleichen.
- Zusätzlich zu Informationen über die Richtigkeit enthält der Ausdruck Informationen über die Präzision: Aus den jeweils 10 Messungen pro Filter und Wellenlänge werden jeweils Standardabweichung und VK berechnet.

Sollten die gemessenen Extinktionswerte nicht mit dem zulässigen Wertebereich übereinstimmen, wenden Sie sich bitte an den Service von Eppendorf. Die Filter sollten nach 2 Jahren von Eppendorf neu kalibriert werden.

## **Konformitätsbescheinigung für BioPhotometer 6131**

gemäß Anlage 15 zur Eichordnung

### Meßtechnische Beschreibung

Art: Einstrahl-Photometer mit Referenzstrahl und festen Wellenlängen  
Typ: BioPhotometer 6131  
Hersteller / Vertreiber: Eppendorf – Netheler – Hinz GmbH, Hamburg  
Gebrauchsanweisung: Bedienungsanleitung

#### 1. Meßsystem

Strahlengang: Lampe > Blende > Linse > Blende > Küvette > Blende > Beugungsgitter > Blenden > Fotodioden  
Strahler: Xenon-Blitz-Lampe  
Kontinuum-Spektralbereich 220 bis 2000 nm  
Spektralapparat: Gitter-Polychromator  
Strahlungsempfänger: Silizium-Fotodioden  
Spektralbereich 200 bis 1100 nm  
Küvette: Quarzglas, Optisches Spezialglas oder Kunststoff, je nach Meßwellenlänge  
Küvettentypen: 10 mm Makro mind. Vol. 1000 µl  
10 mm Halbmikro mind. Vol. 400 µl  
10 mm Absaug mind. Vol. 300 µl  
10 mm Ultramikro mind. Vol. 70 µl  
Küvettemperierung: nicht vorhanden  
Meßwertanzeige: Beleuchtete, grafische LCD 33 x 66 mm<sup>2</sup>  
Angezeigte Meßgrößen: Extinktion, Massenkonzentration, molare Konzentration

#### 2. Meßverfahren

Bestimmung des Küvettenleerwertes: Wellenlängenabhängiger Einzelmeßwert der jeweiligen Küvette  
Konzentrationsbestimmung: Lambert-Beer-Bourguer Gesetz  
Vergleichsmessung an Referenzmaterial: Überprüfung mit kalibrierten Sekundärstandards

#### 3. Meßbereich des spektralen Absorptionsmaßes

Bereich: 0,000 bis 3,000 E  
Außerhalb dieses Meßbereiches und bei anderen als den folgenden Nenngebrauchsbedingungen können die aufgeführten Fehlergrenzen überschritten werden.

#### 4. Nenngebrauchsbedingungen

Küvettenleerwert: Abhängig von der verwendeten Küvette  
Meßwellenlängen: Xenon 230, 260, 280, 320, 562, 595 nm  
Anwärmzeit: keine  
Betriebsspannung: 100 bis 240 V ± 10 %, 50 bis 60 Hz ± 5 %  
Umgebungstemperatur: 15 bis 35 °C  
Relative Luftfeuchte: 15 bis 70 %

#### 5. Fehlergrenzen und andere Grenzwerte

Relative photometrische Unsicherheit des spektralen Absorptionsmaßes bei allen Meßwellenlängen für eine Einzelmessung: ± 1,5 % bei 1 E

Relative photometrische Kurzzeit-Standardabweichung: ≤ 0,5 % bei 1 E  
Wellenlängenunrichtigkeit: ± 1 nm bei 230 bis 280 nm, ± 2 nm bei 320 bis 595 nm

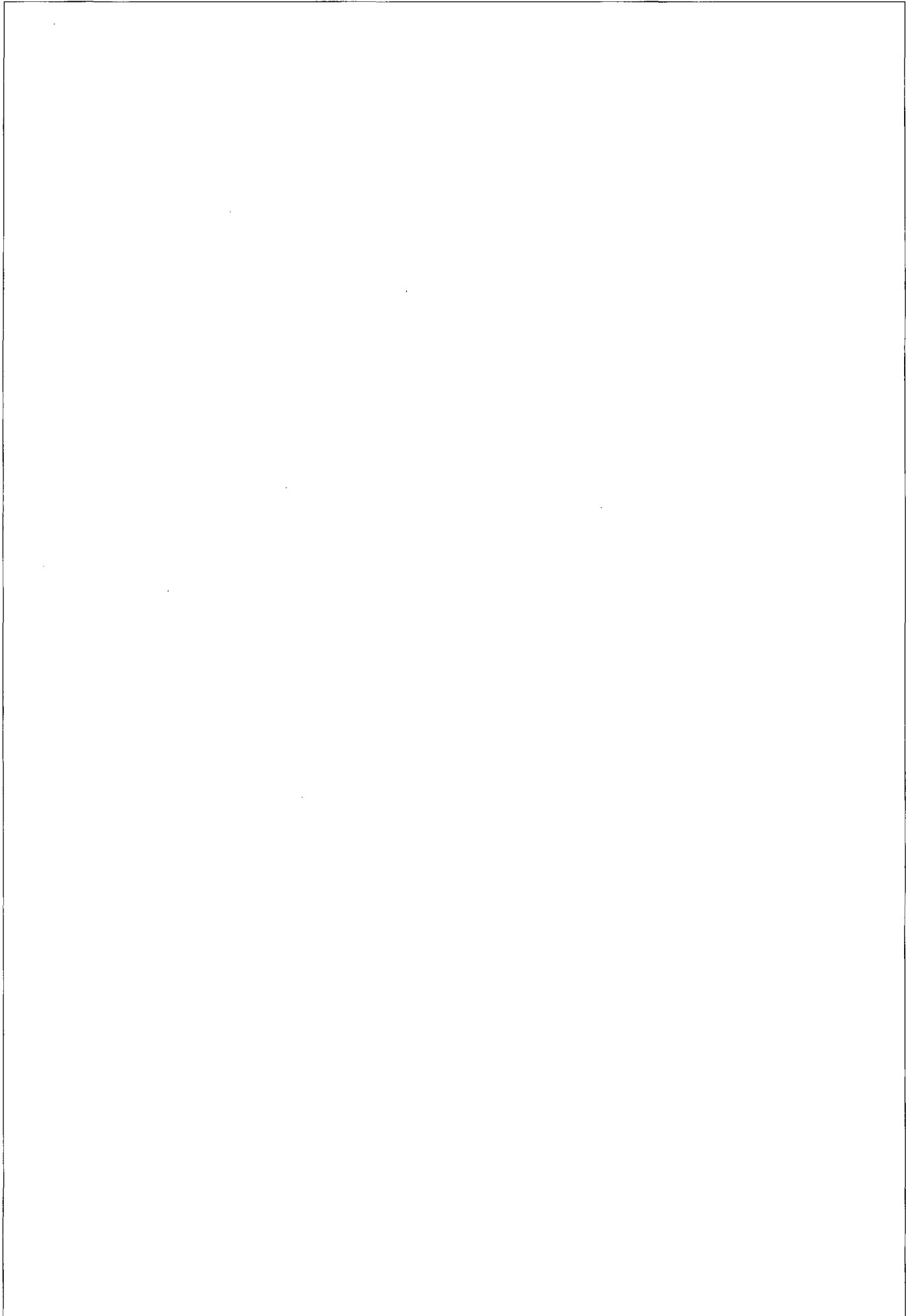
Spektrale Halbwertbreite: ≤ 5 nm bei 230 bis 320 nm, ≤ 7 nm bei 562 und 595 nm  
Integraler Fehlstrahlungsanteil: ≤ 0,03 % bei 260 nm mit GG 375-3 (Schott)

Datum: 25.09.1997

Eppendorf – Netheler – Hinz GmbH  
– Qualität und Normen –

# Contents

<b>1</b>	<b>Overview</b> .....	<b>49</b>
<b>2</b>	<b>Technical data</b> .....	<b>51</b>
<b>3</b>	<b>Safety precautions and prevention of damage</b> .....	<b>53</b>
<b>4</b>	<b>Installation</b> .....	<b>54</b>
4.1	BioPhotometer .....	54
4.2	Printer .....	55
4.3	Cuvettes .....	56
<b>5</b>	<b>Operation</b> .....	<b>57</b>
5.1	Keypad .....	57
5.2	Measuring nucleic acids .....	59
5.3	Direct photometric measurement of protein .....	61
5.4	Measuring proteins with reagent (Bradford, BCA, Lowry) .....	63
5.5	Measuring OD 600 .....	66
5.6	Measuring diluted samples .....	67
5.7	Changing the sample number .....	68
<b>6</b>	<b>Programming</b> .....	<b>69</b>
6.1	Programming procedure .....	69
6.2	Overview of parameters .....	71
6.3	Explanation of parameters .....	72
6.4	Factory-set programmed values .....	74
<b>7</b>	<b>Functions</b> .....	<b>75</b>
<b>8</b>	<b>Error messages, result flagging and help texts</b> .....	<b>77</b>
<b>9</b>	<b>Maintenance and cleaning</b> .....	<b>80</b>
<b>10</b>	<b>Short instructions</b> .....	<b>81</b>
<b>11</b>	<b>Ordering information</b> .....	<b>85</b>
<b>12</b>	<b>Calculation</b> .....	<b>86</b>
12.1	Nucleic acids (dsDNA, ssDNA, RNA, oligo) .....	86
12.2	Direct photometric determination of protein .....	87
12.3	Protein with addition of reagent .....	88
12.4	OD 600 .....	89
<b>13</b>	<b>Testing the photometer</b> .....	<b>92</b>
	<b>Conformity Declaration for BioPhotometer 6131</b> .....	<b>92</b>



# 1 Overview



- |  |                         |
|--|-------------------------|
| 1 Device display                         | 5 <b>Dilution</b> key   |
| 2 9 method keys                          | 6 <b>Conversion</b> key |
| 3 <b>Function</b> key (device functions) | 7 Measuring keys        |
| 4 <b>Parameter</b> key (programming key) | 8 Cuvette shaft         |

The main power key, main power connection and printer connection are located on the rear of the device (see Section 4, "Installation").

The BioPhotometer from Eppendorf is used for rapid, simple and convenient measurement of the most common methods in research labs in the fields of molecular biology and biochemistry.

## Cuvettes

Standard rectangular cuvettes made of glass or plastic that transmit light at every measuring wavelength may be inserted into the cuvette shaft. Using the UVette<sup>®</sup> from Eppendorf, it is now possible to measure nucleic acids in a plastic cuvette.

The height of the measuring window (8.5 mm) must be taken into consideration when the cuvettes are selected. To ensure correct, precise results, please ensure that the cuvettes are clean and that the measuring solution is particle-free. A seal is included with the device to protect the cuvette shaft from dust when not in use.

# 1 Overview

## Methods

There are twelve preprogrammed factory-set methods which can be called up at the push of a button:

### **Nucleic acids**

<b>dsDNA</b>	Double-stranded DNA
<b>ssDNA</b>	Single-stranded DNA
<b>RNA</b>	RNA
<b>Oligo</b>	Oligonucleotides


### **Proteins**

<b>Protein</b>	Direct photometric measurement
<b>Bradford</b>	Bradford method
<b>Bradford micro</b>	Bradford method, low concentration range
<b>Lowry</b>	Lowry method
<b>Lowry micro</b>	Lowry method, low concentration range
<b>BCA</b>	BCA method
<b>BCA micro</b>	BCA method, low concentration range

### **Bacteria density**

<b>OD 600</b>	Turbidity measurement
---------------	-----------------------

## Method

Each method has an accompanying, factory-set program that contains different parameters, such as units of concentration and type of calculation. The method programs can be changed at any time using the  key. Before using a method for the first time, call up the corresponding method program and – if necessary – adapt it to suit your requirements. For methods which are to be calculated using calibration by standard measurements, the number and nominal concentrations of the standards must be adapted.



## Measurement

For measurement purposes, the desired method should be called up using the appropriate measuring key. The Bradford, Lowry and BCA methods have the same special feature: For each of these methods, two different calculation ranges may be programmed. It is possible to toggle between the two method programs (e.g. "BCA" and "BCA micro") by pressing the method key repeatedly.

Pressing one of the three oval measuring keys starts the measurement. The device is ready to measure immediately after being switched on. An indication as to which of the three measuring keys should be used for a measurement can be found in the lower part of the device display (Details on the measuring process can be found in Section 5, "Operation").


## Calculation

It is possible to calculate the result automatically using method-specific programmed calculation modes (factor, calibration, Warburg formula or direct absorbance output). In addition to the calculated results, the absorbances and (for nucleic acids) the common absorbance ratios appear in the display.

Sample dilutions can also be included in the calculation process ( key). The calculated mass concentrations for nucleic acids can be converted into molar concentrations by pressing the  key. This key can also be used to calculate the total sample quantity ("yield") in the sample vessel.

## Results printout

The results appear in the device display and can be printed out (if the printer is connected). A data transfer program is available from Eppendorf for evaluating your results on a computer using a calculation program (see Sec. 11, "Ordering information").

Sample results and calibration results are stored; this data can be called up by pressing the  key.

## 2 Technical data

### **Photometer**

Optical system:	Absorption single-beam photometer with reference beam and several fixed wavelengths
Light source:	Xenon flash lamp
Spectral dispersion:	Holographic concave grating
Measuring wavelengths:	Xe 230, 260, 280, 320, 562, 595 nm
Wavelength selection:	Method-dependent, program-controlled
Spectral bandwidth:	5 nm at 230 to 320 nm 7 nm at 562 to 595 nm
Wavelength inaccuracy:	$\pm 1$ nm at 230 to 280 nm $\pm 2$ nm at 320 to 595 nm
Photometric measuring range:	Quartz glass cuvette: 0.000 to 3.000 A UVette® (Eppendorf): 2.5 A at 230 nm 2.6 A at 260 nm 2.8 A at 280 nm 2.9 A at 320 nm
Photometric imprecision:	$\leq 0.002$ A at 0 A $\leq 0.005$ A at 1 A
Photometric inaccuracy:	$\pm 1$ % at 1 A
Stray-light proportion:	< 0.05 %

### **Measuring procedures**

Measuring procedure:	End-point against blank
Method-dependent calculation:	Absorbance Concentration via factor Concentration via Warburg formula Concentration via calibration with 1 to 10 standards One-point calibration (1 standard) Linear regression (2 to 10 standards) Non-linear regression (3rd degree polynomer; 4 or 5 to 10 standards; see Section 12, "Calculation") 1 x, 2 x or 3 x determination For nucleic acids: Ratio 260/280 Ratio 260/230 Molar concentration Total yield

### **Memory**

Method memory:	12 preprogrammed, modifiable method programs
Calibration memory:	For all calibration procedures
Results memory:	For 100 results with absorbance and ratio values, sample number, sample dilution, date and time (calendar up to 2090)

## 2 Technical data

### Operation

Cuvette material:	dsDNA, ssDNA, RNA, Oligo, Protein: Quartz glass or plastic (UVette® from Eppendorf)
	OD 600, Bradford, Lowry, BCA: Glass or plastic
Cuvette shaft:	12.5 mm x 12.5 mm, not temperature-controlled
Overall height of cuvettes:	Min. 36 mm
Height of light beams in the cuvette:	8.5 mm
Light bundle in the cuvette:	Width: 1 mm Height: 1.5 mm
Keypad:	19 foil keys
Display:	Illuminated graphic display, 33 mm x 60 mm
User guidance:	German, English
Results output:	Via display and printer Absorbance, concentration, ratio

### General data

Supply voltage:	100 to 240 V ± 10 %; 50 to 60 Hz ± 5 %
Overvoltage category:	II (IEC 61010-1)
Pollution degree:	2 (IEC 664)
Power requirement / power output:	Approx. 20 W in operation, approx. 10 W in Standby mode
Current consumption:	< 0.3 A
Permitted mains interruption:	Approx. 10 ms at 90 V Approx. 200 ms at 220 V
Fuses:	T 1 A / 250 V, 5 mm x 20 mm (2 pcs.)
Ambient conditions:	15 to 35 °C with defined precision and accuracy -25 to 70 °C when not in operation or when stored 15 to 70 % relative humidity Cannot be used in tropical climate Keep out of direct sunlight
Printer connection:	RS-232 C, serial The printer that is connected must comply with the requirements of EN 60950 or UL 1950.
Standards and regulations:	Complies with VDE, CE, IEC 1010-1
Dimensions:	Width: 20 cm (packaged: 29 cm) Depth: 32 cm (packaged: 43 cm) Height: 10 cm (packaged: 20 cm)
Weight:	3 kg (packaged: 4,8 kg)

Technical specifications subject to change.

### **3 Safety precautions and prevention of damage**

#### **Technical safety**

- Do not open the device.
- Do not allow any liquid to enter into the device.
- Disconnect the device from the mains supply before carrying out maintenance work or changing the fuses.  
The inside of the device is a high-voltage area. Danger!
- Do not operate the device in a hazardous location or potentially explosive environment.
- Do not use the device if it is damaged, especially if the main power cable is in any way damaged or defective.
- Repairs may only be carried out by the service technicians from Eppendorf – Netheler – Hinz GmbH and by authorized contractual partners.
- The device must be connected to a power outlet that has a protective ground connection.
- If the equipment is used in a manner not specified by the manufacturer, the protection provided by the equipment may be impaired.

#### **Handling biological and chemical material**

- Reagents and dilution buffers can cause cauterization and other damage to health.
- Samples (nucleic acids, proteins, bacteria cultures) can be infectious and cause serious damage to health.
- During sample preparation, measuring procedures and maintenance and cleaning work, observe all local laboratory safety precautions (e.g. wear protective clothing and gloves, use of disinfectant) regarding the handling of sample material.
- Dispose of measuring solutions and cleaning and disinfectant materials in accordance with the relevant local laboratory regulations.



# 4 Installation

## 4.2 Printer

### **Printer DPU 414**

The Eppendorf Thermal Printer DPU 414 can be connected to the serial interface RS-232 C of the BioPhotometer (see Section 11, "Ordering information").

- Insert the printer cable into the printer connection socket of the BioPhotometer (see photo) and tighten the safety screws on the plug to secure.
- Connect the printer cable to the printer and tighten the safety screws on the plug to secure.
- Connect up to the power supply using a 115 V or 230 V mains cable.

### **Setting the printer function**

#### **BioPhotometer**

- Select the function "Printer DPU 414" in the function list, and confirm.

#### **Printer DPU 414**

- Check the printer settings. If necessary, set the printer for use with the BioPhotometer, as described in the printer supplement.

Printer settings for working with the BioPhotometer:

#### **Dip SW-1**

- 1 (OFF) : Input = Serial
- 2 (ON) : Printing Speed = High
- 3 (ON) : Auto Loading = ON
- 4 (ON) : Auto LF = ON
- 5 (ON) : Setting Command = Enable
- 6 (OFF) : Printing
- 7 (ON) : Density
- 8 (ON) : = 100 %

#### **Dip SW-2**

Settings made by the user are not relevant for the group "Dip SW-2" because the BioPhotometer assumes these settings automatically in accordance with the language version selected.

#### **Dip SW-3**

- 1 (ON) : Data Length = 8 bits
- 2 (ON) : Parity Settings = No
- 3 (ON) : Parity Conditions = Odd
- 4 (OFF) : Busy Control = XON/XOFF
- 5 (OFF) : Baud
- 6 (ON) : Rate
- 7 (ON) : Select
- 8 (ON) : =9600 bps

## 4 Installation

### **Other printers**

In addition to the DPU 414, it is also possible to connect other serial printers to the serial interface of the BioPhotometer. With the aid of an adapter cable, parallel printers can also be connected.

### **BioPhotometer**

- Select the function "Printer serial" in the functions list, and confirm.

### **Printer**

Requirements for the serial printer:

Busy Control : XON/XOFF  
Baud Rate(ON) : 9600 bps  
Data Bit Length : 8 bits  
Parity Permission : Without  
Parity Conditions : Odd

Parallel printers can be connected using an adapter cable which fulfills the above requirements.

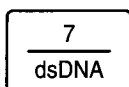
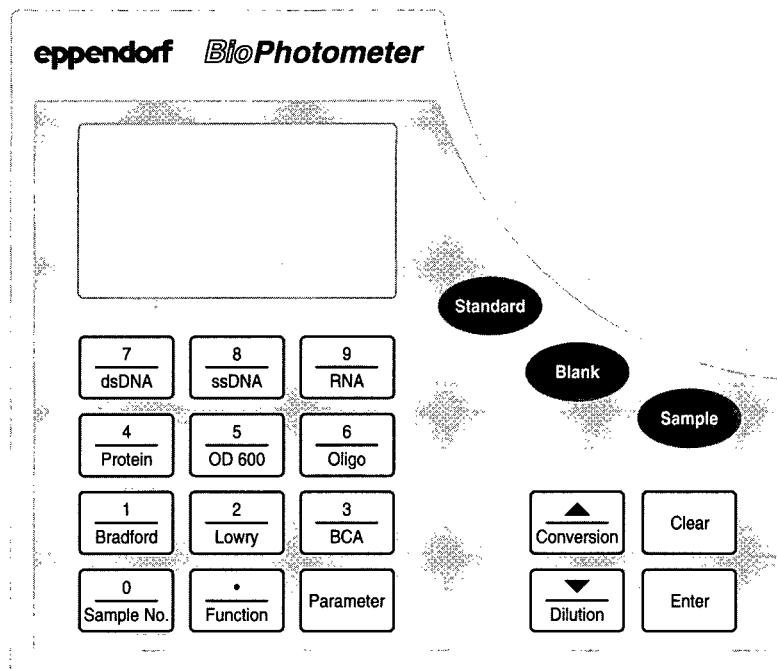
### **4.3 Cuvettes**

Commercially available rectangular cuvettes may be used in the cuvette shaft. When the height of the measuring window is 8.5 mm above the cuvette base and the overall height of the cuvette is at least 36 mm (see the graphics in "Short instructions"). The light bundle in the cuvette is 1.0 mm wide and 1.5 mm high.

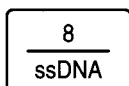
For measurements, cuvettes made of glass or plastic may be used on condition that they are transparent at the respective measuring wavelength. The UVette® from Eppendorf is a plastic cuvette which is transparent at wavelengths as low as 220 nm, which means that it is also suitable for nucleic acid measurement.

# 5 Operation

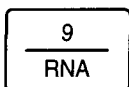
## 5.1 Keypad



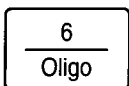
- To call up the "Double-stranded DNA" method.
- To enter figure 7.



