



Agilent 8453 Sistema de Espectroscopía UV-visible



Guía del usuario



Agilent Technologies

Avisos

© Agilent Technologies, Inc. 2002, 2003

No se permite la reproducción de parte alguna de este manual bajo cualquier forma ni por cualquier medio (incluyendo su almacenamiento y recuperación electrónicos y la traducción a idiomas extranjeros) sin el consentimiento previo por escrito de Agilent Technologies, Inc. según lo estipulado por las leyes de derechos de autor estadounidenses e internacionales.

Número de referencia del manual

G1115-95021

Edición

10/2003

Impreso en Alemania

Agilent Technologies Deutschland GmbH
Hewlett-Packard-Strasse 8
76377 Waldbronn

Microsoft® es una marca registrada en EE.UU. de Microsoft Corporation.

Revisión del software

Este manual es para las revisiones A.10.xx del software de la ChemStation Agilent, donde xx es un número de 00 a 99, que se refiere a revisiones menores del software que no afectan a la exactitud técnica de este manual.

Garantía

El material contenido en este documento se proporciona "tal como es" y está sujeto a modificaciones, sin previo aviso, en ediciones futuras. Además, hasta el máximo permitido por la ley aplicable, Agilent rechaza cualquier garantía, expresa o implícita, en relación con este manual y con cualquier información contenida en el mismo, incluyendo, pero no limitado a, las garantías implícitas de comercialización y adecuación a un fin determinado. En ningún caso Agilent será responsable de los errores o de los daños incidentales o consecuentes relacionados con el suministro, utilización o uso de este documento o de cualquier información contenida en el mismo. En el caso que Agilent y el usuario tengan un acuerdo escrito separado con condiciones de garantía que cubran el material de este documento y que estén en conflicto con estas condiciones, prevalecerán las condiciones de garantía del acuerdo separado.

Licencias sobre la tecnología

El hardware y/o software descritos en este documento se suministran bajo una licencia y pueden utilizarse o copiarse únicamente de acuerdo con las condiciones de tal licencia.

Avisos de seguridad

PRECAUCIÓN

Un aviso de **PRECAUCIÓN** indica un peligro. Llama la atención sobre un procedimiento de operación, una práctica o similar que, si no se realizan correctamente o no se ponen en práctica, pueden provocar daños en el producto o pérdida de datos importantes. No avance más allá de un aviso de **PRECAUCIÓN** hasta que se entiendan y se cumplan completamente las condiciones indicadas.

AVISO

Un aviso de **ADVERTENCIA** indica un peligro. Llama la atención sobre un procedimiento de operación, una práctica o similar que, si no se realizan correctamente o no se ponen en práctica, pueden provocar daños personales o la muerte. No avance más allá de un aviso de **ADVERTENCIA** hasta que se entiendan y se cumplan completamente las condiciones indicadas.

En este manual

Para que pueda empezar a utilizar rápidamente el nuevo sistema de espectroscopía UV-visible Agilent 8453, se incluyen procedimientos detallados y ejemplos de las operaciones y tareas básicas.

Esta guía de comienzo rápido no sustituye a los manuales detallados disponibles para la instalación: *Instalación del Sistema de Espectroscopía UV-Visible* ni del manejo del software, *Familiarización con el Sistema de Espectroscopía UV-Visible*, ni el *Manual de Servicio* del Agilent 8453.

1 Introducción al sistema

En este capítulo se proporciona una introducción al instrumento y se describe el concepto en el que está basado el software ChemStation.

2 Instalación y puesta en marcha

En este capítulo se incluye un resumen de la instalación del sistema y se explica cómo iniciar una sesión de medida.

3 Prácticas de medida correctas

En este capítulo se explican prácticas de medida correctas.

4 Utilización del Sistema de Espectroscopía UV-Visible Agilent 8453

Este capítulo contiene ejemplos detallados de medidas básicas y tareas relacionadas.

Contenido

1	Introducción al sistema	9
	Espectrofotómetro Agilent 8453 — Descripción general	10
	Descripción general del sistema óptico	10
	Descripción del espectrofotómetro	13
	Software de uso general Agilent ChemStation para espectroscopía UV-visible —	
	Descripción general	18
	Elementos de la interfase de usuario	19
	Estructura del software	23
	Tareas de la modalidad Standard (Estándar)	25
	Proceso de datos en la modalidad Standard (Estándar)	29
2	Instalación y puesta en marcha	35
	Resumen de la instalación del sistema de uso general UV-visible Agilent 8453	36
	General	36
	Espectrofotómetro	36
	PC	37
	Inicio de una sesión de medida	38
3	Prácticas de medida correctas	39
	Consideraciones generales	40
	Diseño del espectrofotómetro	40
	Realización de medidas	40
	Material de la celda de muestra	41
	Especificaciones ópticas de las celdas	41
	Celdas con abertura	42
	Celdas de flujo	44
	Manipulación y mantenimiento de celdas	44

Disolventes	46
Preparación de la muestra	48
Muestras fotosensibles	49
Mezcla y control de la temperatura	49
Lista de verificación para conseguir buenos resultados	50
Inserción de una celda	53
4 Utilización del Sistema de Espectroscopía UV-Visible Agilent 8453	55
Inicio de la primera sesión de medida	56
Inicio del software UV-visible	58
Medida de la absorbancia de la cafeína a 273 nm	59
Guardar los parámetros como un método	62
Recuperación e impresión de un método	64
Guardar y recuperar datos	67
Guardar las muestras	67
Guardar un espectro seleccionado	69
Recuperación de espectros	71
Eliminación de los espectros actuales	72
Presentación preliminar de los informes	73
Determinación del máximo de absorbancia de la cafeína	76
Introducción del paso óptico de la celda	80
Control del sistema de succión	82
Utilización del mecanismo de transporte multicelda	84
Análisis cuantitativo utilizando una calibración con patrones	87
Configuración	87
Calibración	90
Análisis	92

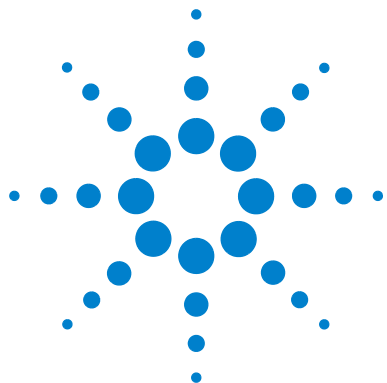
¿Cómo se puede determinar si el Agilent 8453 está funcionando correctamente? 95

Autoverificación del Agilent 8453 95

¿Cómo se puede obtener una mayor comprensión de la espectroscopía UV-visible? 98

¿Cuándo es necesario realizar una medida en blanco? 100

Índice 101



1

Introducción al sistema

Espectrofotómetro Agilent 8453 — Descripción general [10](#)

Software de uso general Agilent ChemStation para espectroscopía
UV-visible — Descripción general [18](#)

Este sistema será mucho más fácil de manejar si se comprenden los modelos de implantación. Los modelos inteligentes de adquisición de datos, evaluación de datos y manejo de datos ayudan al usuario a manejar correctamente el sistema.

El sistema de espectroscopía está basado en un espectrofotómetro Agilent 8453 y en el software de uso general Agilent ChemStation para espectroscopía UV-visible, que se ejecuta en un PC con un sistema o sistemas operativos Microsoft compatibles. Estos dos componentes están enlazados mediante una conexión de red. Este tipo de enlace es muy flexible: se puede utilizar para realizar una conexión directa entre el espectrofotómetro y el PC y también para la integración en la red de una empresa, con acceso a través de la red desde el PC al espectrofotómetro.

Las tareas se dividen entre los dispositivos de tal manera que el espectrofotómetro adquiere y proporciona datos de absorbancia, que procesa el software de aplicación del PC. Todas las tareas de presentación, evaluación y almacenamiento a largo plazo de los datos se llevan a cabo en el PC bajo el control del software.



Espectrofotómetro Agilent 8453 — Descripción general

En este apartado se ofrece una descripción de conjunto del sistema óptico y se explican los paneles delantero y posterior del espectrofotómetro. También se describen el diseño y la construcción del espectrofotómetro, incluidos los conjuntos electrónicos y mecánicos situados en el interior del instrumento.

Descripción general del sistema óptico

Sistema óptico

El sistema óptico del espectrofotómetro se muestra en la [Figura 1](#). Su fuente de radiación consiste en una combinación de una lámpara de descarga de deuterio para el rango de longitudes de onda de UV (ultravioleta) y una lámpara de wolframio para el rango de longitudes de onda visible y de SWNIR (onda corta del infrarrojo cercano). La imagen del filamento de la lámpara de wolframio se enfoca en la abertura de descarga de la lámpara de deuterio mediante un diseño especial de lámpara con acceso posterior que permite combinar ópticamente ambas fuentes luminosas y compartir un eje común con respecto a la lente de la fuente. La lente de la fuente forma un único haz luminoso colimado. El haz pasa a través del área del obturador/filtro de corrección de dispersión luminosa y a continuación a través de la muestra hasta la lente y la rendija del espectrógrafo. En el espectrógrafo, la luz se dispersa sobre una matriz de diodos mediante una red de difracción holográfica. Esto permite un acceso simultáneo a toda la información de longitudes de onda. El resultado es un aumento sustancial de la velocidad a la que se pueden adquirir espectros.

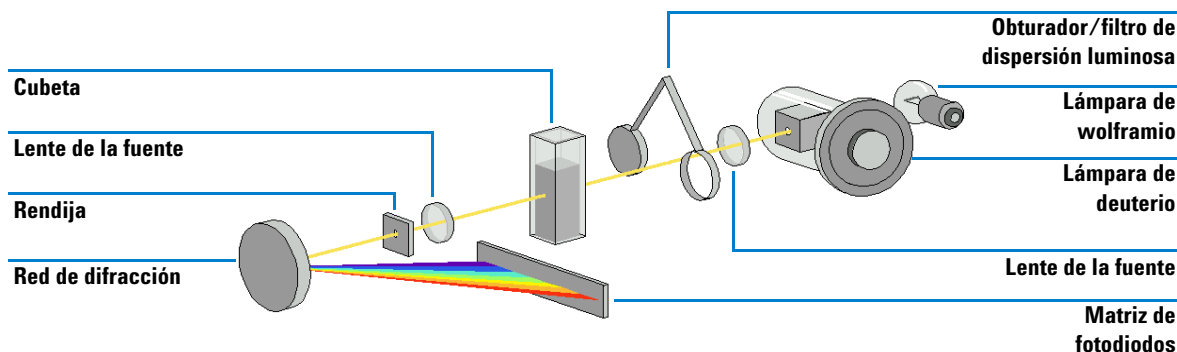


Figura 1 Sistema óptico del espectrofotómetro

- Lámparas

La fuente luminosa utilizada para el rango de longitudes de onda de UV es una lámpara de deuterio con una abertura a través de la cual pasa la luz. Como consecuencia de la descarga de plasma en un gas de deuterio de baja presión, la lámpara emite luz en el rango de longitudes de onda comprendido entre 190 y aproximadamente 800 nm. La fuente luminosa utilizada para el rango de longitudes de onda visibles y SWNIR es una lámpara de wolframio de bajo ruido. La lámpara emite luz a través del rango de longitudes de onda comprendido entre 370 y 1.100 nm.

- Lente de la fuente

La lente de la fuente recibe la luz de ambas lámparas y la colima. El haz colimado pasa a través de la muestra (si está presente) del compartimento de muestra.

- Obturador

El obturador se acciona electromecánicamente. Se abre para permitir el paso de la luz a través de la muestra con el fin de realizar medidas. Se cierra entre las medidas de la muestra para limitar la exposición de la muestra a la luz. Si la velocidad de la medida es muy elevada, se podrá controlar el obturador para que permanezca abierto (mediante el software Agilent ChemStation), o para que permanezca abierto automáticamente (software de controlador manual).

- Filtro de corrección de dispersión luminosa

En una secuencia de medida estándar, la referencia o los espectros de intensidad de la muestra se miden sin, y después con, el filtro de dispersión luminosa situado en el haz luminoso. Sin el filtro, se mide el espectro de intensidad a través de la totalidad del rango de longitudes de onda comprendido entre 190 y 1.100 nm. El filtro de dispersión luminosa es un filtro de bloqueo del 50 % a 420 nm.

Con este filtro instalado, cualquier luz que se mida por debajo de 400 nm es luz dispersa. Esta intensidad de la dispersión luminosa se resta del primer espectro para aportar un espectro con corrección de dispersión luminosa. Dependiendo del software utilizado, se puede desactivar la corrección de dispersión luminosa (mediante el software Agilent ChemStation) si es necesario realizar exploraciones repetitivas muy rápidas, o bien se puede desactivar automáticamente (mediante el software del controlador manual).

- **Compartimento de muestra**

El espectrofotómetro dispone de un compartimento de muestra abierto para facilitar el acceso a las celdas de muestra. Gracias al diseño óptico, no es necesaria una cubierta para la zona de la muestra. El espectrofotómetro se suministra con un soporte para una muestra ya instalado en el compartimento. Se puede sustituir por el accesorio de control de temperatura Peltier, el soporte de celda provista de termostato, el soporte de celda ajustable, el soporte de celda de paso largo o el mecanismo de transporte multicelda. Todos estos soportes opcionales de celdas se instalan en el compartimento de muestra mediante un mismo sistema de montaje rápido y sencillo. También se encuentra disponible una rueda de filtros ópticos que se puede utilizar con el espectrofotómetro y la mayoría de los accesorios.

- **Espectrógrafo**

La caja del espectrógrafo está fabricada de cerámica para reducir al mínimo los efectos térmicos. Los componentes principales del espectrógrafo son la lente, la rendija, la red de difracción y la matriz de fotodiodos, con componentes electrónicos en la parte frontal. El intervalo de muestreo medio de la matriz de diodos es de 0,9 nm en el rango de longitudes de onda comprendido entre 109 y 1.100 nm. La anchura nominal de la rendija espectral es de 1 nm.

- **Lente del espectrógrafo**

La lente es la primera de las piezas que, en su conjunto, se denominan espectrógrafo. Está situada en la carcasa del espectrógrafo. La lente del espectrógrafo vuelve a enfocar el haz luminoso colimado una vez que ha pasado a través de la muestra.

- Rendija

La rendija es una abertura estrecha en una placa situada en el foco de la lente del espectrógrafo. Tiene exactamente el mismo tamaño que uno de los diodos de la matriz de fotodiodos. Al limitar el tamaño del haz luminoso entrante, la rendija asegura que cada banda de las longitudes de onda sólo se proyecte sobre el fotodiodo adecuado.

- Red de difracción

La combinación de dispersión y representación de imágenes espectrales se consigue utilizando una red de difracción holográfica cóncava. Ésta dispersa la luz sobre la matriz de diodos a un ángulo proporcional a la longitud de onda.

- Matriz de diodos

La matriz de fotodiodos es el núcleo del espectrógrafo. Se trata de una serie de 1.024 fotodiodos y circuitos de control individuales grabados sobre un chip semiconductor. Con un rango de longitudes de onda comprendido entre 190 y 1.100 nm, el intervalo de muestreo nominal es de 0,9 nm.

Descripción del espectrofotómetro

El espectrofotómetro es muy fácil de usar. Dispone de un indicador de encendido, un indicador de estado y una serie de botones. Todas las conexiones eléctricas se realizan en la parte posterior del espectrofotómetro.

Vista frontal

La vista frontal del espectrofotómetro se muestra en la [Figura 2](#). Obsérvese que el compartimento de muestra está abierto. A diferencia de los espectrofotómetros convencionales, el Agilent 8453 no se ve afectado por la luz ambiental falsa. La zona abierta para las muestras facilita el acceso para manipular la cubeta y conectar los tubos a una celda de flujo o a un soporte de celda provista de termostato. El espectrofotómetro se suministra con el

soporte estándar para una celda. Los soportes de celda estándar y accesorios se pueden retirar y volver a instalar en cuestión de segundos sin que apenas se necesiten herramientas.

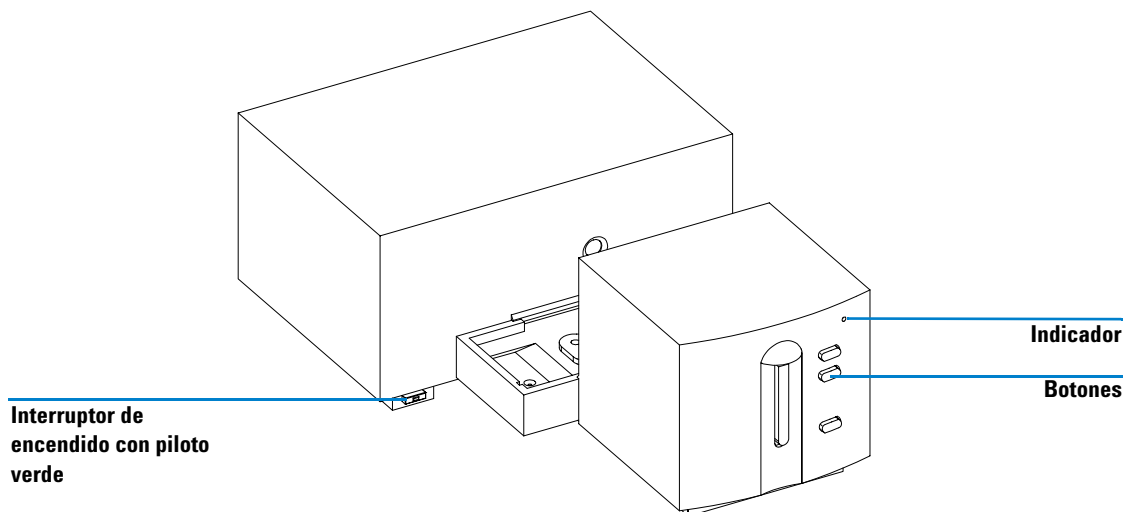


Figura 2 Vista frontal del espectrofotómetro

El interruptor de encendido está situado en la parte inferior izquierda del espectrofotómetro. Al pulsarlo se enciende el instrumento. Mientras el espectrofotómetro está encendido, permanece presionado y se ilumina un piloto verde. Si el interruptor de encendido está extraído y el piloto verde no está iluminado, el espectrofotómetro está apagado.

En el panel frontal del espectrofotómetro se encuentra un indicador de estado que se enciende en diferentes colores, dependiendo del estado del instrumento.

- Verde - El espectrofotómetro está preparado para realizar medidas.
- Verde intermitente - El espectrofotómetro está realizando una medida.
- Amarillo - El espectrofotómetro no está preparado; por ejemplo, se enciende una de las lámparas o ambas lámparas están apagadas.

- Rojo - Condición de error, es decir, el espectrofotómetro no ha superado una de las autoverificaciones que se llevan a cabo cuando se enciende el instrumento, o se ha producido una condición de error durante el funcionamiento del espectrofotómetro. En este caso, el software UV-visible presentará un mensaje de error detallado y se podrán consultar las posibles explicaciones en el sistema de ayuda en línea y en el *Manual de Servicio* (Capítulo 3, “Diagnósticos y resolución de problemas”).
- Rojo intermitente - Condición de error del sistema de procesador de espectrofotómetro. Puesto que en este caso no existe comunicación con el ordenador, no se muestra ningún mensaje de error. El sistema de ayuda en línea y el *Manual del Servicio* (Capítulo 3 “Diagnósticos y resolución de problemas”) ofrecen más información sobre la manera de diagnosticar problemas.

Los cuatro pulsadores de medida del panel frontal realizan las siguientes acciones y envían los datos resultantes al ordenador.

- BLANK — El espectrofotómetro realiza una medida en blanco. Consiste en una medida de referencia que se utilizará en todas las medidas posteriores de muestras hasta que se realice una nueva medida en blanco. Tras realizarse la medida de referencia, se mide el espectro de la línea base y se muestra en el PC.
- SAMPLE — El espectrofotómetro realiza una medida de una muestra o inicia una serie de medidas. Esto depende de los parámetros definidos en el software.
- STANDARD — El espectrofotómetro realiza una medida de un patrón. En el software se debe introducir información adicional, como la concentración, etc.
- STOP — El espectrofotómetro y/o el software interrumpe la actividad en curso y vuelve al estado de preparado.

Vista posterior

Todas las conexiones se realizan en la parte posterior del espectrofotómetro; véase la [Figura 3](#).

