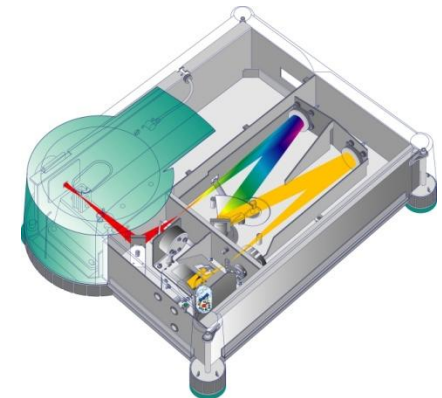


Applikationen in der UV-Vis-Spektroskopie

Marcus Schulz
Produktspezialist UV-Vis/NIR
& Fluoreszenzspektroskopie

Agilent Technologies UV/Vis/NIR-Spektralphotometer



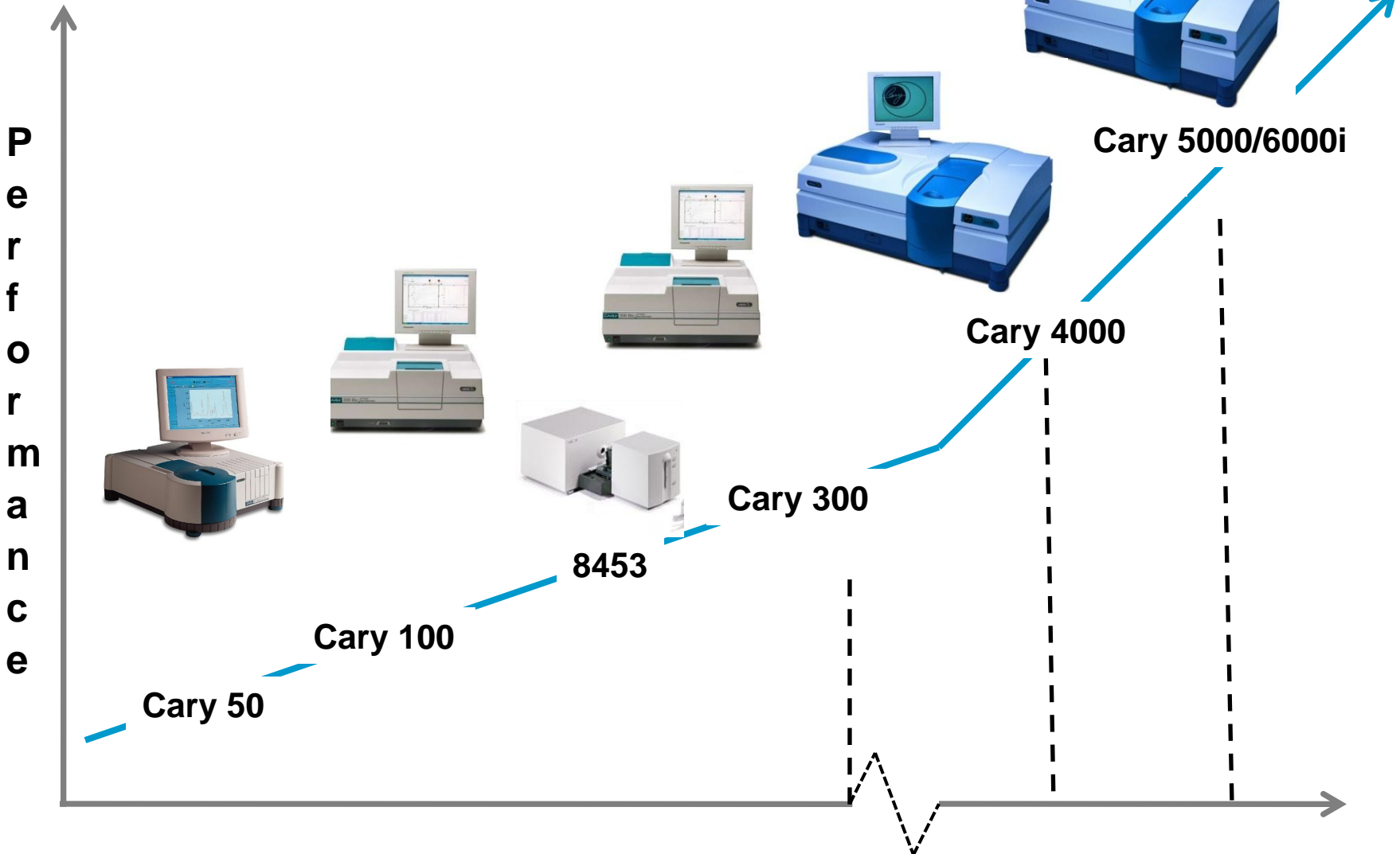
Ursprung des Namen “Cary” ?

- 1941 arbeitete Howard Cary mit Arnold Beckmann zusammen, um gemeinsam das erste UV-Vis-Spektrometer zu bauen
- 1946 gründete die „ Applied Physics Corporation“ und baute das erste scannende UV-Vis-Spektralphotometer
- 1966 Zusammenschluß mit “Varian Instruments “
- 1982 Umzug von Cary Instruments nach Melbourne, Australien
- 2010 Varian wird ein Teil von Agilent Technologies und die Cary legend geht weiter...



Howard Cary (1908 – 1991)

Agilent UV/Vis/NIR Portfolio

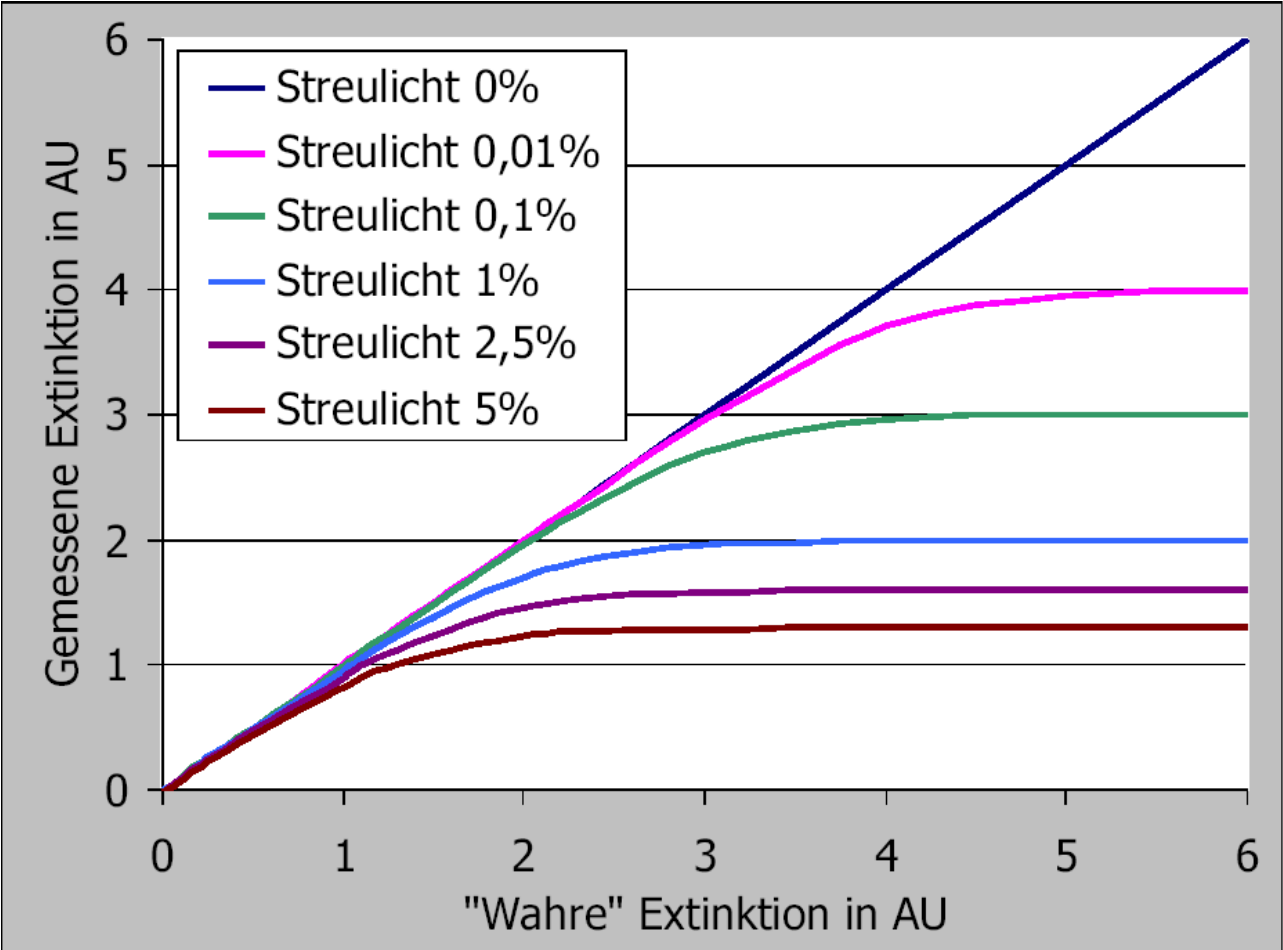


Photometrischer Messbereich

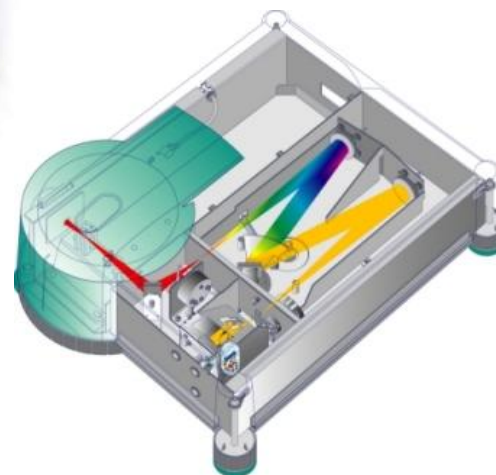
Zusammenhang zwischen Transmission und Extinktion