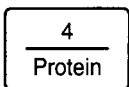
- To call up the "Single-stranded DNA" method.
- To enter figure 8.



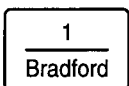
- To call up the "RNA" method.
- To enter figure 9.



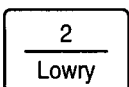
- To call up the "Oligonucleotide" method.
- To enter figure 6.



- To call up the "Protein (direct photometric measurement)" method.
- To enter figure 4.

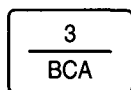


- To call up the "Bradford" and "Bradford micro" methods.
- To switch between the "Bradford" and "Bradford micro" methods.
- To enter figure 1.

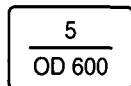


- To call up the "Lowry" and "Lowry micro" methods.
- To switch between the "Lowry" and "Lowry micro" methods.
- To enter figure 2.

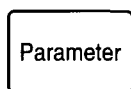
## 5 Operation



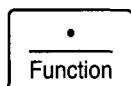
- To call up the "BCA" and "BCA micro" methods.
- To switch between the "BCA" and "BCA micro" methods.
- To enter figure 3.



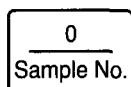
- To call up the "OD 600 (measuring the bacteria density)" method.
- To enter figure 5.



- To call up the programming level.
- To exit the programming level.



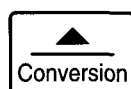
- To call up the function level.
- To exit the function level.
- To enter a point.



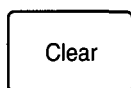
- To change the sample number.
- To enter figure 0.



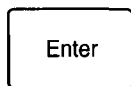
- To enter the dilution.
- To move the cursor to the next line.  
(e.g. in the parameter list or function list).



- To calculate the molar concentration and the total amount of sample ("yield").
- To move the cursor to the previous line.  
(e.g. in the parameter list or function list).



- To delete entries.



- To confirm entries.



- To measure a standard.



- To measure a blank.



- To measure a sample.

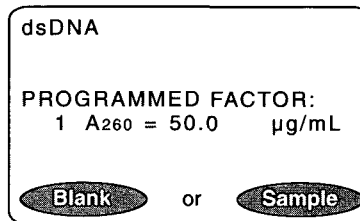
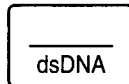
# 5 Operation

## 5.2 Measuring nucleic acids

This description is valid for the following methods:

- dsDNA
- ssDNA
- RNA
- Oligo

**Call up method**



### Calculation

The factory-set factors are those which are normally used with nucleic-acid methods for the conversion of UV absorbance into concentration (in this example: 50). The factors can be changed using the Parameter key (see "Programming"). The number of decimal places of the result is determined by the number of decimal places of the programmed factor.

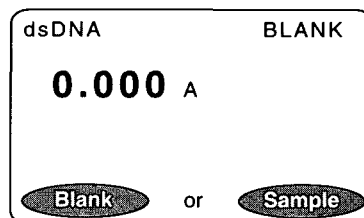
If a unit of concentration other than µg/mL is selected (e.g. µg/µL), the BioPhotometer converts the factor internally in order to produce the correct result.

### Measuring procedure

Blank measurements remain stored until the date changes. If a blank has already been measured on the same day, the BioPhotometer offers the following in the last line of the display after method call-up:

- To measure a new blank *or*
  - To measure a sample directly and to use the stored blank.
- If no blank has been measured on the same day, the instrument will only allow blank measurement.

**Measure blank**



## 5 Operation

### Measure sample




```
dsDNA      SAMPLE 001
          70.0 µg/mL
          0.694 A230
          1.408 A260
1.97 260/280 0.715 A280
2.03 260/230 0.002 A320
```


### Results display

As an indication of the purity of the nucleic acid sample which has been measured, the absorbance at 230, 280 and 320 nm as well as the ratios A260/A280 and A260/A230 are displayed in addition to the concentration result and the absorbance at a wavelength of 260 nm. With pure samples, the absorbance at 320 nm should be approximately zero.

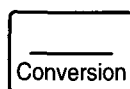
### Measure next sample

To measure the next sample, press the  key again.

### Sample dilution

The sample dilution in the measuring cuvette can be entered using the  key before the measurement starts and is included automatically in the result calculation (see "Measuring diluted samples").

### Conversion key



The most-recently measured concentration result can be converted into molar concentrations and/or into nucleic acid quantities (unit of mass or unit of mol):

```
CALC. AMOUNT:
TOTAL SAMPLE- - - - µL

CALC. MOLARITY:
BASE PAIRS    - - - -
MOL.MASS     - - - - kDa
```

### Entering "TOTAL SAMPLE"

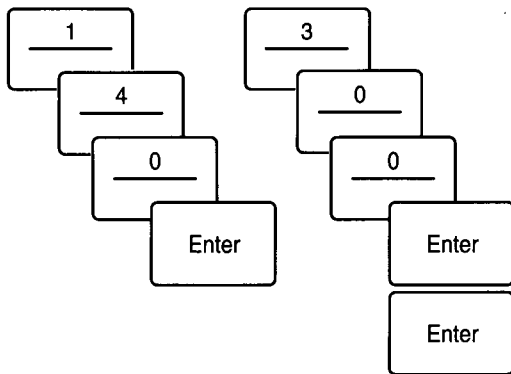
The value entered is converted using the concentration measured. The result shown is the quantity of nucleic acid present in the sample.

### Entering "BASE PAIRS" or "MOL.MASS"

It is sufficient to make an entry in only one of the two lines. The molar concentration is calculated using the value entered and the concentration measured.

Input fields can be skipped using the  key.

# 5 Operation



Display after entry of "140  $\mu$ L sample volume" and "300 base pairs":

dsDNA	SAMPLE 001
<b>70.0</b> $\mu$ g/mL	
353.5 pmol/mL	
9.8 $\mu$ g	
49.5 pmol	

The molar unit of concentration (here: "pmol/mL") is preprogrammed, but can be selected and changed using the  key.

## 5.3 Direct photometric measurement of protein

Call up method

PROTEIN
ABSORBANCE
<input type="button" value="Blank"/> or <input type="button" value="Sample"/>

### Calculation

For the "protein" method, the "absorbance" calculation mode is stored, i.e. only the absorbances which are measured directly appear in the display. Calculations via the following calculation procedures can be programmed using the  key (see Section 6 "Programming"):

- Factor
- Standard (One-point calibration)
- Warburg formula

The number of decimal places of the preprogrammed factor or the preprogrammed nominal concentration of the standard determines the number of decimal places in the result.

When programming the factor, please ensure that the factor is adapted in line with the unit of concentration selected.

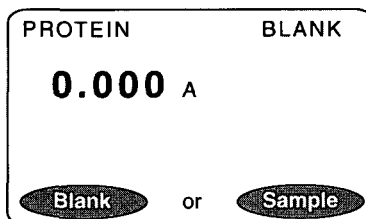
## 5 Operation

### Measuring procedure

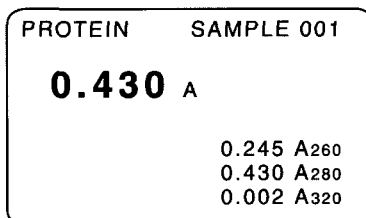
The following example shows the measuring procedure for the "Absorbance" calculation mode. For details of the measuring procedure via standard (one-point calibration), please refer to "Measuring proteins with reagent".

Blank measurements remain stored until the date changes (For further details, please refer to "Measuring nucleic acids").

**Measure blank**




**Measure sample**




### Results display

In addition to the concentration result and the absorbance at the measuring wavelength of 280 nm, A260 and A320 appear in the display as an indication of the purity of the sample. The absorbance at 320 nm should be approximately zero.

**Measure next sample**

To measure the next sample, press the  key again.

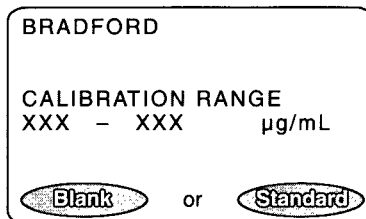
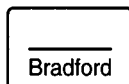
**Sample dilution**

Sample dilution in the measuring cuvette can be entered using the  key before the measurement begins and is then included automatically in the following calculation of sample concentrations (see "Measuring diluted samples").

## 5 Operation

### 5.4 Measuring proteins with reagent (Bradford, BCA, Lowry)

Call up method




If a valid calibration (which is then stored by the device) has already been performed, the date and time of the stored calibration appear. In this case, the method can be recalibrated after blank measurement or the sample measurements may begin directly and can then be calculated using the previously stored calibration.

#### Micro methods

The Bradford, Lowry and BCA methods have a special feature: Two different concentration ranges may be programmed for each of these methods. It is possible to toggle between the two methods (e.g. "BCA" and "BCA micro") by pressing the method key repeatedly.

#### Calculation

For the Bradford, Lowry and BCA methods, the device contains a factory-set calibration procedure via multiple-point calibration and calculation of a calibration curve via non-linear regression. Other calculation methods may be programmed using the  key (see Section 6 "Programming"):

- Factor (calculation of concentration values via factor).
- Absorbance (the measured values appear as absorbance values with no further calculation).

The following parameters may be changed for the factory-set calculation procedure via standard (see "Programming").

- Number of standards (1 to 10).
- Number of multiple measurements per standard (1 to 3).
- Calculation procedure for multiple-point calibration (linear or non-linear calibration).
- Nominal concentrations of the standards.

The number of decimal places of the preprogrammed factor or the preprogrammed nominal concentration of the standard determines the number of decimal places in the result.

In the case of calculation via factor, please ensure that the factor is adapted in line with the unit of concentration selected.

## 5 Operation

### Measuring procedure

Blank measurements remain stored until the date changes  
(For further details, see "Measuring nucleic acids").

Standard measurements remain stored until they are overwritten  
with new standard measurements. For the calculation of sample  
measurements, the most-recently stored calibration is used.

In the following example, multiple-point calibration with 5 standards  
in double determination and calibration calculation via non-linear  
regression was programmed as a calculation procedure for the  
Bradford method:

Measure blank



BRADFORD	BLANK
<b>0.000</b>	A
Blank	or Standard
	Sample

Measure standards



BRADFORD	STD 1-1
	XXXX µg/mL
<b>X.XXX</b>	A
NEXT:	STD 1-2
	XXXX µg/mL

Standard 1 /  
first measurement

The first two lines of the display contain the standard that has just  
been measured. The last two lines of the display contain the next  
standard which is to be measured, with the nominal concentration.



BRADFORD	STD 1-2
	XXXX µg/mL
<b>X.XXX</b>	A
NEXT:	STD 2-1
	XXXX µg/mL

Standard 1 /  
second measurement

## 5 Operation

Device display following all standard measurements:

```
BRADFORD      STD 5-2
                XXXX µg/mL
  X.XXX A
CV: 2.8%
CALIBRATION STORED
```

The CV (coefficient of variation) is a measure of the scattering of standard values around the regression curve. If the CV is smaller than 10 %, the calibration is stored automatically. If the CV is greater than 10 %, the question "STORE? ENT/CLR" appears, and you may then accept or delete the calculated calibration. Sample measurements are calculated using the most-recent valid calibration.

**Measure sample**




```
BRADFORD  SAMPLE 001
  X.XXX µg/mL
                X.XXX A595
```


### **Results display**

In addition to the concentration result, the absorbance at the respective wavelength (for Bradford: 595 nm) appears in the display.

**Measure next sample**

To measure the next sample, press the  key again.

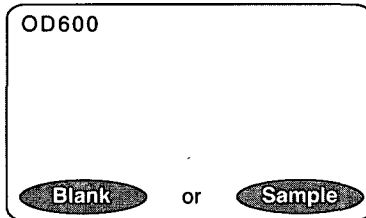
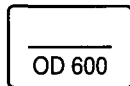
**Sample dilution**

Sample dilution in the measuring cuvette can be entered using the  key before the measurement begins and is then included automatically in the result calculation (see "Measuring diluted samples").

# 5 Operation

## 5.5 Measuring OD 600

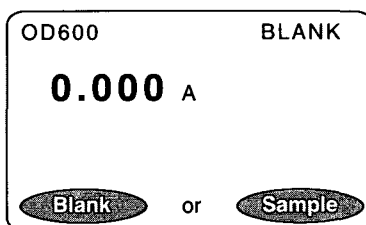
Select method



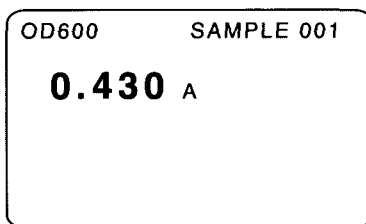
### Measuring procedure

Blank measurements remain stored until the date changes (for further details, see "Measuring nucleic acids").

Measure blank





Measure sample



Measure next sample

Sample dilution


To measure the next sample, press the  key again.

Sample dilution in the measuring cuvette can be entered using the  key before the measurement begins and is then included automatically in the result calculation (see "Measuring diluted samples").

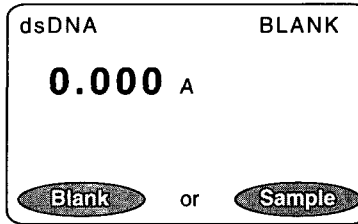
The OD 600 measurement is a stray-light measurement; the result is therefore heavily dependent on the geometry of the light path, which may vary between photometers from different manufacturers.

# 5 Operation

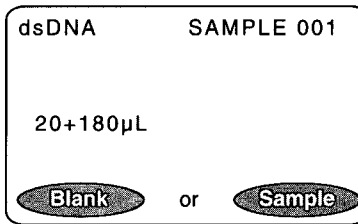
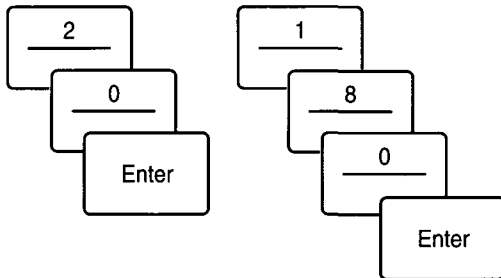
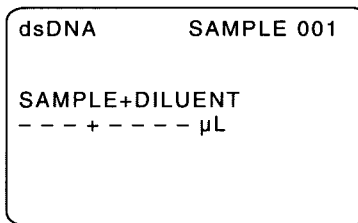
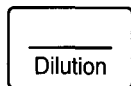
## 5.6 Measuring diluted samples

Sample dilutions may be entered using the  key before the measurement begins. When the result is calculated and displayed, the dilution factor is included automatically.

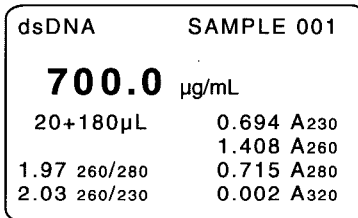
In the following example, a blank has already been measured:



Enter dilution





Measure diluted sample



The sample dilution is included in the result. The dilution factor entered remains stored for the calculation of further sample results until it is overwritten.

Deleting dilution entry

To delete the dilution factor, press the  key again. The values for "Sample" and "Diluent" are then deleted using the  key or are overwritten with "zero".

## 5 Operation

### 5.7 Changing the sample number

During sample measurements, the serial number of the sample appears in the top right of the display. The sample number is counted separately for each method and is reset to "1" when the date changes.

The sample number can be changed as desired (e.g. for repeat measurements):

**Change  
sample number**

0
Sample No.

dsDNA	SAMPLE 005
<b>70.0</b> $\mu\text{g/mL}$	
2+180 $\mu\text{L}$	0.694 A230
	1.408 A260
1.97 260/280	0.715 A280
2.03 260/230	0.002 A320

dsDNA	SAMPLE 005

3
---


Enter
-------

dsDNA	SAMPLE 003	
Blank	or	Sample

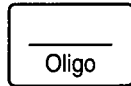
For the next sample to be measured, the sample number was set to "3". Additional samples are counted serially from the newly-entered number onwards.

# 6 Programming

## 6.1 Programming procedure

For each method, parameters such as the type of calculation or the unit of concentration are stored. The factory-set method programs can be changed using the  key.

**Call up method**

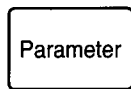


```

OLIGO
PROGRAMMED FACTOR:
  1 A260 = 30.0 µg/mL

Blank or Sample
    
```

**Call up parameter list**




```

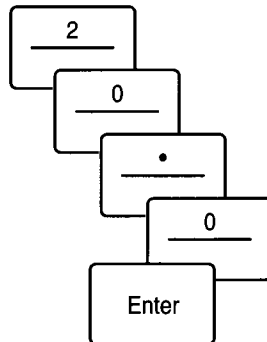
OLIGO          PAGE 1-3
▶FACTOR          30.0
CORR. WITH A320 OFF *
.....         ON -
    
```

There are different parameter lists for the various different methods, all of which can be modified (see Section 6.2 for overview). The parameters for the "Oligo" methods extend across three pages of the device display.

### Example: Changing the factor

Any numbers that are entered are stored by pressing  :

**Enter factor and store**



```

OLIGO          PAGE 1-3
FACTOR          20.0
▶CORR. WITH A320 OFF *
.....         ON -
    
```

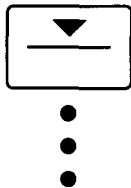
After the factor has been stored, the cursor moves to the next parameter-selection block ("Correction with A<sub>320</sub>").

# 6 Programming

## Example: Changing the unit

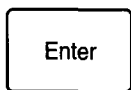
Selection parameters are selected using the cursor keys and confirmed by pressing . The stored setting is marked with an asterisk (\*):

Select parameter



OLIGO	PAGE 2-3
UNIT	µg/mL *
.....	ng/µL -
▶.....	µg/µL -
M. UNIT	pmol/µL *
.....	µmol/L -

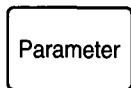
Store parameter



OLIGO	PAGE 2-3
UNIT	µg/mL -
.....	ng/µL -
.....	µg/µL *
▶M. UNIT	pmol/µL *
.....	µmol/L -

After the unit of concentration "µg/µL" has been stored, the cursor moves to the next selection block ("molar unit").

Exit parameter level



To exit the parameter level, select the line "PARAMETER END" and press . Alternatively, press the  key from any parameter line.

OLIGO	
PROGRAMMED FACTOR:	
1 A <sub>260</sub> = 20.0	µg/mL
<input type="button" value="Blank"/>	or <input type="button" value="Sample"/>

# 6 Programming

## 6.2 Overview of parameters

	<i>dsDNA</i> <i>ssDNA</i> <i>RNA</i>	<i>Oligo</i>	<i>Protein</i>	<i>Bradford</i> <i>Brad.micro</i> <i>Lowry</i> <i>Low.micro</i> <i>BCA</i> <i>BCA micro</i>	<i>OD 600</i>
<b>Calculation</b>	(Point 1)	(Point 1)	Absorbance Standard Factor Warburg formula	Absorbance Standard Factor	(Point 1)
<b>Correction with A320</b>	Off On	Off On	Off On		
<b>Unit</b>	µg/mL ng/µL µg/µL	µg/mL ng/µL µg/µL	mg/mL µg/mL	mg/mL µg/mL µg	(Point 2)
<b>Molar unit</b>	pmol/µL µmol/L pmol/mL	pmol/µL µmol/L			
<b>Cuvette</b>	10 mm 5 mm 2 mm 1 mm	10 mm 5 mm 2 mm 1 mm	10 mm 5 mm 2 mm 1 mm	10 mm 5 mm 2 mm 1 mm	10 mm 5 mm 2 mm 1 mm

(For "Factor" calculation only:)

<b>Factor</b>	Entry of numbers	Entry of numbers	Entry of numbers	Entry of numbers	Entry of numbers
---------------	------------------	------------------	------------------	------------------	------------------

(For "Standard" calculation only:)

<b>No. of standards</b>			(Point 3)	Entry of numbers	
<b>Std. measurement</b>			1x 2x 3x	1x 2x 3x	
<b>Regression</b> (Point 4)				Linear Non-linear	
<b>Standard</b>			Entry of numbers	Entry of numbers	

**Point 1:** No selection possible; "Factor" calculation is preprogrammed.

**Point 2:** No selection possible; the unit "Absorbance" is preprogrammed.


**Point 3:** No selection possible; the number of standards "1" is preprogrammed.

**Point 4:** Selection possible only if at least "4" (or, for the single determination of the standard, at least "5") has been entered for the "Std. number" parameter.

# 6 Programming

## 6.3 Explanation of parameters

Parameters are defined as selection parameters or as parameters for entering numbers. In the case of selection parameters, the programmable alternatives are method-dependent (see overview in previous section).

<b>Parameter</b>	<b>Entries</b>	<b>Explanation</b>
Calculation	Selection	Selection of calculation procedures: Absorbance, Factor, Standard and Warburg formula. In the case of calculation using the Warburg formula, the measured value for A <sub>260</sub> is marked in the results display and on the results printout with a "◀".
Factor	Entry of numbers (five-figure)	(Only when the calculation process "Factor" has been selected) Entering a factor; the number of decimal places determines the number of decimal places in the result.
Corr. with A <sub>320</sub>	Selection	(Only for nucleic acid methods and for the direct photometric determination of protein) Selection from "Corr. with A <sub>320</sub> off" and "Corr. with A <sub>320</sub> on"; "Corr. on" means: the absorbance measured at 320 nm is subtracted from the absorbance results at 260, 280 and 230 nm. Example of application: Correction of turbidity in the sample. When the correction function is switched on, the measuring value for A <sub>320</sub> is marked with a "◀" in the results display and on the results printout.
Unit	Selection	The selection from preprogrammed concentration units is method-dependent.
M. unit (molar unit)	Selection	Selection is method-dependent (for nucleic acid measurements only); is required for the conversion of the concentration into molar concentrations (  key).
Cuvette	Selection	Selection from 10 mm, 5 mm, 2 mm and 1 mm optical path length; the result is converted for an optical path length of 10 mm (see Section 12 "Calculation").

## 6 Programming

The following parameters are offered only when the "Standard" calculation procedure has been programmed:

<b>Parameter</b>	<b>Entries</b>	<b>Explanation</b>
Std. number	Entry of numbers ("1" to "10")	Number of different standards.
Std. measurement	Selection	Selection from "1x", "2x", "3x" repeat measurement of each standard; a mean value is formed for the further calculation using the repeat measurements.
Regression	Selection	(Only for standard number of at least 4 (for single determination of standards: 5)) Selection from the calculation procedure linear and non-linear regression. For a number of standards greater than 1 and lower than 4 (or 5 respectively), calculation always takes place via linear regression (See Section 12, "Calculation").
Std. 1 to Std. 10	Entry of numbers (five-figure)	Entry of nominal values of standard concentrations; the number of decimal places of the nominal concentration for the first standard determines the number of decimal places in the result.
