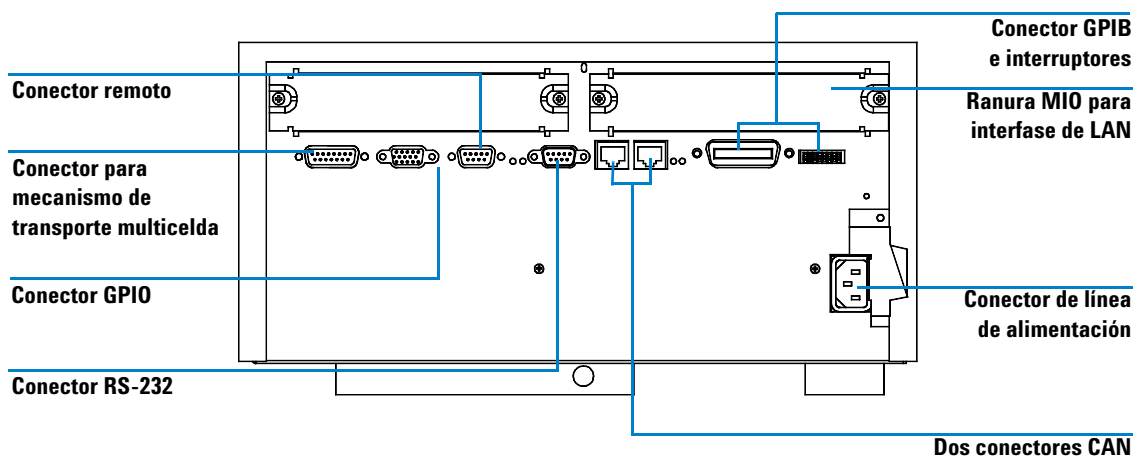


Figura 3 Vista posterior del espectrofotómetro

- El conector multicelda permite conectar el cable procedente del mecanismo de transporte multicelda.
- El conector GPIO (entrada/salida de uso general) permite controlar un sistema de absorción y un muestreador automático u otros accesorios, dependiendo del software que se esté utilizando.
- El conector remoto se puede utilizar conjuntamente con otros espectrofotómetros analíticos de Agilent Technologies en caso de que sea necesario usar características tales como un apagado común, etc.
- El conector RS-232C se puede utilizar para controlar el funcionamiento del espectrofotómetro desde un ordenador a través de una conexión RS-232, utilizando software adecuado (para uso futuro). Este conector debe definirse mediante el módulo de conmutadores de configuración situado al lado del conector GPIB. El software necesita los drivers adecuados para permitir esta comunicación, que está prevista para uso futuro.

El puerto RS-232C se utiliza como interfase para conectar mediante un cable serie/paralelo la impresora del sistema de espectroscopía UV-visible Agilent 8453E.

- El bus CAN de la derecha se utiliza para conectar el controlador de mano del sistema de espectroscopía UV-visible Agilent 8453E al espectrofotómetro.
- El conector GPIB se utiliza para conectar el espectrofotómetro a un ordenador. El módulo de conmutadores de configuración de 8 bits situado al lado del conector GPIB determina la dirección GPIB del espectrofotómetro. Los conmutadores están ajustados a una dirección por defecto que reconoce el software operativo de Agilent.

El puerto GPIB no se utiliza cuando el controlador de mano del sistema de espectroscopía UV-visible Agilent 8453E está conectado al espectrofotómetro. Sin embargo, el conmutador de configuración de 8 bits del puerto debe ajustarse para la comunicación GPIB.

- La ranura para tarjeta MIO está reservada para una tarjeta de interfase de LAN.
- La ranura para tarjetas accesorias está reservada para uso futuro.
- El conector de entrada de alimentación no dispone de un selector de tensión debido a que la fuente de alimentación está provista de una capacidad muy amplia (para obtener más información, consulte el *Manual de Servicio*, Capítulo 1, “Especificaciones”). No hay fusibles accesibles desde el exterior, ya que la fuente de alimentación dispone de fusibles electrónicos automáticos. La palanca de seguridad del conector de entrada de alimentación impide que se pueda retirar la cubierta del espectrofotómetro mientras el cable de alimentación está conectado.

Lateral del espectrofotómetro

En el lateral derecho del espectrofotómetro se encuentra una portezuela que permite cambiar las lámparas. Detrás de esta portezuela de plástico se encuentra otra portezuela metálica. Se han implantado dos interruptores de seguridad independientes para las lámparas, que apagan automáticamente dichas lámparas cuando se abre la portezuela metálica.

Software de uso general Agilent ChemStation para espectroscopía UV-visible — Descripción general

En esta sección se incluye una descripción general de los elementos de la interfase de usuario instalada en el software Agilent ChemStation y el concepto de análisis de datos. Se explica cómo se procesan los datos y las ventajas de este procesamiento desde un punto de vista práctico.

Elementos de la interfase de usuario

El software de uso general Agilent ChemStation para espectroscopia UV-visible facilita el manejo del espectrofotómetro UV-visible basado en matriz de diodos durante su uso rutinario cotidiano. Este software se ha diseñado para facilitar el uso y el aprendizaje. Una interfase gráfica de usuario visualiza el funcionamiento y uso del espectrofotómetro. Esta interfase de usuario consta de una serie de elementos que se describen en los apartados siguientes.

Conmutador de modalidad

Nombre del método

Barra de menús

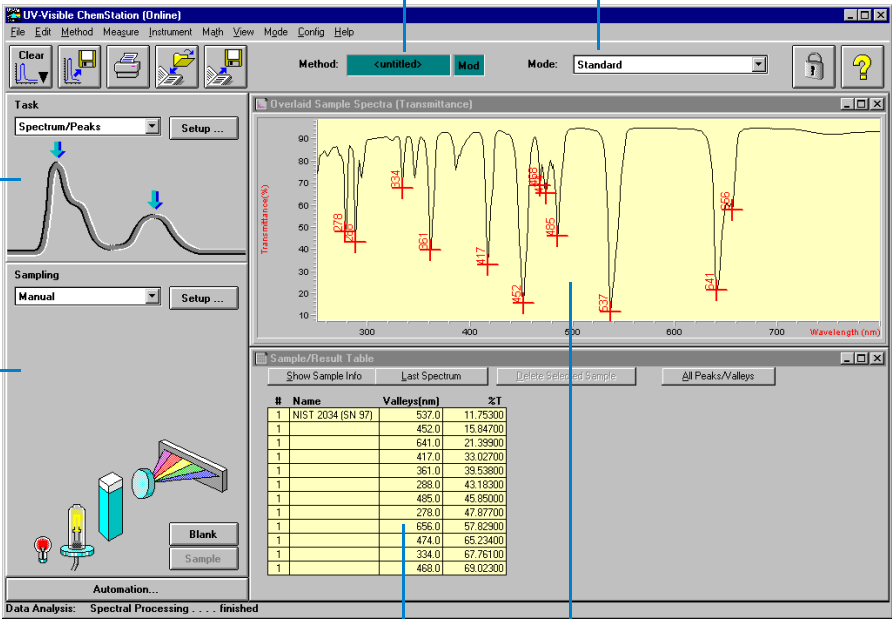
Barra de herramientas

Panel de análisis

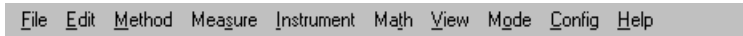
Panel del instrumento

Resultados en formato de tabla

Espectros

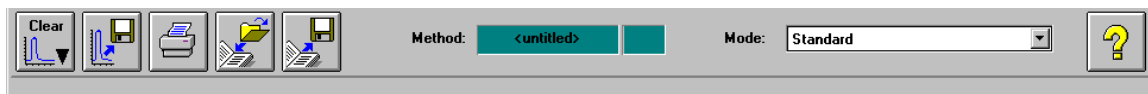


Menú



La interfase de menús más tradicional que aparece en la parte superior de la ventana de Agilent ChemStation permite controlar todas las operaciones. Cuando se elige una opción en la barra de menús, aparece una lista de comandos y submenús. Para realizar una operación, elija un comando (haciendo clic con el ratón o pulsando la tecla INTRO).

Barra de herramientas



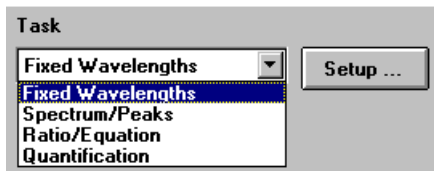
La barra de herramientas que aparece debajo de la barra de menús muestra botones con símbolos (iconos) que dan acceso directo a operaciones básicas tales como imprimir informes de resultados, cargar métodos, y guardar métodos y datos.

Paneles laterales

Los paneles de la izquierda son el panel de análisis y el panel del instrumento. El tamaño y la posición de estos paneles son fijos, pero dependen de la resolución de la pantalla del monitor. La resolución mínima es de 600 × 800 píxeles.

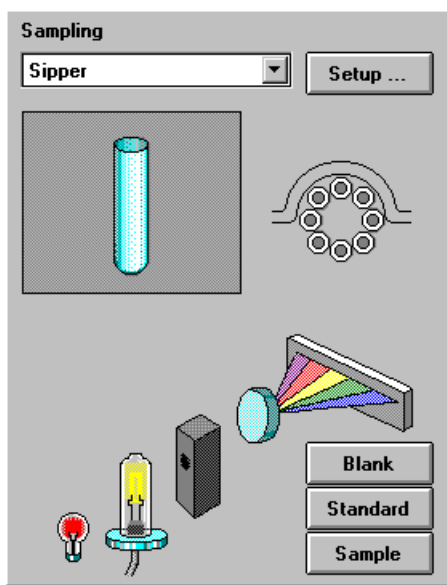
Panel de análisis

El panel de análisis ofrece una representación gráfica del contexto actual en el que se está trabajando. Además, ofrece acceso al cuadro de diálogo de configuración de la tarea actual mediante el botón Setup (Configuración).



Panel del instrumento

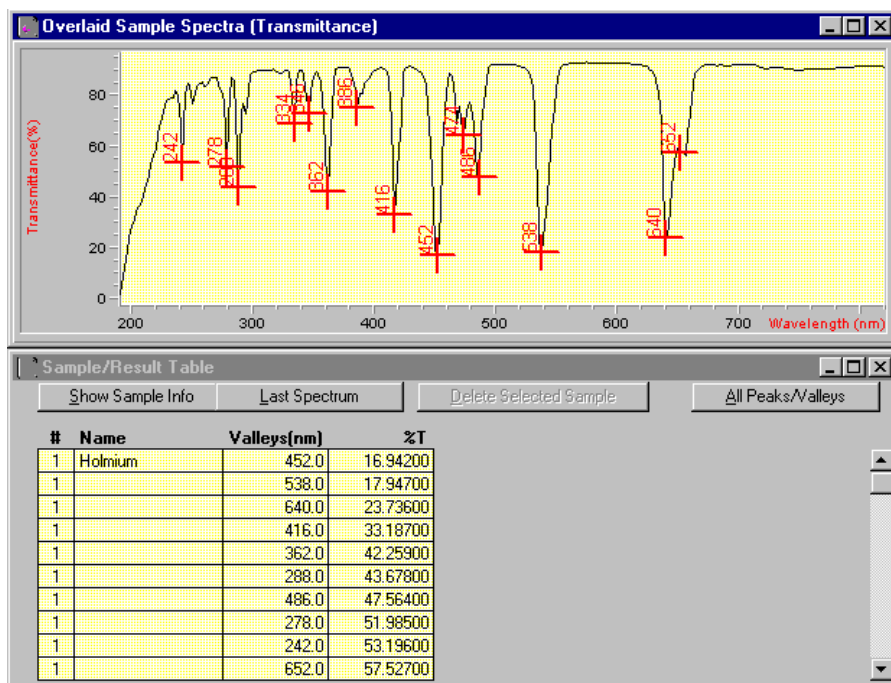
El panel del instrumento aparece debajo del panel de análisis. Representa y controla el funcionamiento de los dispositivos de muestreo y del espectrofotómetro. Parte de los elementos gráficos de este panel son elementos activos; por ejemplo, para encender y apagar lámparas o para poner en marcha una bomba peristáltica.



Las áreas activas se pueden reconocer por el cambio de forma del puntero cuando se desplaza el cursor del ratón sobre el área. Si se hace clic con el ratón en una posición activa, aparecerá un pequeño menú con selecciones, o simplemente se realizará una operación.

Además, se puede seleccionar un sistema de muestreo en la lista de sistemas disponibles. Sus parámetros se pueden definir mediante el botón Setup (Configuración).

Vista



El área situada a la derecha de los paneles laterales ofrece una vista de un determinado aspecto de la tarea que se está realizando en cada momento. Una vista consta de una o más ventanas diferentes. Estas ventanas muestran información principalmente en forma gráfica o tabular. Podrá aparecer un gráfico que muestra los espectros medidos de la muestra y una tabla con los resultados calculados.

Normalmente, la operación que se está realizando gestiona automáticamente las vistas, pero también se pueden utilizar los comandos del menú View (Ver) para seleccionar la vista de interés.

Estructura del software

Para reducir la complejidad de su manejo, el software está dividido en aplicaciones específicas, denominadas modalidades. Además, hay disponibles niveles de manejo y se admiten sesiones de evaluación de datos sin el control del espectrofotómetro.

Sesiones de la ChemStation Agilent

La ChemStation forma parte de la familia de software de control de instrumentos AgilentChemStation. Una instalación del software Agilent ChemStation puede controlar un máximo de cuatro instrumentos UV-vis distintos mediante un único PC. Cada uno de estos instrumentos tiene su propia sesión.



Cuando se inicia una sesión, su nombre aparece indicado en la barra de título de la ventana principal de la aplicación, por ejemplo, Agilent 845x UV-visible System[1].



Cada sesión de instrumento está disponible para análisis de datos únicamente y para control del instrumento. Una sesión de control de instrumento tiene el apéndice Online (En línea) y sólo se puede iniciar como una única sesión en el PC. Pero se pueden iniciar varias sesiones de análisis de datos que tengan el

apéndice Offline (Fuera de línea). Las sesiones Offline (Fuera de línea) permiten repetir cálculos en función de los datos almacenados y son útiles en el proceso de desarrollo de un método analítico.

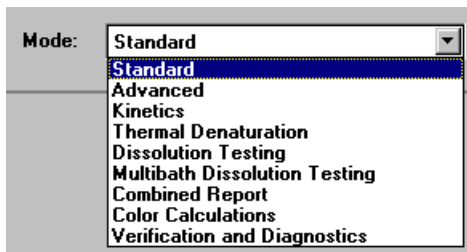
Niveles de manejo

Los niveles de manejo “manager level” (nivel de administrador) y “operator level” (nivel de operador) son aplicables a todas las modalidades y permiten gestionar una aplicación y ejecutar una aplicación únicamente. En el nivel de gestión de una aplicación normalmente se desarrolla un método y se almacena permanentemente en disco. El nivel de manejo “manager level” (nivel de administrador) está protegido por contraseña. De esta manera se asegura la integridad de los métodos predefinidos y las secuencias de operaciones.

En el nivel de operador “operator level” sólo está disponible un conjunto reducido de funciones. Concretamente, no están disponibles las funciones que pueden afectar a la integridad de un procedimiento analítico. Pero por otra parte, un operador puede utilizar sus propios valores. Este hecho aparece indicado en la barra de herramientas y en los informes impresos.

Modalidades de la Agilent ChemStation

Las modalidades de Agilent ChemStation están orientadas a aplicaciones. Cada modalidad dispone de su propio menú y de sus propios paneles, operaciones y conjuntos de vistas específicos. El software de uso general para espectroscopía UV-visible es la plataforma para todas las modalidades. Está dividido en una modalidad *Standard (Estándar)*, una modalidad *Execute Advanced Method (Ejecutar método avanzado)* y una modalidad *Verification and Diagnostics (Verificación y diagnósticos)*.



De acuerdo con las necesidades del usuario, hay disponibles modalidades de funcionamiento *Advanced (Avanzado)*, de análisis de *Dissolution Testing (Comprobación de disolución)*, de análisis de *Multibath Dissolution Testing (Comprobación de disolución multibaño)*, de evaluación de *Combined Reports (Informes combinados)*, de medidas *Kinetics (Cinéticas)*, de estudios de *Thermal Denaturation (Desnaturalización térmica)* y de *Color Calculations (Cálculos de colores)*.

Estas modalidades de funcionamiento se pueden cambiar durante una sesión de Agilent ChemStation. Todos los actuales datos sin procesar se conservan durante tal cambio. Esto permite examinar los datos centrándose en diferentes aspectos.

La mayoría de estas modalidades ofrecen la capacidad para definir las tareas analíticas mediante un conjunto de parámetros y, si es necesario, de datos. Un conjunto de parámetros y los datos se pueden guardar en disco como un método. Ello permite repetir la tarea de análisis bajo condiciones definidas con sólo cargar un método y analizar las muestras.

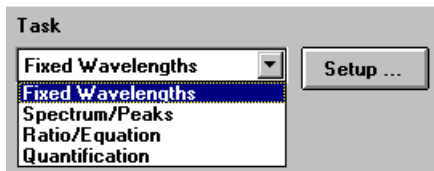
Tareas de la modalidad Standard (Estándar)

Las modalidades de Agilent ChemStation también ofrecen la posibilidad de centrarse en un determinado aspecto; es necesario gestionar numerosos parámetros con el fin de personalizar una modalidad para una determinada aplicación. Para superar esta complejidad, la modalidad Standard (Estándar) ofrece un planteamiento adicional centrado en tareas.

La modalidad Standard (Estándar) del software de uso general para espectroscopía UV-visible está orientada a las tareas más habituales llevadas a cabo en un laboratorio analítico que utilice la espectroscopía UV-visible. Hay disponibles cuatro áreas:

- Fixed Wavelength (Longitud de onda fija)
- Spectrum/Peaks (Espectro/picos)
- Ratio/Equation (Relación/ecuación)
- Quantification (Cuantificación)

Una tarea se selecciona y se activa desde el cuadro de selección del panel de análisis.

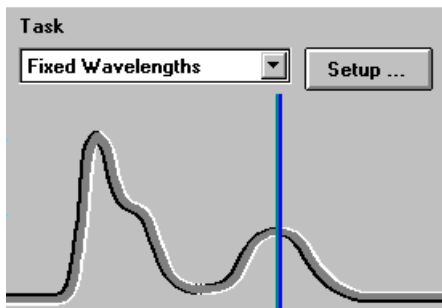


Esta orientación a tareas permite ajustar rápidamente el software para obtener la vista correcta y respuestas basadas en los datos. Estas tareas se han obtenido de una encuesta de las tareas espectroscópicas UV-visible más habituales realizadas de manera rutinaria en los laboratorios analíticos. Históricamente, estas tareas se han desarrollado en fotómetros de filtro o espectrofotómetros de exploración.

El espectrofotómetro ofrece la ventaja de que, por defecto, está disponible todo el espectro UV-visible de las muestras. Por ello, estas tareas sólo ofrecen vistas diferentes de los datos adquiridos.

Un cambio de tarea en la modalidad Standard (Estándar) es mucho más rápido que un cambio completo de modalidad. Otra ventaja de estas tareas es que la definición de un método se realiza en un único cuadro de diálogo.

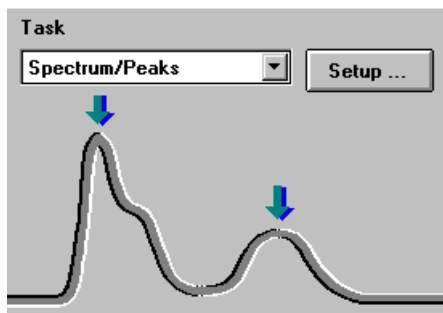
Fixed Wavelength (Longitud de onda fija)



La tarea Fixed Wavelength (Longitud de onda fija) se utiliza para examinar los datos de la muestra medida en un máximo de seis longitudes de onda diferentes. Estos datos están disponibles como absorbancia, transmitancia y primera a cuarta derivada.

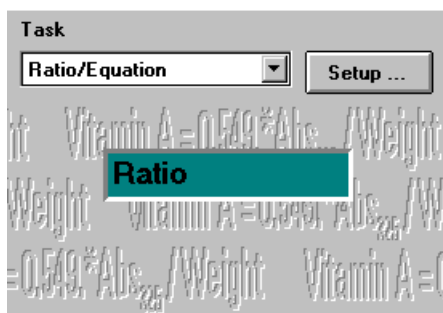
Mediante técnicas adicionales de adquisición espectral tales como referencia interna o línea vertical de tres puntos, se pueden aplicar correcciones de fondo.