<u>%Transmission</u>	<u>Extinktion</u>	<u>Wellenlängenbereich</u>
100 %	0	
10 %	1	
1 %	2 (8453)	
0.1%	3 (Cary 50)	190-1100 nm
0.01%	4 (Cary 100)	190 – 900 nm
0.001%	5 (Cary 300)	190 – 900 nm
0.0001%	6	
0.00001%	7	
0.000001%	8	
0.0000001%	9 (Cary 4000)	175 – 900 nm
	9 (Cary 5000)	175 – 3300 nm
	9 (Cary 6000i)	175 – 1800 nm

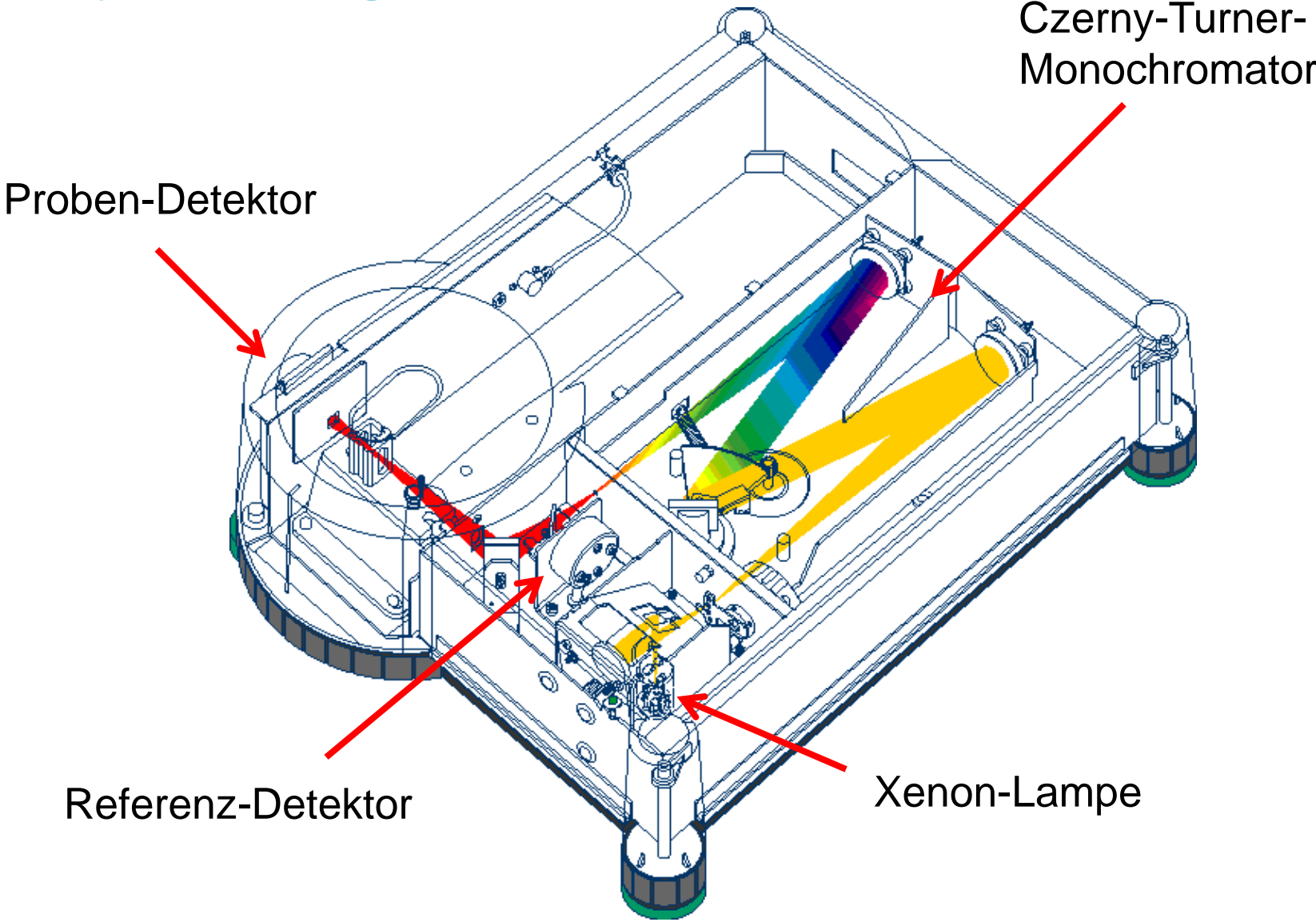
Streulicht



CARY 50

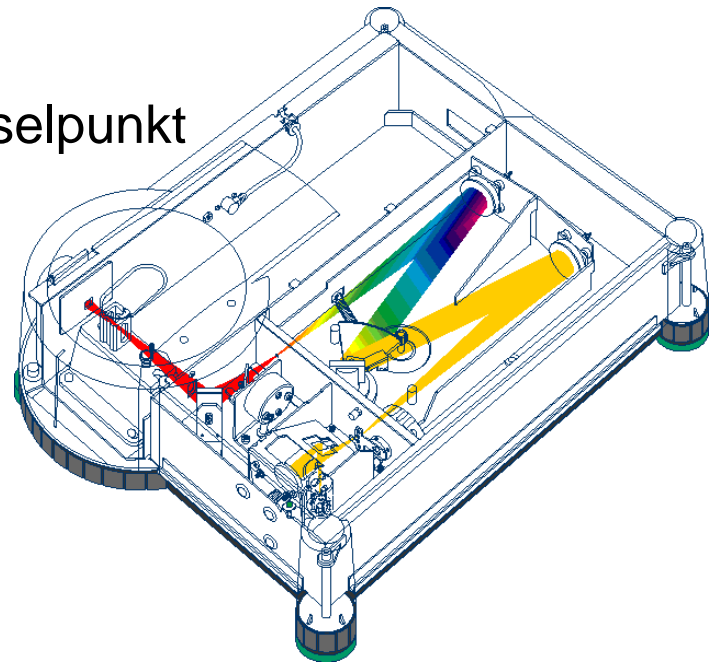


Cary 50 Design

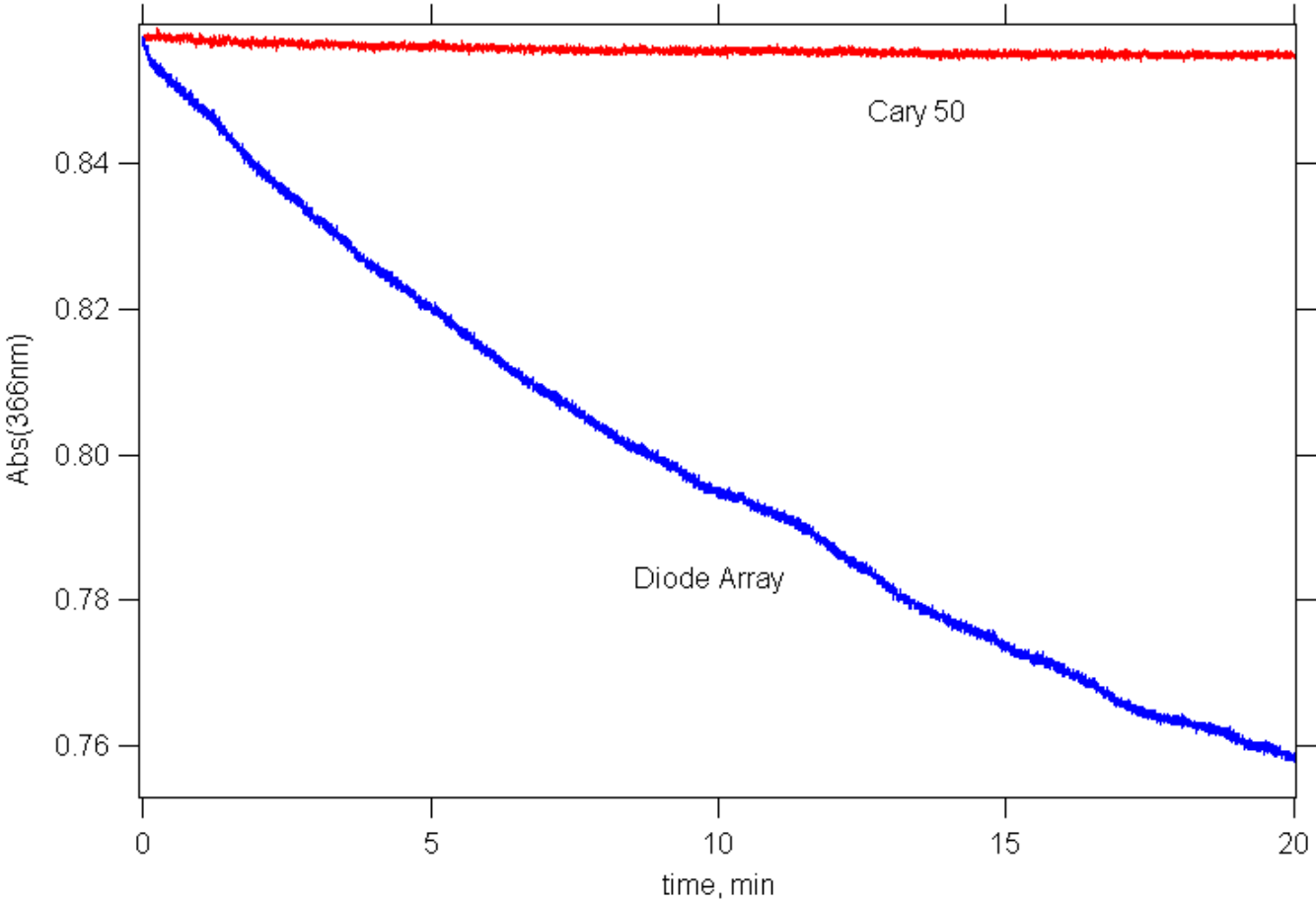


Cary 50 Design

- Lichtquelle: long life Xenonlampe
 - Raumlicht-Immunität (patentiert)
 - Kurze Bestrahlungsdauer (2 μ s pro Lichtpuls)
- Eine Lichtquelle für kompletten UV-Vis-Bereich
 - Kein Lampenwechsel
 - Kein Basislinienversatz am Lampenwechsellpunkt
- Kleiner fokussierter Messstrahl (1 x 1,5 mm)
- Zweistrahloptik