### 6.4 Factory-set programmed values

	<i>dsDNA</i>	<i>ssDNA</i>	<i>RNA</i>	<i>Oligo</i>	<i>Protein</i>	<i>Bradford</i>	<i>Bradford micro</i>	<i>Lowry</i>	<i>Lowry micro</i>	<i>BCA</i>	<i>BCA micro</i>	<i>OD 600</i>
Calculation					Absorbance	Standard	Standard	Standard	Standard	Standard	Standard	
Factor	50.0	37.0	40.0	30.0	----- 1)	----- 1)	----- 1)	----- 1)	----- 1)	----- 1)	----- 1)	1.000
Corr. with A320	off	off	off	off	off							
Std. number						6	6	6	6	8	5	
Std. measurmnt.					1x <sup>2)</sup>	1x	1x	1x	1x	1x	1x	
Regression						non-linear	non-linear	non-linear	non-linear	non-linear	non-linear	
Unit	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/µL	µg/mL <sup>3)</sup>	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	
Molar unit	pmol/mL	pmol/mL	pmol/mL	pmol/µL								
Standard 1					----- 4)	100	1.00	100	1.00	25	0.50	
Standard 2						250	2.5	250	2.5	125	2	
Standard 3						500	5	500	5	250	5	
Standard 4						750	10	750	10	500	10	
Standard 5						1000	15	1000	15	750	20	
Standard 6						1500	25	1500	25	1000		
Standard 7										1500		
Standard 8										2000		
Cuvette	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm

- Notes:
- 1) With "Factor" calculation: Input required from user
  - 2) With "Standard" calculation
  - 3) With "Standard" or "Factor" calculation
  - 4) With "Standard" calculation: Input required from user

# 7 Functions

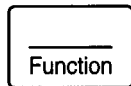
## Functions list

Function	Entries	Explanation
Display results	Call up using  .	<p>Display of the last 100 results (The most-recent result appears first):</p> <p>  : To select the results.</p> <p> : To print out the results that have just been displayed.</p> <p> : To return to the functions list.</p>
Calibration report	Call up using  .	<p>Printout of the calibrations stored;</p> <p>  : To select the method.</p> <p> : To print out the calibration report.</p> <p> : To return to the functions list.</p>
Date	Entry of figures	 : To store.
Time	Entry of figures	 : To store.
Stored absorbance	Call up using  .	To print out the most-recently measured absorbances (max. 100 measurements). Mean value, standard deviation and CV are calculated and printed out for the values of the most-recently measured method.
Precision measurement	Call up using  .	To perform measurement and precision calculation of ten consecutive measuring values of one sample. For evaluation purposes, the method program of the most-recently selected method method is used.
Photometer test	Call up using  .	To check the photometric accuracy and the wavelength accuracy (see Sec. 13, "Testing the photometer").
Sprache Deutsch Language English Language U.S.English langue française	Selection	Selection of language version; Please note that "English" and "U.S.English" differ due to the format of the date.
Printer DPU 414 Printer serial	Selection	DPU 414: To connect the Eppendorf thermal printer DPU 414 (see Section 4.2, "Printer"). serial: To connect another printer (see Section 4.2, "Printer").
Service		Function is accessible to service technicians only.

# 7 Functions

## Example: Changing the language version

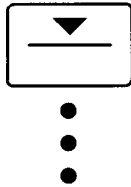
Call up  
functions list



```
FUNKTION   SEITE 1-4
▶ERGEBNISSE ANZEIGEN
  KALIBRATIONS REPORT

DATUM       27.06.1998
UHRZEIT     20:44
```

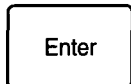
Select  
desired function



```
FUNKTION   SEITE 3-4

SPRACHE DEUTSCH *
▶LANGUAGE ENGLISH -
LANGUAGE U.S.ENGL -
langue française -
```



Store  
function



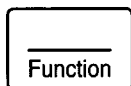
```
FUNKTION   PAGE 4-4

▶PRINTER DPU 414 *
  PRINTER SERIAL -

SERVICE   - - - -
FUNCTION EXIT
```

To exit the function level, either select the line "FUNCTION EXIT" and press  or press the  key from any line of the functions list. The BioPhotometer then returns to the last method selected.

Exit  
function level



```
OLIGO

PROGRAMMED FACTOR:
  1 A260 = 20.0 µg/mL

Blank or Sample
```

## 8 Error messages, result flagging and help texts

### Result flagging

#### Flagging

#### Explanation

1.586 A260 ◀

Flagging of A260 in the display or on the printout (for method "Protein direct" only):  
The method was calculated using the Warburg formula.

0.015 A320 ◀

Flagging of A320 in the display or on the printout (for method "Protein direct" and for nucleic acid methods only):  
The absorbances at 260, 280 and 230 nm are corrected with the absorbance at 320 nm (see Section 6, "Programming").

### Error texts in the results display

#### Error text

#### Explanation / Cause

#### Solution

+++++

The absorbance measured is greater than 3.0 A.

- Dilute the sample.
- Check the cuvette (height of light path must be 8.5 mm).
- Clean the cuvette shaft (see Section 9).
- Insert the cuvette correctly (the measuring window must be facing the light path).
- Use a cuvette made of material that transmits light at the measuring wavelengths used (e.g. quartz glass or UVette® from Eppendorf for nucleic acid measurement).

!!!!

The calculated result cannot be displayed (value too high).

Check the parameter (Is the factor too high?).

-----

(Instead of a value for the ratio:)  
Ratio cannot be calculated because one of the absorbance values used for calculating the ratio is 0 A or > 3.0 A.


Repeat the measurement (dilute sample if necessary).

## 8 Error messages, result flagging and help texts

### Error texts in measuring procedure

<i>Error text</i>	<i>Explanation / Cause</i>	<i>Solution</i>
Measure blank first	No blank has been measured for the method selected.	Measure the blank.
Measure standard first	No valid calibration for the method selected.	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Measure standards.</li> <li>– Program a different calculation (fixed factor or direct absorbance measurement).</li> </ul>
not within calibration	(For calculation via non-linear regression only) The sample result is not within the calibration range.	Repeat the measurement (dilute sample if necessary).
Measurement module Error 1 Measurement module Error 2 Measurement module Error 3	Different errors in measurement module.	Contact Service.

### Error texts in calibration procedure

<i>Error text</i>	<i>Explanation / Cause</i>	<i>Solution</i>
No STD method	The  measuring key was pressed although "Standard" was not programmed as a procedure for the method selected.	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Re-measure the methods without standard request.</li> <li>– Program the "standard" calculation.</li> </ul>
Measured values not plausible	(For one-point calibration:) Absorbance measured is 0 A.	Re-measure standard. (Prepare again if necessary).
Measured values not monotonous	(For multiple-point calibration:) The measured values do not produce monotonously rising or falling sequences.	Check standards and re-measure in the correct sequence (ascending concentration).
Calibration curve is not monotonous	(For non-linear regression:) The calculated curve is not monotonous.	Check standards and re-measure in the correct sequence (ascending concentration).

## 8 Error messages, result flagging and help texts

<b>Error text</b>	<b>Explanation / Cause</b>	<b>Solution</b>
CV greater than 10 %	(Following standard measurements:) The scattering of the measured values around the calculated calibration line or curve is very large (see Section 12, "Calculation").	Check calibration result. <ul style="list-style-type: none"> <li>- <input type="button" value="Enter"/> : Store calibration.</li> <li>- <input type="button" value="Clear"/> : Abort calibration.</li> </ul> Recalibrate or use the calibration stored.

### **Error texts in programming procedure**

<b>Error text</b>	<b>Explanation / Cause</b>	<b>Solution</b>
Method parameter incorrect. Please check	Method parameters incorrectly entered.	Check parameters and re-enter them if necessary.
Please program standards ascending	(For multiple-point calibration:) Standard nominal values have not been programmed in ascending order.	Check programming and enter nominal values in ascending order.

### **Other error texts**

<b>Error text</b>	<b>Explanation / Cause</b>	<b>Solution</b>
Entry invalid	(When a serial sample number is entered via the <input type="button" value="Sample No."/> key:) A number outside of the range 1 to 999 has been entered.	Enter a number within the specified range.

### **Help texts**

<b>Error text</b>	<b>Explanation / Cause</b>	<b>Solution</b>
Please program standard	(In the display after method selection:) For the method selected, the calculation "Standard" has been programmed; but the nominal concentrations for the standards have not yet been programmed.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Program nominal concentrations for the standards (<input type="button" value="Parameter"/> key).</li> <li>- Program another calculation without standards.</li> </ul>
Please program factor	(In the display after method selection:) For the method selected, the calculation "Factor" has been programmed; but the value for the factor has not yet been programmed.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Program the value for the factor (<input type="button" value="Parameter"/> key).</li> <li>- Program another calculation.</li> </ul>

## 9 Maintenance and cleaning

### **Photometer**

- Disconnect the device from the main power source before carrying out maintenance work or to change the fuses.  
The inside of the device is a high-voltage area. Danger!
- Wipe the entire device using a moist cloth and a mild cleaning agent.
- Disinfect the device using a lightly moistened cloth and a 70 % ethanol/water mixture.
- Do not allow any liquid to enter the device.

### **Cuvette shaft**

- Clean the cuvette shaft using a moist cotton swab only. Do not use large quantities of liquid (e.g. spray bottles).
- When the device is not being used, protect the cuvette shaft from dust using the seal provided.  
Dust or residue from the measuring solutions in the optical light path can cause inaccurate measurements.

### **Changing the fuses**

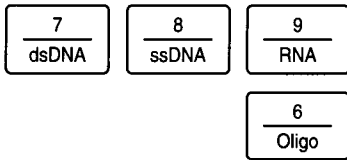
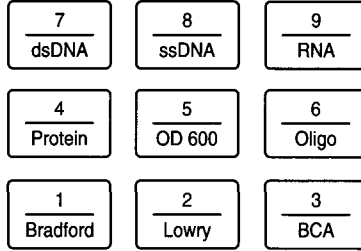
- Disconnect the device from the mains supply.
- The fuse holder is located above the mains connection (see picture in Sec. 4.1).  
The holder is held in position by a small elastic stop lever on its underside.
- Push the stop lever upwards and pull out the holder.
- Change the fuses (for specifications, see Sec. 2, "Technical data").
- Press the holder into the attachment until the stop lever clicks into place.
- Plug the device into the mains supply.

# 10 Short instructions

## Preparation

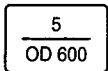
The BioPhotometer is ready to measure immediately after being switched on.

## Methods



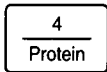
### dsDNA ssDNA RNA Oligo

- Direct measurement of the nucleic acids at 260 nm.
- Ratios  $A_{260}/A_{280}$  and  $A_{260}/A_{230}$ .
- Optional correction of absorbance values via  $A_{320}$ .
- Measurement using quartz-glass cuvette or UVette® from Eppendorf.



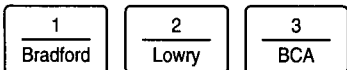
### OD 600

- Direct measurement of the density of bacteria suspensions at 600 nm (turbidity measurement).
- Measurement using glass cuvette or plastic cuvette.



### Protein

- Direct measurement of protein at 280 nm.
- Direct measurement of the absorbance, or calculation via factor, standard or Warburg formula.
- Optional correction of absorbance values via  $A_{320}$ .
- Measurement using quartz-glass cuvette or UVette® from Eppendorf.



### Bradford Lowry BCA Bradford micro Lowry micro BCA micro

- Measurement of protein using Bradford-, Lowry- or BCA reagent.
- Direct measurement of the absorbance, or calculation via factor or calibration (single-point calibration, linear regression or non-linear regression).
- Number and nominal values of the calibrators are programmable.
- The protein methods are also available on a micro-scale (Press the Method key twice).
- Measurement using glass cuvette or plastic cuvette.

## Cuvettes

Basic area  
12.5 mm x 12.5 mm

Min. overall height 36 mm

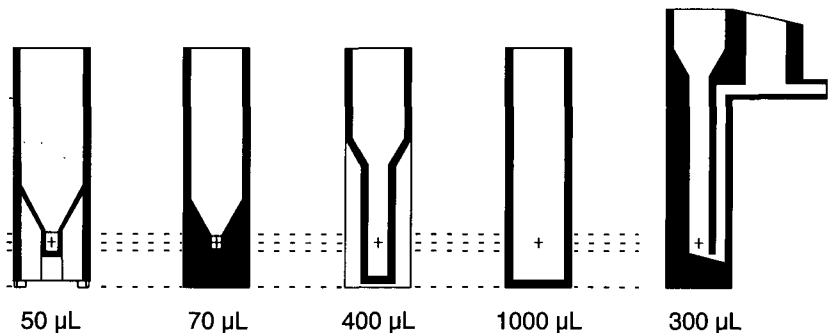
Min. filling level 10 mm

Light path 8,5 mm

Max. height of base 7 mm

Min. volume 0 mm

UVette® Ultra-micro Semi-micro Macro Suction



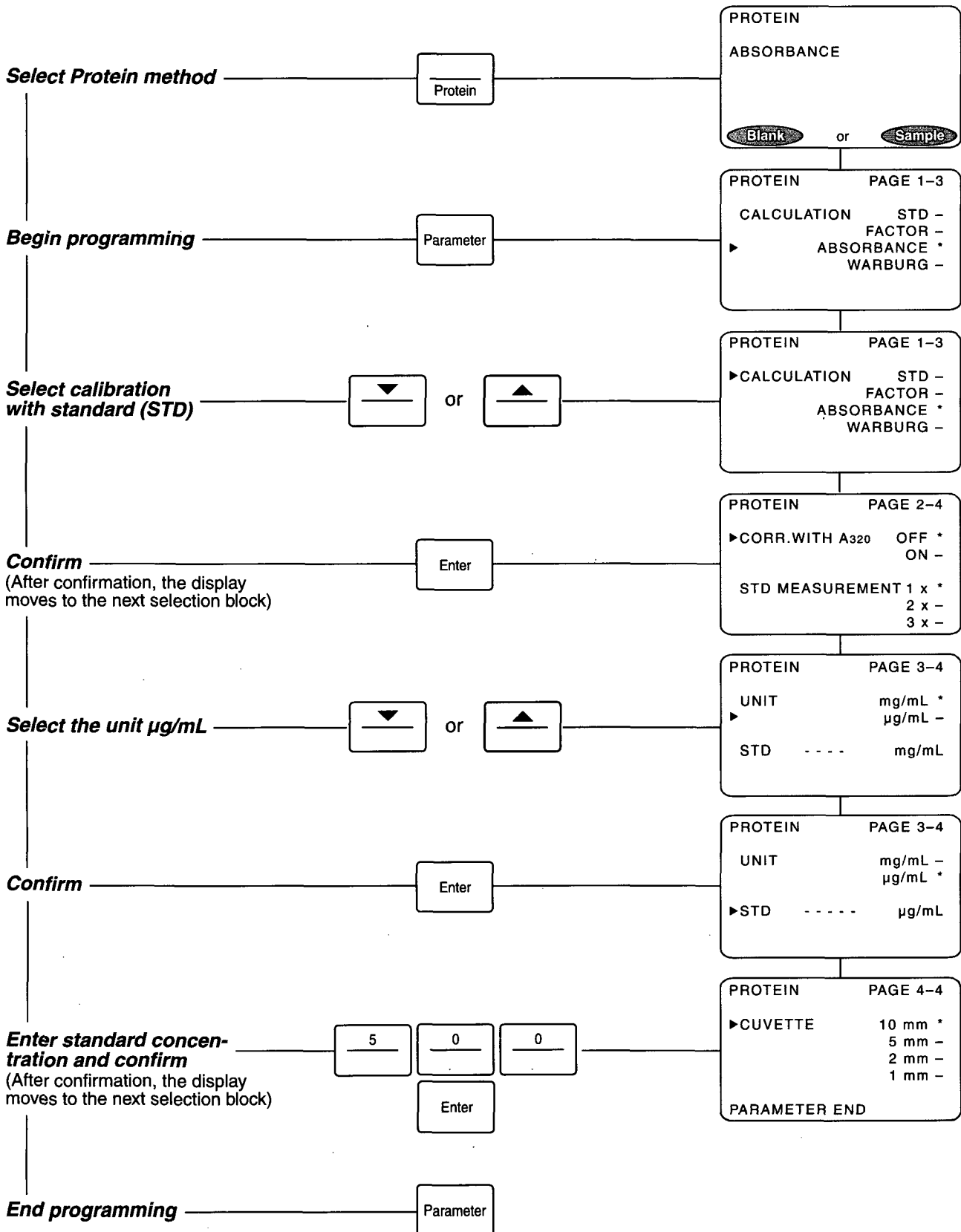
# 10 Short instructions

## Programming

The factory-set method programs may be changed as required.

### Example:

Programming of the unit " $\mu\text{g/mL}$ " and of calculation via standard ( $500 \mu\text{g/mL}$ ) for the Protein method.



# 10 Short instructions

## Measuring procedure for dsDNA

Select dsDNA method

dsDNA

dsDNA  
PROGRAMMED FACTOR  
1 A260 = 50.0 µg/mL

Blank or Sample

Measure blank

Blank

dsDNA BLANK  
**0.000** A

Blank or Sample

When the sample is diluted:  
Example: 20 + 200 µL

Dilution   Enter  
   Enter

dsDNA SAMPLE 001  
20+200 µL

Blank or Sample

Measure sample

Sample

dsDNA SAMPLE 001  
**563.20** µg/mL  
20+200 µL 0.694 A230  
1.408 A260  
1.97 260/280 0.715 A280  
2.03 260/230 0.002 A320

If the result of the sample  
is to be converted:

Conversion     
Enter  
    
Enter  
Enter

CALC: AMOUNT:  
TOTAL SAMPLE 140 µL

CALC: MOLARITY:  
BASE PAIRS 300  
MOL.MASS 198 kDa

dsDNA SAMPLE 001  
**563.20** µg/mL  
20+200 µL  
79 µg  
2843 pmol/mL  
398 pmol

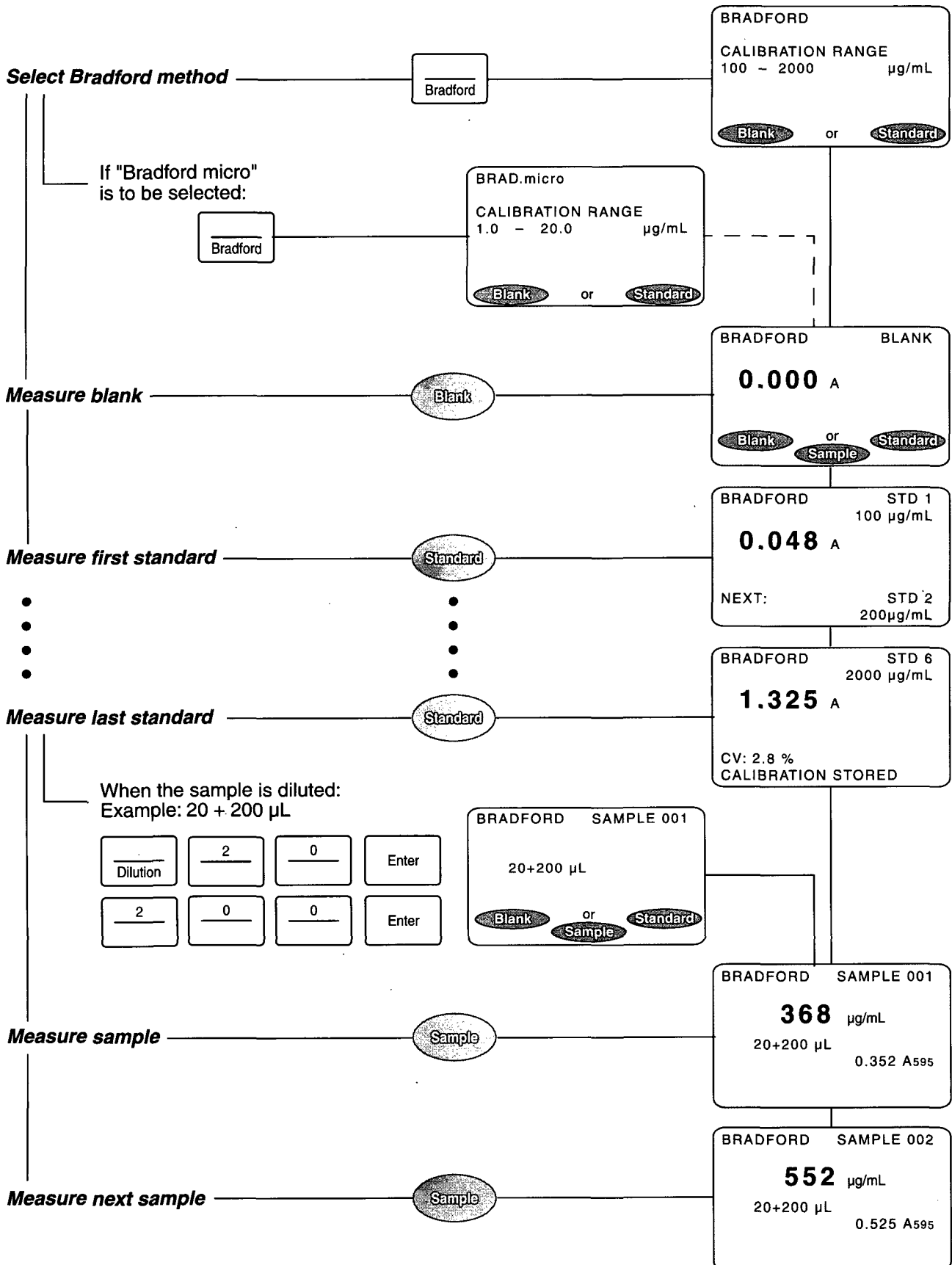
Measure next sample

Sample

dsDNA SAMPLE 002  
**249.70** µg/mL  
20+200 µL 0.689 A230  
0.788 A260  
1.85 260/280 0.623 A280  
2.19 260/230 0.003 A320

# 10 Short instructions

## Bradford measuring procedure



# 11 Ordering information

## **Order no.**

### **Photometer**

6131 000.012	BioPhotometer
6131 900.102	Operating manual
6131 810.006	BioPhotometer Software Package Software for data transfer from the BioPhotometer to a calculation program (e.g. Excel under Windows)
6131 928.007	Secondary UV-VIS filter, 1 set, for testing the BioPhotometer

### **Printer**

0013 608.148	Thermal Printer DPU 414
0013 608.164	Power unit 115 V for Printer DPU 414
0013 608.172	Power unit 230 V for Printer DPU 414
0013 610.517	VGA/printer cable, 9-pin, pin/socket
6547 001.018	Thermal paper (10 rolls)

### **UVette®**

**(Disposable plastic cuvette for the UV / VIS range, 220 to 1,600 nm)**

0030 106.300	UVette®, 80 pcs., individually packaged
4308 078.006	Cuvette stand for 16 cuvettes

# 12 Calculation

## 12.1 Nucleic acids (dsDNA, ssDNA, RNA, oligo)

### Calculation via factor

$$C = A_{260} \times F$$

C = Calculated concentration

A<sub>260</sub> = Absorbance measured at 260 nm

F = Factor (method-specific programming using the  key)

The nucleic acid methods have the following special feature: The programmed factor is always based on the unit of concentration "µg/mL". If the unit of concentration "µg/µL" is selected, the factor is converted internally:

$$F' = F / 1000$$

F' = Converted factor; used for the calculation of the concentration.