Spectrum/Peaks (Espectro/picos)



En la tarea Spectrum/Peaks (Espectro/picos) se examinan las absorbancias mínimas y máximas. Aquí se hace más hincapié en la escala de la longitud de onda, pero se obtienen además las lecturas de absorbancia consiguientes.

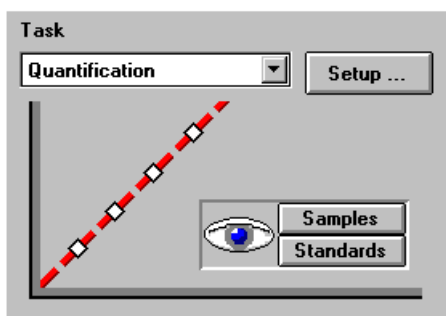
Ratio/Equation (Relación/ecuación)



La tarea Ratio/Equation (Relación/ecuación) se utiliza para desarrollar una ecuación definible por el usuario basada en los datos medidos y en la información de la muestra. Una ecuación se puede configurar utilizando datos de muestra en un máximo de seis longitudes de onda y datos de peso y

volumen introducidos con las muestras medidas. Mediante una ecuación, por ejemplo, se pueden calcular y presentar automáticamente resultados de análisis basados en kits de tests químicos. Otra aplicación es utilizar una relación de valores de datos para comprobar la identidad o pureza de una muestra.

Quantification (Cuantificación)



La tarea Quantification (Cuantificación) permite realizar análisis de componentes únicos en función de cuatro tipos diferentes de curvas de calibración y un conjunto de estándares. Mediante la adquisición espectral, también se pueden aplicar correcciones de fondo a los datos.

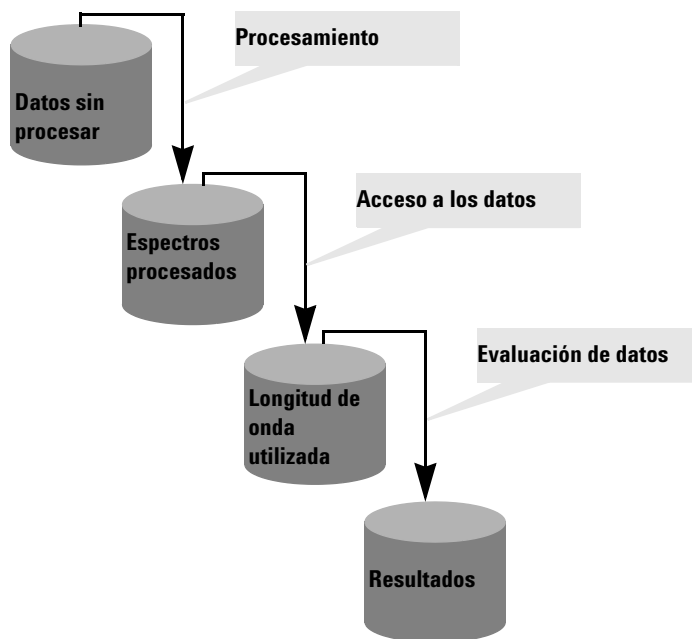
La calibración se puede optimizar para el rango de concentración de interés cambiando la longitud de onda utilizada para la calibración. Se realizan automáticamente una nueva calibración y un nuevo análisis en función de los datos del patrón actual.

Proceso de datos en la modalidad Standard (Estándar)

Proceso general de datos

Aunque no se necesitan conocimientos del diseño interno del flujo y el proceso de datos para utilizar el software Agilent ChemStation, sí ayudan a comprender cómo procesa los datos la Agilent ChemStation y cómo los parámetros del método controlan este proceso.

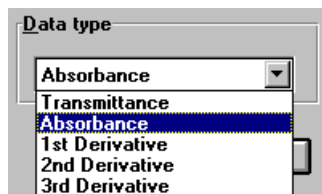
El proceso de datos se puede describir fácilmente mediante un modelo de contenedores de datos y operaciones mostrados en un diagrama de flujo.



Todos los datos básicos se guardan en un contenedor de *datos sin procesar*. Este contenedor está vacío cuando se inicia la sesión de Agilent ChemStation y se va llenando al medir datos o cargar datos desde un archivo.

El contenedor de *datos sin procesar* contenía los datos adquiridos originalmente tal y como se habían especificado mediante los parámetros de adquisición, con una indicación, por ejemplo, de la fecha y hora de adquisición y el nombre del operador que realizó la adquisición.

Procesamiento espectral



El método define cómo se analizan estos datos. El primer paso del proceso es el espectral. Los espectros de los datos procesados se transfieren automáticamente a un segundo contenedor para *espectros procesados*. Este concepto permite examinar los resultados de este paso del proceso visualizando el contenido del contenedor de *espectros procesados*. Por ejemplo, si se ha especificado el tipo de datos de primera derivada, los espectros de primera derivada de todos los datos sin procesar estarán disponibles en el contenedor de *espectros procesados* después del análisis. El tipo de operación espectral se define mediante los valores del método.

Longitud de onda utilizada



Un paso siguiente del proceso de análisis es el acceso a los datos para una evaluación posterior especificada en términos de operaciones de longitud de onda y corrección de fondo tales como cálculo de la referencia interna o cálculo de línea vertical de tres puntos.

Estos datos se almacenan en el contenedor de *longitud de onda utilizada*. En la tarea Fixed Wavelength (Longitud de onda fija), por ejemplo, está disponible una vista tabular de estos datos a través de la ventana Sample/Results Table (Muestra/Tabla de resultados).

Resultados Otro paso es la evaluación de los datos a los que se ha tenido acceso.

Calculation

Name	Equation (WL1,...,WL6, Wt, V)	Unit
Caffeine	= WL1*0.05	mg/l

☐ Use Weight (Wt), Volume (V)

Weight	Volume	Unit

En la tarea Ratio/Equation (Relación/ecuación), por ejemplo, estos datos de la *longitud de onda utilizada* se procesan mediante una evaluación de la ecuación especificada. Esta operación adicional genera los resultados del cálculo. Estos valores de los resultados calculados se introducen en el contenedor de *resultados*.

Los resultados están disponibles en Sample/Results Table (Muestra/Tabla de resultados).

#	Name	Dilut. Factor	Caffeine(mg/L)	Abs<273nm>
1	Caffeine	1.00000	0.26527	0.53053

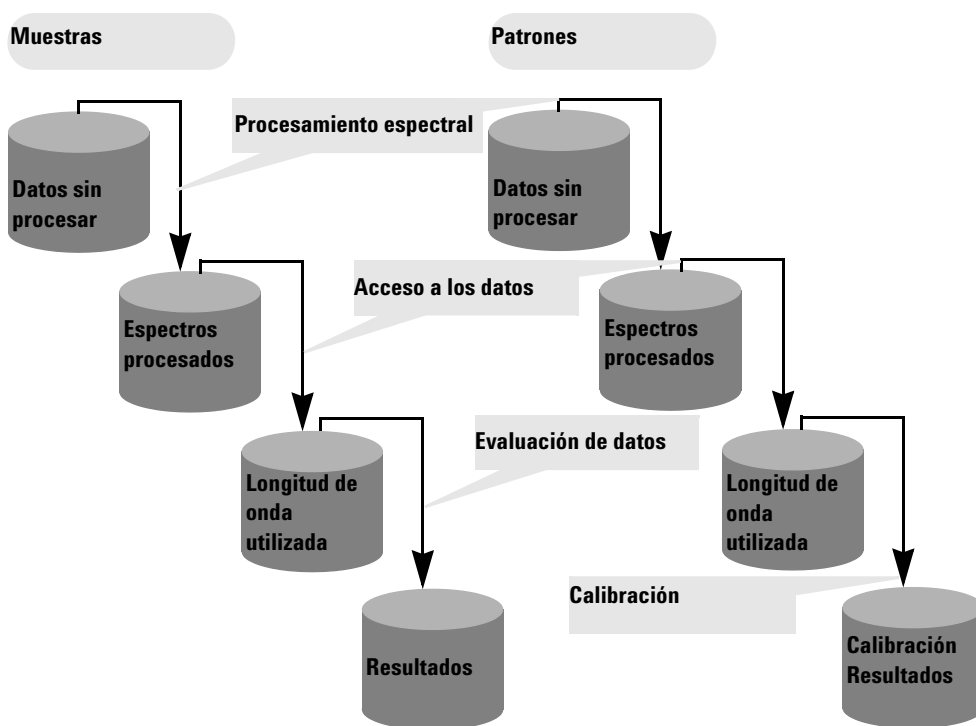
Resumen El procesamiento básico y generalizado de los datos está dividido en tres pasos.

- 1 proceso espectral
- 2 acceso a los datos
- 3 evaluación de los datos

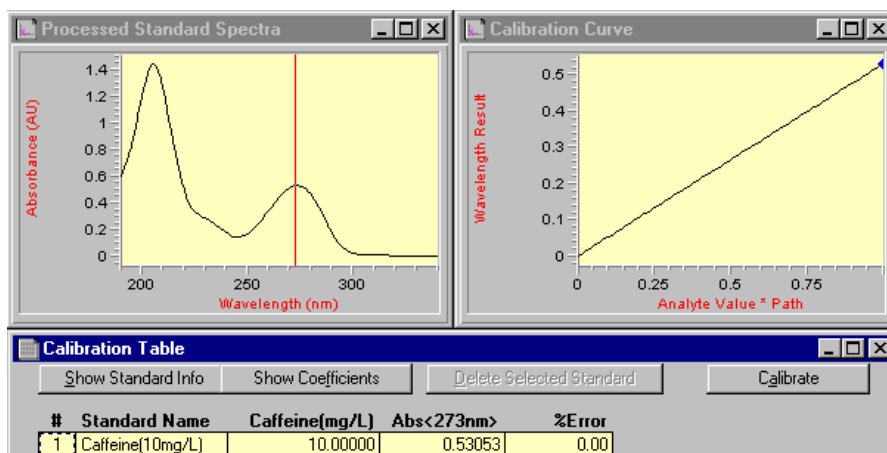
Estos pasos siempre se realizan en el orden anterior de manera idéntica para todos los espectros del contenedor de *datos sin procesar*. Los resultados se introducen en el contenedor de *resultados*. Se sustituye el contenido anterior de los contenedores de *espectros procesados*, *longitud de onda utilizada* y *resultados*.

Proceso con patrones

En la cuarta tarea, además de los datos de la muestra se utilizan patrones. Esto precisa una extensión del concepto anterior para manejar patrones. Se han implantado dos conjuntos independientes de contenedores, uno para patrones y otro para muestras. También se han duplicado todos los contenedores de proceso. Al igual que ocurre con el proceso de muestras únicamente, todos los pasos de la evaluación se llevan a cabo en paralelo tanto con las muestras como con los patrones.



En la cuantificación, la evaluación consiste ahora en una calibración mediante patrones. Los coeficientes se calculan en función de los valores del método y los patrones actuales contenidos en la memoria de Agilent ChemStation. Esto significa que los resultados se convierten en una función de un conjunto medido de patrones y de las concentraciones especificadas.



Estos coeficientes se utilizan entonces para calcular los resultados de la concentración para las muestras contenidas actualmente en la memoria. Los mismos pasos de proceso aplicados a los datos de la muestra y de los patrones proporcionan los resultados más precisos.

Ventajas

El concepto de un espectrofotómetro basado en una matriz de diodos, conjuntamente con una potente evaluación de datos basada en Agilent ChemStation, ofrece numerosas ventajas en comparación con los sistemas tradicionales de espectrofotometría. A continuación se describen brevemente algunas de estas ventajas desde un punto de vista práctico.

- Número prácticamente ilimitado de patrones

Gracias a este concepto de análisis de datos, los patrones se pueden medir antes o después de las muestras y, además del número mínimo de patrones necesarios, es posible utilizar tantos patrones como se desee con la calibración.

- Sencilla optimización

La disponibilidad de todos los datos sin procesar (muestras y patrones) permite optimizar fácilmente los valores del método eligiendo una longitud de onda de calibración diferente y volviendo a calibrar el sistema. Así es posible eliminar los errores de la calibración con sólo retirar este patrón del conjunto de datos estándar.

- Método calibrado

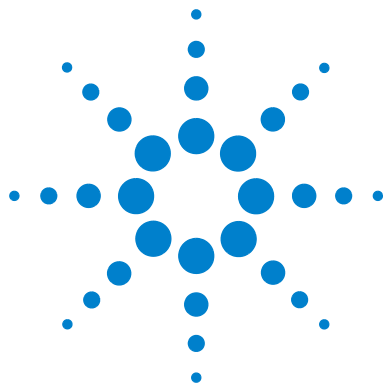
Cuando se guarda el método, los estándares que se encuentran en ese momento en la memoria siempre se guardan con el método. Después de cargar un método, se pueden analizar directamente las muestras.

- Optimización para una muestra concreta

Además, se pueden optimizar los valores de longitud de onda para una muestra situada fuera del rango lineal de la calibración real. Debido a la excelente reproducibilidad de longitudes de onda del espectrofotómetro, se puede cambiar a una longitud de onda con un coeficiente de extinción menor para permitir la realización de análisis precisos de este tipo de muestra.

- Resumen

La disponibilidad de datos espectrales sin procesar ofrece muchas oportunidades adicionales para optimizar la calibración y el análisis con el fin de obtener los mejores resultados. Esta optimización se puede realizar rápidamente con sólo definir nuevos parámetros para el método. Se obtienen respuestas casi al instante. El concepto de análisis de datos aplicado asegura la obtención de resultados uniformes y fiables.



2 Instalación y puesta en marcha

Resumen de la instalación del sistema de uso general UV-visible
Agilent 8453 36

Inicio de una sesión de medida 38

Este capítulo no sustituye a la información disponible en el manual *Instalación del Sistema de Espectroscopía UV-Visible*. Tiene como finalidad recordar los principales pasos de la instalación y puesta en marcha del sistema.



Resumen de la instalación del sistema de uso general UV-visible Agilent 8453

General

En el manual *Instalación del Sistema de Espectroscopía UV-Visible* se incluye una descripción detallada del sistema de uso general UV-visible Agilent 8453. El resumen contiene los principales pasos del procedimiento de instalación.

Espectrofotómetro

- ✓ Comprobar que la tarjeta JetDirect está instalada en el espectrofotómetro.
- ✓ Comprobar que el espectrofotómetro está conectado directamente al PC mediante un cable trenzado de LAN o a la red local mediante una conexión directa.

PRECAUCIÓN

No conectar el adaptador de LAN del PC a la interfase CAN del espectrofotómetro Agilent 8453, ya que de lo contrario el adaptador de LAN del PC sufrirá graves daños, debido a que la tensión de funcionamiento de la interfase CAN (12 V) es mayor que la tensión de funcionamiento del adaptador de LAN (5 V).

-
- ✓ Comprobar que el espectrofotómetro está conectado a una toma de corriente.

AVISO

Siempre se debe conectar el instrumento a una toma de corriente provista de toma de tierra. Utilizar siempre el cable de alimentación adecuado para el país en el que se utilice el instrumento.

- ✓ Antes de encender el espectrofotómetro, asegurarse de que el servidor Bootp CAG se está ejecutando en el PC o que el administrador de la red ha asignado una dirección IP al espectrofotómetro. Para obtener más detalles, véase el capítulo “Comunicación a través de la LAN, instalación, conexión y configuración” en el manual *Instalación del Sistema de Espectroscopía UV-Visible*.

PC

- ✓ Asegurarse de que todos los componentes del PC están conectados a la línea de alimentación.
- ✓ Comprobar que el software de uso general para espectroscopía UV-visible está instalado.
- ✓ Se debe configurar una impresora en el PC.
 - Ajustar el tamaño del papel (por ejemplo, Carta, A4).
 - Ajustar la orientación a Vertical
- ✓ El protocolo TCP/IP tiene que estar instalado y configurado en el PC.
- ✓ El espectrofotómetro debe estar configurado con su dirección IP.
- ✓ Si se conecta el espectrofotómetro directamente al PC, asegurarse de que la aplicación del servidor Bootp CAG está instalada y se inicia automáticamente cuando se enciende el PC. Si se conecta el espectrofotómetro a través de una LAN, asegurarse de que el administrador de la red ha asignado la dirección IP al espectrofotómetro.

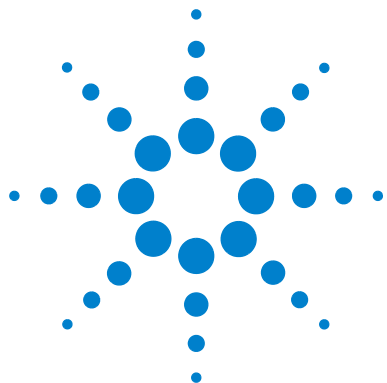
Inicio de una sesión de medida

Si se utiliza una conexión de red para el espectrofotómetro, es importante que el software reconozca el instrumento. Para ello es necesario asignar una dirección IP única cuando se encienda el espectrofotómetro. La asignación la realiza la aplicación del servidor Bootp CAG que se ejecuta en el PC conectado directamente al espectrofotómetro, o una aplicación de servidor de la LAN. Por consiguiente, es importante que cualquiera de estas dos aplicaciones se esté ejecutando antes de encender el espectrofotómetro.

- ✓ Encender el PC y arrancar el sistema operativo. Si una impresora está conectada al sistema, encender la impresora.
- ✓ Asegurarse de que el servidor Bootp CAG se está ejecutando, o que el usuario está conectado a la LAN.
- ✓ Encender el espectrofotómetro y esperar hasta que su piloto indicador se encienda en verde. Este proceso incluye la autoverificación del espectrofotómetro y dura aproximadamente un minuto. Para obtener más detalles acerca de la secuencia de puesta en marcha, véase el capítulo “Instalación y puesta en marcha” en el manual *Instalación del Sistema de Espectroscopía UV-Visible*.
- ✓ Iniciar la sesión de medida haciendo clic en el botón Inicio del sistema operativo y seleccionar Programas, HP UV-Visible ChemStations, spectrophotometer 1 online.
- ✓ Se puede empezar a utilizar el sistema en cuanto se apague el indicador de estado *ocupado* de color azul que aparece en la línea inferior de mensajes del sistema.
- ✓ La primera medida que se debe realizar es una medida de referencia. Después de esta alineación se podrá empezar a medir espectros y datos de absorbencia.

NOTA

Las lámparas tardan aproximadamente 15 minutos en alcanzar un estado estable. Para obtener resultados óptimos, no realizar medidas antes de que haya transcurrido este período de tiempo.



3 Prácticas de medida correctas

Consideraciones generales 40

Inserción de una celda 53

En este capítulo se describen los siguientes temas:

- realización de medidas
- selección de material, especificaciones ópticas y tipo de celda
- manipulación y mantenimiento de celdas
- lista de verificación para conseguir buenos resultados
- selección de disolventes
- preparación de la muestra
- utilización de filtros
- mezcla y control de la temperatura de la muestra
- cómo insertar celdas en el soporte



Consideraciones generales

Hay numerosos factores que pueden afectar a los resultados de las medidas. En este apartado se describen brevemente algunos de los más importantes.

Diseño del espectrofotómetro

El compartimento de muestras del espectrofotómetro Agilent 8453 está abierto. A diferencia de los instrumentos convencionales, el Agilent 8453 no se ve afectado por la luz ambiental falsa. La zona abierta para las muestras facilita el acceso y la conexión de tubos a una celda de flujo o a un soporte de celda provista de termostato.

Realización de medidas

Medida en blanco (referencia) y de muestra

El espectrofotómetro es un instrumento de un único haz, y por ello debe realizar una medida en blanco antes de poder medir una muestra. Para medidas de alta precisión, la medida en blanco y de la muestra deben realizarse con un intervalo de tiempo muy breve.

Por lo general, se debe repetir una medida en blanco tan a menudo como resulte práctico. Incluso en un entorno térmicamente estable, se debe realizar una medida en blanco cada media hora para asegurar que los resultados sean exactos.

Químicamente, la única diferencia entre la medida en blanco y la medida de la muestra debería ser la presencia de analitos. Para medidas con muestras líquidas, la medida en blanco debería utilizar una celda de muestra llena del disolvente que se tenga previsto usar.

Material de la celda de muestra

Son necesarias **celdas de muestra de cuarzo** o celdas de muestra con placas de cuarzo si se desea utilizar el rango completo de longitudes de onda del espectrofotómetro, que está comprendido entre 190 y 1.100 nm.