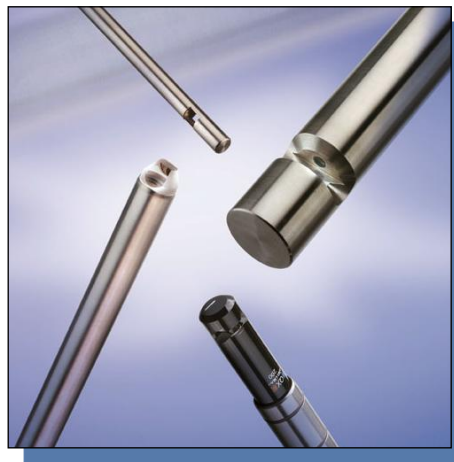
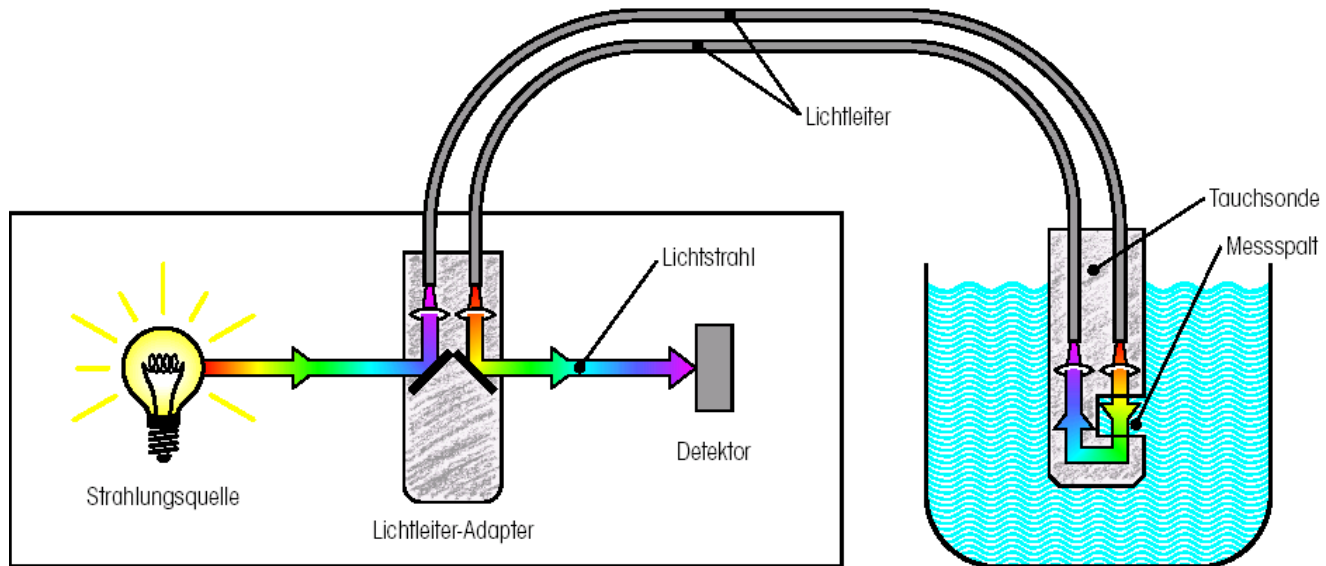
Kein Photobleaching bei lichtempfindlichen Proben



Cary 50 Leistungsdaten

Wellenlängenbereich	190-1100 nm
Spektrale Bandbreite	1.5 nm
Monochromator	Czerny-Turner
Gitter	Holographisch, 1200 l/mm
Spektrenaufnahmegeschwindigkeit	24.000 nm/min
Datensammelrate	80 Datenpunkte / Sekunde
Messfleckgröße	1 x 1,5 mm

Lichtleiter-Applikationen



Lichtleiter-Applikationen

Bringen Sie Ihr Spektrometer zur Probe und nicht umgekehrt

- Einsetzbar im kompletten Wellenlängenbereich des Spektralphotometers
- Unterschiedlichste Lichtleiterkoppler verfügbar (SMA-Adapter)
- Sonden für verschiedene Probevolumen und Probenmedien erhältlich



Lichtleiter-Applikationen

Quantifizierung von Bovin Serum Albumin (BSA)

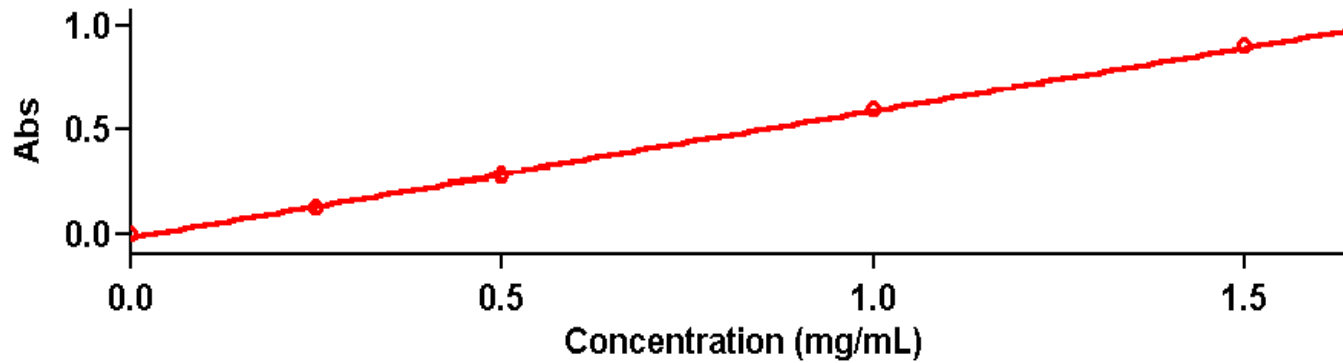
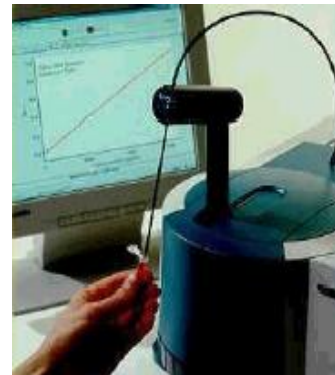
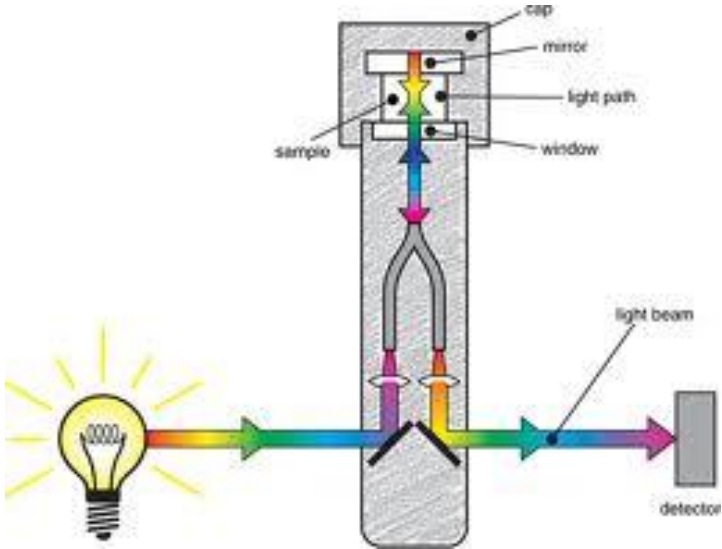


Figure 3. 120 μ L BSA measured on the Cary 50 with the Fibre Optic Microprobe. Correlation co-efficient 0.99843.