### Sample dilution

$$C_{\text{Dil, corr}} = C \times (V_P + V_{\text{Dil}}) / V_P$$

C<sub>Dil, corr</sub> = Result converted using dilution factor

V<sub>P</sub> = Volume of the sample in the measuring solution (entered using the  key)

V<sub>Dil</sub> = Volume of the diluent in the measuring solution (entered using the  key)

### Optical path length of the cuvette

Application: Using cuvettes with an optical path length of 1 mm, 2 mm or 5 mm.

The optical path length of the cuvette can be programmed for each method using the  key.

$$A_{\text{cuv, corr}} = A \times 2 \text{ (with an optical path length of 5 mm)}$$

$$A_{\text{cuv, corr}} = A \times 5 \text{ (with an optical path length of 2 mm)}$$

$$A_{\text{cuv, corr}} = A \times 10 \text{ (with an optical path length of 1 mm)}$$

A<sub>cuv, corr</sub> = Absorbance converted in accordance with an optical path length of 10 mm

### Correction A<sub>320</sub>

Application: Partial correction of incorrect absorbance caused by turbidity in the measuring solution.

The calculation procedure with or without correction A<sub>320</sub> can be programmed for each method using the  key.

$$A_{x, \text{corr}} = A_x - A_{320}$$

A<sub>x, corr</sub> = Absorbance at wavelength of 230, 260 and 280 nm, corrected mathematically

A<sub>x</sub> = Absorbance measured at wavelength of 230, 260 and 280 nm

A<sub>320</sub> = Absorbance measured at wavelength of 320 nm

The corrected absorbance is used for further calculation of results.

### Conversion key: Calculating the quantity

Application: Calculating the quantity of nucleic acid in the total sample volume.

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

M = Calculated overall quantity of nucleic acid in sample vessel

C = Calculated concentration

V<sub>P, total</sub> = Volume of the sample in the sample vessel (entered using the  key)

# 12 Calculation

## **Conversion key: Calculating the molar concentration**

Application: Calculating the molar concentration from the mass concentration and the relative molar mass. The molar mass is either entered directly or calculated by the device using the number of bases / base pairs per molecule.

$$C_{\text{mol}} = C / N$$

$C_{\text{mol}}$  = Molar concentration (calculated)

$N$  = Relative molar mass, in kDa (entered using the  key)

If, instead of the relative molar mass, the number of bases / base pairs per molecule has been entered,  $N$  is calculated using the number of bases / base pairs:

$$\text{dsDNA: } N = \text{bp} \times 2 \times 330 \times 10^{-3}$$

$$\text{ssDNA, RNA, Oligo: } N = b \times 330 \times 10^{-3}$$

$N$  = Calculated relative molar mass, in kDa

$\text{bp}$  = Number of base pairs per molecule (dsDNA)

$b$  = Number of bases per molecule (ssDNA, RNA, Oligo)

The unit for molar concentration is programmed for each method using the  key.

## **12.2 Direct photometric determination of protein**

Selection for calculation of results:

- Absorbance
- Calculation of the concentration via factor
- Calculation of the concentration via one-point calibration
- Calculation of the concentration via Warburg formula

### **Calculation of the concentration via factor**

See Section 12.1; Measuring wavelength: 280 nm

When the factor is entered using the  key, the unit of concentration which has been programmed must be taken into consideration.

### **Calculation of the concentration via standard (one-point calibration)**

$$F = C_S / A_S$$

$F$  = Calculated factor

$C_S$  = Nominal concentration of the standard (method-specific programming using the  key)

$A_S$  = Measured absorbance of the standard

If the standard multiple measurement (2x, 3x) has been programmed, calculation is based on the absorbances measured, including the zero value, via linear regression. After the regression has been calculated, a CV (coefficient of variation in "%") value is formed as a measure of the scattering of the measured values. If the CV value is greater than 10 %, it appears in the display. In this case, the calibration is not stored automatically; it must first be confirmed by the user (see Section 12.3).

The calculation of the sample concentration is carried out using the calculated factor:

$$C = A_{280} \times F$$

### **Calculation of the concentration via Warburg formula**

$$C = 1.55 \times A_{280} - 0.76 \times A_{260} \text{ for "mg/mL" concentration unit}$$

$$C = (1.55 \times E_{280} - 0.76 \times A_{260}) \times 1000 \text{ for "}\mu\text{g/mL" concentration unit}$$

## 12 Calculation

### **Sample dilution, optical light path of the cuvette and correction A320**

See Section 12.1.

### **12.3 Protein with addition of reagent**

Methods: Bradford, Bradford micro, BCA, BCA micro, Lowry, Lowry micro

Selection for the calculation of results:

- Absorbance
- Calculation of the concentration via factor
- Calculation of the concentration via standard

Selection for the calculation procedures via standard:

- One-point calibration
- Multiple-point calibration (standard line)
- Multiple-point calibration (standard curve)

#### **Calculating the concentration via factor and calculating the concentration via standard (one-point calibration)**

See Section 12.2; Measuring wavelength: 595 nm (Bradford; Lowry) or 562 nm (BCA)

#### **Calculating the concentration via standard (multiple-point calibration; calibration line)**


A calibration line (concentration as a function of the absorbance) is calculated from 2 to 10 standards, which are measured in single, double or triple determination. The equation of the line is calculated via linear regression.

$$C = a_0 + a_1A$$

$a_1$  = Slope of the calibration line (Factor)

$a_0$  = Intersection point of the calibration lines with the concentration axis  
(concentration of a sample with the absorbance "0" [Offset])

After the calibration has been calculated, the CV value (coefficient of variation in "%") is calculated (exception: two-point calibration with single determination of the two standards). The CV value is a measure for the scattering of the measured values around the calculated calibration line. If the value is greater than 10 %, the calibration is not stored automatically; it must first be confirmed by the user. In the case of more than two standards, the CV value always appears in the display (even when the value is lower than 10 %).

The calculated parameters (" $a_0$ " and " $a_1$ ") of the stored calibration line can be printed out by calling up the functions list by pressing the  key.

#### **Calculating the concentration via standard (multiple-point calibration; calibration curve)**

A calibration curve (concentration as function of the absorbance) is calculated from 5 to 10 standards measured in single determination or from 4 to 10 standards measured in double or triple determination. The non-linear regression is calculated via a third-grade polynomial.

$$C = a_0 + a_1A + a_2A^2 + a_3A^3 + \dots$$

$a$  = Coefficients (The coefficients are determined using the least square method).

CV value: see above (linear regression).

The calculated parameters of the stored calibration line can be printed via the  key.

## 12 Calculation

***Sample dilution and optical light path of the cuvette***

See Section 12.1.

### **12.4 OD 600**

The measured values appear as absorbance values measured at a wavelength of 595 nm.

***Sample dilution and optical light path of the cuvette***

See Section 12.1.

# 13 Testing the photometer

To enable the photometric accuracy and the wavelength accuracy to be tested, a filter set (secondary UV-VIS filter, order no.: 6131 928.007) is available from Eppendorf. This set contains three filters ("Sample A1", "Sample A2" and "Sample A3") for testing the photometric accuracy and two filters ("Sample 260 nm" and "Sample 280 nm") for testing the wavelength accuracy. The absorbance of the filters is measured against a blank filter ("Blank A0").

To carry out these measurements, blank filters and "sample filters" (test filters) are inserted into the cuvette holder in the same manner as cuvettes. When doing so, please ensure that the label with the filter description is facing the user. The absorbance values measured for the test filters are compared to those within the range of permitted values. The limits for the permitted range are contained in a table found on the inside of the lid of the filter box (see Figure: "X.XXX – X.XXX A").

eppendorf				BioPhotometer		
Secondary -UV - VIS - Filter				Order No./Best.Nr.:6131 928.007		
		Limits Grenzwerte	measured against <b>Blank A0</b> at approx. 20 °C gemessen gegen <b>Blank A0</b> bei ca. 20 °C			
		Photometric accuracy Photometrische Richtigkeit			Wavelength accuracy Wellenlängenrichtigkeit	
Filter Type	Blank A0	Sample A1	Sample A2	Sample A3	Sample 260 nm	Sample 280 nm
230nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A		
260nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	
280nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A		X.XXX - X.XXX A
320nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A		
562nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A		
595nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A		
Code	914 XXX	921 XXX	922 XXX	923 XXX	916 XXX	917 XXX
Please protect against dust, heat and liquid Bitte vor Staub, Hitze und Flüssigkeiten schützen The limits are valid for max. 2 years as of the date on the right. Die Grenzwerte gelten für max. 2 Jahre ab Datum.				Date/Datum	Signature/Unterschrift	

Fig.: Inside of the lid of the filter box 6131 928.007

## 13 Testing the photometer

### **Test procedure**

- Carry out the test at approximately 20 °C.
- Remove the filter from the filter box for a brief period only. Make sure that the surface of the filter is not contaminated or damaged.
- Protect the filter from dust, heat, liquid and aggressive vapors.
- When inserting the filter, ensure that the label with the filter description is facing the user.
- Select the function "Photometer test".  
This function is contained in devices with a software version of V 1.20 onwards. Contact Eppendorf before using the test filter with an older software version.
- Select the test filter.
  - "A1", "A2" or "A3" for the measurement of the photometric accuracy at 230, 260, 280, 320, 562 and 595 nm.
  - "A260" or "A280" for the measurement of the wavelength accuracy at 260 or 280 nm.
  - "A??" is designed for the tests carried out by the Eppendorf Service Dept.
- Follow the instructions in the photometer display for the measurement of "Blank" and "Sample".  
The device carries out 10 measuring cycles and then prints out the mean values for the absorbances at the respective wavelengths.
- Compare the absorbance values with the permitted value range.
- In addition to information on accuracy values, the printout contains details of precision as well. The standard deviation and the CV are calculated from each of the ten measurements.

If the absorbances measured are not within the permitted value range, please contact the Service Department at Eppendorf. The filters should be recalibrated by Eppendorf after two years.

## Conformity Declaration for BioPhotometer 6131

in accordance with enclosure 15 of "Eichordnung" (German standardization regulations)

### Description of measurement

Device used: Single-beam filter photometer with reference beam and fixed wavelengths  
Type: BioPhotometer 6131  
Manufacturer / Distributor: Eppendorf – Netheler – Hinz GmbH, Hamburg  
Mode of instruction: Operating manual

#### 1. Measuring system

Light path: Lamp > aperture > lens > aperture > cuvette > aperture > diffraction grating > aperture > photodiode  
Light source: Xenon flash lamp  
Continuum spectral range 220 to 2,000 nm  
Spectral apparatus: Grating polychromator  
Radiation receiver: Silicon photodiode  
Spectral range 200 to 1,100 nm  
Cuvette: Quartz glass, optical special glass or plastic, depending on measuring wavelength  
Cuvette types:  
10 mm macro min. vol. 1000 µl  
10 mm semi-micro min. vol. 400 µl  
10 mm suction min. vol. 300 µl  
10 mm ultra-micro min. vol. 70 µl  
Cuvette temperature: Not available  
Results display: Illuminated, graphic LCD, 33 x 66 mm<sup>2</sup>  
Measured values displayed: Absorption, mass concentration, molar concentration

#### 2. Measuring procedures

Determination of the cuvette blank: Wavelength-dependent individual measured value of the cuvette used  
Concentration determination: Lambert-Beer-Bourguier law  
Reference measurement on reference material: Check with calibrated secondary standards

#### 3. Measuring range of the spectral absorption rate

0.000 to 3.000 A  
The error limits listed can be exceeded outside these measuring ranges as well as with nominal conditions of use other than those listed below.

#### 4. Nominal conditions of use

Cuvette blank: Depending on cuvette used  
Wavelengths: Xenon 230, 260, 280, 320, 562, 595 nm  
Warm-up time: None  
Supply voltage: 100 to 240 V ± 10 %, 50 to 60 Hz ± 5 %  
Ambient temperature: 15 to 35 °C  
Relative humidity: 15 to 70 %

#### 5. Error limits and other limiting values

Relative photometric uncertainty of the spectral absorption rate with all wavelengths for an individual measurement: ± 1.5 % at 1 A

Relative photometric short-time standard deviation: ≤ 0.5 % at 1 A  
Wavelength uncertainty: ± 1 nm at 230 to 280 nm, ± 2 nm at 320 to 595 nm

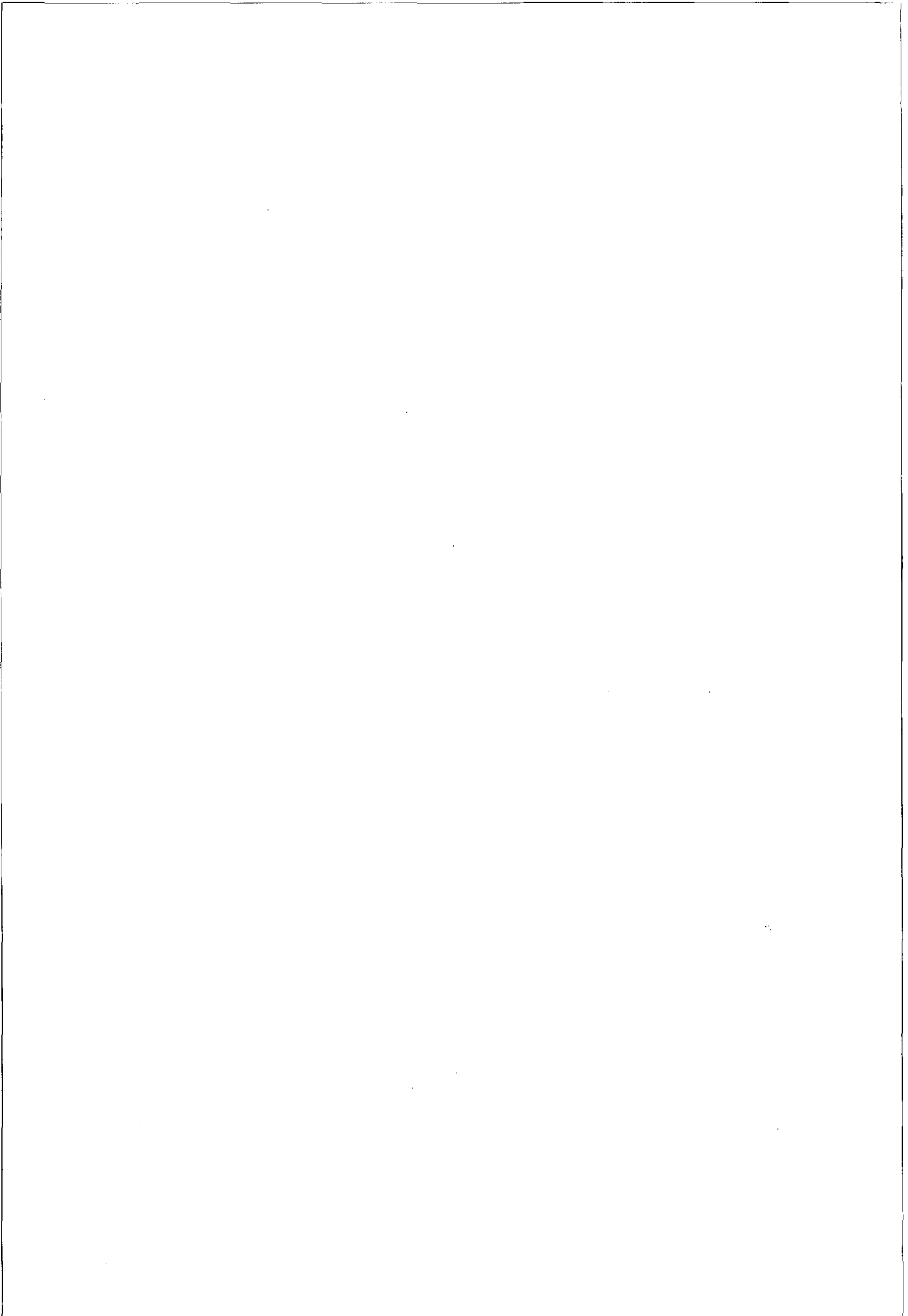
Spectral half-intensity width: ≤ 5 nm at 230 to 320 nm, ≤ 7 nm at 562 and 595 nm  
Integral fault-radiation level: ≤ 0.03 % at 260 nm with GG 375-3 (Schott)

Date: 25.09.1997

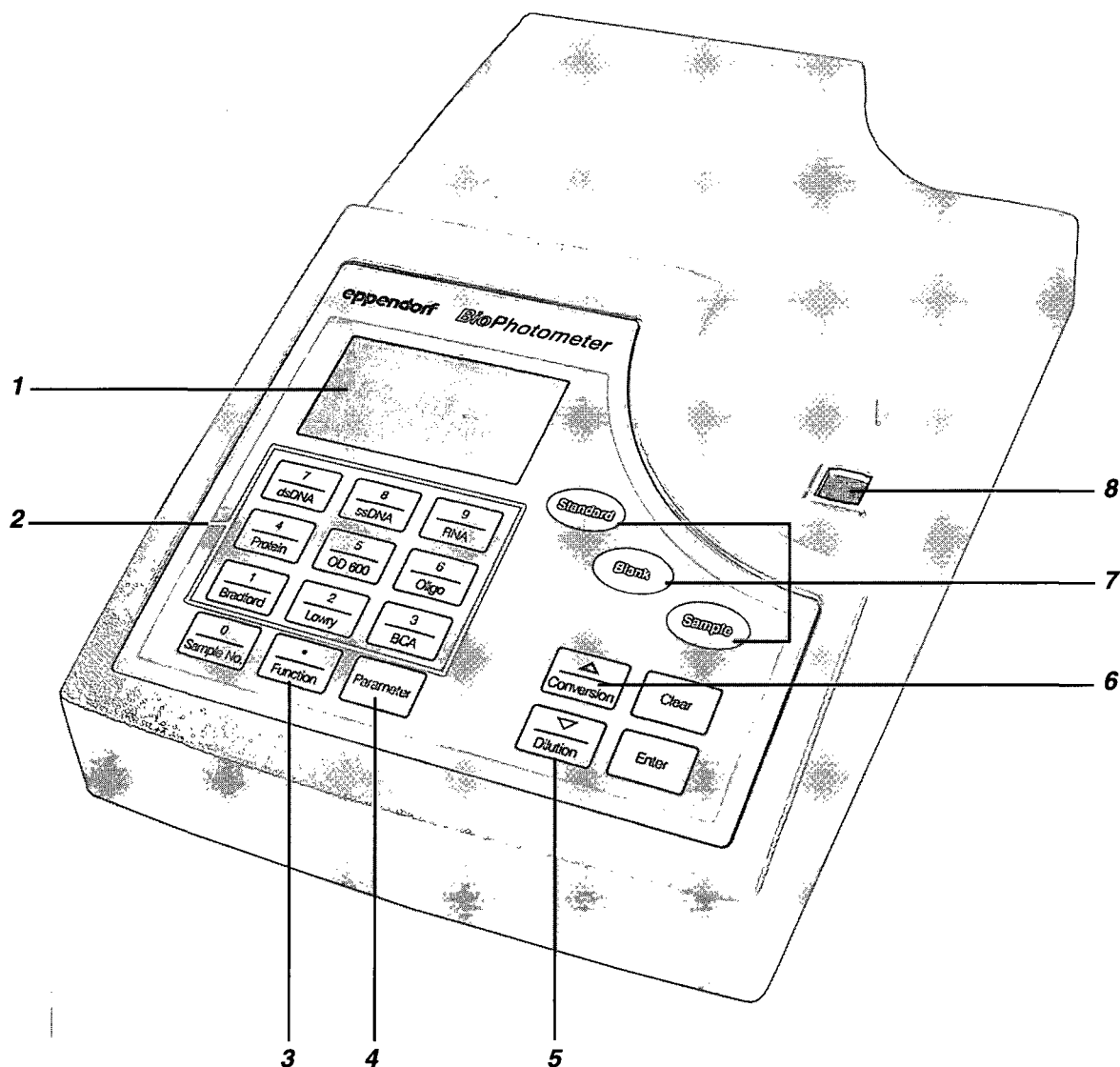
Eppendorf – Netheler – Hinz GmbH  
– Quality and standards –

# Sommaire

<b>1</b>	<b>Présentation de l'appareil</b> .....	95
<b>2</b>	<b>Spécifications techniques</b> .....	97
<b>3</b>	<b>Consignes de sécurité et mise en garde contre certains risques</b> .....	99
<b>4</b>	<b>Installation</b> .....	100
4.1	BioPhotometer .....	100
4.2	Imprimante .....	101
4.3	Cuves optiques .....	102
<b>5</b>	<b>Mode d'emploi</b> .....	103
5.1	Clavier .....	103
5.2	Détermination des acides nucléiques .....	105
5.3	Détermination photométrique directe des protéines .....	107
5.4	Détermination de protéines après ajout de réactif (Bradford, BCA, Lowry) .....	109
5.5	Détermination des OD 600 .....	112
5.6	Détermination d'échantillons dilués .....	113
5.7	Modification du numéro d'échantillon .....	114
<b>6</b>	<b>Programmation</b> .....	115
6.1	Principes de la programmation .....	115
6.2	Tableau des paramètres .....	117
6.3	Explication des paramètres .....	118
6.4	Tableau des valeurs programmées d'origine .....	120
<b>7</b>	<b>Fonctions</b> .....	121
<b>8</b>	<b>Messages d'erreur, repérage des résultats et textes auxiliaires</b> .....	123
<b>9</b>	<b>Nettoyage et maintenance</b> .....	126
<b>10</b>	<b>Mode d'emploi succinct</b> .....	127
<b>11</b>	<b>Nomenclature</b> .....	131
<b>12</b>	<b>Exploitation des résultats et conversions</b> .....	132
12.1	Acides nucléiques (ADNs, ADNss, ARN, Oligo) .....	132
12.2	Protéines directes par photométrie .....	133
12.3	Protéines par ajout de réactif .....	134
12.4	OD 600 .....	135
<b>13</b>	<b>Contrôle du photomètre</b> .....	136
	<b>Certificat de conformité du BioPhotometer 6131</b> .....	138



# 1 Présentation de l'appareil



- |   |  |   |                          |
|---|--|---|--------------------------|
| 1 | Cadran-afficheur                                     | 5 | Touche <b>dilution</b>   |
| 2 | 9 touches de méthodologie                            | 6 | Touche <b>conversion</b> |
| 3 | Touche <b>fonction</b> (paramètres du système)       | 7 | Touches de lecture       |
| 4 | Touches <b>paramètres</b> (touches de programmation) | 8 | Puits porte-cuve         |

Le commutateur secteur, la prise d'alimentation et le connecteur pour imprimante sont situés à l'arrière de l'appareil (voir chapitre 4 "Installation").