Si se tiene previsto trabajar únicamente en el rango visible y/o en el rango de ondas cortas del infrarrojo cercano entre 350 y 1.100 nm, podrán utilizarse celdas de vidrio de alta calidad.

También hay disponibles **celdas de muestra desechables de plástico** para medidas comprendidas en el rango de 400–1.100 nm. La calidad de estas celdas varía y, por lo general, no se recomienda su uso.

Especificaciones ópticas de las celdas

La precisión de las lecturas de un espectrofotómetro con matriz de diodos es muy sensible a los desplazamientos espaciales del haz luminoso del análisis. Las celdas con caras opuestas no paralelas, denominadas celdas en forma de cuña, provocan un desplazamiento espacial del haz luminoso (véase la [Figura 4](#)). Por consiguiente, las caras opuestas de la celda iluminadas por el haz luminoso de análisis tienen que ser paralelas. El paralelismo se mide en función del *ángulo entre las dos paredes opuestas de la celda*. Se recomienda utilizar celdas con una longitud de ruta de 10 mm y *un ángulo que sea inferior a 0,1 grados de un arco*.

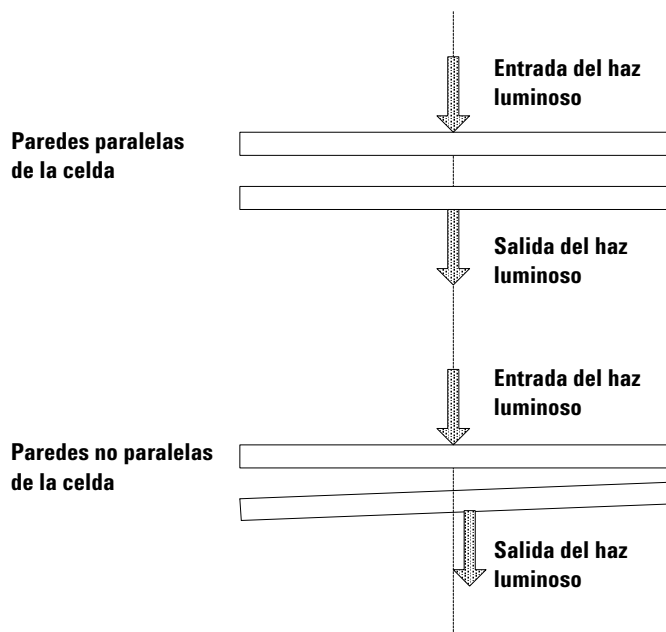


Figura 4 Desplazamiento del haz luminoso del espectrofotómetro debido a las paredes no paralelas de la celda

Celdas con abertura

En aplicaciones en las que el volumen de la muestra es limitado, se utilizan celdas *con abertura* o microceldas. La anchura de estas celdas es limitada para reducir a su vez el volumen, y la *parte en blanco de la celda debe ennegrecerse* para evitar la transmisión y reflexión no deseadas a través de las paredes laterales. Si no se ennegrecen las paredes laterales, el resultado será una precisión fotométrica deficiente y, si se miden concentraciones diferentes, una deficiente linealidad.

El inconveniente de las celdas con abertura y las microceldas es que se bloquea parte del haz luminoso. Parte de la luz queda bloqueada por la muestra, por lo que puede producirse una cierta pérdida de sensibilidad. En la [Figura 5](#) se muestran las celdas recomendadas y en la [Figura 6](#) se indican las celdas que no deben utilizarse con el instrumento.

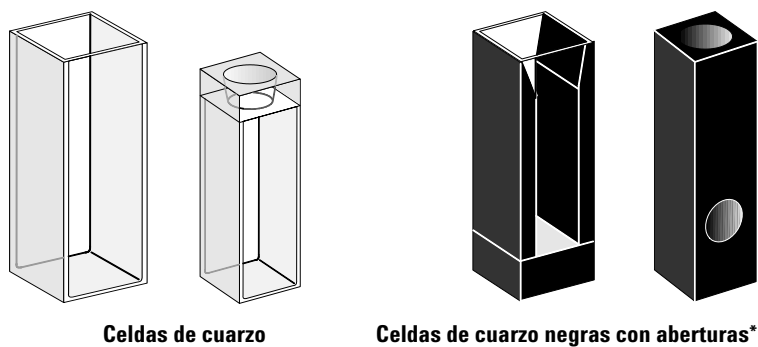


Figura 5 Celdas recomendadas

PRECAUCIÓN

* Cuando se utilizan con un mecanismo de transporte multicelda, las celdas de cuarzo negras con aberturas de menos de 2 mm pueden dar como resultado medidas con una reproducibilidad deficiente.

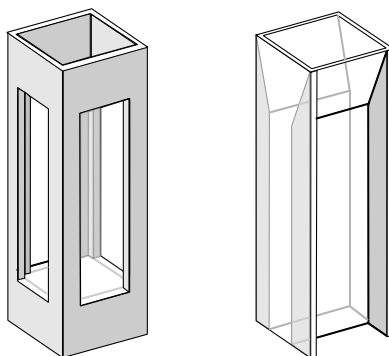


Figura 6 Celdas que no se deben utilizar con el instrumento

Celdas de flujo

Se recomienda utilizar un sistema de absorción con una celda de flujo para obtener medidas de alta precisión. El uso de una celda de flujo elimina la necesidad de trasladar la celda entre la medida en blanco y la medida de la muestra. Además, la celda se puede enjuagar a fondo con la solución que se desea medir.

El diseño de la celda de flujo debe reducir al mínimo la retención de burbujas y la *canalización* del flujo para aportar los resultados más fiables.

Manipulación y mantenimiento de celdas

Neutralización de celdas nuevas

Cuando se llena una celda no neutralizada con la muestra, se observa que burbujas de aire se adhieren a las ventanas de la celda. Para evitar la formación de burbujas adheridas, se debe enjuagar la celda con líquido de limpieza y neutralización (número de producto 5062-8529). El procedimiento de limpieza que debe seguirse se describe en la etiqueta del recipiente del líquido de limpieza.

Limpieza de celdas

La grasa de los dedos es muy absorbente en la región de los rayos UV y, si permanece en las superficies ópticas, puede provocar resultados erróneos. Limpiar todas las huellas de dedos y sustancias contaminantes antes de utilizar una celda de muestra.

Utilizar únicamente pañuelos de papel de alta calidad para lentes (número de producto 9300-0761) *y no secar nunca el interior de una celda con pañuelos de papel para lentes*. Secar el interior de la celda con aire a presión sin aceite, para evitar que se contamine la celda con partículas del pañuelo de papel, o bien enjuagar la celda con solución de la medida en blanco o de muestra. Las partículas flotantes en la celda desviarán el haz luminoso y provocarán una deficiente calidad del espectro medido.

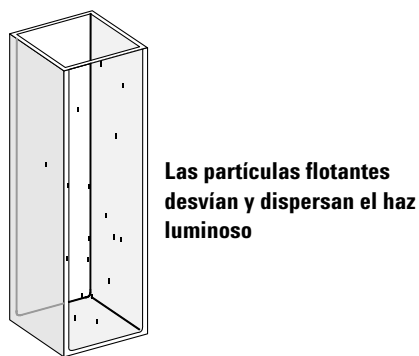


Figura 7 Partículas flotantes en una celda

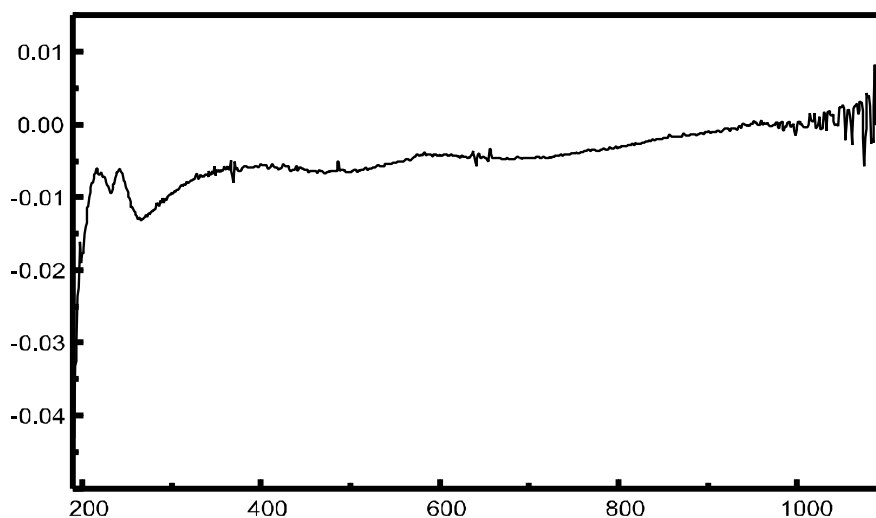


Figura 8 Espectro tomado con partículas flotantes en la trayectoria del haz luminoso

Los pañuelos de papel para cristal y otros usos contienen a menudo detergentes o lubricantes que pueden afectar a las medidas. Si es posible, evitar limpiar las caras de la celda entre las medidas en blanco y de la muestra.

Manipulación de celdas

Una celda se debe instalar siempre de modo que quede orientada en la misma dirección para reducir al mínimo los problemas de no uniformidad de la celda. Para obtener resultados óptimos con microceldas, dejar la celda de muestra fijada en posición durante la secuencia de medida. Las soluciones se deben retirar y sustituir mediante una pipeta, aunque también se pueden utilizar celdas de flujo.

PRECAUCIÓN

Si se utilizan pipetas Pasteur de vidrio, asegurarse de que la pipeta no toca ni raya las ventanas ópticas de la celda.

Disolventes

La elección del disolvente se debe basar principalmente en las características de absorbancia del disolvente a través de las longitudes de onda de interés, en su idoneidad como disolvente para el analito y en condiciones experimentales. En la [Tabla 1](#) se muestran disolventes utilizados habitualmente y el límite inferior de su rango útil de longitudes de onda.

Tabla 1 Límite inferior de transmisión UV para algunos disolventes utilizados habitualmente

Límite inferior	Disolvente
180–195 nm	Ácido sulfúrico (96%) Agua Acetonitrilo
200–210 nm	Ciclopentano n-Hexano Glicerol 2,2,4-Trimetilpentano Metanol
210–220 nm	Alcohol n-butílico Isopropanol Ciclohexano Éter etílico
245–260 nm	Cloroformo Acetato de etilo Formiato de metilo
265–275 nm	Tetracloruro de carbono Dimetil sulfóxido Dimetil formamida Ácido acético
280–290 nm	Benceno Tolueno m-Xileno
Por encima de 300 nm	Piridina Acetona Disulfuro de carbono

AVISO

Muchos de los disolventes indicados en la [Tabla 1](#) son peligrosos. Antes de utilizarlos es necesario comprender perfectamente sus propiedades.

Cuando se utilicen disolventes volátiles como la acetona o el cloruro de metileno, asegurarse de que la celda de muestra está taponada. La evaporación de un disolvente puede cambiar la concentración de la sustancia disuelta o provocar *ruido de solución* debido a las corrientes de convección de la sustancia disuelta. En ambos casos se verá afectada la precisión de las medidas. También se recomienda emplear los procesos de mezcla y control de temperatura cuando se utilicen disolventes volátiles.

Cuando se utilice agua como disolvente, se recomienda usar agua de calidad UV o HPLC para reducir la absorbancia no deseada de las impurezas del agua. Si se utiliza el sistema de absorción/muestreador, se deberá desgasificar el agua para evitar la formación de burbujas en la celda de flujo, especialmente si el agua proviene de una fuente de suministro a presión.

Preparación de la muestra

La celda de muestra se debe enjuagar de tres a cinco veces con el disolvente que se tenga previsto utilizar, antes de llenarla con el disolvente puro que se utilizará en la medida. Para eliminar el disolvente residual se puede colocar la celda boca abajo sobre una pequeña pila de pañuelos de papel absorbentes. Este tratamiento reducirá al mínimo la contaminación procedente de los experimentos anteriores.

Las muestras que contienen dispersiones coloidales, polvo u otras partículas deben filtrarse, centrifugarse o sedimentarse. De lo contrario, el espectro general de atenuación de transmisión debido a la dispersión y/o reflexión de la luz ocultará la información espectral del analito.

Muestras fotosensibles

Algunas sustancias son muy fotosensibles. Se degradan o experimentan reacciones fotoquímicas si quedan expuestas a la luz. Esto se puede comprobar fácilmente a través de la disminución de la capacidad de absorbancia de la muestra con el paso del tiempo.

Utilización de filtros

Cuanto más corta sea la longitud de onda, mayor será la probabilidad de que la luz UV de mayor energía degrade las muestras fotosensibles. Si surgiera algún problema, se podrían bloquear selectivamente partes del espectro de UV mediante un filtro de corte UV. Hay un conjunto de filtros ópticos de corte disponible para el espectrofotómetro. La longitud de onda de corte del filtro elegido debe ser suficientemente baja para no eliminar información espectral importante, pero suficientemente alta para bloquear la luz que pueda degradar la muestra. Si se usa un filtro con las muestras, deberá utilizarse el mismo filtro cuando se realice la medida en blanco.

Apagado de la lámpara de D₂

La radiación de longitud de onda corta que provoca la fotodegradación proviene de la luz de la lámpara de D₂. En aplicaciones en las que se toman lecturas a longitudes de onda superiores a 400 nm, es posible apagar la lámpara de D₂. La intensidad luminosa suministrada por la lámpara de wolframio es suficiente para obtener una buena relación señal-ruido a través del rango de longitudes de onda comprendido entre 400 y 1100 nm. Cuando se utilicen celdas con aberturas pequeñas, deberá comprobarse la relación señal-ruido mediante medidas de muestra bajo las condiciones de la aplicación en cuestión.

Mezcla y control de la temperatura

La homogeneidad de la solución puede plantear un problema, especialmente con soluciones viscosas. Habrá casos en los que, debido a los gradientes inducidos por la convección, los cambios rápidos de absorbencia puedan aportar datos irreproducibles. Estos cambios se pueden observar espectroscópicamente tomando medidas con tiempos de integración cortos. Para reducir al mínimo los efectos de la convección, la temperatura de la muestra se debe mantener al mismo nivel que la del soporte de la celda o a la

temperatura ambiente. Este tipo de problemas también se pueden paliar utilizando un soporte de celda provisto de termostato y/o un módulo de mezcla.

Un efecto similar puede ocurrir en caso de una mezcla incompleta. Esto es especialmente cierto cuando los pesos específicos o las miscibilidades del disolvente y el analito son muy diferentes. Una vez más, la mezcla ofrece una manera de evitar este tipo de problema.

En una celda que no se remueva, a veces es posible observar una fotodegradación local de los analitos sensibles. Puesto que el volumen real de la muestra en la trayectoria del haz luminoso es muy pequeño, al remover la muestra se reduce el tiempo durante el cual una molécula dada del analito permanece en la trayectoria del haz luminoso. De esta manera se reduce al mínimo la fotodegradación y se aumenta la homogeneidad. El uso de una celda de flujo con flujo continuo también produce resultados similares.

Lista de verificación para conseguir buenos resultados

Celda:

- ✓ La celda está fabricada de cuarzo o de cristal
- ✓ Las celdas con aberturas tienen lados negros
- ✓ Las celdas con aberturas tienen una abertura de, al menos, 3 mm
- ✓ Las ventanas de la celda están exentas de manchas de dedos y otras sustancias contaminantes
- ✓ Celda de flujo utilizada en lugar de una celda estándar con abertura

Medidas:

- ✓ La solución contenida en la celda está exenta de partículas flotantes
- ✓ En la celda y en las paredes de la celda, la solución está exenta de burbujas
- ✓ La solución está mezclada homogéneamente en la celda
- ✓ Medida en blanco realizada con el mismo disolvente utilizado para medir la muestra

- ✓ La medida en blanco muestra una línea base (en la [Figura 9](#) y la [Figura 10](#) en la página 52 se muestra una línea base aceptable y otra deficiente)
- ✓ La celda está orientada de la misma manera en las medidas en blanco y de la muestra
- ✓ Idealmente, la celda no se retira entre las medidas, por lo que la celda se llena/enjuaga mediante una pipeta, o se utiliza una celda de flujo
- ✓ El tiempo transcurrido entre las medidas en blanco y de la muestra debe ser corto

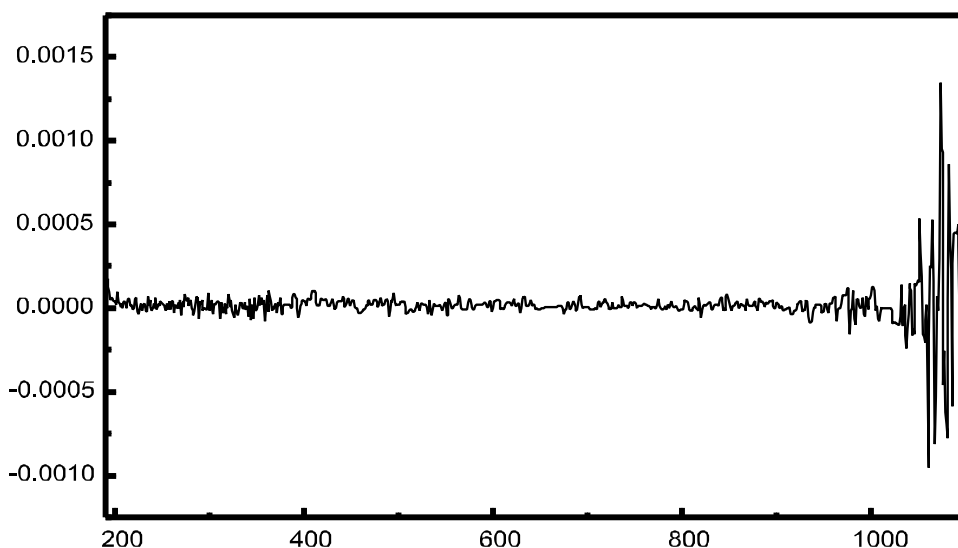


Figura 9 Ejemplo de una medida en blanco con agua, que muestra una buena línea base

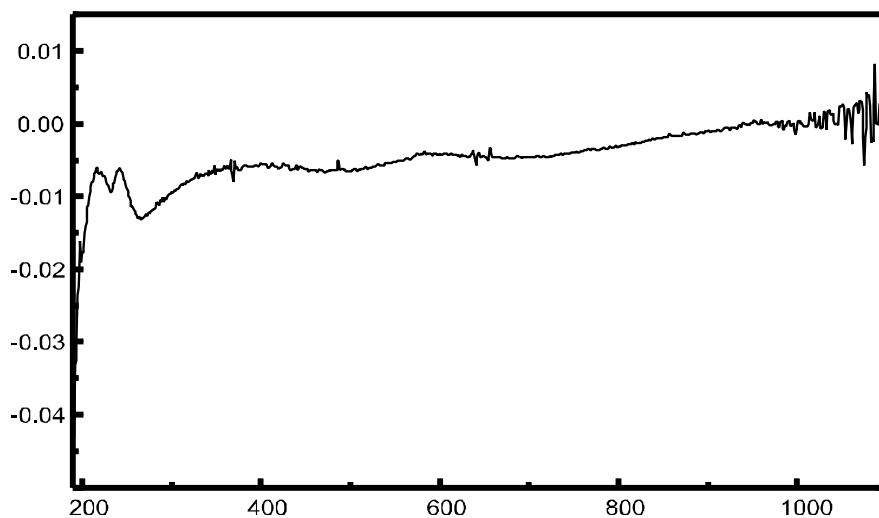


Figura 10 Ejemplo de una medida en blanco con agua con burbujas, que provocan una línea base deficiente

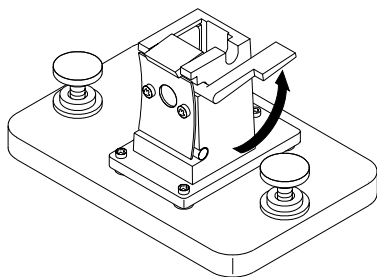
NOTA

Si la medida en blanco o los espectros muestran sustancias extrañas como la que aparece en la [Figura 10](#), véase el apartado "[Disolventes](#)" en la página 46 para optimizar el procedimiento de medida.