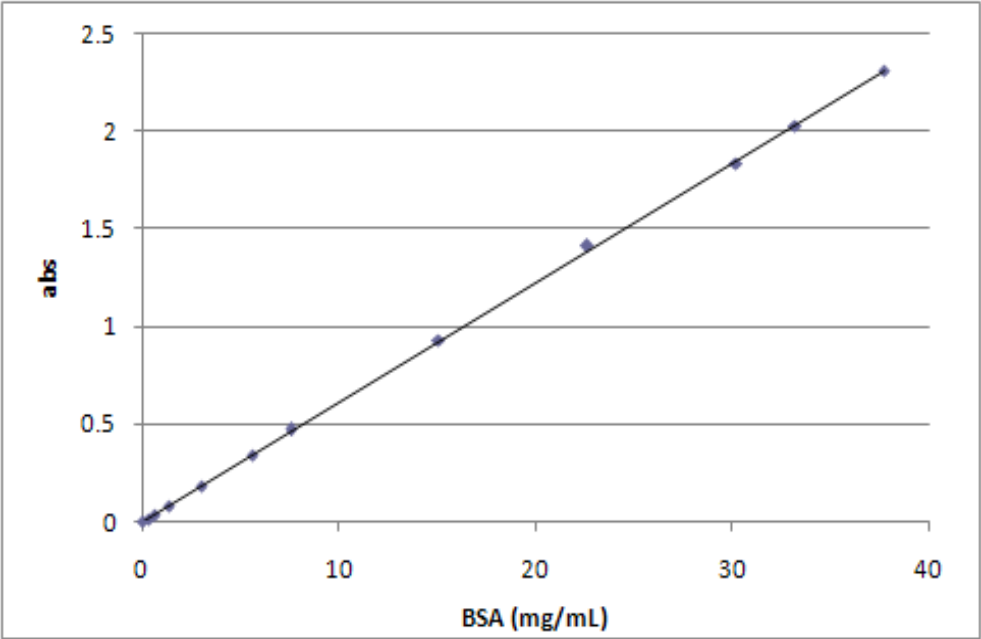


Messung kleinster Volumina mit der TrayCell von Hellma

Messung von 1-5 μl mit hoher Präzision



Hellma TrayCell – Linearität



Hellma TrayCell

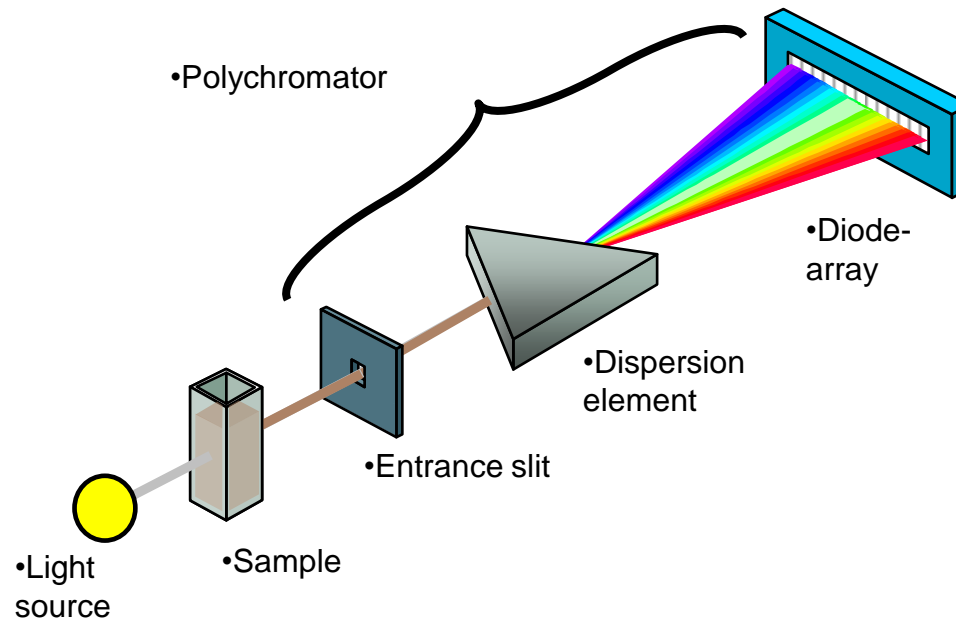
	10mm cuvette	1.0mm cap	0.2mm cap
max abs	3.3 abs	2.3 abs	2.3 abs
dilution factor		10x	50x
equiv abs		23 abs	115 abs

Keine Verdünnung notwendig 0 bis 115 Abs!

AGILENT 8453



Agilent 8453 Design



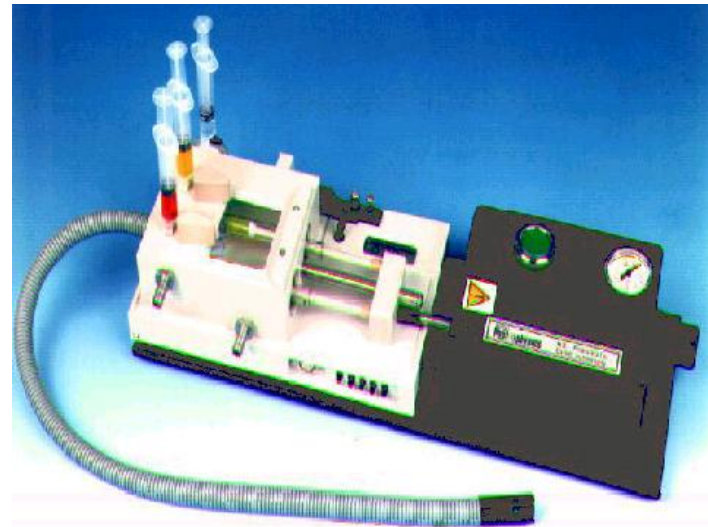
- Komplettes Spektrum in 0,1 s

Agilent 8453 Leistungsdaten

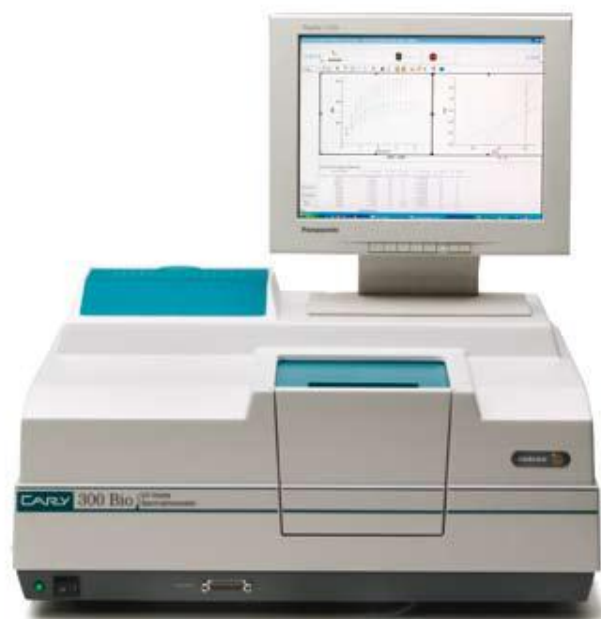
Wellenlängenbereich	190-1100 nm
Spektrale Bandbreite	1nm
Polychromator	
Linearer Messbereich	2 Abs
Spektrenaufnahmegeschwindigkeit	0,1 s / Spektrum

Stopped Flow System

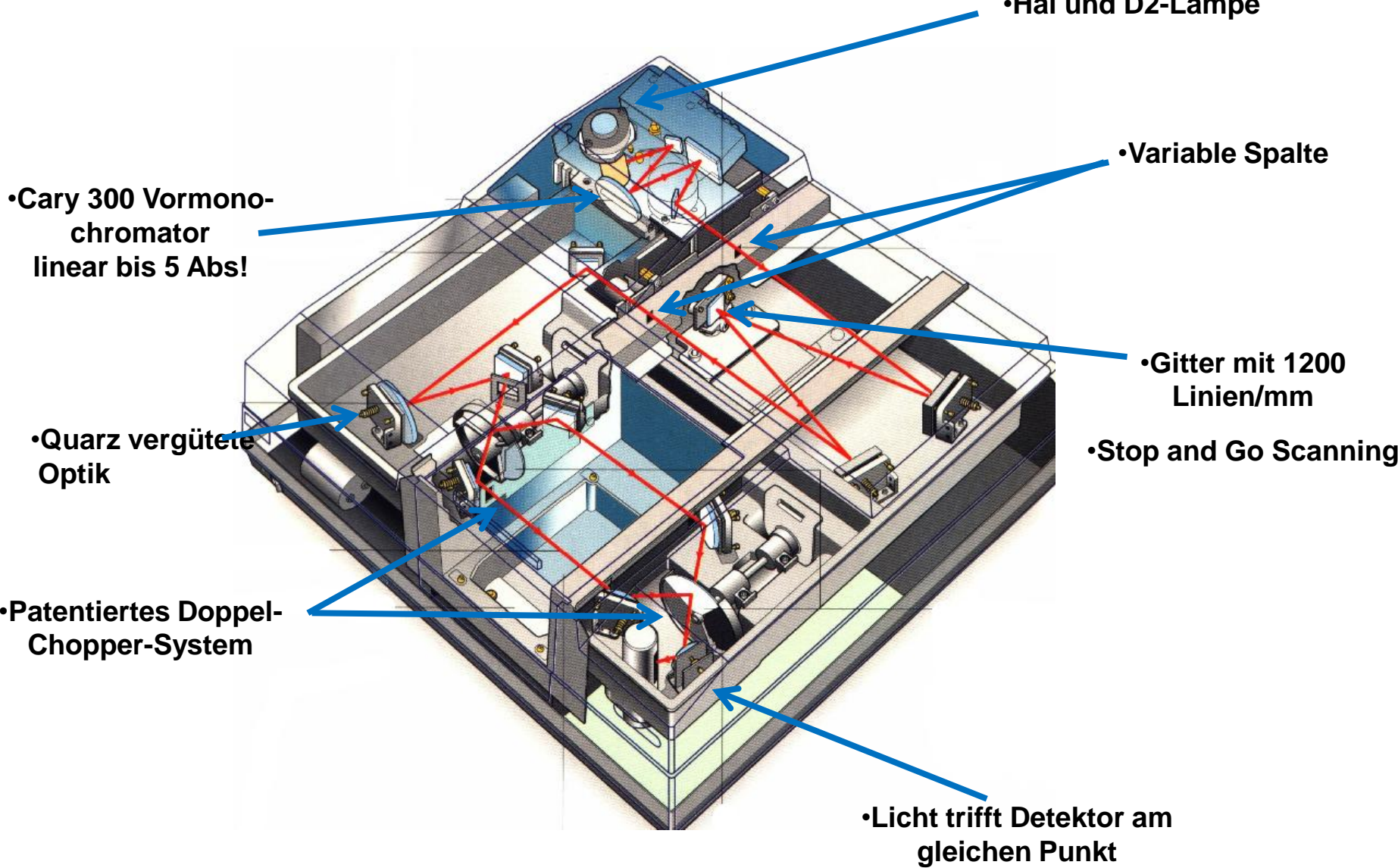
Messung schneller Kinetiken



CARY 100/300



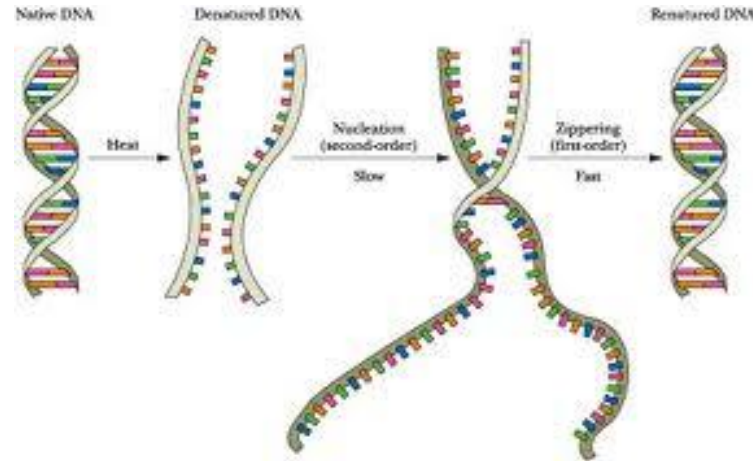
Optischer Aufbau



Cary 100/300 Leistungsdaten

Wellenlängenbereich	190-900 nm
Spektrale Bandbreite	0,2 - 4 nm (variabel)
Monochromator	Czerny-Turner
Linearer Messbereich	3,7 Abs (Cary 100) 5,0 Abs (Cary 300)
Gitter	Holographisch, 1200 l/mm
Spektrenaufnahme- geschwindigkeit	3.000 nm/min
Datensammelrate	30 Datenpunkte / Sekunde