Le BioPhotometer Eppendorf est destiné à la détermination rapide, simple et confortable des principales méthodes pratiquées en laboratoire de biochimie moléculaire et de recherche.

## Cuves

Le puits porte-cuve est compatible avec les cuves rectangulaires en verre ou en matière de synthèse, selon leur transparence optique aux différentes longueurs d'ondes. La cuve UVette® Eppendorf est la première cuve en matière de synthèse qui permet la détermination des acides nucléiques.

Il convient de tenir compte de la hauteur de la fenêtre du faisceau optique qui est de 8,5 mm. Pour obtenir des résultats justes et reproductibles, les faces optiques des cuves doivent toujours être très propres et la solution soumise à mesure exempte de particules en suspension. L'appareil est livré avec un capuchon de protection pour le porte-cuve pour éviter les dépôts de poussière en période d'immobilisation.

# 1 Présentation de l'appareil

## Méthodes

L'appareil est livré d'origine avec 12 méthodes préprogrammées qu'il suffit d'appeler par simple sollicitation d'une touche spécifique:

### Acides nucléiques

<b>dsDNA</b>	ADN double brin
<b>ssDNA</b>	ADN simple brin
<b>RNA</b>	ARN
<b>Oligo</b>	Oligonucléotides


### Protéines

<b>Protéines</b>	par détermination photométrique
<b>Bradford</b>	Méthode de Bradford
<b>Bradford micro</b>	Méthode de Bradford dans le domaine des faibles concentrations
<b>Lowry</b>	Méthode de Lowry
<b>Lowry micro</b>	Méthode de Lowry dans le domaine des faibles concentrations
<b>BCA</b>	Méthode BCA
<b>BCA micro</b>	Méthode BCA micro

### Densité des suspensions bactériennes

<b>OD 600</b>	Mesure de la turbidité
---------------	------------------------

## Programme des méthodes

Chaque méthode comporte un programme installé d'origine en usine. Ce programme inclut un ensemble de paramètres tel que l'expression des unités de concentration ainsi que la méthode d'exploitation des données de mesure. Cependant les programmes peuvent être modifiés. Il suffit de taper la touche  pour accéder aux modifications. Lors de la première utilisation d'une méthode, il convient de rappeler son programme pour examiner les paramètres et le cas échéant de les modifier pour les adapter aux applications propres. Pour les méthodes comportant une série étalon, il conviendra d'adapter la concentration des étalons.



## Détermination

Pour effectuer une détermination, il suffit de taper la touche correspondant à la méthode envisagée. Les méthodes Bradford, Lowry et BCA comportent une particularité: chacune de ces méthodes est programmée pour deux gammes de concentration et d'exploitation. Pour passer d'une méthode à l'autre, il suffit de solliciter alternativement la même touche pour basculer de l'une à l'autre. ("BCA" et "BCA micro").

Pour démarrer la lecture, appuyer sur l'une des trois touches ovales selon le cas. L'appareil ne nécessite pas de préchauffage, il est prêt instantanément. Pour connaître laquelle des trois touches de mesure est disponible, se reporter à la partie inférieure du cadran afficheur (voir descriptif de la procédure de mesure, chapitre 5, mode d'emploi).


## Exploitation des données

Pour que le résultat soit automatique, chaque méthode comporte dans sa programmation une procédure d'exploitation (facteur, calibrage, formule de Warburg ou encore une sortie directe en absorbance). L'appareil fournit directement le résultat, mais affiche également la valeur des absorbances, et pour les acides nucléiques, les rapports d'absorbances usuelles.

Les dilutions des échantillons peuvent également être prises en considération (touche ). En tapant la touche , l'appareil convertit les concentrations massiques en concentrations molaires. Par ailleurs, cette touche permet de calculer le rendement total dans le tube d'échantillon.

## Sortie de résultats

Les résultats peuvent être lus sur le cadran-afficheur ou peuvent être imprimés sur une imprimante le cas échéant. Pour exploiter les valeurs des lectures avec les formules de calcul d'un logiciel tableur installé sur votre ordinateur PC, utiliser le programme de transfert de données Eppendorf qui est disponible sur commande (voir chapitre 11 "Nomenclature").

Les échantillons et les résultats des calibrages sont stockés en mémoire; les données en mémoire peuvent être consultées par sollicitation de la touche .

## 2 Spécifications techniques

### **Photomètre**

Système optique:	Photomètre d'absorption monofaisceau, avec faisceau de référence et longueurs d'ondes fixes
Lampe source:	Lampe flash xénon
Diffraction spectrale:	Réseau holographique concave
Longueurs d'ondes de lecture:	Xe 230; 260; 280; 320; 562; 595 nm
Sélecteur de longueur d'ondes:	Fonction de la méthode, pilotée par le programme
Bande passante:	5 nm de 230 à 320 nm 7 nm de 562 à 595 nm
Justesse spectrale:	$\pm 1$ nm de 230 à 280 nm $\pm 2$ nm de 320 à 595 nm
Gamme photométrique:	Cuve quartz: 0,000 à 3,000 A UVette® (Eppendorf): 2,5 A à 230 nm 2,6 A à 260 nm 2,8 A à 280 nm 2,9 A à 320 nm
Justesse photométrique:	$\leq 0,002$ A à 0 A $\leq 0,005$ A à 1 A
Défaut de justesse photométrique :	$\pm 1$ % à 1 A
Lumière parasite:	$< 0,05$ %

### **Méthode de lecture**

Méthode de mesure:	Point final contre blanc
Traitement des données en fonction de la méthode:	Absorbance Concentration par facteur Concentration par la formule de Warburg Concentration par un calibrage utilisant entre 1 et 10 standards Calibrage à un point (un étalon) Régression linéaire (de 2 à 10 standards) Régression non linéaire (polynôme du 3 <sup>è</sup> degré; 4 ou 5 à 10 standards (voir chap. 12, exploitation des données); détermination 1x; 2x; 3x Pour acides nucléiques: Ratio 260/280 Ratio 260/230 Concentration molaire Rendement total

### **Capacité mémoire**

Mémoire méthode:	12 programmes pour méthodes, préprogrammées, accessibles à la modification
Mémoire de calibrage:	Pour toutes les procédures de calibrage
Mémoire pour résultats:	Pour 100 résultats avec absorbance, valeur des ratios, numéro d'échantillon, dilution d'échantillon, Date et heure (calendrier jusqu'en 2090)

## 2 Spécifications techniques

### Éléments d'utilisation

Nature des cuves:	ADNds, ADNss, ARN, Oligo, Protéines:	Nature des cuves: mesure en cuve Quartz ou plastique (UVette® Eppendorf)
	OD 600, Bradford, Lowry, BCA:	cuve verre ou plastique
Porte-cuve:	12,5 mm x 12,5 mm, non thermostaté	
Hauteur de cuve:	Min. 36 mm	
Hauteur du faisceau optique dans la cuve:	8,5 mm	
Dimension du faisceau optique dans la cuve:	Largeur: 1 mm Hauteur: 1,5 mm	
Clavier:	19 touches cloquées	
Cadran-afficheur:	Ecran graphique éclairé 33 mm x 60 mm	
Assistance menu:	Allemand, anglais	
Sortie des résultats:	Cadran-afficheur et imprimante; absorbance; concentration, ratio	

### Spécifications générales de l'appareil

Alimentation:	100 – 240 V $\pm$ 10 %; 50 – 60 Hz $\pm$ 5 %	
Catégorie surtension:	II (IEC 61010-1)	
Degré de pollution:	2 (IEC 664)	
Puissance absorbée, restituée:	Env. 20 W en fonctionnement, 10 W en veille	
Courant absorbé:	< 0,3 A	
Microcoupure de tension admissible:	Env. 10 ms à 90 V Env. 200 ms à 220 V	
Fusibles:	T 1 A / 250 V, 5 mm x 20 mm (2 fusibles)	
Ambiante admissible:	15 à 35 °C avec justesse et répétabilité définie –25 à 70 °C hors service, entreposage 15 à 70 % humidité relative Non tropicalisé Eviter l'incidence solaire directe	
Connexion imprimante:	RS 232 C, sériele L'imprimante connectée doit être conforme aux directives EN 60950 et UL 1950.	
Conformité aux normes:	Conforme VDE, CE, IEC 1010-1	
Dimensions:	Largeur: 20 cm (emballé: 29 cm) Profondeur: 32 cm (emballé: 43 cm) Hauteur: 10 cm (emballé: 20 cm)	
Poids:	3 kg (emballé: 4,8 kg)	

Toutes modifications réservées!

### **3 Consignes de sécurité et mise en garde contre certains risques**

#### **Consignes à caractère technique**

- Ne pas ouvrir l'appareil.
- Ne pas laisser entrer de liquide à l'intérieur de l'appareil.
- Avant toute intervention sur l'appareil ou changement de fusible, retirer le cordon d'alimentation;  
les tensions électriques à l'intérieur de l'appareil sont susceptibles de produire des chocs létaux.
- L'appareil ne doit pas être utilisé dans des locaux à risque explosif.
- Ne pas utiliser un appareil présentant un dommage, en particulier lorsque le cordon d'alimentation électrique est endommagé.
- Toute réparation ou intervention technique est strictement réservée au service après – vente de la Société Eppendorf – Netheler – Hinz GmbH ou à un service après-vente contractuellement accrédité.
- Le raccordement au secteur doit comporter une prise de terre.
- Toute utilisation non conforme de l'appareil est susceptible d'entraver la protection interne.

#### **Consignes concernant l'utilisation de matériaux biologiques et de produits chimiques**

- Certains réactifs ou tampons de dilution sont susceptibles de produire des brûlures ou d'autres atteintes à la santé.
- Les échantillons (acides nucléiques, protéines, cultures bactériennes) peuvent être de nature infectieuse ou constituer des risques pour la santé.
- Lors de la préparation des échantillons, au cours de la mesure, ainsi que lors du nettoyage de l'appareil ou des opérations de maintenance, il convient de respecter les directives de sécurité du laboratoire (porter des vêtements de protection, des gants, désinfecter). Toujours rester prudent en manipulant les échantillons.
- Respecter les consignes et règles de sécurité concernant l'élimination des déchets, des solutions ayant servi aux mesures, au nettoyage ou à la désinfection, des ustensiles.



## 4 Installation

### 4.2 Imprimante

#### **Imprimante DPU 414**

L'interface série RS 232 C du BioPhotometer permet de raccorder la thermo-imprimante Eppendorf DPU 414 (Imprimante et cordon pour imprimante, voir chapitre 11 "Nomenclature").

- Enficher le cordon de l'imprimante dans la douille de connexion du BioPhotometer (voir figure) et serrer les vis de sécurité.
- Enficher le cordon d'imprimante dans l'imprimante et serrer les vis de sécurité.
- Effectuer le raccordement au secteur 115 V ou 230 V.

#### **Paramétrage de l'imprimante**

##### **BioPhotometer**

- Sélectionner la fonction "imprimante DPU 414" dans la liste des fonctions et valider.

##### **Imprimante DPU 414**

- Vérifier le paramétrage de l'imprimante et effectuer au besoin les modifications pour assurer la compatibilité avec le BioPhotometer conformément aux instructions de la fiche de l'imprimante.

Instructions de paramétrage de l'imprimante pour la connexion avec le BioPhotometer:

##### **Dip SW-1**

- 1 (OFF) : Input = Serial
- 2 (ON) : Printing Speed = High
- 3 (ON) : Auto Loading = ON
- 4 (ON) : Auto LF = ON
- 5 (ON) : Setting Command = Enable
- 6 (OFF) : Printing
- 7 (ON) : Density
- 8 (ON) : = 100 %

##### **Dip SW-2**

Les paramétrages du groupe "Dip SW-2" ne sont pas importants pour l'utilisateur, car le BioPhotometer les modifie automatiquement en fonction de la langue choisie par l'utilisateur.

##### **Dip SW-3**

- 1 (ON) : Data Length = 8 bits
- 2 (ON) : Parity Settings = No
- 3 (ON) : Parity Conditions = Odd
- 4 (OFF) : Busy Control = XON/XOFF
- 5 (OFF) : Baud
- 6 (ON) : Rate
- 7 (ON) : Select
- 8 (ON) : =9600 bps

## 4 Installation

**Autres imprimantes** La connexion série du BioPhotometer admet d'autres imprimantes sérieelles en dehors du modèle DPU 414. La connexion d'imprimantes parallèles nécessite un câble d'adaptation.

### **BioPhotometer**

– Sélectionner la fonction "imprimante sérieelle" dans la liste des fonctions et valider.

### **Imprimante**

Conditions nécessaires pour l'imprimante sérieelle:

Busy Control : XON/XOFF  
Baud Rate(ON) : 9600 bps  
Data Bit Length : 8 bits  
Parity Permission : Without  
Parity Conditions : Odd

Les imprimantes parallèles peuvent être connectées avec un câble-adaptateur répondant aux conditions ci-dessus.

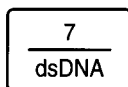
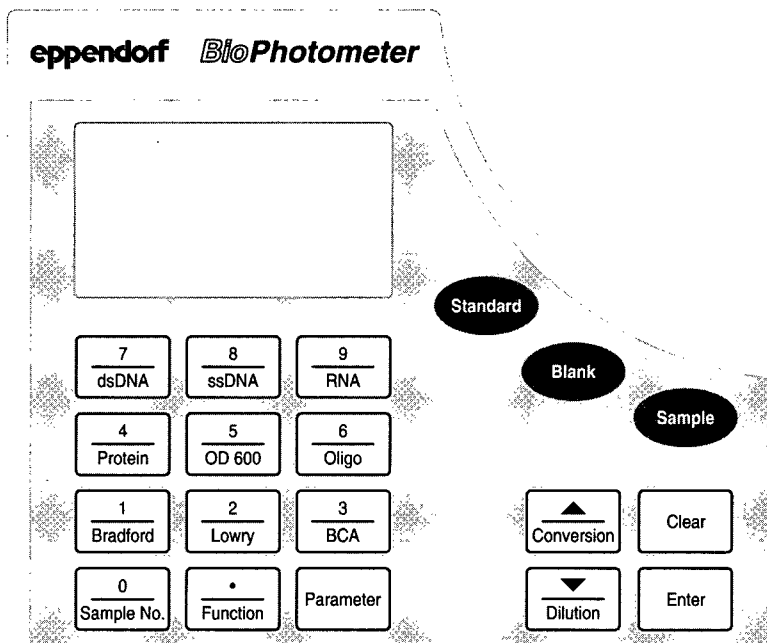
### 4.3 Cuves optiques

Le puits porte-cuve est compatible avec toutes les cuves rectangulaires usuelles dont la hauteur de la fenêtre de mesure est de 8,5 mm par rapport au fond et dont la hauteur totale est au minimum de 36 mm (voir schéma du mode d'emploi succinct). Les dimensions du faisceau dans la cuve sont de 1,0 mm de large et de 1,5 mm de haut.

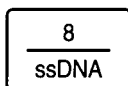
Les cuves de verre et en plastique sont utilisables pour la lecture dans la mesure où leur transparence aux longueurs d'ondes envisagées est compatible. Eppendorf propose sa cuve plastique UVette® qui est transparente aux UV jusqu'à 220 nm et convient, par conséquent aux déterminations des acides nucléiques.

# 5 Mode d'emploi

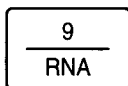
## 5.1 Clavier



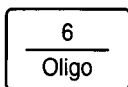
- Appel de la méthode pour "ADN double brin"
- Touche du chiffre 7



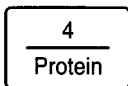
- Appel de la méthode pour "ADN simple brin"
- Touche du chiffre 8



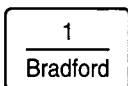
- Appel de la méthode pour "ARN "
- Touche du chiffre 9



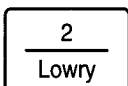
- Appel de la méthode pour "Oligonucléotides"
- Touche du chiffre 6



- Appel de la méthode pour "Protéines " (méthode photométrique directe)"
- Touche du chiffre 4

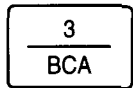


- Appel de la méthode "Bradford " et "Bradford micro"
- Méthodes alternantes entre "Bradford " et "Bradford micro"
- Touche du chiffre 1

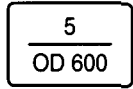


- Appel de la méthode "Lowry" et "Lowry micro"
- Méthodes alternantes entre "Lowry" et "Lowry micro"
- Touche du chiffre 2

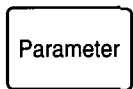
## 5 Mode d'emploi



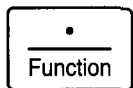
- Appel de la méthode "BCA" et "BCA micro"
- Méthodes alternantes entre "BCA" et "BCA micro"
- Touche du chiffre 3



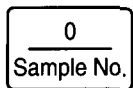
- Appel de la méthode "OD 600 (mesure de la densité bactérienne)"
- Touche du chiffre 5



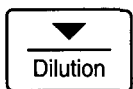
- Appel du fichier de programmation
- quitter le fichier de programmation



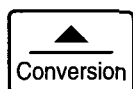
- Appel des fichiers fonctions
- Quitter les fichiers fonctions
- Touche du point



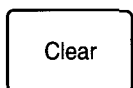
- Modification du numéro d'échantillon
- Touche du chiffre 0



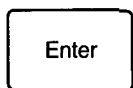
- Programmation de la dilution
- Déplacement du curseur vers la ligne suivante (liste des paramètres ou des fonctions)



- Calcul des concentrations molaires et de la quantité totale d'échantillon (rendement)
- Déplacement du curseur vers la ligne précédente (liste des paramètres ou des fonctions)



- Annuler une saisie



- Validation d'une saisie



- Détermination d'un étalon



- Détermination d'un blanc



- Détermination d'un échantillon

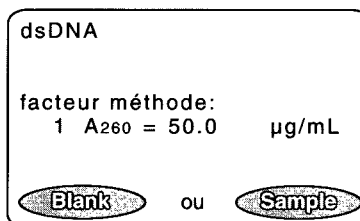
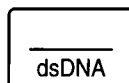
# 5 Mode d'emploi

## 5.2 Détermination des acides nucléiques

Descriptif valable pour les méthodes

- ADNds
- ADNss
- ARN
- Oligo

Rappeler la méthode



### Traitement des données

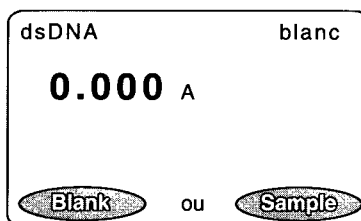
L'appareil est livré d'origine avec les méthodes préprogrammées. Pour les méthodes des acides nucléiques, le programme comporte les facteurs de conversion habituellement utilisés pour passer de l'absorbance en concentration (dans l'exemple: 50). Cependant, les facteurs peuvent être modifiés en tapant la touche Parameter (voir chapitre "programmation"). Le nombre de décimales du facteur programmé détermine le nombre de décimales du résultat.

En cas d'utilisation d'unités de concentration différentes de µg/ml (µg/µL par ex.), le BioPhotometer effectue de lui-même la conversion du facteur en mémoire pour fournir la bonne valeur.

### Processus de lecture

Les valeurs de blancs restent conservées jusqu'au changement de date. En cas de détermination d'un blanc existant dans une journée, le BioPhotometer propose de ce fait dans la dernière ligne lors de l'appel d'une méthode soit de repasser un nouveau blanc, soit de procéder directement à la lecture de l'échantillon. En cas d'absence de valeur de blanc au fichier, le système propose de passer d'abord un blanc.

Détermination d'un blanc



## 5 Mode d'emploi

### Détermination de l'échantillon



dsDNA	échant 001
<b>70.0</b>	$\mu\text{g/mL}$
	0.694 A230
	1.408 A260
1.97 260/280	0.715 A280
2.03 260/230	0.002 A320

### Affichage du résultat

L'appareil affiche le résultat exprimé en concentration et en absorbance à 260 nm pour les acides nucléiques. De plus, il donne des indications concernant la pureté de l'acide nucléique en indiquant l'absorbance à trois longueurs d'onde supplémentaires (230, 280 et 320 nm) ainsi que les quotients  $A_{260}/A_{280}$  und  $A_{260}/A_{230}$ . L'absorbance à 320nm des échantillons devrait être proche de 0 pour des échantillons purs.

### Détermination de l'échantillon suivant

Pour passer à la détermination de l'échantillon suivant, appuyer à nouveau sur la touche

### Dilution de l'échantillon

La dilution de l'échantillon dans la cuve optique peut être saisie par la touche avant la lecture. Le système en tient alors compte pour le calcul du résultat (voir chapitre "détermination d'échantillons dilués").

### Touche conversion



Le dernier résultat déterminé en concentration peut être exprimé soit et / ou quantité d'acide nucléique (unités de masse ou unité molaire):

quantité calcul:	
échant.total	---- $\mu\text{L}$
molarité calculée:	
paires bases	----
masse mol	---- kDa

### Programmation "échantillon total"

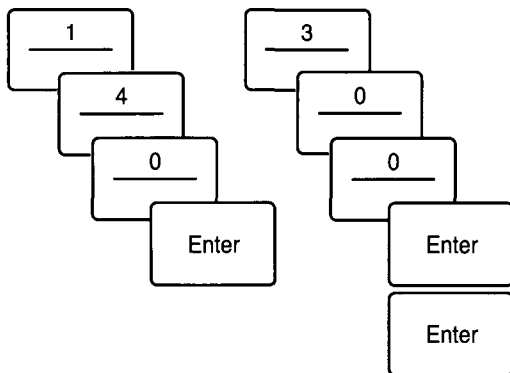
La valeur programmée sera calculée par rapport à la concentration mesurée. Le résultat est alors exprimé en quantité d'acide nucléique présent dans l'échantillon.