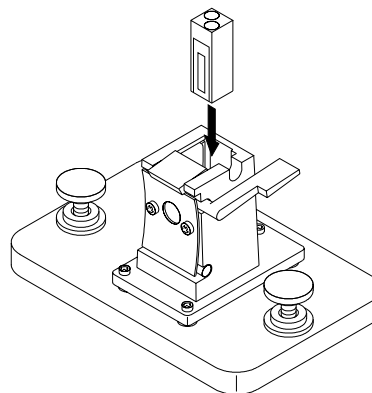
Inserción de una celda

El espectrofotómetro se suministra con el soporte estándar para una celda, que debe instalarse en primer lugar en el compartimento de la muestra. Este soporte admite celdas estándar o de flujo. Para insertar una celda de muestra en el soporte:

1 Mover la palanca de bloqueo hacia arriba.



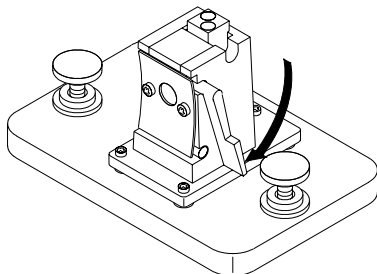
2 Insertar la celda de muestra, comprobando que queda orientada correctamente. Los lados esmerilados (no transparentes) de la celda de muestra *no deben* hallarse en la trayectoria del haz luminoso.



3 Prácticas de medida correctas

Inserción de una celda

3 Inmovilizar la celda de muestra empujando la palanca de bloqueo hacia abajo.



Las celdas de flujo de volumen reducido, y especialmente las celdas con una abertura inferior a 2 mm, pueden precisar el uso del soporte de celda ajustable opcional. El soporte de celda ajustable contribuye a asegurar que las celdas queden centradas correctamente en el recorrido del haz luminoso.



4

Utilización del Sistema de Espectroscopía UV-Visible Agilent 8453

Inicio de la primera sesión de medida	56
Inicio del software UV-visible	58
Medida de la absorbancia de la cafeína a 273 nm	59
Guardar los parámetros como un método	62
Recuperación e impresión de un método	64
Guardar y recuperar datos	67
Presentación preliminar de los informes	73
Determinación del máximo de absorbancia de la cafeína	76
Introducción del paso óptico de la celda	80
Control del sistema de succión	82
Utilización del mecanismo de transporte multicelda	84
Análisis cuantitativo utilizando una calibración con patrones	87
¿Cómo se puede determinar si el Agilent 8453 está funcionando correctamente?	95
¿Cómo se puede obtener una mayor comprensión de la espectroscopía UV-visible?	98
¿Cuándo es necesario realizar una medida en blanco?	100



Inicio de la primera sesión de medida

- 1 Asegurarse de que el sistema UV-visible Agilent 8453 se ha instalado correctamente.

Para obtener detalles de la instalación, véase el manual *Instalación del Sistema de Espectroscopía UV-Visible*.

- 2 Encender el PC, el monitor y la impresora.
- 3 Arrancar el sistema operativo del PC.

Comprobar que el servidor Bootp se está ejecutando en la barra de tareas del sistema, o verificar que el administrador de la red ha integrado el espectrofotómetro Agilent 8453 en la red local.



- 4 Encender el espectrofotómetro Agilent 8453.

Un servidor BootP en ejecución asignará la dirección IP configurada al espectrofotómetro. En la instalación estándar, esta tarea la realiza el servidor Bootp CAG.

- 5 Iniciar la sesión de medida seleccionando “Instrument 1 online” (Instrumento 1 en línea) en el menú.

El panel del instrumento mostrará el estado actual del espectrofotómetro y el botón Blank (En blanco) estará habilitado.

- 6 La primera tarea que se debe realizar es medir una referencia. Normalmente, la celda que contiene el disolvente utilizado con las muestras se coloca en la posición de medida y se realiza una medida en blanco. Para iniciar esta medida, hacer clic en el botón Blank (En blanco) del panel del instrumento, o pulsar el botón Blank (En blanco) del espectrofotómetro.

Una medida en blanco es una medida de referencia combinada con la medida de un espectro de línea base. Un espectro de línea base ofrece detalles adicionales sobre la absorbancia de las ventanas de la celda y el disolvente. Las áreas con elevado ruido indican indirectamente una alta absorbancia.

NOTA

Para medidas de alta precisión, esperar hasta que el espectrofotómetro y las lámparas hayan alcanzado el equilibrio térmico. El tiempo necesario dependerá de las condiciones ambientales. El espectrofotómetro debería estar preparado al cabo de 45 minutos.

- 7 La siguiente medida será la medida de la muestra. Para obtener los resultados más precisos, utilizar la misma celda en la misma orientación del haz de medida. Enjuagar la celda unas tres veces con la solución de la muestra e iniciar la medida haciendo clic en el botón Sample (Muestra) del panel del instrumento, o bien pulsando el botón Sample (Muestra) del espectrofotómetro.

NOTA

Para obtener detalles de la manera de montar la celda, véase "[Inserción de una celda](#)" en la página 53.

Inicio del software UV-visible

En esta sección se describe cómo iniciar una sesión de Agilent ChemStation en el PC. Si se desea realizar medidas, podrá iniciarse una sesión en línea, o bien se podrá iniciar una sesión fuera de línea para optimizar los parámetros analíticos de un método, volviendo a calcular los resultados o imprimiendo informes.

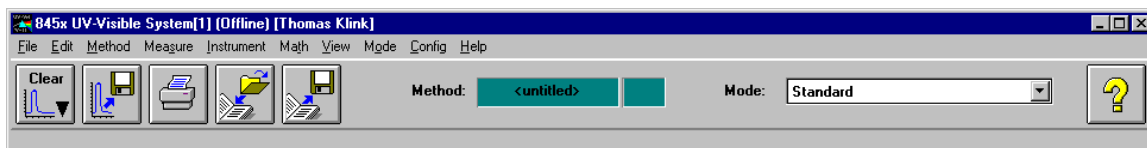
Se puede iniciar una única sesión en línea en el PC, pero se pueden iniciar varias sesiones fuera de línea en paralelo. Esto permite optimizar los valores del método mediante una comparación directa, en función de conjuntos idénticos de datos.

- 1** Encender el PC, el monitor y la impresora.
- 2** Arrancar el sistema operativo del PC
- 3** Iniciar la sesión de Agilent ChemStation seleccionando Instrument 1 online (Instrumento 1 en línea) para una sesión de medida, o Instrument 1 offline (Instrumento 1 fuera de línea) para optimizar el método y evaluar los datos.
- 4** Introducir el nombre del operador para iniciar la sesión de Agilent ChemStation. Si se ha protegido el nivel de administrador mediante una contraseña, deberá introducirse la contraseña correcta. El sistema mostrará la modalidad y el método utilizados por última vez.

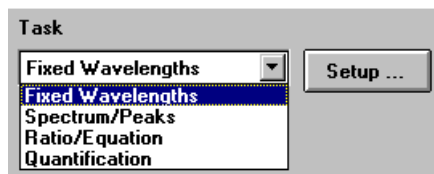
Medida de la absorbancia de la cafeína a 273 nm

En este apartado se describe cómo medir la muestra de cafeína que se suministró con el espectrofotómetro. La medida de esta muestra de cafeína también se utiliza para la confirmación de la instalación (IQ) del espectrofotómetro Agilent 8453.

- 1 Asegurarse de que el instrumento se encuentra en la modalidad Standard (Estándar). La modalidad aparece indicada en la barra de herramientas de la sesión de Agilent ChemStation.



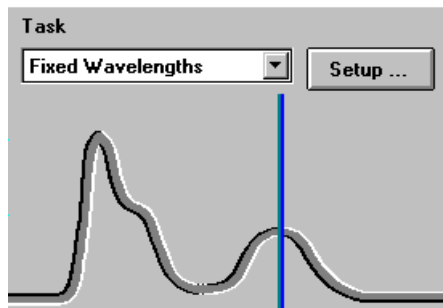
- 2 Seleccionar la tarea Fixed Wavelength (Longitud de onda fija) en el cuadro de selección del panel de análisis.



- 3 En el panel de análisis, hacer clic en Setup (Configuración) para abrir el cuadro de diálogo de parámetros.

4 Utilización del Sistema de Espectroscopia UV-Visible Agilent 8453

Medida de la absorbancia de la cafeína a 273 nm

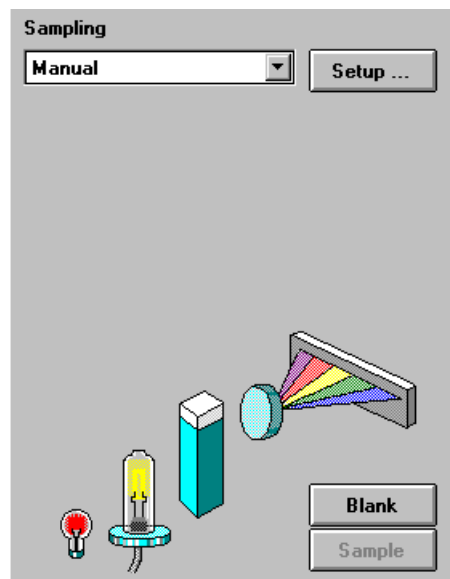


- 4 Introducir la longitud de onda de interés en la sección Wavelengths (Longitudes de onda) del cuadro de diálogo Fixed Wavelength(s) Parameters (Parámetros de longitudes de onda fijas). Ajustar la presentación espectral a un rango de longitudes de onda de 190 a 400 nm en la sección Display Spectrum (Mostrar espectro). Hacer clic en Aceptar para definir los parámetros.

The screenshot shows the 'Fixed Wavelength(s) Parameters' dialog box. It has a title bar with a close button. The 'Wavelengths' section contains a 'Use wavelength(s):' field with '273' entered, followed by five empty fields, and a 'Background correction:' dropdown set to 'none'. Below this is a checkbox for 'Prompt for sample information'. The 'Data type' section has a dropdown set to 'Absorbance'. The 'Display spectrum' section has 'From: 190 nm' and 'To: 340 nm' fields. At the bottom are 'OK' and 'Cancel' buttons.

- 5 Llenar con agua destilada la celda de cuarzo con una longitud de ruta de 1 cm. Levantar la palanca situada a la izquierda del soporte de celda. Colocar la celda en el soporte de celda y comprobar que las ventanas transparentes quedan orientadas hacia la parte delantera y posterior del espectrofotómetro. Empujar la palanca hacia abajo para asegurar la celda en el soporte.

- 6 Pulsar el botón Blank (En blanco) situado en la parte frontal del espectrofotómetro, o bien hacer clic en el botón Blank (En blanco) del panel del instrumento para iniciar la medida.



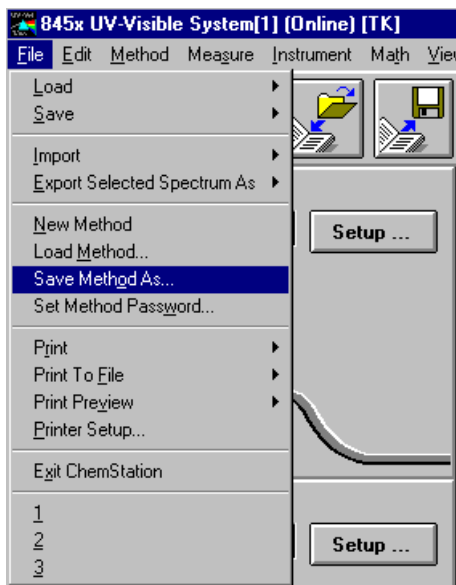
- 7 Debe recordarse la orientación de la celda en el soporte. Levantar la palanca para liberar la celda, retirarla y enjuagarla tres veces con aproximadamente 1 ml de la muestra de cafeína. A continuación, llenar la celda con aproximadamente 3 ml de la muestra de cafeína. Asegurarse de que las ventanas de la celda están limpias y volver a colocar la celda en la misma orientación que en la medida de referencia. Cerrar la palanca del soporte de celda.
- 8 Pulsar el botón Sample (Muestra) situado en la parte frontal del espectrofotómetro, o bien hacer clic en el botón Sample (Muestra) del panel del instrumento para iniciar la medida.
- 9 La vista representa el espectro de la muestra de cafeína con una línea vertical que indica la longitud de onda de interés. Debajo del espectro aparece Sample/Result Table (Muestra/Tabla de resultados), que indica una lectura de absorbancia de 273 nm.

Guardar los parámetros como un método

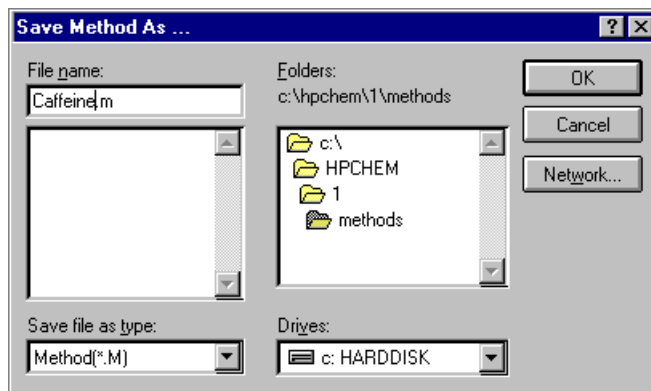
En esta sección se describe cómo guardar los valores para una sesión futura de Agilent ChemStation. Basta con cargar el método para que Agilent ChemStation se ajuste y repita la medida. Una biblioteca de métodos facilita el trabajo rutinario de laboratorio.

Supongamos que los valores actuales definen el método para que analice una muestra de cafeína. Para poder repetir este análisis, todos los parámetros definidos se pueden guardar permanentemente en disco. Esto permite cargar el método en el sistema o incluso transferirlo a un compañero que disponga de un sistema Agilent ChemStation.

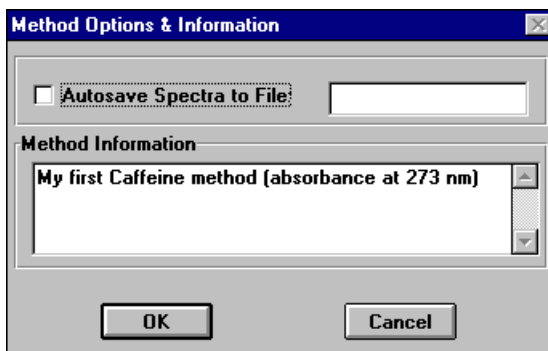
- 1 Elegir Save Method As... (Guardar método como...) en el menú File (Archivo) o hacer clic en el icono.



- 2 Aparecerá el cuadro de diálogo Save Method As... (Guardar método como...). Introducir el nombre del método en el campo File Name (Nombre del archivo), por ejemplo, Cafeína.m. Hacer clic en Aceptar para guardar el método.

**NOTA**

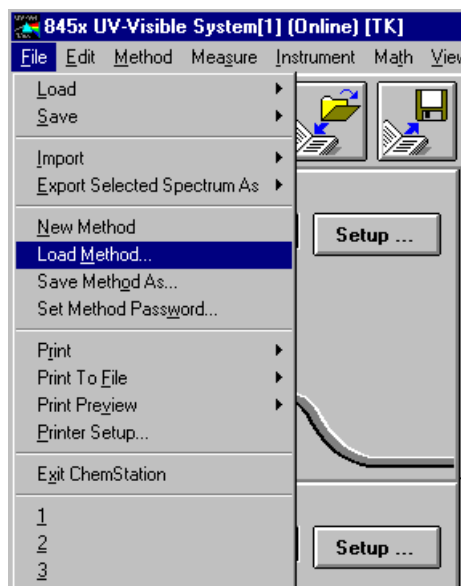
Si se generan muchos métodos, podrá utilizarse Options & Infos... (Opciones e información) en el menú Method (Método) con el fin de añadir texto para fines de documentación y simplificar el acceso al método. Aparecerá el cuadro de diálogo Options & Information (Opciones e información). En la sección Method Information (Información del método) se puede introducir un breve texto descriptivo que se convertirá en parte del método.



Recuperación e impresión de un método

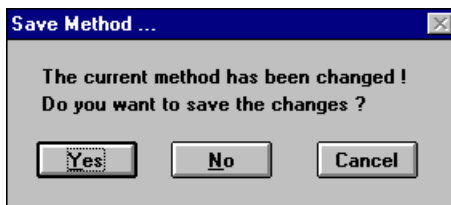
En este apartado se describe cómo acceder a un método e imprimir un informe del método.

- 1 Elegir Load Method... (Cargar método...) en el menú File (Archivo) o hacer clic en el icono en la barra de herramientas.

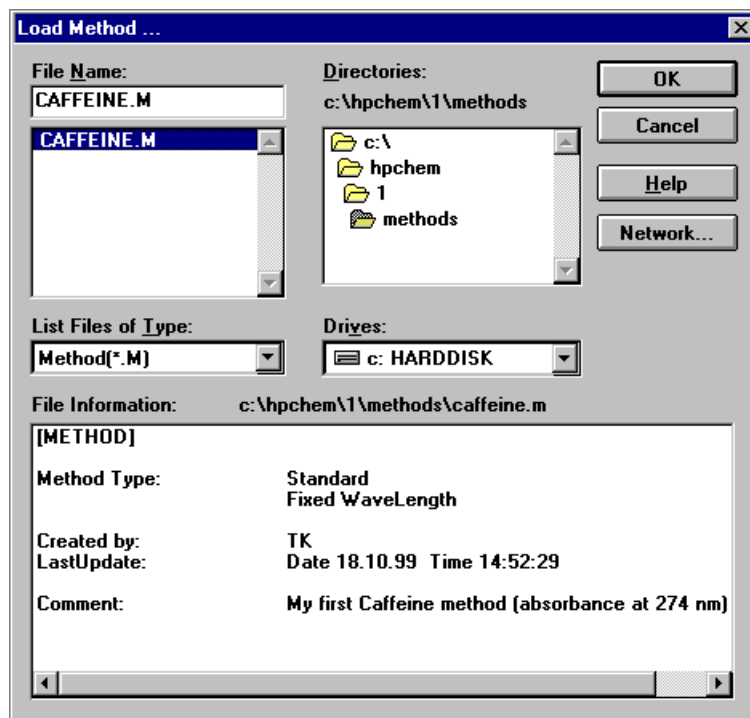


NOTA

Si se ha modificado el método actual, aparecerá un cuadro de diálogo preguntando si se desean guardar o no estos cambios.



- 2 Aparecerá el cuadro de diálogo Load Method... (Cargar método...). La información del método seleccionado aparecerá en la sección File Information (Información del archivo) del cuadro de diálogo.



- 3 Si se desea guardar este método, hacer clic en Aceptar.

NOTA

Cuando se cambia un parámetro del método actual, aparece una indicación en el campo de modificación de la barra de herramientas.

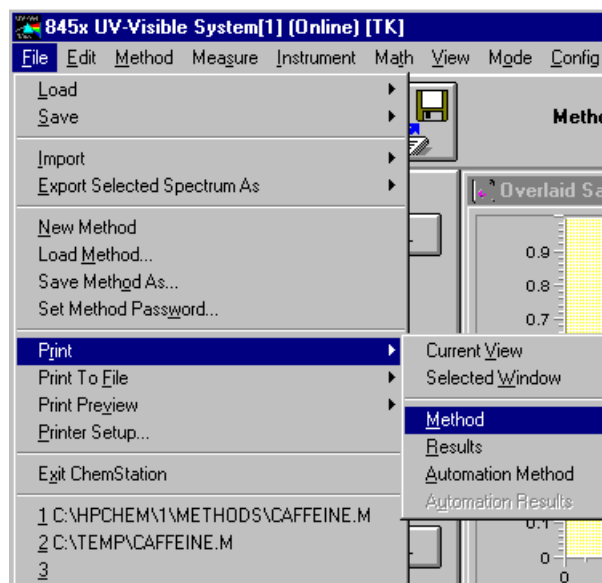


Aparece entonces el cuadro de diálogo de recordatorio mencionado anteriormente.

4 Utilización del Sistema de Espectroscopía UV-Visible Agilent 8453

Recuperación e impresión de un método

- 4 Para imprimir un método, elegir Print (Imprimir), Method (Método) en el menú File (Archivo).



NOTA

Para poder imprimir el informe del método, la impresora debe estar configurada correctamente y encontrarse en línea. Si la impresora no está en línea en ese momento, una alternativa es mostrar la presentación preliminar en la pantalla.