Messung von DNA-Schmelzpunktkurven



Apparativ:

- Möglichkeit Temperaturrampen zu fahren

Software

- Auswertung nach der Ableitungsmethode
- Auswertung nach der Methode der Hyperchromizität

Apparative Voraussetzungen

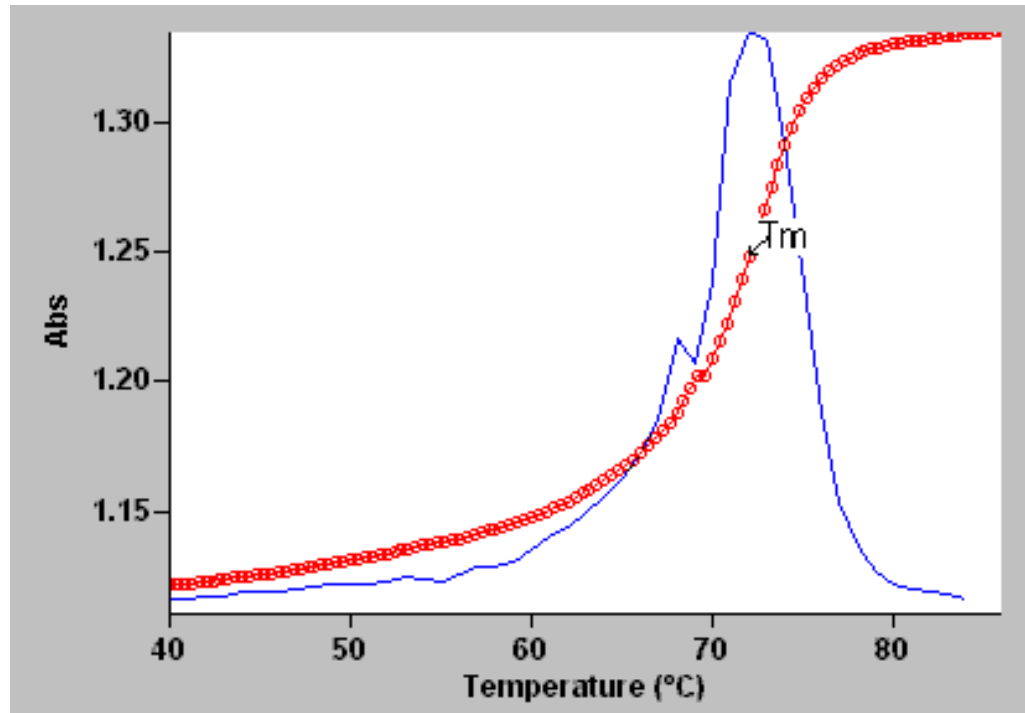
6x6 Peltierthermostatisierter Küvettenwechsler

- Temperaturbereich von -10 bis 100°C
- Heiz- bzw. Kühlraten von 30°C/min bis 0,06°C/min
- Temperaturkontrolle direkt in der Küvette
- Reproduzierbarkeit der Temperatur von Zelle zu Zelle 0,3°C

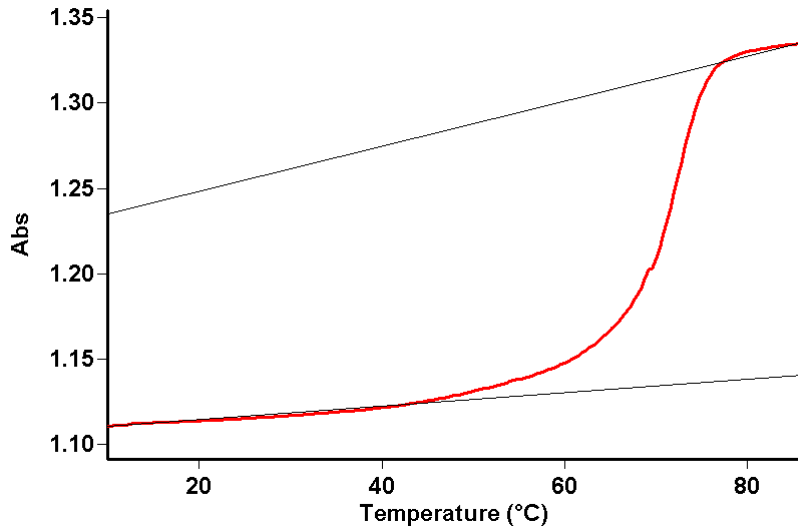


Cary Win UV Thermal Software

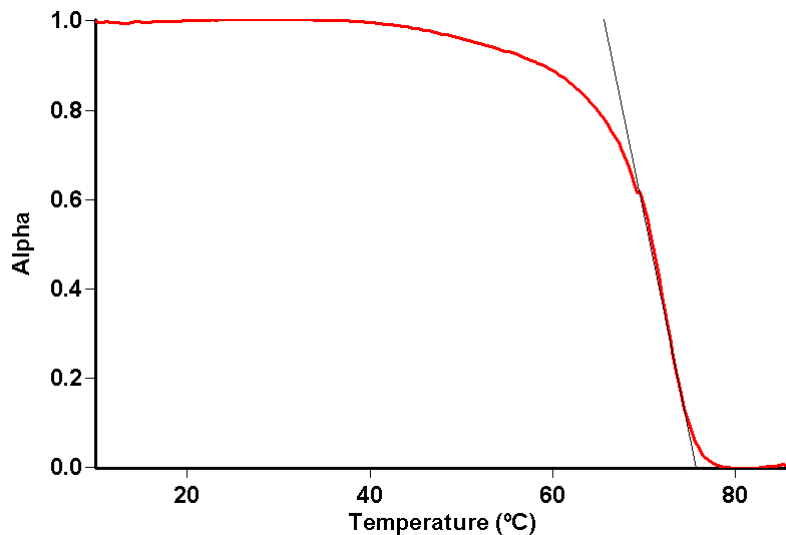
- Berechnung von T_m über Bildung der ersten Ableitung



Cary Win UV Thermal Software



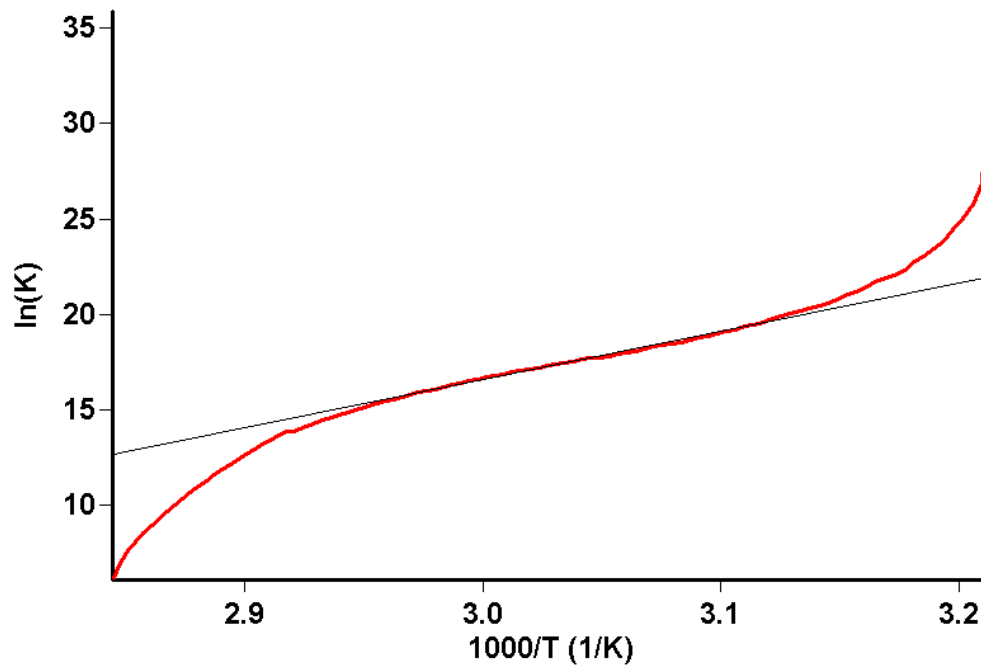
- linearen Bereich assoziierter DNA festlegen
- linearen Bereich dissoziierter DNA festlegen



- linearen Bereich in α -Kurve festlegen
- T_m wird automatisch berechnet

Cary Win UV Thermal Software

- linearen Bereich in van't Hoff-Auftragung auswählen
- Thermodynamische Parameter ΔS , ΔG , ΔH und K werden automatisch berechnet