### Programmation "paires de bases" ou "masse molaire"

Une seule saisie sur les deux lignes est suffisante. A l'aide de la valeur programmée et de la concentration, le système détermine la concentration molaire.


Pour passer sur les fenêtres de programmation non souhaitées, taper

## 5 Mode d'emploi



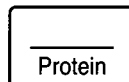
Affichage après programmation de "140 µl d'échantillon" et "300 paires de bases":



dsDNA                    échant 001  
**70.0** µg/mL  
353.5 pmol/mL  
9.8 µg  
49.5 pmol

L'unité de concentration molaire (ici "pmol/mL") est préprogrammée, mais elle peut être modifiée par la touche .


### 5.3 Détermination photométrique directe des protéines

Rappeler la méthode

 Protein

PROTEIN  
absorbance  
 ou 

#### Exploitation

En programmation d'origine, la méthode "protéines" est en mode "Absorbance", c'est à dire que le système fournit les résultats en absorbance. pour accéder à d'autres méthodes de conversion, passer par la touche  et programmer d'autres formules de calcul (voir chapitre 6 "Programmation")

- facteur
- standard (calibrage en point final)
- formule de Warburg

Le nombre de décimales programmées avec le facteur ou la concentration de départ conditionne le nombre de décimales du résultat final.

Lors de la programmation du facteur, il convient de l'aligner sur l'unité de concentration choisie.

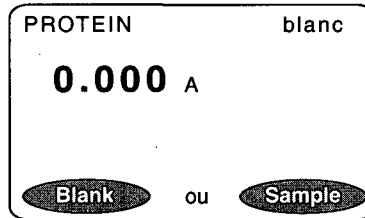
## 5 Mode d'emploi

### Déroulement de la lecture

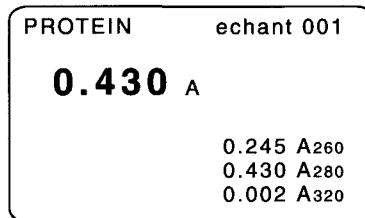
L'exemple ci-après illustre le déroulement d'une lecture en mode d'exploitation "Absorbance". Pour un déroulement d'une lecture avec exploitation par un standard, voir le chapitre "détermination de protéines après ajout de réactif".

La valeur des blancs reste conservée en mémoire jusqu'au changement de date. (voir chapitre "détermination des acides nucléiques").

### Détermination du blanc



### Détermination de l'échantillon



### Affichage du résultat

En plus du résultat exprimé en concentration et en absorbance à 280 nm, le système indique l'absorbance A260 et A320 comme point de repère pour la pureté de l'échantillon mesuré. L'absorbance d'échantillons purs devrait être proche de 0 à 320 nm.

### Détermination de l'échantillon suivant

Pour passer à la détermination de l'échantillon suivant, taper à nouveau la touche

### Dilution de l'échantillon

La dilution de l'échantillon dans la cuve optique peut être programmée par l'intermédiaire de la touche avant de procéder à la détermination. Le système intégrera cette donnée pour le calcul de son résultat (voir chapitre "détermination d'échantillons dilués").

## 5 Mode d'emploi

### 5.4 Détermination de protéines après ajout de réactif (Bradford, BCA, Lowry)

Rappeler  
la méthode

Bradford

BRADFORD  
domaine calibrase  
XXX - XXX µg/mL  
Blank ou Standard

Si le système a déjà effectué précédemment un calibrage validé, il le possède en mémoire et l'afficheur indique l'heure et la date de la saisie en mémoire. Dans ce cas, on peut effectuer la détermination du blanc et procéder au recalibrage, ou passer directement à la détermination de l'échantillon en utilisant les données en mémoire pour le calcul du résultat.

#### Méthodes "micro"

Les méthodes Bradford, Lowry et BCA comportent une particularité: elles peuvent être programmées en deux domaines de concentration différents. Pour accéder à l'une ou à l'autre des deux méthodes, il suffit de solliciter la même touche successivement pour basculer de l'une à l'autre.

#### Exploitation des données

Les méthodes Bradford, Lowry et BCA ainsi que les méthodes micro associées, sont programmées d'origine sur un mode d'exploitation des résultats qui passe par une courbe de calibrage stockée par le biais d'une régression non linéaire. La touche Parameter permet cependant de programmer d'autres méthodes d'exploitation en variante (voir chapitre 6 "Programmation"):

- Méthode par facteur (calcul de la concentration par l'intermédiaire d'un facteur).
- Absorbance (les résultats sont fournis bruts, sans transformation par un calcul).

La procédure d'exploitation préprogrammée d'origine par un standard accepte la modification des paramètres suivants (voir chapitre 6 "Programmation"):

- Nombre de standards (de 1 à 10).
- Nombre de lectures répétitives par standard (1 à 3).
- Procédure d'exploitation par calibrage multipoints (calibrage linéaire ou non linéaire).
- Valeur de concentration des standards.

Le nombre de décimales programmées avec le facteur ou la concentration de départ du premier standard conditionne le nombre de décimales du résultat final.

Lors de la programmation du facteur, il convient de l'aligner sur l'unité de concentration choisie.

## 5 Mode d'emploi

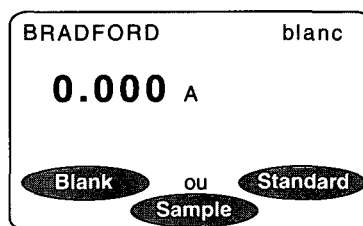
### Déroulement de la lecture

Les valeurs des blancs restent conservées en mémoire jusqu'au changement de date. (voir chapitre "détermination des acides nucléiques").

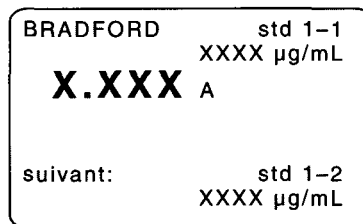
Les valeurs des standards restent conservées en mémoire de façon illimitée. Elles sont écrasées par de nouvelles valeurs lors de la détermination d'une nouvelle série de standards. Les résultats d'une série de déterminations d'échantillons sont toujours calculés sur la base de la série standard la plus récente. Mise en mémoire.

Dans l'exemple ci-après, la programmation de la méthode Bradford utilise une procédure d'exploitation par une série standard multipoints avec 5 valeurs en détermination double et calcul par une régression non linéaire:

#### Détermination du blanc

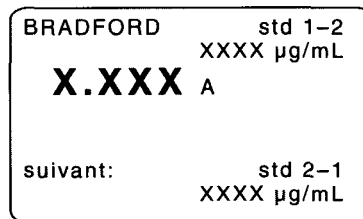


#### Détermination des standards



Standard 1 / 1<sup>ère</sup> lecture

Sur les deux premières lignes on lit les valeurs du standard qu'on vient de passer. Sur les deux dernières lignes, on lit les valeurs du standard suivant avec la valeur de sa concentration.



Standard 1 / 2<sup>ème</sup> lecture

## 5 Mode d'emploi

Affichage du système après passage de la série de standards:

BRADFORD            std 5-2  
                              XXXX µg/mL  
**X.XXX** A  
  
cv: 2.8%  
calibrase mémorisé

Le cv (coefficient de variation) donne une indication de la dispersion des valeurs de standards autour de la courbe de régression. Si le cv est inférieur à 10 % la courbe est mémorisée automatiquement. Si le cv est supérieur à 10 %, le système demande sa validation par la question "mémoriser? ENT/CLR". Cette procédure permet d'accepter le calibrage ou de le refuser auquel cas il est effacé. Les séries de détermination des échantillons sont toujours exploitées sur la base des calibrages validés les plus récents.

**Détermination  
de l'échantillon**




BRADFORD            échant 001  
**X.XXX** µg/mL  
  
                              X.XXX A595


### **Affichage du résultat**

En plus du résultat exprimé en concentration, le système indique l'absorbance à la longueur d'onde de lecture (595 nm en méthode Bradford).

**Détermination de  
l'échantillon suivant**

Pour passer à la détermination de l'échantillon suivant, taper à nouveau la touche .

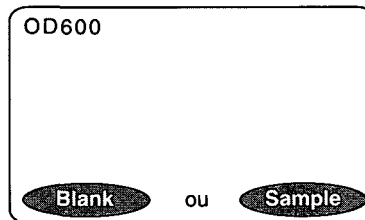
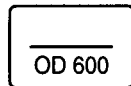
**Dilution  
de l'échantillon**

La dilution de l'échantillon dans la cuve optique peut être programmée par l'intermédiaire de la touche  avant de procéder à la détermination. Le système intégrera cette donnée pour le calcul de son résultat (voir chapitre "détermination d'échantillons dilués").

# 5 Mode d'emploi

## 5.5 Détermination des OD 600

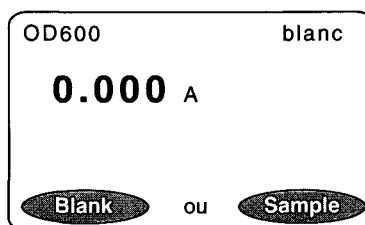
Rappeler  
la méthode



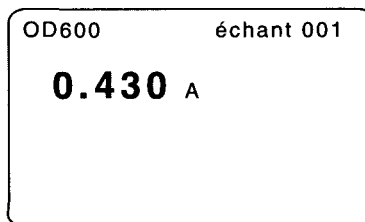
### Déroulement de la lecture

Les valeurs des blancs restent conservées en mémoire jusqu'au changement de date. (voir chapitre "détermination des acides nucléiques").

Détermination  
du blanc




Détermination  
de l'échantillon



Détermination de  
l'échantillon suivant

Pour passer à la détermination de l'échantillon suivant, taper à nouveau la touche .


Dilution  
de l'échantillon

La dilution de l'échantillon dans la cuve optique peut être programmée par l'intermédiaire de la touche  avant de procéder à la détermination. Le système intégrera cette donnée pour le calcul de son résultat (voir chapitre "détermination d'échantillons dilués").

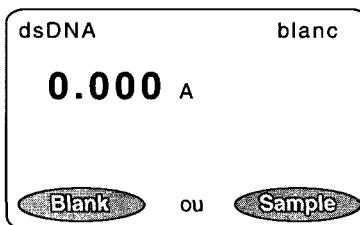
La détermination de l'OD 600 est une mesure de dispersion de lumière; le résultat d'une telle lecture dépend fortement de la géométrie du faisceau optique. Or celle-ci dépend directement du photomètre utilisé.

# 5 Mode d'emploi

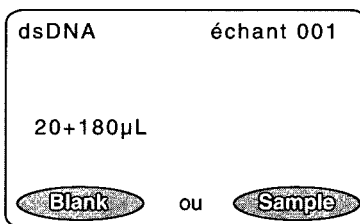
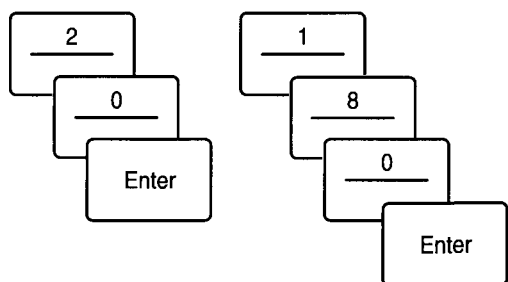
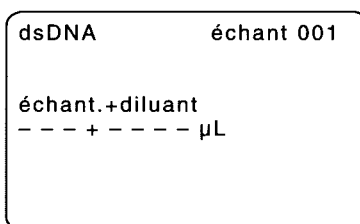
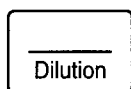
## 5.6 Détermination d'échantillons dilués

Les dilutions d'échantillons sont programmées par la touche  avant la lecture. Le système intègre cette donnée pour le calcul et la communication du résultat.

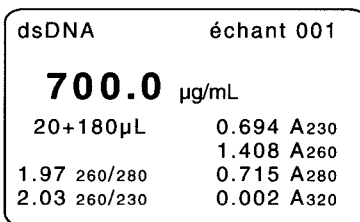
Les valeurs de blanc ont déjà été lues dans l'exemple suivant:



**Programmer la dilution**





**Détermination de l'échantillon dilué**



Le système a intégré la dilution pour l'élaboration de son résultat. Le facteur de dilution reste en machine et il est utilisé pour le calcul du résultat d'autres échantillons jusqu'à ce qu'il soit écrasé par une nouvelle valeur.

**Effacer la donnée relative à la dilution**

Pour effacer le facteur de dilution, solliciter la touche  puis effacer les valeurs figurant sous "Sample" et "Diluent" avec la touche , ou écraser les valeurs en tapant "zéro".

## 5 Mode d'emploi

### 5.7 Modification du numéro d'échantillon

Le numéro courant d'échantillon est indiqué sur le cadran-afficheur en haut à droite. Ce numéro courant est incrémenté séparément pour chaque méthode et se remet sur "1" au changement de date.

Il est possible d'intervenir sur ce numéro courant et de le modifier pour repasser le même échantillon par exemple:

**Modification  
du numéro  
d'échantillon**

0
Sample No.

3
---

Enter
-------

dsDNA	échant 005
<b>70.0</b> µg/mL	
2+180µL	0.694 A230
	1.408 A260
1.97 260/280	0.715 A280
2.03 260/230	0.002 A320


dsDNA	échant 005
-------	------------

dsDNA	échant 003	
Blank	ou	Sample

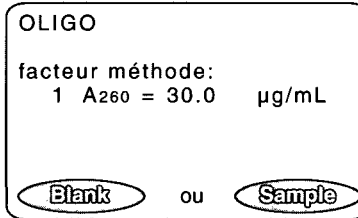
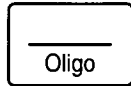
Pour la détermination du numéro d'échantillon suivant, le numéro a été ramené sur "3". Les numéros d'échantillons suivants seront incrémentés ensuite à partir de ce nouveau numéro.

# 6 Programmation

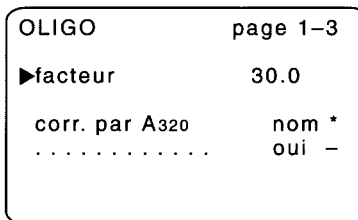
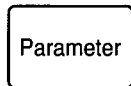
## 6.1 Principes de la programmation

Chaque méthode est préprogrammée d'origine et comporte en mémoire les paramètres tels que la formule de calcul du résultat ou les unités de concentration. Les méthodes programmées d'origine peuvent être modifiées par l'accès aux paramètres par la touche .

**Rappeler la méthode**



**Rappeler la liste des paramètres**

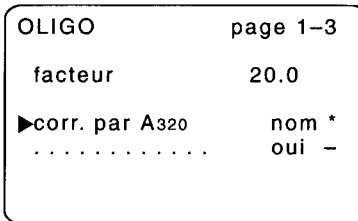
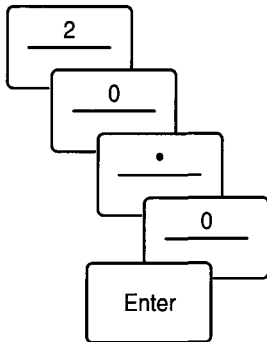


Il existe différentes listes de paramètres pouvant être modifiées pour les méthodes (voir tableau au chapitre suivant). Les paramètres pour la méthode "Oligo" s'étendent sur trois pages d'afficheur du système.

### Exemple: modification du facteur

Les saisies de chiffres sont validées en mémoire par  :

**Saisir le facteur et le mémoriser**



Après la validation en mémoire du facteur, le curseur a sauté sur le bloc paramétrique suivant ("correction par A<sub>320</sub>").

## 6 Programmation

### Exemple: modification des unités

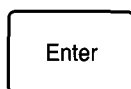
Les paramètres sélectionnés sont pointés à l'aide du curseur puis sont validés par . La sélection validée en mémoire est marquée d'un astérisque "\*":

Sélectionner le paramètre souhaité



OLIGO	page 2-3
unité	µg/mL *
.....	ng/µL -
▶.....	µg/µL -
unité m.	pmol/µL *
.....	µmol/L -

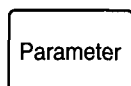
Valider en mémoire le paramètre



OLIGO	page 2-3
unité	µg/mL -
.....	ng/µL -
.....	µg/µL *
▶unité m.	pmol/µL *
.....	µmol/L -

Après validation de l'unité de concentration "µg/µL" le curseur a sauté vers le bloc paramétrique suivant (unité molaire).

Quitter le fichier des paramètres



Pour quitter le fichier des paramètres, on peut sélectionner la ligne "fin paramètre" et valider par  ou simplement taper la touche  à n'importe quel moment.

OLIGO
facteur méthode:
1 A <sub>260</sub> = 20.0 µg/mL
<input type="button" value="Blank"/> ou <input type="button" value="Sample"/>

## 6 Programmation

### 6.2 Tableau des paramètres

	<b>ADNds ADNss ARN</b>	<b>Oligo</b>	<b>Protéines</b>	<b>Bradford Brad.micro Lowry Low.micro BCA BCA micro</b>	<b>OD 600</b>
<b>Calcul</b>	(Observation 1)	(Observation 1)	Absorbance Standard Facteur Formule de Warburg	Absorbance Standard Facteur	(Observation 1)
<b>Correction par A320</b>	Inactif Actif	Inactif Actif	Inactif Actif		
<b>Unités</b>	µg/mL ng/µL µg/µL	µg/mL ng/µL µg/µL	mg/mL µg/mL	mg/mL µg/mL µg	(Observation 2)
<b>Unité molaire</b>	pmol/µL µmol/L pmol/mL	pmol/µL µmol/L			
<b>Cuve</b>	10 mm 5 mm 2 mm 1 mm	10 mm 5 mm 2 mm 1 mm	10 mm 5 mm 2 mm 1 mm	10 mm 5 mm 2 mm 1 mm	10 mm 5 mm 2 mm 1 mm

(pour les seules méthodes à calcul par facteur)

<b>Facteur</b>	Chiffres	Chiffres	Chiffres	Chiffres	Chiffres
----------------	----------	----------	----------	----------	----------

(pour les seules méthodes à calcul par standard)

<b>Nombre de standards</b>			(Observation 3)	Chiffres	
<b>Détermination des standards</b>			1x 2x 3x	1x 2x 3x	
<b>Régression (observation 4)</b>				Linéaire Non linéaire	
<b>Standard</b>			Chiffres	Chiffres	

Observation 1: Aucun choix possible; la procédure de calcul par facteur est figée au programme.

Observation 2: Aucun choix possible; l'unité "absorbance" est figée au programme.


Observation 3: Aucun choix possible; le nombre de standards "1" est figé au programme.

Observation 4: Il existe une possibilité de choix uniquement si la programmation au paramètre "Nombre de standards" a été au moins "4" (ou en détermination simple du standard, au moins "5").

## 6 Programmation

### 6.3 Explication des paramètres

Les paramètres sont classés en deux catégories: les paramètres de "sélection" et les paramètres nécessitant la saisie de "chiffres". Concernant les paramètres de sélection, ceux-ci dépendent de variantes méthodologiques (voir tableau de ces paramètres au chapitre précédent).

<b>Paramètre</b>	<b>Saisie</b>	<b>Observations</b>
Calcul	Sélection	Permet la sélection parmi les procédures de calcul du résultat: absorbance, facteur, standard, et formule de Warburg. Pour un calcul utilisant la formule de Warburg, la valeur mesurée A <sub>260</sub> au cadran et à l'impression est repérée avec le signe "◀".
Facteur	Chiffres (5 rangs)	(uniquement en cas de sélection de la procédure de calcul "facteur") Saisie d'un facteur: le nombre de décimales du facteur détermine le nombre de décimales du résultat
Correction par E <sub>320</sub>	Sélection	(uniquement pour les méthodes pour acides nucléiques et protéines) Possibilité de sélectionner entre "Corr. par A <sub>320</sub> inactif" et "Corr. par A <sub>320</sub> actif"; Corr; par A <sub>320</sub> actif signifie que pour des absorbances mesurées à 260, 280 et 230 nm, celle mesurée à 320 nm sera déduite. Cette procédure peut s'utiliser pour des corrections de turbidité. Une correction active pour A <sub>320</sub> sera signalée à l'aide du signe "◀" face aux résultats de l'afficheur et du protocole d'imprimante.
Unités	Sélection	Sélection des unités de concentrations en fonction des méthodes.
Unité molaire	Sélection	Sélection des unités selon la méthode (uniquement pour les méthodes des acides nucléiques); Cette fonction est nécessaire pour convertir les concentrations pondérales en concentrations molaires (touche  ).
Cuve optique	Sélection	Sélection du parcours optique des cuves: 10, 5, 2 et 1 mm. Le résultat est toujours rapporté à un p.o. = 10 mm (voir chapitre 12 "Exploitation des résultats et conversions").

## 6 Programmation

Les paramètres suivants ne sont proposés que dans le cadre de la programmation du mode de calcul "standard":

<i>Paramètre</i>	<i>Saisie</i>	<i>Observations</i>
Nombre de standards	Chiffres (1 à 10)	Nombres de standards de concentration différente.
Détermination du standard	Sélection	Sélection parmi 1x, 2x, 3x, représentant le nombre de fois que la lecture du standard est répétée. La valeur moyenne de l'ensemble des déterminations des standards est utilisée pour les calculs ultérieurs.
Régression	Sélection	(uniquement avec un nombre minimum de standards de 4 ou, pour une détermination simple de standards, d'au moins 5) Sélection d'une procédure de calcul parmi une régression linéaire et non linéaire. Pour un nombre des standards supérieur à 1 et inférieur à 4 / 5 l'exploitation s'effectue toujours selon une régression linéaire (voir chapitre 12, exploitation des données).
Std. 1 à Std. 10	Chiffres (5 rangs)	Programme de la valeur de concentration du standard. Le nombre de décimales de la concentration du 1 <sup>er</sup> standard détermine le nombre de décimales du résultat.