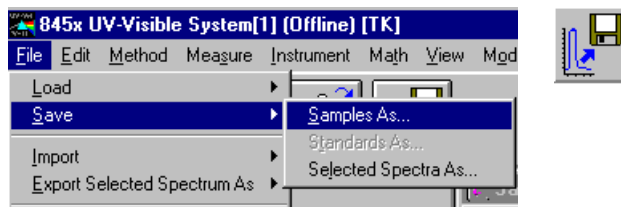
Guardar y recuperar datos

En este apartado se explica cómo guardar y recuperar datos medidos. Estos datos se pueden utilizar para archivar, para desarrollar métodos más adelante, o para intercambiarlos con otros sistemas Agilent ChemStation.

Agilent ChemStation ofrece la posibilidad de almacenar y recuperar los datos utilizando un formato de datos binario protegido mediante suma de verificación (extensión *.sd, *.std). Todos los espectros actuales (muestras o patrones) se pueden guardar en disco para almacenarlos permanentemente. Los datos se pueden guardar y cargar utilizando unidades de disco locales y de la red. Además, se puede seleccionar un único espectro para almacenarlo.

Guardar las muestras

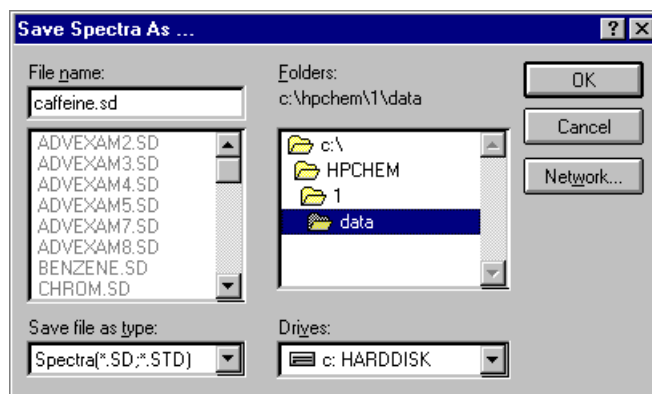
- 1 Elegir Save (Guardar), Samples As... (Muestras como...) en el menú File (Archivo) o hacer clic en el icono de la barra de herramientas.



- 2 Seleccionar uno de los archivos de datos existentes en el cuadro de selección File Name (Nombre del archivo) del cuadro de diálogo Save Spectra As... (Guardar espectros como...), o bien escribir un nombre de archivo válido en el cuadro de edición File Name (Nombre del archivo).

4 Utilización del Sistema de Espectroscopía UV-Visible Agilent 8453

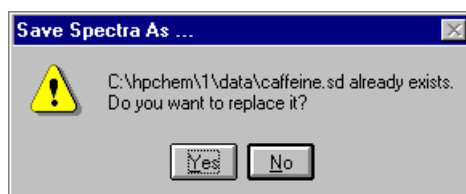
Guardar y recuperar datos



NOTA

Un nombre de archivo válido consta de ocho caracteres alfanuméricos y la extensión .sd o .std. Normalmente, la extensión .std se utiliza sólo para estándares.

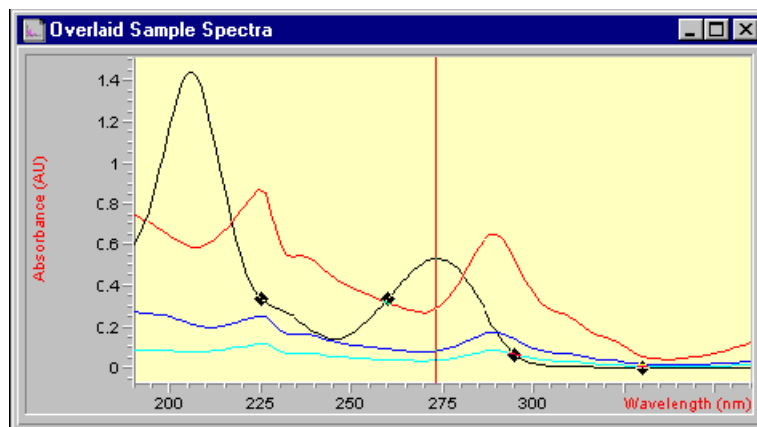
Si el nombre del archivo ya existe, aparecerá un cuadro de mensaje que permite interrumpir o continuar con la operación.



3 Hacer clic en Aceptar para iniciar la operación.

Guardar un espectro seleccionado

- 1 Seleccionar el espectro deseado en la ventana gráfica.



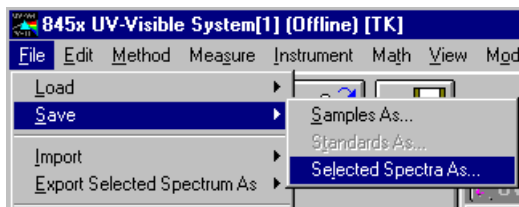
O bien en la ventana tabular Sample/Results Table (Muestra/Tabla de resultados).

Sample/Result Table				
Show Sample Info		Last Spectrum		Delete Selected Sample
				Analyze
#	Name	Dilut. Factor	Caffeine(mg/L)	Abs<273nm>
1	Caffeine	1.00000	0.26527	0.53053

- 2 Elegir Save (Guardar), Selected Spectra As... (Espectros seleccionados como...) en el menú File (Archivo).

4 Utilización del Sistema de Espectroscopía UV-Visible Agilent 8453

Guardar y recuperar datos

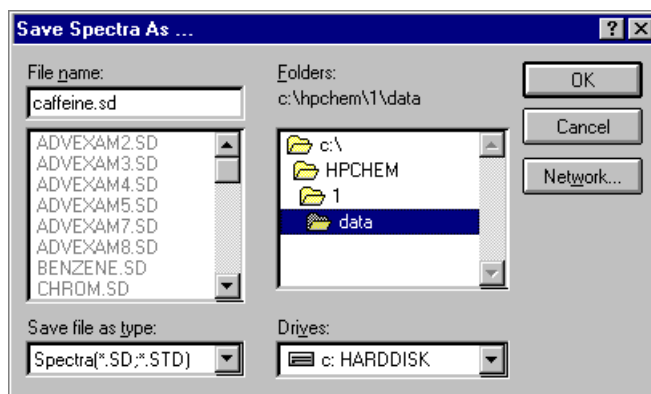


NOTA

En la línea de mensajes podrá aparecer el aviso “Select/activate a window!” (¡Seleccionar/activar una ventana!) si no se seleccionó la ventana Overlaid Sample Spectra (Espectros de muestra superpuestos) o la ventana Sample/Results Table (Muestra/Tabla de resultados).

Select/activate a window!

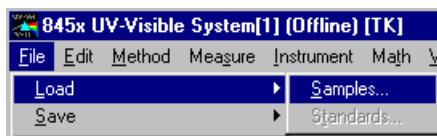
- 3 Seleccionar uno de los archivos de datos existentes en el cuadro de selección File Name (Nombre del archivo) del cuadro de diálogo Save Spectra As... (Guardar espectros como...), o bien introducir un nombre de archivo válido en el cuadro de edición File Name (Nombre del archivo).



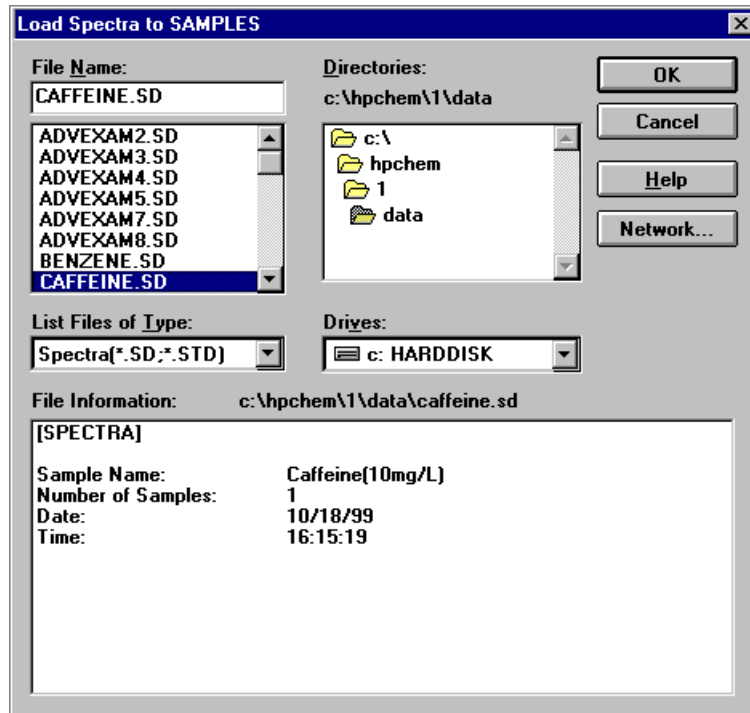
- 4 Hacer clic en Aceptar para iniciar la operación.

Recuperación de espectros

- 1 Elegir Load (Cargar), Samples... (Muestras...) en el menú File (Archivo).



- 2 Se selecciona el nombre del archivo en el cuadro de selección File Name (Nombre del archivo) del cuadro de diálogo Load Spectra to SAMPLES (Cargar espectros en MUESTRAS).



NOTA

Se puede examinar la información de los archivos moviendo la selección en el cuadro de selección de archivos. El contenido siempre se actualiza con la selección actual.

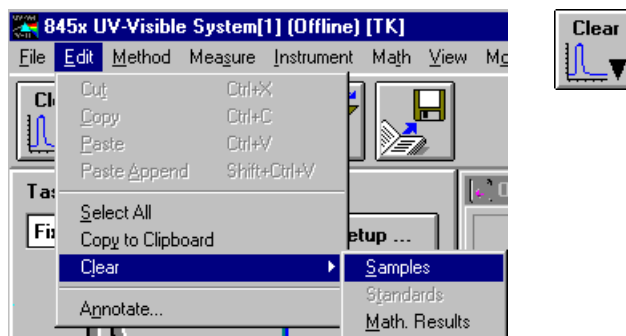
4 Utilización del Sistema de Espectroscopía UV-Visible Agilent 8453

Guardar y recuperar datos

- 3 Hacer clic en Aceptar para iniciar la operación. Los espectros disponibles con el archivo de datos se añaden a los archivos que se encuentran en ese momento en el contenedor de muestras de Agilent ChemStation.

Eliminación de los espectros actuales

- 1 Elegir Clear (Borrar), Samples (Muestras) en el menú Edit (Edición), o bien hacer clic en el icono de la barra de herramientas.



NOTA

Borrar, Estándares y Borrar, Matemáticos. Los resultados se pueden utilizar para eliminar los estándares actuales y los espectros de los resultados matemáticos actuales de la memoria de Agilent ChemStation.

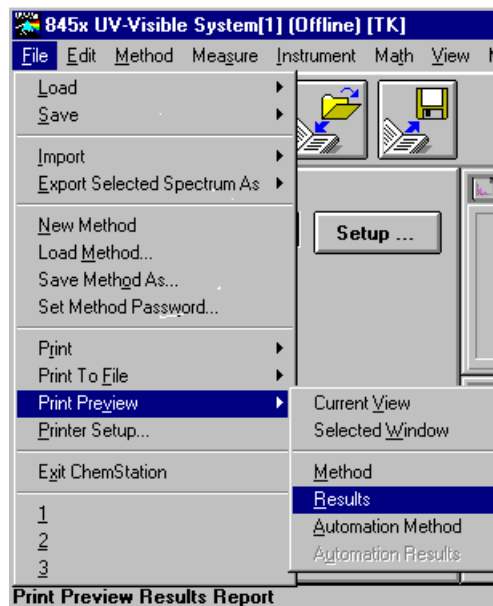
Presentación preliminar de los informes

La presentación preliminar permite examinar el informe en una ventana diferente de Agilent ChemStation, tal y como se imprimirá en la impresora configurada actualmente. En la ventana de presentación preliminar se pueden examinar todos los informes disponibles, página a página. También se puede verificar el número de páginas generadas y el formato de página. Asimismo, se puede imprimir el informe mostrado actualmente.

Presentación preliminar de un informe de resultados

La presentación preliminar funciona de manera similar para todos los tipos de informes disponibles. El ejemplo siguiente describe cómo mostrar la presentación preliminar del informe de resultados.

- 1 Elegir Print Preview (Presentación preliminar), Results (Resultados) en el menú File (Archivo).



4 Utilización del Sistema de Espectroscopía UV-Visible Agilent 8453

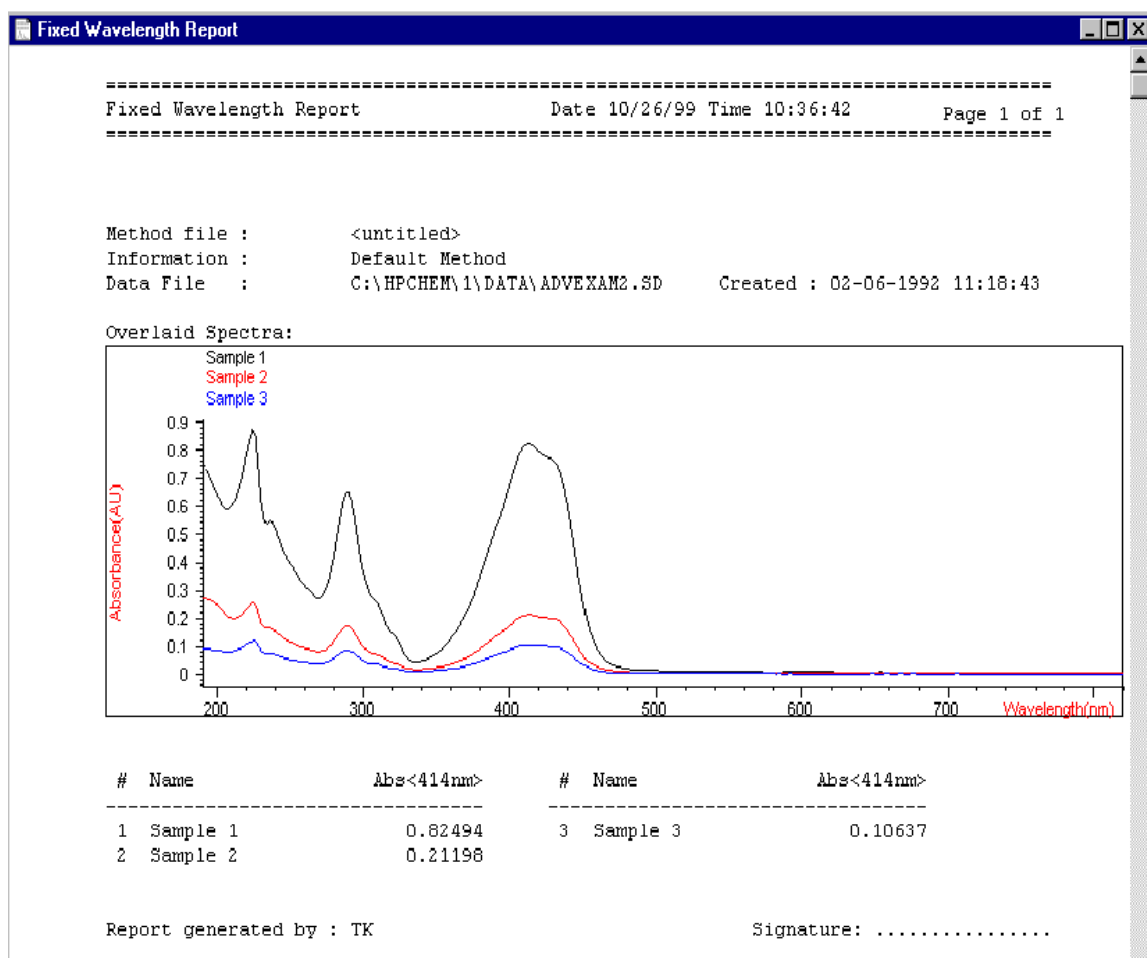
Presentación preliminar de los informes

NOTA

Para poder imprimir un informe de resultados es necesario que todos los parámetros estén definidos correctamente y que haya datos disponibles para la evaluación. Si no hay disponibles datos, podría aparecer el mensaje *No results present!* (*¡No hay resultados!*).

No results present !

2 El informe generado aparecerá en la ventana de presentación preliminar.



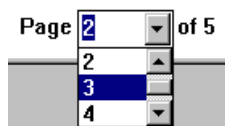
Esta ventana permite examinar el informe página a página. Hay disponibles barras de desplazamiento que permiten mostrar la página si no cabe en la ventana de presentación preliminar.

Además, se puede utilizar un tamaño diferente para mostrar la presentación preliminar. Hay disponibles tres tamaños en el cuadro de selección de tamaño. Dependiendo de la resolución de la pantalla, seleccionar la que mejor se ajuste a las necesidades.

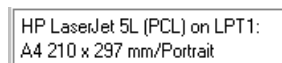


En la ventana de presentación preliminar están disponibles las siguientes funciones:

- Los botones Prev (Anterior) y Next (Siguiete) permiten examinar las páginas del informe.
- Un cuadro de selección permite saltar directamente a una página.



- El botón Print (Imprimir) envía el informe a la impresora que aparece en la esquina inferior izquierda de la ventana de presentación preliminar.

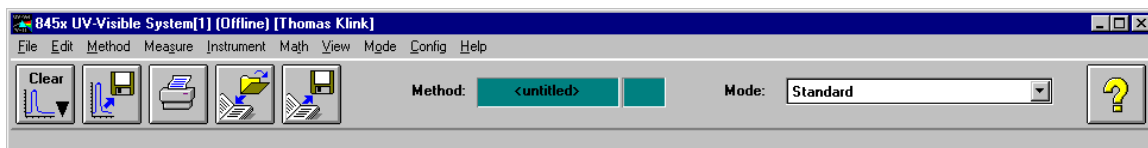


- El botón Close (Cerrar) cierra la ventana de presentación preliminar y desecha el informe mostrado.

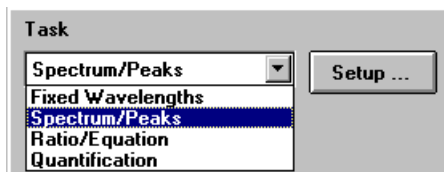
Determinación del máximo de absorbancia de la cafeína

En este apartado se describe cómo determinar el máximo de absorbancia de la muestra IQ de cafeína.

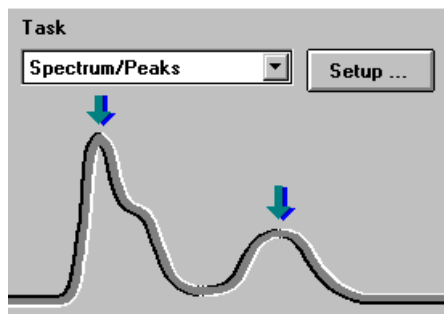
- 1 Asegurarse de que el instrumento se encuentra en la modalidad Standard (Estándar). La modalidad aparece indicada en la barra de herramientas de la sesión de Agilent ChemStation.



- 2 Seleccionar la tarea Spectrum/Peaks (Espectro/Picos) en el cuadro de selección del panel de análisis.



- 3 En el panel de análisis, utilizar el botón Setup (Configuración) para abrir el cuadro de diálogo de parámetros.



- 4 Escribir 2 para el número de picos que se desea localizar y desactivar la opción de localización de valle. Ajustar el tipo de datos a absorbancia y ajustar la presentación espectral a un rango de longitudes de onda comprendido entre 190 y 400 nm en la sección Display Spectrum (Mostrar espectro) del cuadro de diálogo. Hacer clic en Aceptar para definir los parámetros.