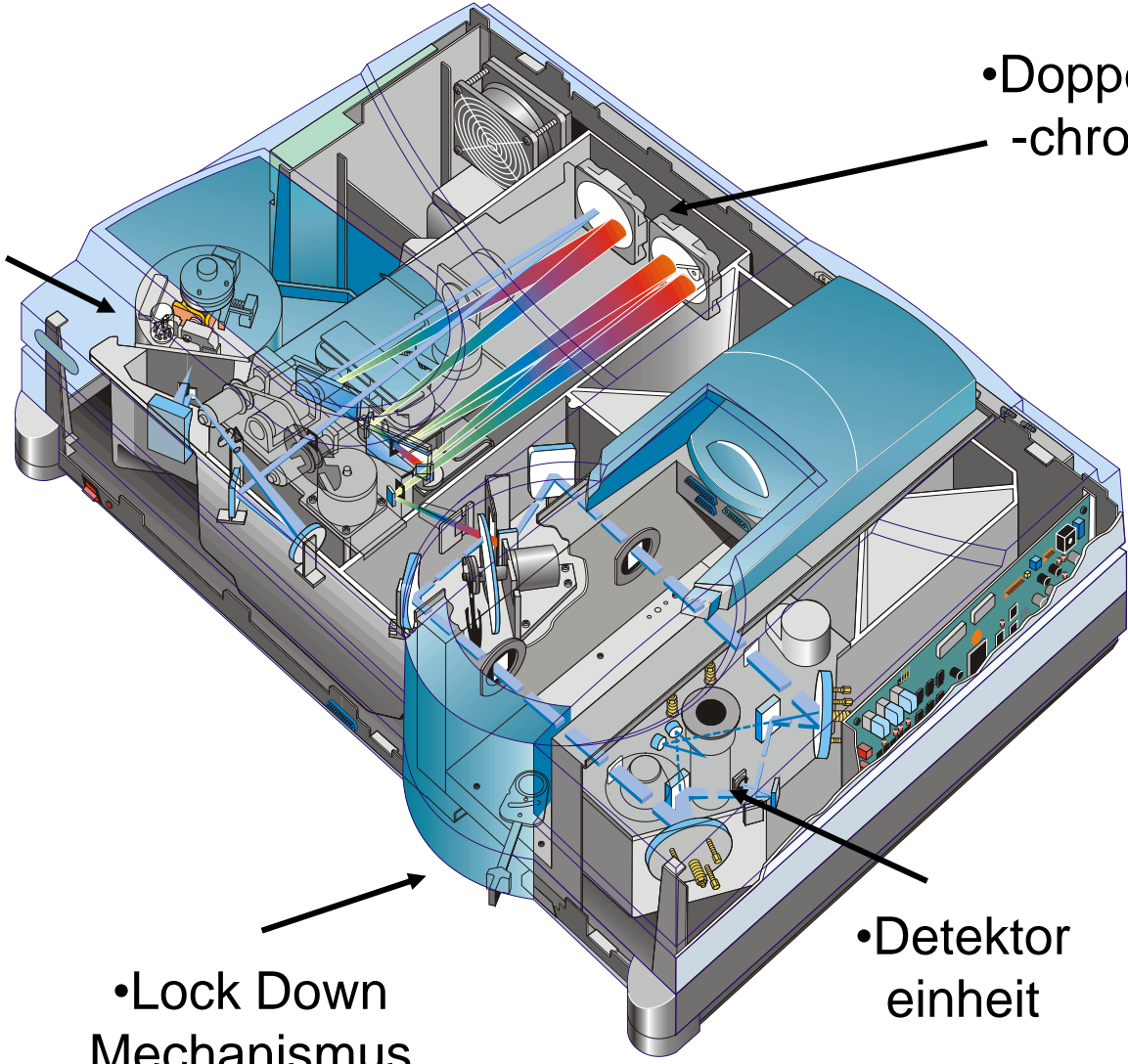


CARY 4000/5000/6000i



Cary 4000/5000/6000i

• 'Plug & Go'™
Lampen
Management

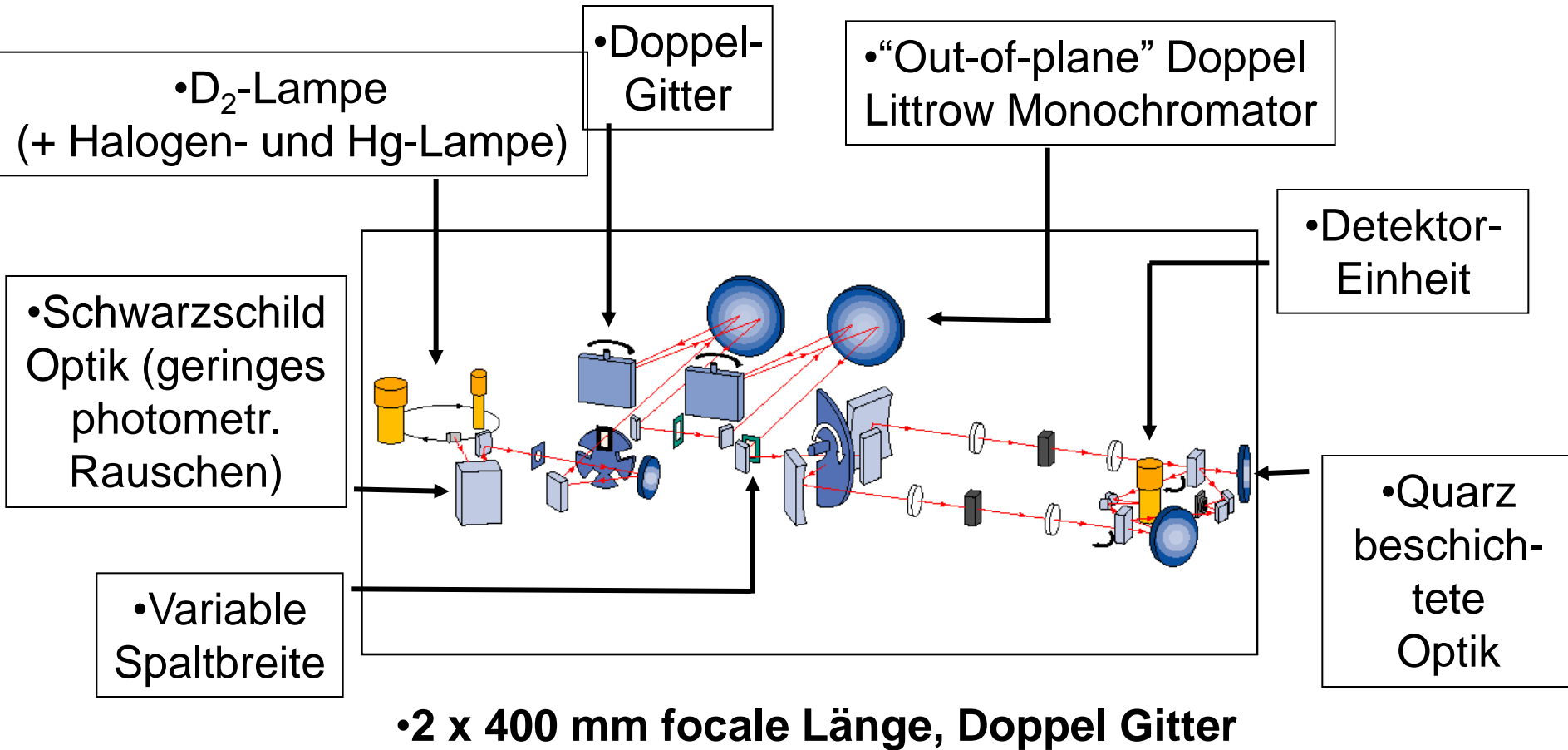


• Doppelmono-
-chromator

• Lock Down
Mechanismus

• Detektor
einheit

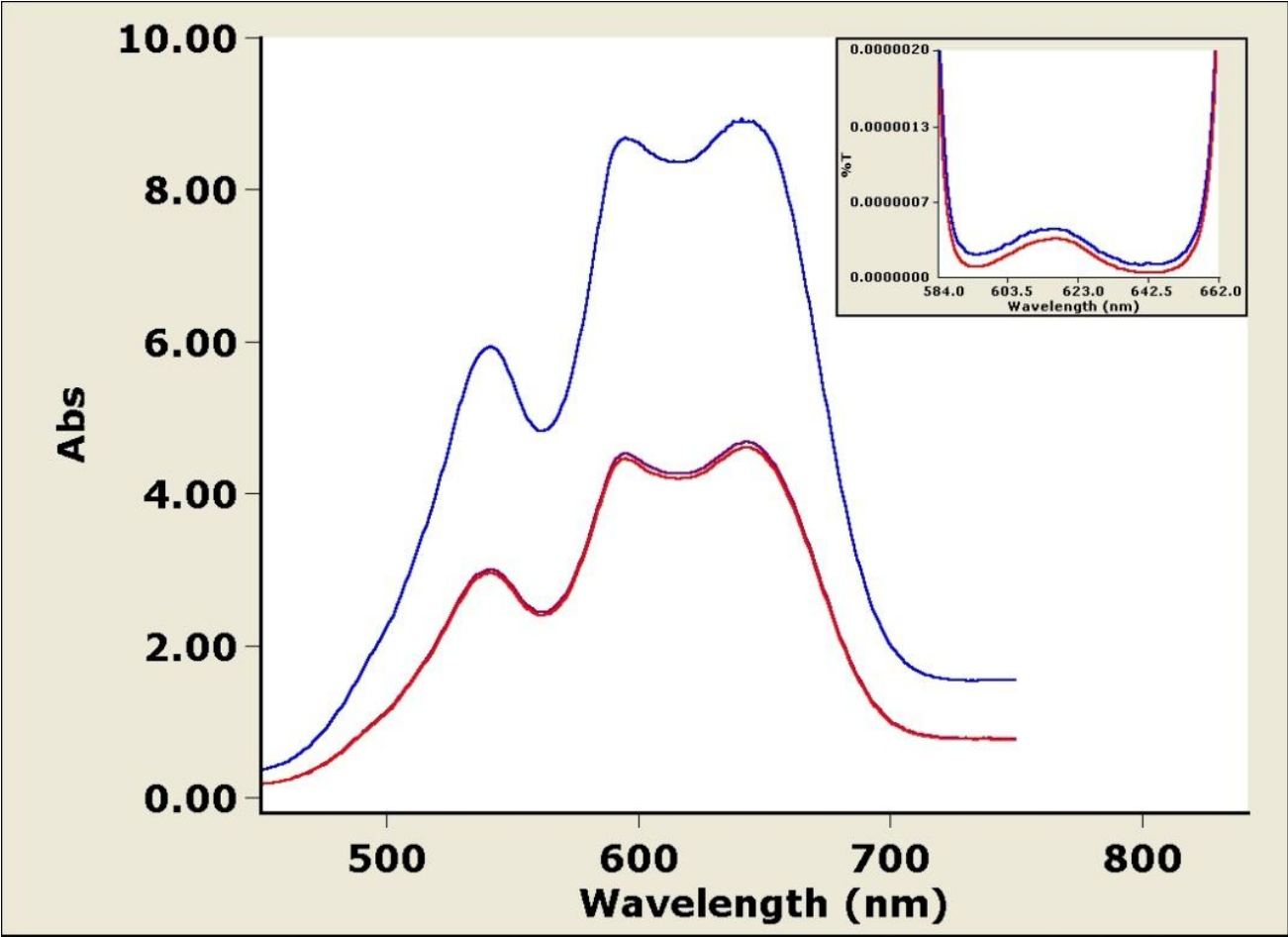
Optischer Aufbau



Cary 4000/5000/6000i Leistungsdaten

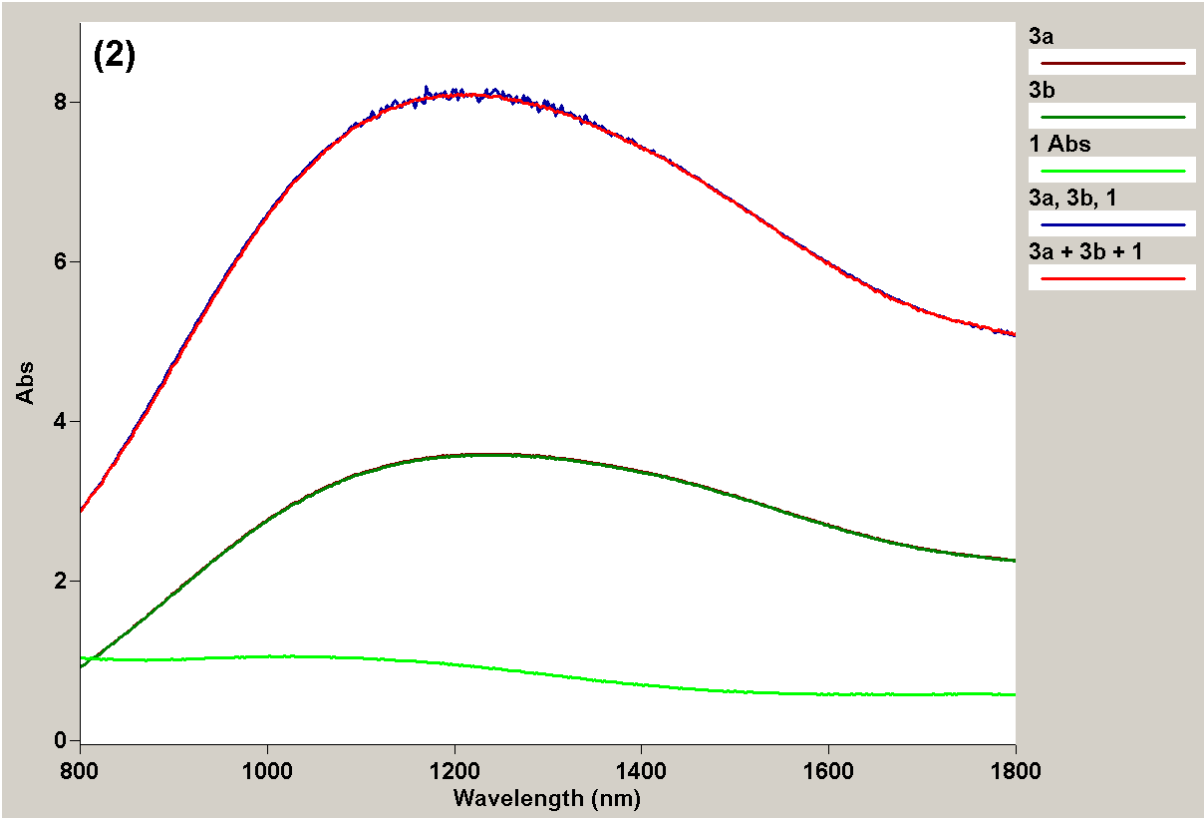
Wellenlängenbereich	175-900/3300/1800 nm
Spektrale Bandbreite	0,01 - 5 nm (variabel)
Monochromator	Littrow-Doppelmonochromator
Linearer Messbereich	8 Abs (UV-Vis) 5/8 Abs (NIR)
Gitter	1200 Linien/mm (UV-Vis) 300/600 Linien/mm (NIR)