### 6.4 Tableau des valeurs programmées d'origine

	ADNds	ssADN	ARN	Oligo	Protéines	Bradford	Bradford micro	Lowry	Lowry micro	BCA	BCA micro	OD 600
Calcul					Absorbance	Standard	Standard	Standard	Standard	Standard	Standard	
Facteur	50.0	37.0	40.0	30.0	----- 1)	----- 1)	----- 1)	----- 1)	----- 1)	----- 1)	----- 1)	1.000
Corr. par A320	inactif	inactif	inactif	inactif	inactif							
Nombre de standards						6	6	6	6	8	5	
Détermination standard					1x <sup>2)</sup>	1x	1x	1x	1x	1x	1x	
Régression						Non linéaire	Non linéaire	Non linéaire	Non linéaire	Non linéaire	Non linéaire	
Unités pondérales	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/µL	µg/mL <sup>3)</sup>	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	µg/mL	
Unités molaires	pmol/mL	pmol/mL	pmol/mL	pmol/µL								
Standard 1					----- 4)	100	1.00	100	1.00	25	0.50	
Standard 2						250	2.5	250	2.5	125	2	
Standard 3						500	5	500	5	250	5	
Standard 4						750	10	750	10	500	10	
Standard 5						1000	15	1000	15	750	20	
Standard 6						1500	25	1500	25	1000		
Standard 7										1500		
Standard 8										2000		
Cuve	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm	10 mm

Observations: 1) Calcul par facteur, nécessite une programmation de la valeur par l'utilisateur  
 2) Avec calcul standard  
 3) Avec calcul standard ou facteur  
 4) Calcul par standard, nécessite une programmation de la valeur par l'utilisateur

# 7 Fonctions

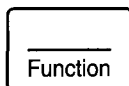
## Liste des fonctions

Fonction	Saisie	Observations
Affichage des résultats	Rappel par <input type="button" value="Enter"/>	Permet de visualiser les 100 derniers résultats (le dernier résultat déterminé est affiché en premier) <input type="button" value="▲"/> <input type="button" value="▼"/> : Sélection des résultats <input type="button" value="Enter"/> : Impression des résultats affichés <input type="button" value="Function"/> : Retour à la liste des fonctions
Rapport de calibrage	Rappel par <input type="button" value="Enter"/>	Impression du rapport de calibrage; <input type="button" value="▲"/> <input type="button" value="▼"/> : Sélection de la méthode <input type="button" value="Enter"/> : Impression du rapport de calibrage <input type="button" value="Function"/> : Retour à la liste de fonctions
Date	Saisie de chiffres	<input type="button" value="Enter"/> : Mise en mémoire
Heure	Saisie de chiffres	<input type="button" value="Enter"/> : Mise en mémoire
Absorbance en mémoire	Sélection par <input type="button" value="Enter"/>	Impression des dernières absorbances mesurées (100 lectures max.). Pour les valeurs de la méthode mesurée en dernier, calcul et impression de la valeur moyenne, de l'écart standard et du cv.
Lecture de répétabilité	Sélection par <input type="button" value="Enter"/>	Lecture et calcul de répétabilité sur une série de 10 lectures successives sur un échantillon. Pour l'exploitation des données, la machine utilisera les programmes de la dernière méthode appelée.
Test photométrique	Sélection par <input type="button" value="Enter"/>	Contrôle de la justesse photométrique ainsi que de la justesse de la longueur d'onde (voir chapitre 13 "Contrôle du photomètre").
Sprache Deutsch Language English Language U.S.English langue française	Sélection	Permet la sélection de la langue de son choix; "english" et "U.S. english" ne se distinguent que par le format de la date.
Imprimante DPU 414 Imprimante série	Sélection	DPU 414: connexion de la thermoimprimante Eppendorf DPU 414 (voir chapitre 4.2 "Imprimante"). Sérielle: Connexion d'une imprimante autre (voir chapitre 4.2 "Imprimante").
Service		Fonction uniquement accessible pour le technicien de service après-vente.

# 7 Fonctions

## Exemple: modifier la version linguistique

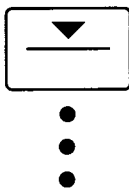
Rappel de la liste  
des fonctions



```
FUNKTION    SEITE 1-4
▶ERGESNISSE ANZEIGEN
  KALIBRATIONS REPORT

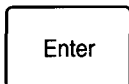
DATUM       27.06.1998
UHRZEIT     20:44
```

Sélectionner la  
fonction souhaitée





```
FUNKTION    SEITE 3-4
  SPRACHE DEUTSCH *
  LANGUAGE ENGLISH -
  LANGUAGE U.S.ENGL -
▶langue française -
```

Entrer la fonction  
en mémoire

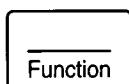


```
fonction    page 4-4
▶imprimante DPU 414 *
  série      -
  service    - - - -
fin fonction
```

Pour quitter le fichier des fonctions on peut soit sélectionner la ligne "fonction fin", soit taper , ou encore taper la touche  à partir de n'importe quelle ligne.

Le système retourne ensuite dans la méthode préalablement programmée.

Quitter le fichier  
des fonctions



```
OLIGO
facteur méthode:
  1 A260 = 20.0    µg/mL

(Blank) ou (Sample)
```

## 8 Messages d'erreur, repérage des résultats et textes auxiliaires

### Repérage des résultats

<b>Repère</b>	<b>Observations</b>
1.586 A260 ◀	Le repère à côté de A260 sur l'afficheur et sur le protocole d'imprimante (uniquement sur méthode "protéines direct") signifie que le résultat a été obtenu par la formule de Warburg.
0.015 A320 ◀	Le repère à côté de A320 sur l'afficheur et sur le protocole d'imprimante (uniquement sur méthode "protéines direct" et méthode pour acide nucléiques) signifie que les absorbances à 260, 280 et 230 nm sont corrigées par l'absorbance à 320 nm. (voir chapitre 6, "Programmation").

### Messages d'erreurs accompagnant les résultats


<b>Message d'erreur</b>	<b>Observation / cause</b>	<b>Remède</b>
+++++	L'absorbance mesurée est supérieure à $A = 3.0$ .	<ul style="list-style-type: none"><li>- Diluer l'échantillon.</li><li>- Vérifier la cuve (hauteur du faisceau optique).</li><li>- Nettoyer le puits porte-cuve (voir chap. 9).</li><li>- Placer la cuve dans le bon sens (face optique dans le faisceau optique).</li><li>- Utiliser une cuve transparente à la longueur d'onde utilisée (cuve quartz ou UVette® Eppendorf pour les lectures sur acides nucléiques).</li></ul>
!!!!	Résultat calculé non représentable (valeur trop élevée).	Vérifier les paramètres (facteur trop élevé?)
-----	(à la place d'une valeur pour un ratio): Le ratio n'a pas pu être déterminé, l'une des valeurs du ratio ayant une valeur d'absorbance $A = 0$ ou $A > 3.0$ .	Répéter la lecture, au besoin avec un échantillon dilué.

## 8 Message d'erreur, repérage des résultats et textes auxiliaires

### Messages d'erreur dans le déroulement de la lecture

Message d'erreur	Observation / cause	Remède
lire d'abord blanc	La méthode sélectionnée ne comporte pas encore de blanc.	Effectuer un blanc.
lire d'abord standard	La méthode sélectionnée ne comporte pas encore de calibrage validé.	<ul style="list-style-type: none"><li>– Lire les standards.</li><li>– Programmer un autre mode de calcul (facteur fixe ou absorbance en direct).</li></ul>
en dehors calibrage	(uniquement sur exploitation en régression non linéaire): Le résultat de l'échantillon est situé en dehors du domaine calibré.	Répéter la lecture, le cas échéant avec un échantillon dilué.
err. module lecture 1 err. module lecture 2 err. module lecture 3	Différentes anomalies dans le module mesure.	Faire appel au service après-vente.

### Message d'erreur dans le processus de calibrage

Message d'erreur	Observation / cause	Remède
méthode std absente	La touche  a été sollicitée, mais la méthode appelée est programmée sans standard dans son mode d'exploitation.	<ul style="list-style-type: none"><li>– Effectuer une nouvelle lecture sans passer par standard.</li><li>– Programmer un mode d'exploitation "standard".</li></ul>
valeurs lues non plausibles	(en calibrage en point final) L'absorbance lue est de 0 A	Refaire une lecture du standard, le cas échéant, préparer un nouveau standard.
valeurs lues non monotones	(en calibrage multipoints) La série lue n'est pas régulière ni en croissance, ni en décroissance.	Vérifier la série de standards et représenter les valeurs dans l'ordre correct de concentration croissante.
courbe calibrage non monotone	(en régression non linéaire:) La courbe calculée n'est pas régulière.	Vérifier les standards et les représenter dans un ordre de concentration croissante.

## 8 Message d'erreur, repérage des résultats et textes auxiliaires

<b>Message d'erreur</b>	<b>Observation / cause</b>	<b>Remède</b>
CV supérieur à 10 %	(en fin de la série standard) La dispersion autour de la droite de calibrage ou de la courbe est trop importante (voir chapitre 12, "Exploitation").	Vérifier les résultats du calibrage. – <input type="button" value="Enter"/> : Mémorisation du calibrage. – <input type="button" value="Clear"/> : Annuler le calibrage, refaire un nouveau calibrage, ou rappeler un calibrage en mémoire.

### Messages d'erreur dans le déroulement de la programmation

<b>Message d'erreur</b>	<b>Observation / cause</b>	<b>Remède</b>
anomalie, vérifier paramètre méthode	Le paramètre de la méthode a été programmé de façon incorrecte.	Vérifier le paramètre, au besoin, le reprogrammer.
programmer standards par ordre croissant	(calibrage multipoints): Les valeurs des concentrations des standards n'ont pas été programmées en ordre croissant.	Vérifier la programmation et effectuer la saisie en ordre croissant.

### Autres messages d'erreur

<b>Message d'erreur</b>	<b>Observation / cause</b>	<b>Remède</b>
saisie invalide	(lors de la saisie des numéros courants des échantillons par la touche <input )<br="" type="button" value="Sample No."/> La saisie comporte un chiffre hors limites compatibles de 1 à 999.	Refaire la saisie en respectant les limites.

### Textes d'aide

<b>Texte d'aide</b>	<b>Observation / cause</b>	<b>Remède</b>
programmer standards	(apparaît à l'afficheur après appel de la méthode) La méthode comporte bien des standards, mais aucune série de concentration standard n'a été saisie.	– Programmer les valeurs de concentration de la série de standards (touche <input type="button" value="Parameter"/> ). – Programmer une autre méthode sans standard.
programmer facteur	(apparaît à l'afficheur après appel de la méthode) La méthode comporte bien un facteur, mais aucune valeur n'a été saisie.	– Programmer la valeur du facteur (touche <input type="button" value="Parameter"/> ). – Programmer une autre méthode sans facteur.

## 9 Nettoyage et maintenance

### **Photomètre**

- Retirer le cordon secteur avant de procéder aux opérations de maintenance ou changement de fusible.  
Les tensions présentes à l'intérieur de l'appareil peuvent causer des chocs électriques dangereux.
- Essuyer tout l'appareil à l'aide d'un chiffon humide et d'un détergent doux.
- Pour désinfecter, essuyer avec un chiffon légèrement imprégné d'un mélange eau / éthanol à 70 %.
- En aucun cas des liquides ne devront pénétrer à l'intérieur de l'appareil.

### **Puits porte-cuve**

- Nettoyer le puits porte-cuve à l'aide d'un coton-tige légèrement humide, jamais à grande eau comme avec une pissette.
- Lorsque l'appareil est hors service, poser l'obturateur livré avec l'appareil sur le porte-cuve pour éviter les dépôts de poussière.  
Toute présence de poussière ou de résidus de réactifs sur le parcours optique peut être source d'erreur de lecture.

### **Changement de fusible**

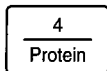
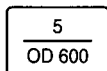
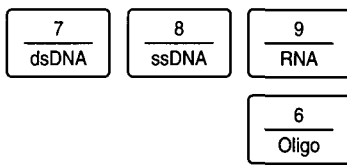
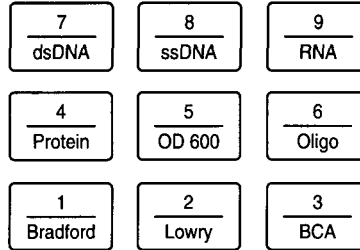
- Retirer le cordon secteur.
- Au-dessus du raccordement secteur se trouve le porte-fusible (voir fig. au chapitre 4.1). La position du support est sécurisée par un petit verrou se trouvant au bas du support.
- Pousser le levier de verrouillage vers le haut et extraire le support.
- Remplacer les fusibles  
(voir spécifications au chapitre 2 "Spécifications techniques").
- Réinsérer le support dans sa logette et le pousser jusqu'à l'encliquetage du verrou.
- Raccorder à nouveau au secteur.

# 10 Mode d'emploi succinct

## Préparation

L'appareil est directement opérationnel après mise sous tension.

## Méthodes



### ADNs ADNss ARN Oligo

- Lecture directe des acides nucléiques à 260 nm.
- Quotients  $A_{260}/A_{280}$  et  $A_{260}/A_{230}$ .
- Correction de la lecture de l'absorbance par l'absorbance à  $A_{320}$ .
- Lecture en cuve quartz ou en UVette® Eppendorf.

### OD 600

- Lecture directe de la suspension bactérienne à 600 nm (par turbidimétrie).
- Lecture avec cuve en verre ou en plastique.

### Protéines

- Lecture directe des protéines à 280 nm.
- Lecture directe de l'absorbance ou conversion par facteur, standard ou formule de Warburg.
- Correction de la lecture de l'absorbance par l'absorbance à  $A_{320}$ .
- Lecture en cuve quartz ou en UVette® Eppendorf.

### Bradford Lowry BCA Bradford micro Lowry micro BCA micro

- Lecture directe des protéines avec les réactifs de Bradford, Lowry, BCA.
- Lecture directe de l'absorbance ou conversion par facteur ou calibrage à standard (calibrage à un point, régression linéaire ou non linéaire).
- Nombres et valeurs des éléments calibrants programmables.
- Méthodes pour protéines disponibles également en micro-méthodes (taper deux fois la touche).
- Lecture avec cuve en verre ou en plastique.

## Cuves

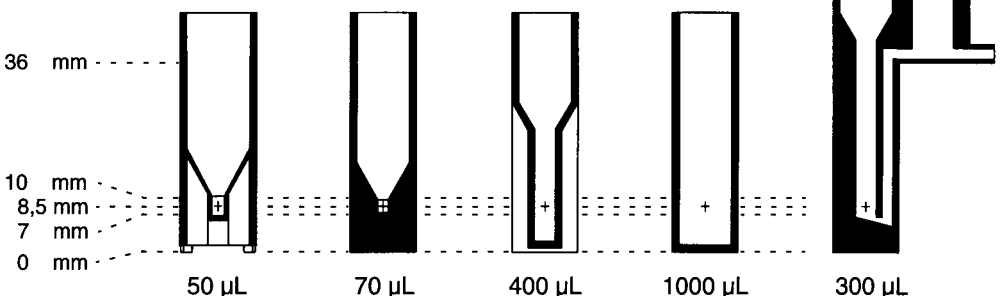
Base  
12,5 mm x 12,5 mm

Hauteur totale mini. 36 mm

Niveau de remplissage mini. 10 mm  
Faisceau lumineux 8,5 mm  
Epaisseur max. de la base 7 mm

Volume mini. 0 mm

UVette® Ultra-micro semi-micro macro à vidange



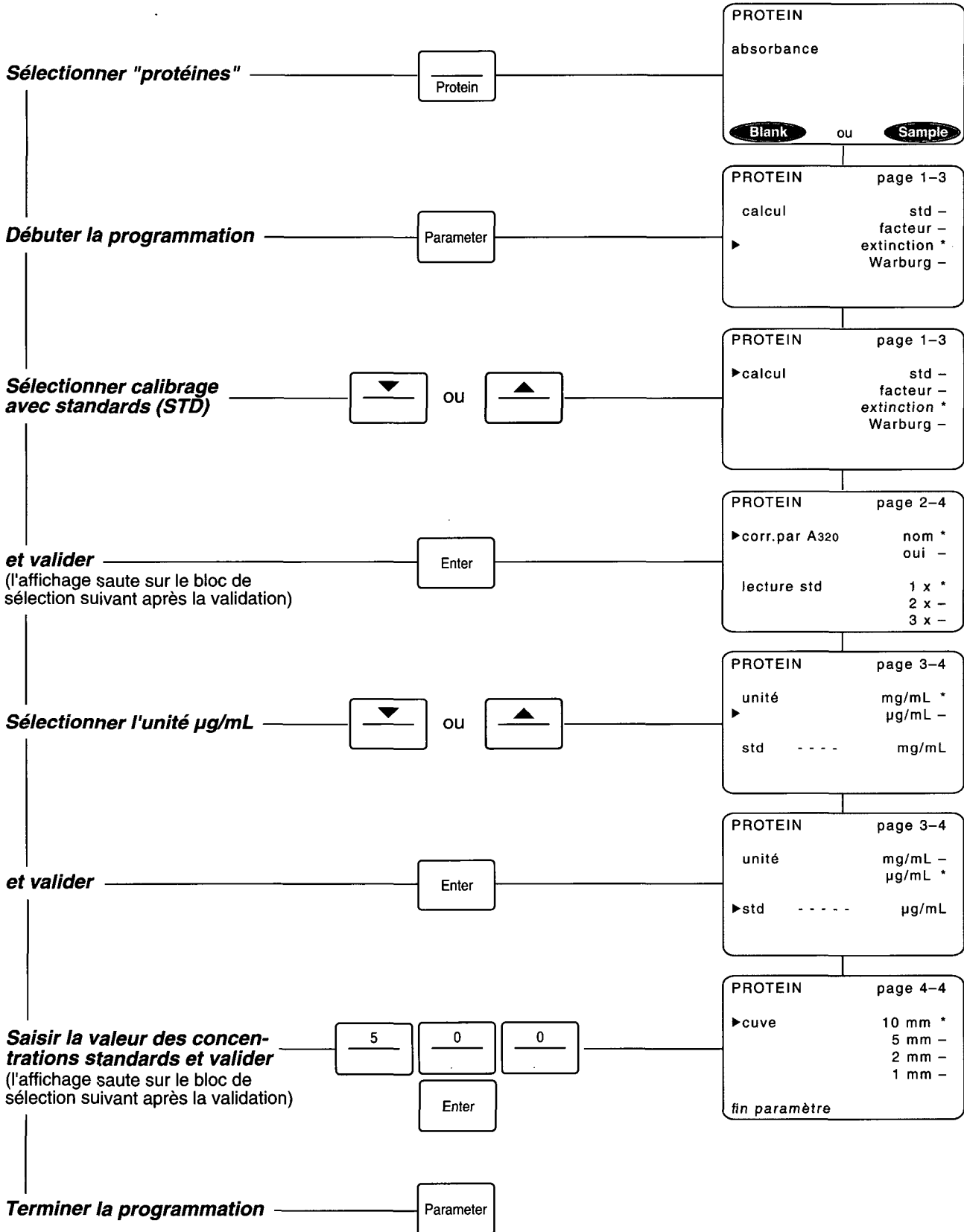
# 10 Mode d'emploi succinct

## Programmation

Les méthodes installées d'origine en mémoire méthode peuvent être modifiées.

### Exemple:

Programmation de l'unité "µg/mL" et méthode de conversion par standard (500 µg/mL) pour la méthode "protéines".