Spectrum/Peaks Parameters

Peak/Valley find

☒ Find and annotate up to peaks

☐ Find and annotate up to valleys

☐ Prompt for sample information

Data type:

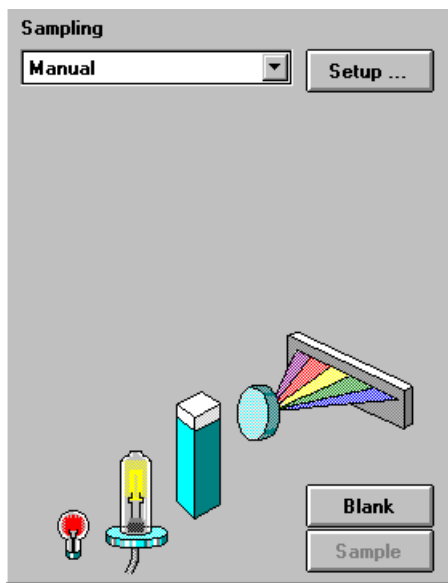
Display spectrum: From: nm To: nm

OK Cancel

4 Utilización del Sistema de Espectroscopía UV-Visible Agilent 8453

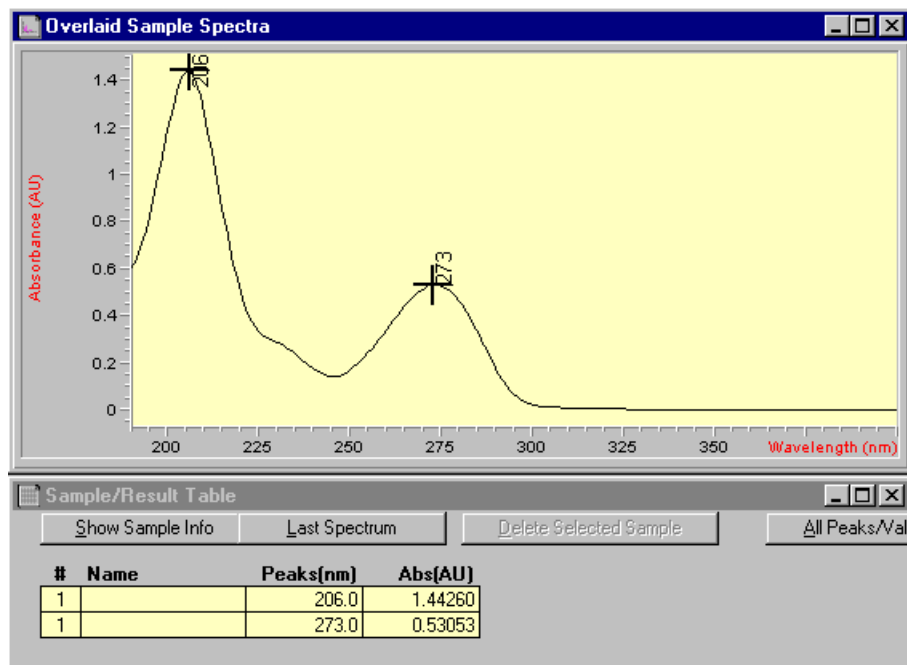
Determinación del máximo de absorbancia de la cafeína

- 5 Llenar con agua destilada la celda de cuarzo con una longitud de ruta de 1 cm. Levantar la palanca situada a la izquierda del soporte de celda. Colocar la celda en el soporte de celda y comprobar que las ventanas transparentes quedan orientadas hacia la parte delantera y posterior del espectrofotómetro. Empujar la palanca hacia abajo para asegurar la celda en el soporte.
- 6 Pulsar el botón Blank (En blanco) situado en la parte frontal del espectrofotómetro, o bien hacer clic en el botón Blank (En blanco) del panel del instrumento para iniciar la medida.



- 7 Debe recordarse la orientación de la celda en el soporte. Levantar la palanca para liberar la celda, retirarla y enjuagarla tres veces con aproximadamente 1 ml de la muestra de cafeína. A continuación, llenar la celda con aproximadamente 3 ml de la muestra de cafeína. Asegurarse de que las ventanas de la celda están limpias y volver a colocar la celda en la misma orientación que en la medida de referencia. Cerrar la palanca del soporte de celda.
- 8 Pulsar el botón Sample (Muestra) situado en la parte frontal del espectrofotómetro, o bien hacer clic en el botón Sample (Muestra) del panel del instrumento para iniciar la medida.

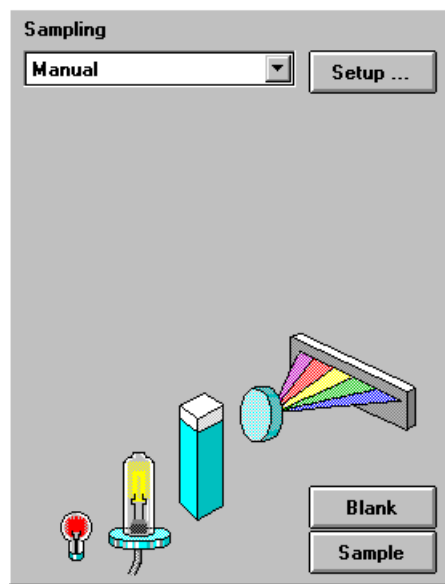
- 9 La vista representa el espectro de la muestra de cafeína. Se localizaron dos picos marcados y se anotaron con la longitud de onda. Debajo del gráfico del espectro, la sección Sample/Result Table (Muestra/Tabla de resultados) muestra la longitud de onda de los picos localizados y los valores de absorbancia medidos.



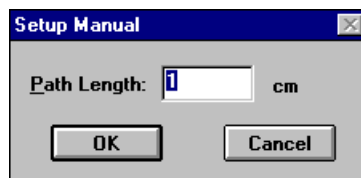
Introducción del paso óptico de la celda

Las celdas utilizadas para la medida se especifican con los parámetros del sistema de muestreo. En cálculos cuantitativos, estos parámetros se utilizan para calcular resultados. Debido a la libertad de elección del paso óptico de la celda, se debe indicar el valor correcto con el parámetro. Normalmente, esta información la facilita el proveedor de las celdas. El paso óptico se define de la siguiente manera en la modalidad manual de manipulación de celdas.

- 1 Hacer clic en Setup (Configuración) en el panel del instrumento.



- 2 Escribir el paso óptico, en cm, en el cuadro de diálogo Setup Manual (Configuración Manual).



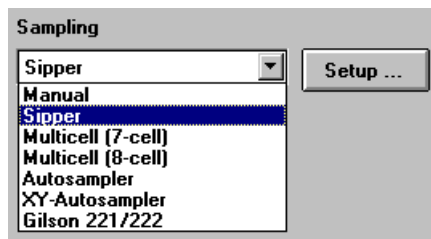
- 3 Hacer clic en Aceptar para definir el paso óptico especificado.

Control del sistema de succión

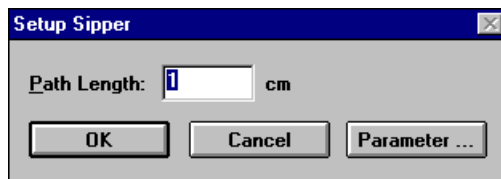
Un sistema de succión transfiere la muestra por medio de una bomba peristáltica a una celda de flujo para realizar la medida. Para controlar el funcionamiento del sistema de succión a través del software Agilent ChemStation, se debe ajustar el sistema de muestreo actual de forma que la muestra se introduzca a través del sistema de succión.

Además, y debido a la longitud del tubo, al volumen muerto de la celda de flujo y a la velocidad de flujo de la bomba, se deben ajustar los parámetros del sistema de succión. Para obtener detalles al respecto, véase el manual *Instalación y Manejo del Sistema de Succión*.

- 1 Seleccionar el sistema de succión en el cuadro de selección del panel del instrumento.



- 2 Hacer clic en Setup (Configuración) en el panel del instrumento. Escribir el paso óptico de la celda de flujo, en cm, y hacer clic en Aceptar.



- 3 Hacer clic nuevamente en Setup (Configuración) y abrir el cuadro de diálogo Sipper Parameter (Parámetros del sistema de succión) haciendo clic en Parameter (Parámetros). Los parámetros necesarios se pueden determinar utilizando la tarea Flow Test (Test de flujo) de la modalidad Verification and Diagnostics (Verificación y diagnósticos).

Pump	20	s	Pump Direction:	CW	
Wait Time:	3	s	Sample Return:	0	%
Wash Time:	0	s	Air Segment:	0	s

OK Cancel

- 4 En el cuadro de diálogo Sipper Parameter (Parámetros del sistema de succión), hacer clic en Aceptar y seguidamente hacer clic en Aceptar en el cuadro de diálogo Sipper (Sistema de succión) para definir los parámetros.

NOTA

Cada medida que se inicie haciendo clic en uno de los botones de medida del panel del instrumento o pulsando los botones del espectrofotómetro utilizará el sistema de succión para introducir la muestra. La introducción a través del sistema de succión también se utiliza en una secuencia automatizada.

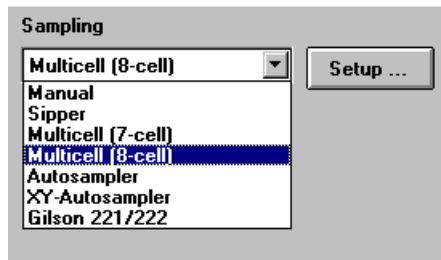
Utilización del mecanismo de transporte multicelda

El mecanismo de transporte multicelda es un cambiador de celdas que permite situar automáticamente un máximo de 8 celdas en la posición de medida. Se pueden utilizar celdas diferentes en cada posición de medida. El paso óptico se puede especificar individualmente para cada una de las posiciones de las celdas.

NOTA

Para obtener más detalles acerca del mecanismo de transporte multicelda, véase el manual *Instalación y Manejo del Mecanismo de Transporte Multicelda*.

- 1 Seleccionar Multicell (8-cell) (Multicelda (8 celdas)) en el cuadro de selección del panel del instrumento.



- 2 Hacer clic en Setup (Configuración) en el panel del instrumento. Escribir los pasos ópticos de todas las celdas utilizadas, en cm, y hacer clic en Aceptar.

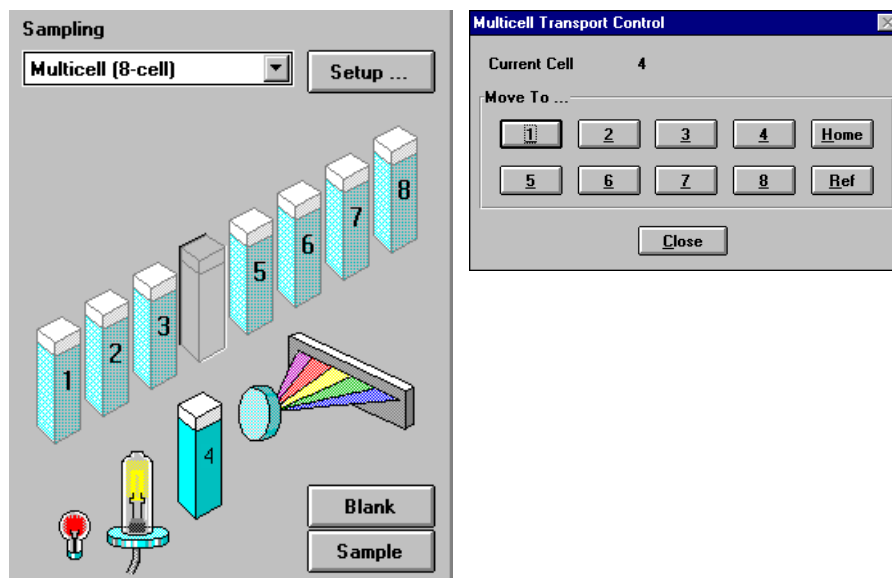
Cell	Path Length
1	1 cm
2	1 cm
3	1 cm
4	1 cm
5	1 cm
6	1 cm
7	1 cm
8	1 cm

OK Cancel

- 3 Para mover la celda a la posición de medida con el fin de realizar la siguiente medida, hacer clic en la celda en el panel del instrumento, o bien elegir Multicell Transport Position (Posición del mecanismo de transporte multicelda) en el menú Spectrophotometer (Espectrofotómetro) para mostrar el cuadro de diálogo Multicell Transport Control (Control del mecanismo de transporte multicelda). En el cuadro de diálogo Multicell Transport Control (Control del mecanismo de transporte multicelda) se puede hacer clic en uno de los botones de posición para mover el mecanismo de transporte multicelda.

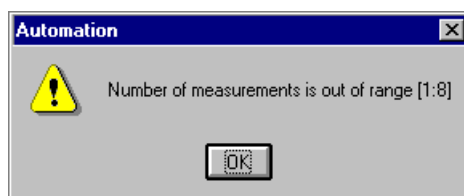
4 Utilización del Sistema de Espectroscopía UV-Visible Agilent 8453

Utilización del mecanismo de transporte multicelda



NOTA

En una secuencia automatizada se puede utilizar el mecanismo de transporte multicelda para introducir la muestra automáticamente. Se puede introducir un máximo de 8 muestras. Si se especifican más de 8 medidas, aparecerá el aviso:



También se puede controlar un mecanismo de transporte multicelda existente de 7 posiciones. Las principales diferencias son que no hay una posición de referencia independiente y se dispone de una posición de celda menos.

Análisis cuantitativo utilizando una calibración con patrones

La tarea de análisis cuantitativo está basada en una calibración con patrones. Después de realizarse satisfactoriamente una calibración, los patrones medidos se pueden convertir en parte del método. Este método se puede utilizar directamente para realizar análisis cuantitativos de muestras.

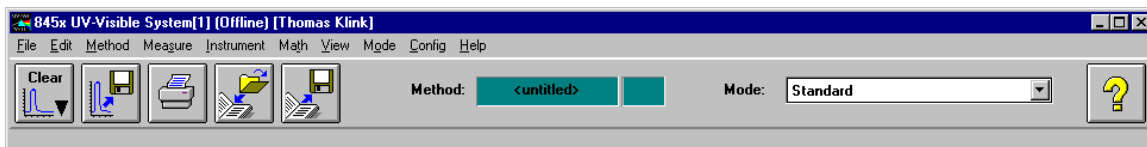
Después de configurar el método se podrán analizar muestras calibradas. Hay disponibles varias vistas tanto de los patrones y la calibración como de las muestras y los resultados.

A modo de introducción rápida, se describe una calibración utilizando la ley de Beer con un único patrón y el análisis de una muestra. Asimismo, la única limitación en cuanto al número de muestras y patrones es la capacidad de memoria de Agilent ChemStation.

Para este experimento práctico se utilizará la muestra IQ de cafeína como patrón y una dilución de 1:1 con agua destilada como muestra. Para la calibración se utilizarán datos de absorbancia a 273 nm.

Configuración

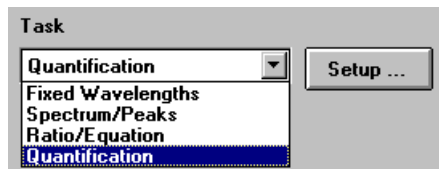
- 1 Asegurarse de que el instrumento se encuentra en la modalidad Standard (Estándar). La modalidad aparece indicada en la barra de herramientas de la sesión de Agilent ChemStation.



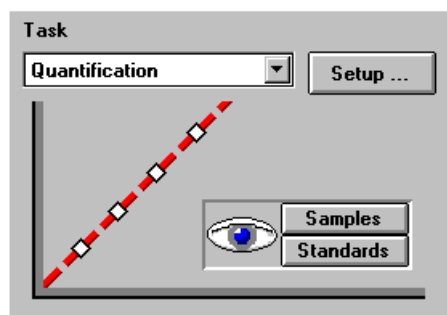
- 2 Seleccionar la tarea Quantification (Cuantificación) en el cuadro de selección del panel de análisis.

4 Utilización del Sistema de Espectroscopía UV-Visible Agilent 8453

Análisis cuantitativo utilizando una calibración con patrones



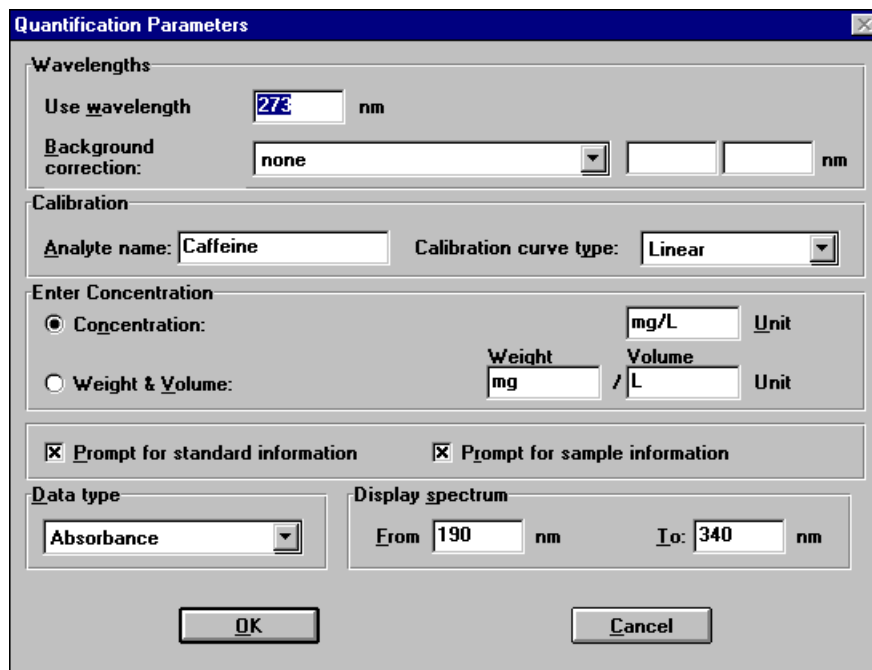
- 3 Aparecerá un nuevo panel de tarea y se abrirá automáticamente el cuadro de diálogo Quantification Parameters (Parámetros de cuantificación).



NOTA

Si ya está seleccionada la tarea Quantification (Cuantificación), utilizar la opción Setup (Configuración) del panel de análisis para abrir el cuadro de diálogo de parámetros.

- 4 Configurar la longitud de onda del análisis a 273 nm (Use wavelength) (Utilizar longitud de onda), introducir Cafeína como nombre del analito (Analyte), definir el tipo de curva de calibración como Linear (Lineal), seleccionar la entrada Concentration (Concentración) y utilizar mg/l como Unit (Unidad). Comprobar la indicación de la información de patrones y la indicación de información de muestras. Seleccionar Absorbance (Absorbancia) como tipo de datos y definir Display Spectrum (Mostrar espectro) desde 190 nm hasta 340 nm.



The image shows a 'Quantification Parameters' dialog box with the following sections and controls:

- Wavelengths:**
 - 'Use wavelength' is set to 273 nm.
 - 'Background correction' is set to 'none'.
- Calibration:**
 - 'Analyte name' is 'Caffeine'.
 - 'Calibration curve type' is 'Linear'.
- Enter Concentration:**
 - 'Concentration' is selected with a radio button, with 'mg/L' and 'Unit' fields.
 - 'Weight & Volume' is unselected, with 'mg' and 'L' fields.
- Prompt options:**
 - 'Prompt for standard information' is checked.
 - 'Prompt for sample information' is checked.
- Data type:**
 - 'Absorbance' is selected in the dropdown.
- Display spectrum:**
 - 'From' is 190 nm and 'To' is 340 nm.
- Buttons:** 'OK' and 'Cancel' are at the bottom.

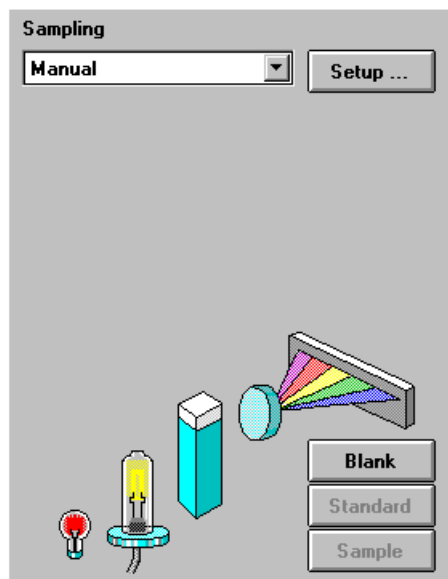
- 5 Hacer clic en Aceptar para definir los parámetros.

NOTA

Ya se pueden realizar las medidas.

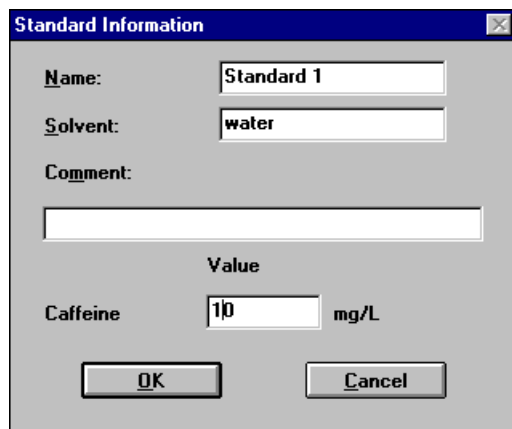
Calibración

- 1 Llenar con agua destilada la celda de cuarzo con una longitud de ruta de 1 cm. Levantar la palanca situada a la izquierda del soporte de celda. Colocar la celda en el soporte de celda y comprobar que las ventanas transparentes quedan orientadas hacia la parte delantera y posterior del espectrofotómetro. Empujar la palanca hacia abajo para asegurar la celda en el soporte.
- 2 Pulsar el botón Blank (En blanco) situado en la parte frontal del espectrofotómetro, o bien hacer clic en el botón Blank (En blanco) del panel del instrumento para iniciar la medida.