Datensammelrate	30 Datenpunkte / Sekunde

Linearer Messbereich (UV-Vis)



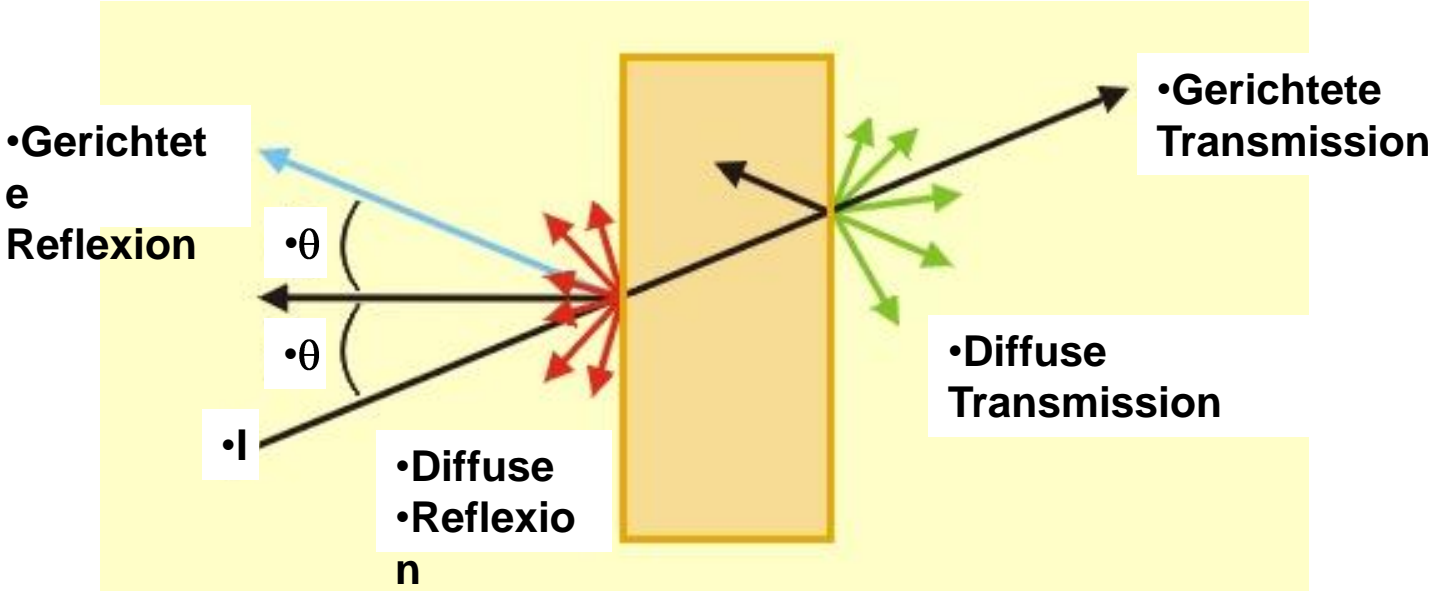
Insert compares spectral addition of blue filters to their combined measurement, a difference of less than 8 x E-08 %T

Linearer Messbereich (NIR)



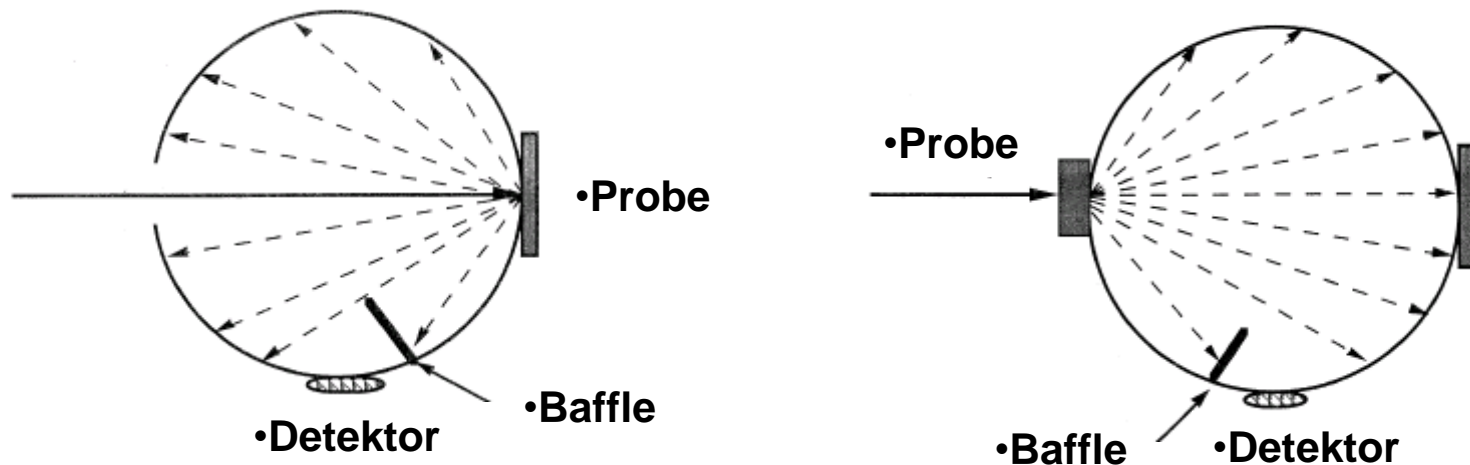
- UV At Work Note 89 The Measurement of High Optical Densities (up to 8 Abs) in the NIR

Diffuse Reflexion/Transmission



Prallplatten („Baffles“)

- verhindert direkte Bestrahlung des Detektors
- Lichtstrahl sollte innerhalb der Kugel mehrfach reflektiert werden, bevor er auf den Detektor trifft