# 10. Mode d'emploi succinct

## Déroulement de la lecture ADNds

Sélectionner la méthode ADNds

dsDNA

dsDNA  
facteur méthode  
1 A260 = 50.0 µg/mL

Blank ou Sample

Lire le blanc

Blank

dsDNA blanc  
**0.000** A

Blank ou Sample

Si l'échantillon est dilué:  
Exemple: 20 + 200 µL

Dilution

Enter

Enter

dsDNA échant 001  
20+200 µL

Blank ou Sample

Lecture de l'échantillon

Sample

dsDNA échant 001  
**563.20** µg/mL

20+200 µL 0.694 A230  
1.408 A260  
1.97 260/280 0.715 A280  
2.03 260/230 0.002 A320

Si le résultat de la lecture  
doit être converti:

Conversion

Enter

Enter

Enter

quantité calcul:  
échant.total 140 µL

molarité calculée:  
paires bases 300  
masse mol 198 kDa

dsDNA échant 001  
**563.20** µg/mL

20+200 µL  
79 µg  
2843 pmol/mL  
398 pmol

Lire l'échantillon suivant

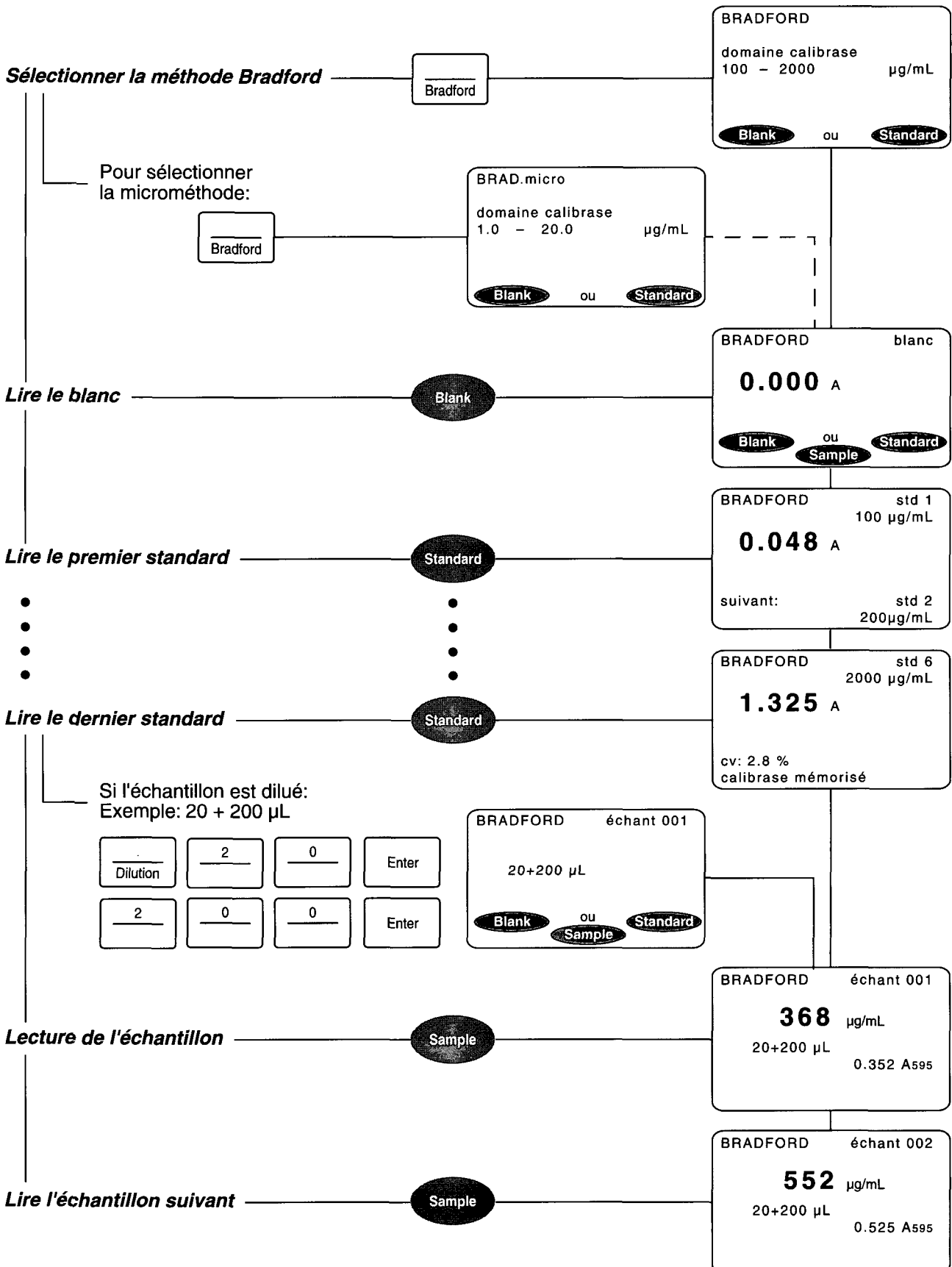
Sample

dsDNA échant 002  
**249.70** µg/mL

20+200 µL 0.689 A230  
0.788 A260  
1.85 260/280 0.623 A280  
2.19 260/230 0.003 A320

# 10 Mode d'emploi succinct

## Déroulement de la lecture Bradford



# 11 Nomenclature

## **Code commande**

### **Photomètre**

6131 000.012	BioPhotometer
6131 900.102	Mode d'emploi
6131 810.006	BioPhotometer Software Package, Logiciel de transfert de données depuis le BioPhotometer vers un logiciel de calcul sous tableur tels que Excel sous Windows
6131 928.007	Filtre UV-VIS secondaire, le lot, pour contrôle du BioPhotometer

### **Imprimante**

0013 608.148	Thermo-imprimante DPU 414
0013 608.164	Bloc secteur 115 V pour imprimante DPU 414
0013 608.172	Bloc secteur 230 V pour imprimante DPU 414
0013 610.517	Cordon imprimante VGA I, 9 broches, mâle / fem
6547 001.018	Papier pour thermo-imprimante, les 10 rouleaux

### **UVette®**

**(Cuve à usage unique pour UV/VIS de 220 à 1 600 nm)**

0030 106.300	UVette®, en conditionnement individuel sous blister, les 80
4308 078.006	Porte-cuves pour 16 cuves

## 12 Exploitation des résultats et conversions

### 12.1 Acides nucléiques (ADNs, ADNss, ARN, Oligo))

#### Conversion par facteur

$$C = A_{260} \times F$$

C = Concentration calculée

A<sub>260</sub> = Absorbance lue à 260 nm

F = Facteur (à programmer au cas par cas selon la méthode par la touche  )

Particularité de la méthode pour acides nucléiques: le facteur programmé se rapporte toujours à l'unité de concentration "µg/mL". Si on sélectionne l'unité de concentration µg/µL, le facteur sera automatiquement réévalué en interne:

$$F' = F / 1000$$

F' = Facteur interne converti; est utilisé pour le calcul de la concentration.

#### Dilution de l'échantillon

$$C_{\text{dil, corr}} = C \times (V_P + V_{\text{dil}}) / V_P$$

C<sub>dil, corr</sub> = Résultat calculé avec un facteur de dilution

V<sub>P</sub> = Volume de l'échantillon de la solution lue (saisie par la touche  )

V<sub>dil</sub> = Volume du diluant dans la solution de lecture (saisie par la touche  )

#### Parcours optique de la cuve

Application: utilisation de cuves de p.o. = 1, 2 ou 5 mm.

Le parcours optique de la cuve est programmé spécifiquement à chaque méthode par la touche  .

A<sub>cuve, corr</sub> = A x 2 (pour un p.o. de 5 mm)

A<sub>cuve, corr</sub> = A x 5 (pour un p.o. de 2 mm)

A<sub>cuve, corr</sub> = A x 10 (pour un p.o. de 1 mm)

A<sub>cuve, corr</sub> = Absorbance rapportée à un parcours optique d'une cuve de 10 mm

#### Correction A320

Application: correction partielle pour l'interférence de la turbidité d'une solution lue sur une lecture.

La procédure de conversion avec ou sans correction pour le trouble E320 est programmée spécifiquement selon la méthode par la touche  .

$$A_{x, \text{corr}} = A_x - A_{320}$$

A<sub>x, corr</sub> = Absorbance corrigée mathématiquement par les absorbances aux longueurs d'onde 230, 260 et 280 nm

A<sub>x</sub> = Absorbance lue aux longueurs d'onde 230, 260 et 280 nm

A<sub>320</sub> = Absorbance lue aux longueurs d'onde 320 nm

L'absorbance corrigée est ensuite utilisée pour le calcul final du résultat.

#### Touche "Conversion": calcul des concentrations massiques

Application: détermination de la quantité totale d'acide nucléique dans le volume total d'échantillon

$$M = C \times V_{p, \text{tot}}$$

M = Masse totale d'acide nucléique dans le tube d'échantillon

C = Concentration calculée

V<sub>p, tot</sub> = Volume de l'échantillon dans le tube (saisie par la touche  )

## 12 Exploitation des résultats et conversions

### **Touche "Conversion": calcul de la concentration molaire**

Application: calcul des concentrations molaires à partir des concentrations massiques et de la masse molaire relative. La masse molaire relative sera saisie directement ou sera calculée par le système à partir du nombre de bases ou paires de bases par molécule.

$$C_{\text{mol}} = C / N$$

$C_{\text{mol}}$  = concentration molaire calculée

$N$  = masse molaire relative en kDa (saisie par la touche )

Si le nombre de base ou de paires de base est programmé à la place de la masse molaire relative,  $N$  sera calculé à partir du nombre de bases (-paires):

$$\text{ADNds: } N = bp \times 2 \times 330 \times 10^{-3}$$

$$\text{ADNss, ARN, Oligo: } N = b \times 330 \times 10^{-3}$$

$N$  = Masse molaire relative calculée exprimée en kDa

$bp$  = Nombre de paires de bases programmées par molécule (ADNds)

$b$  = Nombre de bases programmées par molécule (ADNss, ARN, Oligo)

L'unité de concentration molaire est programmée au cas par cas pour chaque méthode par la touche .

### **12.2 Protéines directes par photométrie**

Sélection de l'expression des résultats:

- Absorbance
- Calcul de la concentration par un facteur
- Calcul de la concentration par calibrage à un point
- Calcul de la concentration par la formule de Warburg

#### **Calcul de la concentration par un facteur**

Voir chapitre 12.1; longueur d'onde de lecture: 280 nm

Lors de la programmation du facteur par la touche , il convient de tenir compte de l'unité de concentration.

#### **Calcul de la concentration par un standard (calibrage à un point)**

$$F = C_s / A_s$$

$F$  = Facteur calculé

$C_s$  = Concentration donnée du standard ( programmation au cas par cas par la touche  selon la méthode)

$A_s$  = Absorbance lue pour la standard

Si la lecture multiple du standard a été programmée (2x, 3x), le calcul du résultat se fera à partir des absorbances lues par régression linéaire avec intégration de la valeur zéro. Après calcul de la régression un CV (coefficient de variation en %) sera formé pour évaluer la dispersion des lectures. Si le CV est supérieur à 10 %, il sera affiché. Dans ce cas, le calibrage ne sera mis en mémoire qu'après validation. (voir chap. 12.3).

Le calcul de la concentration de l'échantillon s'effectuera à l'aide du facteur calculé:

$$C = A_{280} \times F$$

#### **Calcul de la concentration par la formule de Warburg**

$$C = 1.55 \times A_{280} - 0.76 \times A_{260} \text{ pour l'unité de concentration "mg/mL"}$$

$$C = (1.55 \times A_{280} - 0.76 \times A_{260}) \times 1000 \text{ pour l'unité de concentration "µg/mL"}$$

## 12 Exploitation des résultats et conversions

### **Dilution de l'échantillon, parcours optique de la cuve et correction A320**

Voir chapitre 12.1.

### **12.3 Protéines par ajout de réactif**

Méthodes: Bradford, Bradford micro, BCA, BCA micro, Lowry, Lowry micro

Sélection de l'expression du résultat:

- Absorbance
- Calcul de la concentration par un facteur
- Calcul de la concentration par standards

Sélection des modes de calcul à partir de standards:

- Calibrage à un point
- Calibrage multi-points (droite d'étalonnage)
- Calibrage multi-points (courbe d'étalonnage)

#### **Calcul des concentrations par un facteur et calcul de la concentration par un standard (calibrage à un point)**

Voir chapitre 12.2; longueur d'onde: 595 nm (Bradford; Lowry) ou 562 nm (BCA)

#### **Calcul de la concentration par standards (calibrage multi-points; droite d'étalonnage)**

La droite d'étalonnage sera établie à partir d'une série de standards de 2 à 10 valeurs, avec détermination simple, double ou triple (concentration en fonction de l'absorbance). L'équation de la droite sera calculée par une régression linéaire.

$$C = a_0 + a_1A$$

$a_1$  = Pente de la droite d'étalonnage (facteur)

$a_0$  = Point d'intersection de la droite d'étalonnage avec l'axe des concentrations (concentration d'un échantillon à l'absorbance "0" [décalage])

Après calcul du calibrage un CV (coefficient de variation %) sera formé pour évaluer la dispersion des lectures. (exception: calibrage deux points avec détermination simple des deux standards) Si le CV est supérieur à 10 % il sera affiché. Dans ce cas, le calibrage ne sera mis en mémoire qu'après validation. Avec plus de deux standards, la valeur du cv sera toujours affichée, même si sa valeur est < 10 %).

Les paramètres calculés " $a_0$ " et " $a_1$ " de la droite d'étalonnage pourront être imprimés à l'aide de la touche



#### **Calcul de la concentration par une série standard (calibrage multi-points, courbe d'étalonnage)**

Une courbe d'étalonnage (concentration en fonction de l'absorbance) sera établie à partir d'une série de 5 à 10 standards en détermination simple, de 4 à 10 standards en détermination double ou triple. La régression non linéaire sera calculée à partir d'un polynôme du 3<sup>è</sup> degré.

$$C = a_0 + a_1A + a_2A^2 + a_3A^3 + \dots$$

$a$  = Coefficient (les coefficients sont déterminés à partir de la méthode des moindres carrés)

Valeur du CV: voir ci-dessus (régression linéaire)

Les différents paramètres calculés pour la courbe d'étalonnage mémorisée peuvent être imprimés à l'aide de la touche



## **12 Exploitation des résultats et conversions**

### ***ProDilution des échantillons et p.o. des cuves***

Voir chapitre 12.1.

### **12.4 OD 600**

Les valeurs sont exprimées comme étant les absorbances lues à la longueur d'onde de 595 nm.

### ***Dilution des échantillons et p.o. des cuves***

Voir chapitre 12.1.

# 13 Contrôle du photomètre

Eppendorf propose un jeu de filtres (filtre UV-VIS secondaire, code commande # 6131 928.007) pour contrôler la justesse photométrique et celle des longueurs d'onde. Cet ensemble de filtres est composé de trois filtres de contrôle de la justesse photométrique ("Sample A1, Sample A2, Sample A3") et de deux filtres pour le contrôle de la justesse spectrale des longueurs d'onde ("Sample 260 nm, Sample 280 nm"). L'absorbance de ces filtres est lue contre un filtre de blanc ("Blank A0").

Pour le contrôle, les filtres représentant le blanc et l'échantillon de contrôle sont introduits dans le porte cuve comme s'il s'agissait de cuves. Pour l'orientation, le filtre sera tourné de telle sorte que l'autocollant d'identification soit positionné vers l'avant, côté utilisateur. Les absorbances lues pour le filtre représentant l'échantillon de contrôle sont ensuite comparées avec la fourchette des valeurs de tolérance. Les tolérances pour chaque filtre sont données dans un tableau de valeurs livré avec chaque filtre et collé à l'intérieur du couvercle du coffret des filtres. (voir tableau: "X.XXX – X.XXX A").

eppendorf				BioPhotometer		
Secondary -UV - VIS - Filter				Order No./Best.Nr.:6131 928.007		
		Limits Grenzwerte		measured against <b>Blank A0</b> at approx. 20 °C gemessen gegen <b>Blank A0</b> bei ca. 20 °C		
		Photometric accuracy Photometrische Richtigkeit			Wavelength accuracy Wellenlängenrichtigkeit	
Filter Type	Blank A0	Sample A1	Sample A2	Sample A3	Sample 260 nm	Sample 280 nm
230nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A		
260nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	
280nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A		X.XXX - X.XXX A
320nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A		
562nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A		
595nm	0.000 A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A	X.XXX - X.XXX A		
Code	914 XXX	921 XXX	922 XXX	923 XXX	916 XXX	917 XXX
Please protect against dust, heat and liquid Bitte vor Staub, Hitze und Flüssigkeiten schützen The limits are valid for max. 2 years as of the date on the right. Die Grenzwerte gelten für max. 2 Jahre ab Datum.				Date/Datum		Signature/Unterschrift

Tableau:  
Reproduction du document se trouvant collé à l'intérieur du couvercle du coffret de filtres # 6131 928.007

## 13 Contrôle du photomètre

### **Environnement du contrôle du photomètre**

- Réaliser le contrôle à env. 20 °C.
- N'extraire le filtre de son coffret que pendant le temps strictement nécessaire à la lecture et le préserver de tout dommage et de toute souillure.
- Préserver les filtres de la poussière, de la chaleur, des liquides et des vapeurs agressives.
- Installer le filtre dans le porte-cuve avec l'autocollant orienté vers l'utilisateur.
- Sélectionner la fonction "test photométrique".  
Cette fonction est installée sur les appareils comportant la version logicielle à partir de V 1.20.  
Pour une utilisation des filtres de contrôle sur des appareils avec des logiciels plus anciens, s'adresser à Eppendorf.
- Sélectionner les filtres-test
  - "A1", "A2", "A3" pour la lecture de justesse photométrique à 230, 260, 280, 320, 562, et 595 nm.
  - "A260" ou "A280" pour la lecture de la justesse de longueur d'onde à 260 nm ou 280 nm.
  - "A??" est prévu pour une utilisation exclusivement réservée au service après-vente Eppendorf.
- Suivre les instructions de l'afficheur du photomètre pour les lectures du "blanc" et de "l'échantillon".  
L'appareil effectue 10 cycles de lecture et imprime par la suite la valeur moyenne des absorbances déterminées aux différentes longueurs d'onde.
- Comparer les valeurs des absorbances à la fourchette des valeurs tolérée pour cette longueur d'onde.
- En plus de l'information concernant la justesse, le protocole imprimé comporte des informations sur la répétabilité; l'appareil détermine chaque fois les écarts standards et les coefficients de variation à partir d'une série de 10 lectures par filtre.

Si les absorbances lues avec les filtres de contrôle ne correspondent pas aux fourchettes de tolérance, il convient de contacter le service après – vente Eppendorf. Les filtres eux-mêmes doivent être recalibrés en usine après deux ans.

## **Certificat de conformité du BioPhotometer 6131**

Conforme à l'annexe 15 de la directive d'étalonnage

### Descriptif métrologique

Nature: Photomètre monofaisceau avec faisceau de référence et longueurs d'onde fixes  
Type: BioPhotometer 6131  
Fabriquant / distributeur: Eppendorf – Netheler – Hinz GmbH, Hambourg  
Instructions d'emploi: Mode d'emploi

#### 1. Système de mesure

Trajet du faisceau: Lampe > diaphragme > lentille > diaphragme > cuve > diaphragme  
> grille de renvoi > diaphragmes > photodiodes  
Emetteur source: Lampe flash Xénon, domaine spectral continu de 220 nm à 2000 nm  
Système spectral: Grille polychromateur  
Récepteur spectral: Photodiodes silicium, domaine spectral de 200 à 1100 nm  
Cuves optiques: Quartz, verre optique spécial, matière plastique, selon longueur d'onde  
Types de cuves: 10 mm macro; volume mini. 1000 µl  
10 mm semi-micro; volume mini. 400 µl  
10 mm à vidange; volume mini. 300 µl  
10 mm ultra-micro; volume mini. 70 µl

Thermostatisation de cuve: Absente

Cadran-afficheur: Eclairé, type graphique LCD 33 x 66 mm<sup>2</sup>  
Grandeurs affichées: Absorbance, concentrations massique et molaire

#### 2. Procédure de mesure

Détermination de la valeur  
du blanc de la cuve: Lecture individuelle de chaque cuve en fonction de la longueur d'onde  
Détermination  
de la concentration: Selon la loi de Beer-Lambert-Bourguer  
: Mesure relative par rapport  
au matériau de référence: Contrôle par étalons secondaires calibrés

#### 3. Domaine spectral de la mesure d'absorbance

Domaine: 0,000 à 3,000 A  
Les limites d'erreur citées peuvent être dépassées en dehors des gammes de mesure ainsi qu'en cas d'utilisation autre que les utilisations nominales.

#### 4. Conditions d'utilisation nominales

Blanc cuve: Selon le type de cuve utilisé  
Longueur d'onde de lecture: Xénon 230, 260, 280, 320, 562, 595 nm  
Temps de préchauffage: Aucun  
Tension d'alimentation : 100 à 240 V ± 10 %, 50 – 60 Hz ± 5 %  
Ambiante admissible: 15 à 35 °C  
Humidité relative de l'air: 15 à 70 %

#### 5. Limites d'erreur et autres limites

Incertitude photométrique relative de la mesure d'absorbance spectrale sur toutes les longueurs d'onde pour une mesure individuelle: ± 1,5 % à A = 1

Ecart standard  
photométrique court terme: ≤ 0,5 % à A = 1  
Défaut de justesse  
de la longueur d'onde: ± 1 nm de 230 à 280 nm, ± 2 nm de 320 à 595 nm  
Demi-valeur spectrale: ≤ 5 nm de 230 à 320 nm, ≤ 7 nm de 562 et 595 nm  
Taux de lumière parasite: ≤ 0,03 % à 260 nm avec GG 375-3 (Schott)

Date: 25.09.1997

Eppendorf – Netheler – Hinz GmbH  
– Service Qualité et normes –

# EG-Konformitätserklärung EC Conformity Declaration

Eppendorf - Netheler - Hinz GmbH • Barkhausenweg 1 • 22339 Hamburg • Germany

Das bezeichnete Gerät entspricht den einschlägigen grundlegenden Anforderungen der aufgeführten EG-Richtlinien und Normen. Bei einer nicht mit uns abgestimmten Änderung des Gerätes verliert diese Erklärung ihre Gültigkeit.

The device named below fulfills the relevant fundamental requirements of the EC directives and standards listed. In the case of unauthorized modifications to the device, this declaration becomes invalid.

Gerätebezeichnung, Device name:

**BioPhotometer 6131**

Gerätetyp, Device type:

**Photometer**

Einschlägige EG-Richtlinien/Normen, Relevant EC directives/standards:

**89/336/EWG, EN 50082-1, EN 55011, EN 61000-3-2, EN 61000-3-3**

**△ CISPR 11, IEC 1000-4-2/3/4, IEC 1000-3-2, IEC 1000-3-3**

**73/23/EWG, EN 61010-1**

**△ IEC 1010-1**

29.09.1998

Hamburg, Date:

*Steffen Schmidt*  
Geschäftsführung, Managing Director:

*P. J. J. J. J.*  
Projektmanagement, Project Management:

Eppendorf –  
Netheler – Hinz GmbH  
22331 Hamburg • Germany  
Phone +49 40-5 38 01-0  
Fax +49 40-5 38 01-556  
e-mail: eppendorf@eppendorf.com  
eppendorf home page:  
<http://www.eppendorf.com>  
Life Science Application Hotline:  
Phone +49 180-3 66 67 89  
e-mail: application-hotline@eppendorf.com

Eppendorf Scientific, Inc.  
One Cantiague Road,  
P.O.Box 1019,  
Westbury,  
New York 11590-0207 (USA)  
Phone 800-421-9988  
Fax 516-876-8599  
e-mail: eppendorf@eppendorfsi.com

**eppendorf**

**Eppendorf Certificate  
BioPhotometer 6131**

**1. Wavelength accuracy / Wellenlängenrichtigkeit**

Filter-code	Test-filter	Lower limit-upper limit Untergrenze-Obergrenze	Actual value Istwert	
916-110	Sample 260nm	±1nm: 1.140-1.400 A	1.297 A	O.K.
917-110	Sample 280nm	±1nm: 1.580-1.840 A	1.725 A	O.K.
920-110	Sample 595nm	±2nm: 0.800-1.300 A	1.219 A	O.K.

**2. Photometric accuracy at / Photometrische Richtigkeit bei 260nm**

Filter-code	Test-filter	Lower limit-upper limit Untergrenze-Obergrenze	Actual value Istwert	
921-110	Sample A1	0.106-0.126 A	0.117 A	O.K.
922-110	Sample A2	0.760-0.784 A	0.771 A	O.K.
923-110	Sample A3	1.454-1.482 A	1.470 A	O.K.

**3. Photometric precision at / Photometrische Präzision bei 260nm**

Filter-code	Test-filter	Limiting value Grenzwert	Actual value Istwert	
921-110	Sample A1	S ≤ 0.003 A	0.0007 A	O.K.
922-110	Sample A2	CV/Vk ≤ 1 %	0.07 %	O.K.

Measuring value against Blank A0

Meßwerte gegen Blank A0

All limits applicable for use of the test filters in the BioPhotometer  
Alle Grenzen gelten für den Gebrauch der Testfilter im BioPhotometer

**4. Security check / Sicherheitsüberprüfung IEC 1010-1**

6.5.1.2 Bonding impedance/Schutzleiterimpedanz	< 0.1 Ohm	O.K.
6.3.2.2 Leakage current/Ableitstrom	< 0.0035 A	O.K.
D4 High voltage test/Hochspannungstest	≥ 1350 V	O.K.

Instrument/Geräte No. 02139	tested by/geprüft durch <u>S. Malin</u>
--------------------------------	--

6131 912.160-02

**eppendorf**