Messung diffuser Reflexion/Transmission mit Ulbrichtkugel

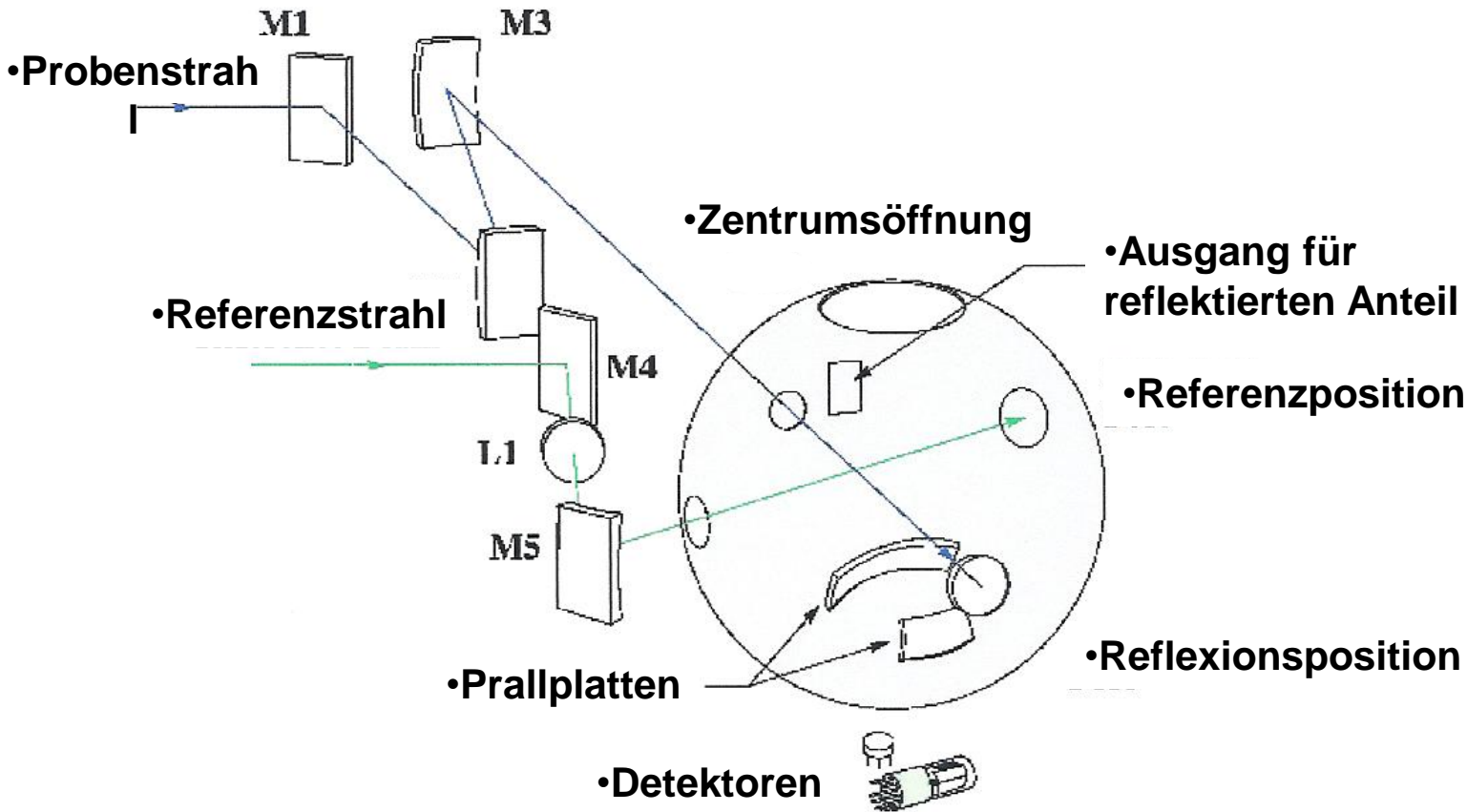
- Externe Ulbrichtkugel



- Interne Ulbrichtkugel

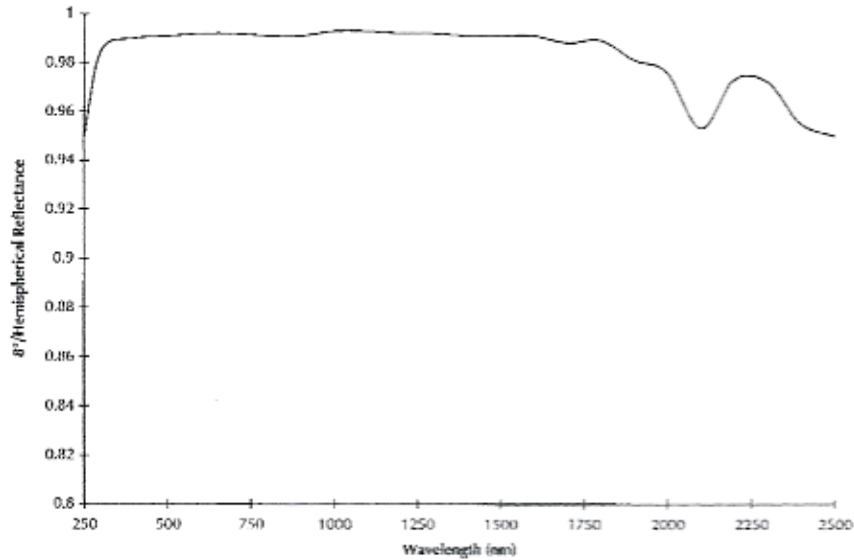


Strahlengang der externen Ulbrichtkugel DRA 2500

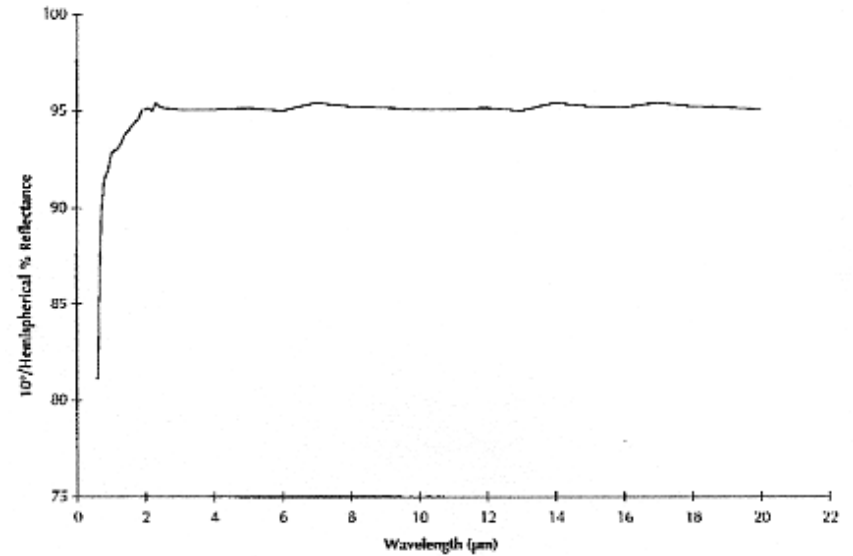


Beschichtungen

Spektralon (190 - 2500 nm)

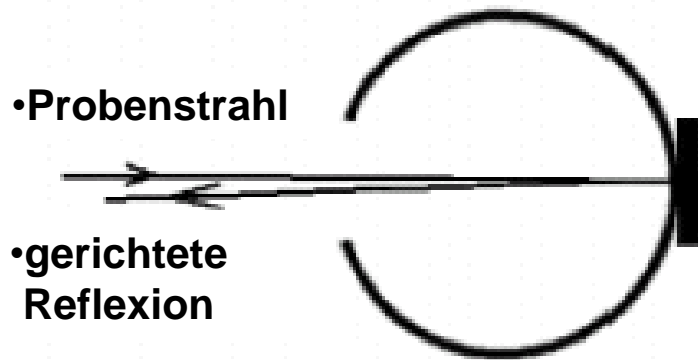


- Gold (> 2500 nm)

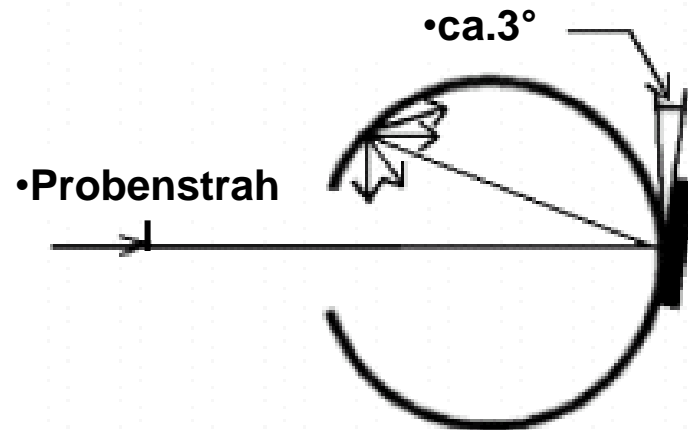


Messgeometrie

- diffuse Reflexion



- diffuse + gerichtete Reflexion



- Durch Differenzbildung der beiden Einzelmessungen wird die gerichtete Reflexion erhalten

SOFTWARE

Softwarepakete

	Analyse-Paket	Bio-Paket	Pharma-Paket
Routine-photometrie	✓	✓	✓
Advanced Photometrie	✓	✓	✓
Reaktionskinetik	✓	✓	✓
Spektrenkinetik	✓	✓	✓
Spektrenscan und Mathematikmodul	✓	✓	✓
Konzentrationsbestimmung	✓	✓	✓
Geräteoptimierung	✓	✓	✓
Gerätevalidierung	✓	✓	✓
GLP-Modul	✓	✓	
Enzymkinetik		✓	✓
DNS-Schmelze		✓ ¹⁾	✓ ¹⁾
RNA / DNA		✓	✓
21CFR Part 11			✓



Spezielle Software-Pakete

Textil und Sonnenbrillen UV-Schutz Software-Paket

AATCC Test Method 183-2000 (American)

AS/NZS 4399-1996 (Australia/ NZ)

BS EN 13752-1:2002 (British)

Farbmetrik Software-Paket

Normfarbwerte, Normfarbwertanteile, $u'v'$,

$L^*a^*b^*$, $L^*u^*v^*$, Hunter Lab, Metric $L^*c^*h^*$. Zusätzlich noch spezielle

Anwendungen, wie Farbdifferenz, Color Matching, Haze Messungen
u.v.a.m.