- 3 Debe recordarse la orientación de la celda en el soporte. Levantar la palanca para liberar la celda, retirarla y enjuagarla tres veces con aproximadamente 1 ml de la muestra de cafeína. A continuación, llenar la celda con aproximadamente 3 ml de la muestra de cafeína. Asegurarse de que las ventanas de la celda están limpias y volver a colocar la celda en la misma orientación que en la medida de referencia. Cerrar la palanca del soporte de celda.

- 4 Pulsar el botón Standard (Patrón) situado en la parte frontal del espectrofotómetro, o bien hacer clic en el botón Standard (Patrón) del panel del instrumento para iniciar la medida.



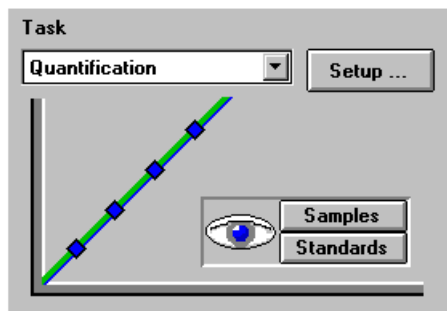
A screenshot of a software dialog box titled "Standard Information". The dialog has a blue title bar with a close button. It contains several input fields: "Name:" with the text "Standard 1", "Solvent:" with the text "water", and "Comment:" with an empty text area. Below these is a section labeled "Value" containing a table with one row: "Caffeine" in the first column, "10" in the second column, and "mg/L" in the third column. At the bottom are "OK" and "Cancel" buttons.

Value		
Caffeine	10	mg/L

- 5 Introducir la información del patrón en el cuadro de diálogo Standard Información (Información del patrón) y hacer clic en Aceptar.
- 6 El software Agilent ChemStation calibrará y mostrará automáticamente los resultados de la calibración. Después de realizarse satisfactoriamente la calibración, la curva de calibración del panel de tarea aparece en verde. Esto indica que el método está preparado para el análisis.

4 Utilización del Sistema de Espectroscopía UV-Visible Agilent 8453

Análisis cuantitativo utilizando una calibración con patrones



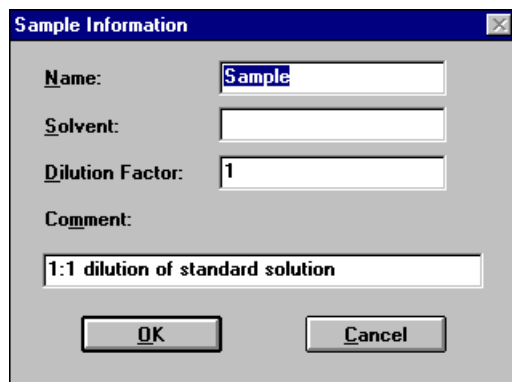
NOTA

Los botones Samples (Muestras) y Standards (Patrones) del panel de tarea se pueden utilizar para cambiar la vista actual a la vista de muestras o de patrones.

Llegado este punto también se puede guardar el método para utilizarlo en el futuro. Véase ["Guardar los parámetros como un método"](#) en la página 62 para obtener más información al respecto.

Análisis

- 1 Debe recordarse la orientación de la celda en el soporte. Levantar la palanca para liberar la celda, retirarla y enjuagarla tres veces con aproximadamente 1 ml de la muestra de cafeína (dilución de 1:1 con agua destilada). A continuación, llenar la celda con aproximadamente 3 ml de la muestra de cafeína. Asegurarse de que las ventanas de la celda están limpias y volver a colocar la celda en la misma orientación que en la medida del patrón. Cerrar la palanca del soporte de celda.
- 2 Pulsar el botón Sample (Muestra) situado en la parte frontal del espectrofotómetro, o bien hacer clic en el botón Sample (Muestra) del panel del instrumento para iniciar la medida.



The image shows a 'Sample Information' dialog box with a blue title bar and a close button. It contains four input fields: 'Name' with the text 'Sample', 'Solvent' which is empty, 'Dilution Factor' with the value '1', and 'Comment' with the text '1:1 dilution of standard solution'. At the bottom are 'OK' and 'Cancel' buttons.

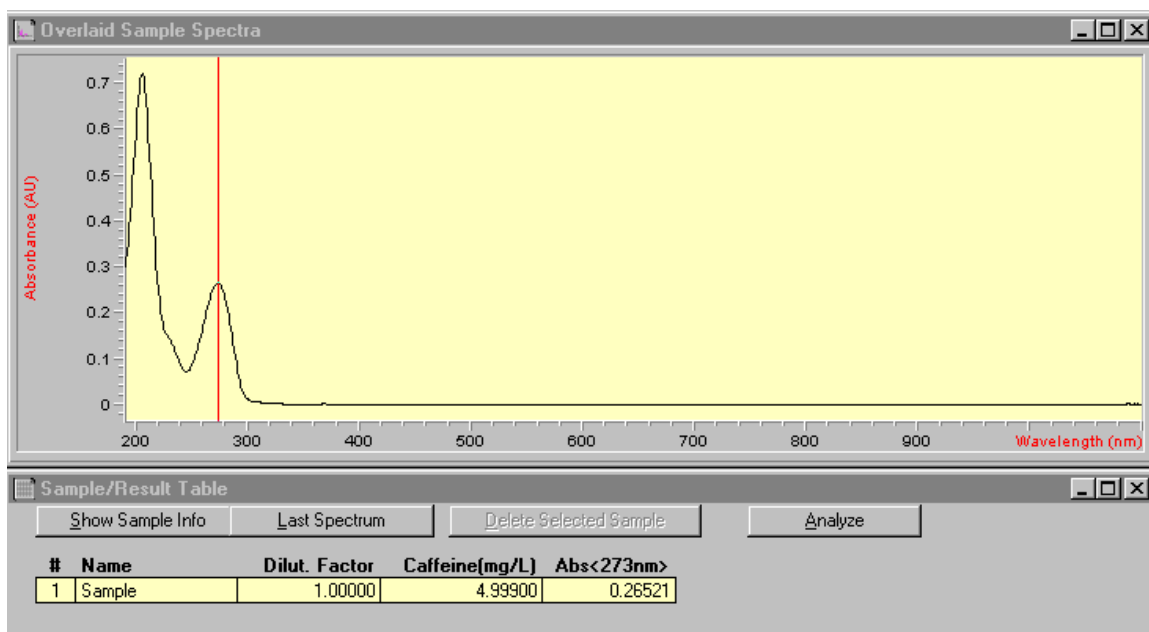
Name:	Sample
Solvent:	
Dilution Factor:	1
Comment:	1:1 dilution of standard solution

OK Cancel

- 3 Introducir la información de la muestra en el cuadro de diálogo Sample Información (Información de la muestra) y hacer clic en Aceptar. La vista cambiará a las muestras, y los resultados cuantitativos aparecerán en Sample/Result Table (Muestra/Tabla de resultados).

4 Utilización del Sistema de Espectroscopía UV-Visible Agilent 8453

Análisis cuantitativo utilizando una calibración con patrones



NOTA

Para guardar los datos con el fin de poder utilizarlos en el futuro o para fines de documentación, véase ["Guardar y recuperar datos"](#) en la página 67 para obtener más información.

¿Cómo se puede determinar si el Agilent 8453 está funcionando correctamente?

La calidad de los datos de las medidas dependen del rendimiento del espectrofotómetro. Para realizar una verificación completa del rendimiento se necesitan patrones externos. Estos procedimientos se describen en el manual *Cualificación de la Operación / Verificación del Rendimiento de los Sistemas de Espectroscopía UV-Visible Agilent 8453*.

Se puede realizar una comprobación rápida sin necesidad de utilizar patrones mediante la autoverificación de la modalidad Verification and Diagnostics (Verificación y diagnósticos). Este test se puede realizar siempre después de poner en marcha el espectrofotómetro.

Autoverificación del Agilent 8453

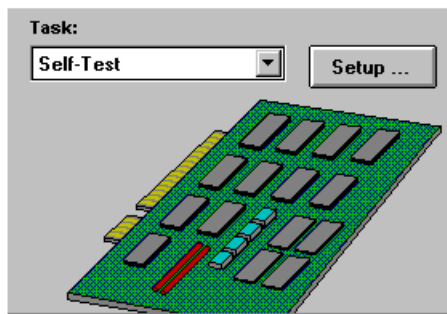
- 1 Asegurarse de que el instrumento se encuentra en la modalidad Verification and Diagnostics (Verificación y diagnósticos). La modalidad aparece indicada en la barra de herramientas de la sesión de Agilent ChemStation.



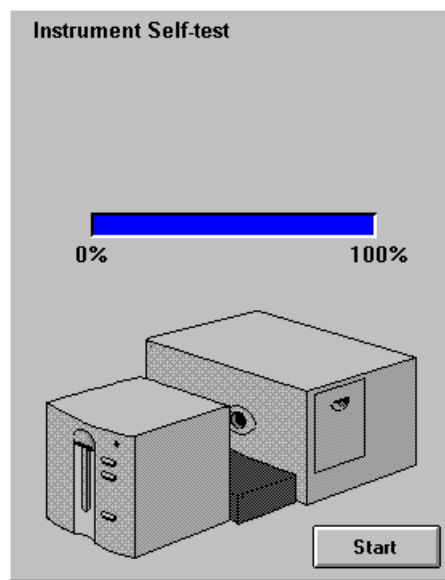
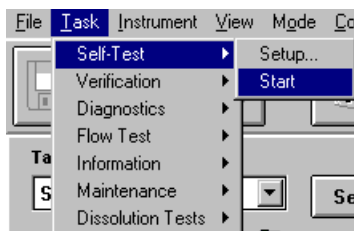
- 2 Seleccionar la tarea Self-Test (Autoverificación) en el cuadro de selección del panel de análisis.

4 Utilización del Sistema de Espectroscopía UV-Visible Agilent 8453

¿Cómo se puede determinar si el Agilent 8453 está funcionando correctamente?

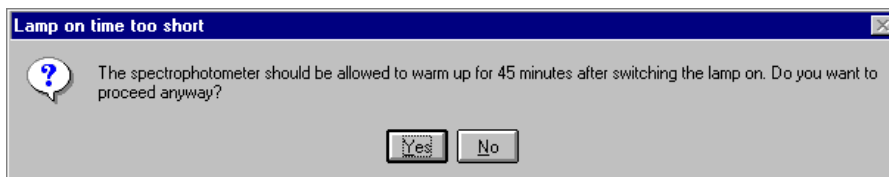


- 3 Elegir Self-Test (Autoverificación), Start (Inicio) en el menú Task (Tarea), o bien hacer clic en Start (Inicio) para iniciar la autoverificación.



NOTA

El espectrofotómetro debe hallarse en un estado de funcionamiento estable antes de iniciarse el test. Si no es así, podrá aparecer un mensaje de aviso.



- 4 Los resultados de la autoverificación se muestran con criterios de superado/fallido.

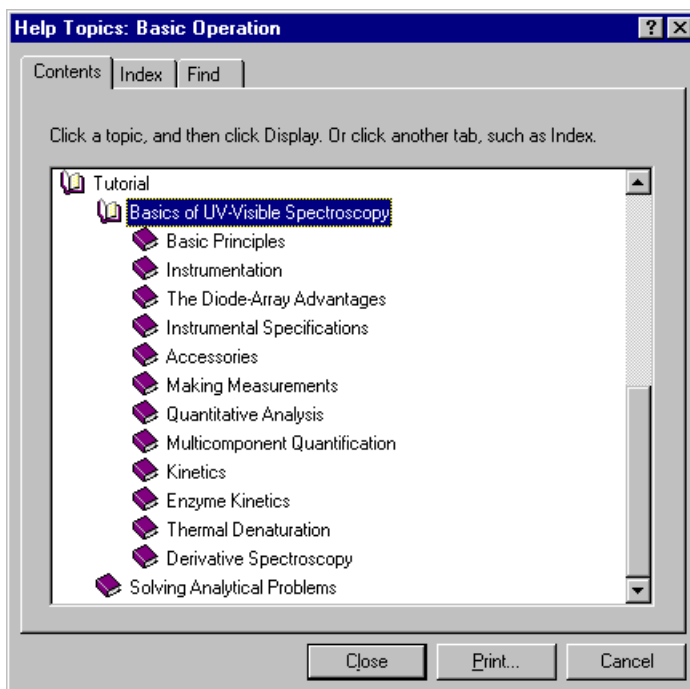
8453 Instrument Self Test Results			
		Save to Instrument	More INFO
	Specification	Measured	Result
Filter and shutter test	< 500 msec	200 msec	Passed
Dark current test	0..12000 cts	3042..3161 cts	Passed
Min. intensity (190nm - 220nm)	> 2000 cts	51301 cts	Passed
Min. intensity (220nm - 350nm)	> 5000 cts	47328 cts	Passed
Min. intensity (350nm - 500nm)	> 2000 cts	21867 cts	Passed
Min. intensity (500nm - 950nm)	> 4000 cts	31884 cts	Passed
Min. intensity (950nm - 1100nm)	> 200 cts	745 cts	Passed
Wavelength at 486.0nm	485.5..486.5 nm	486.323 nm	Passed
Wavelength at 656.1nm	655.6..656.6 nm	656.456 nm	Passed
RMS Noise	< 0.0002	0.000038	Passed
RMS Baseline flatness	< 0.001	0.000156	Passed

NOTA

Los resultados de la autoverificación se pueden almacenar en el espectrofotómetro. Si se almacenan los resultados de la autoverificación en el instrumento, podrá monitorizarse su rendimiento con el paso del tiempo. Se pueden generar representaciones gráficas de los historiales de autoverificación.

¿Cómo se puede obtener una mayor comprensión de la espectroscopía UV-visible?

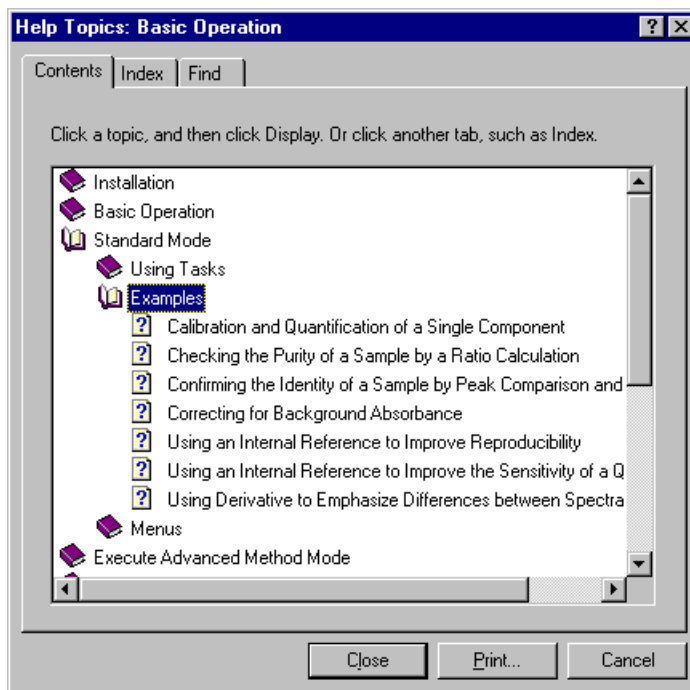
Los principios básicos de la espectroscopía UV-visible están disponibles en el sistema de ayuda. La información recogida en el apartado del manual didáctico correspondiente a los fundamentos de la espectroscopía UV-visible abarca desde los principios básicos hasta detalles de la espectroscopía derivada.



Además, se describen soluciones para determinados temas relacionados con el análisis UV-visible. Allí podrá encontrarse ayuda sobre temas tales como aumento de la sensibilidad o determinación de la pureza.

¿Cómo se puede obtener una mayor comprensión de la espectroscopia UV-visible?

En el apartado Ejemplos de la ayuda de la modalidad Standard (Estándar) hay disponibles ejemplos más específicos, incluidos datos. Se pueden utilizar para ejecutar el software Agilent ChemStation en las situaciones especiales descritas.



¿Cuándo es necesario realizar una medida en blanco?

Los datos de medida adquiridos por el espectrofotómetro son independientes del instrumento. Para conseguir esta independencia debe realizarse una medida de referencia. Todas las medidas sucesivas se referirán a la última referencia medida.

En el software Agilent ChemStation, la medida de referencia se combina con una medida de línea base. La línea base mostrada representa información acerca de la calidad de la referencia actual. En la modalidad de absorbancia, los datos deben acercarse a 0 UA, y en la modalidad de transmisión, los datos deben aproximarse al 100%.

Normalmente, las medidas de referencia para muestras disueltas se realizan en la celda llena del disolvente utilizado. Aquí, además, las propiedades de absorbancia de la celda y del disolvente influyen sobre los datos de la referencia. En los rangos de longitudes de onda en los que el disolvente o la celda absorben, el ruido del espectro de la línea base es elevado. En estas áreas no se puede esperar obtener datos de muestra fiables.

Por tanto, es necesario realizar nuevas medidas de referencia o en blanco cuando:

- se cambia la celda de medida o su orientación en relación con la posición de medida
- se utiliza un disolvente diferente o incluso un lote distinto del mismo disolvente
- se prolonga excesivamente el tiempo transcurrido entre la medida de referencia y la medida de la muestra
- las condiciones temporales dependen del ritmo de envejecimiento de las lámparas y de posibles cambios en las condiciones ambientales - por lo general, la última medida en blanco no debe tener una antigüedad superior a media hora

Índice

A

abertura a través de la cual pasa la luz, 11
aberturas, 49
absorbencia, 26
 elevada, 57
acceso a las lámparas, 17
acetato de etilo, 47
acetona, 47
acetonitrilo, 47
ácido acético, 47
ácido sulfúrico, 47
adquisición
 fecha, 30
 hora, 30
adquisición espectral, 28
afloramientos, 34
Agilent ChemStation
 contraseña, 58
 estación de trabajo, 33
 familia, 23
 inicio de sesión, 58
 método, 62
 modalidad, 24
 muestras, 72
 panel de análisis, 59, 76
 presentación de impresora, 75
 presentación preliminar, 73
 sesión, 23
 sesión de medida, 56
 sesión en línea, 57, 58
 sesión fuera de línea, 58
 tamaños de presentación preliminar, 75
 ventana gráfica, 69
agua, 47
agua de calidad HPLC, 48
agua de calidad UV, 48
alcohol n-butílico, 47
alimentación, 37
 conector de entrada, 17
 interruptor, 14
análisis, 92
análisis cuantitativo
 de muestras, 87
 preparado para el análisis, 91
analitos, 40
analizar, 62
anchura de la rendija, 12
anchura nominal de la rendija espectral, 12
aplicación
 específica, 23
área activa, 21
aumento de la sensibilidad, 98
autoverificación, 95
 estado de funcionamiento, 97
 historiales, 97
 inicio, 96
 resultados, 97
aviso
 ¡no hay resultados!, 74

B

barra de herramientas, 20
benceno, 47
bomba
 peristáltica, 82

C

cafeína, 59
calcular, 33
cálculo
 resultados, 80

calibración, 28, 32, 87, 90
 coeficientes, 32
 curva, 28
cambiador de celdas, 84
cambios rápidos de absorbencia, 49
celda
 paso óptico, 80, 82, 84
celda de flujo, 44
celda de muestra, 40, 48
celda de muestra taponada, 48
celdas con abertura o cubetas, 42
celdas de flujo, 53
celdas de muestra de cuarzo, 41
celdas de muestra de plástico, 41
celdas de vidrio, 41
celdas en forma de cuña, 41
celdas estándar, 53
celdas recomendadas, 43
ciclohexano, 47
ciclopentano, 47
cloroformo, 47
coeficiente de extinción, 34
comando, 20
compartimento para la muestra, 12
comprensión
 procesamiento de Agilent ChemStation, 29
concentración, 33
conectado, 38
conector
 CAN, 17
 GPIB, 17
 GPIO, 16
 mecanismo de transporte multicelda, 16
 remoto, 16
 RS-232, 16

Índice

conector CAN, 17
Conector GPIO, 16
conector remoto, 16
conexión
 red, 9
configuración del análisis
 calibración, 88
 indicación de información de
 muestras, 88
 longitud de onda, 88
 presentación, 88
 tipo de datos, 88
 unidad de concentración, 88
confirmación de la instalación, 59
conjunto de parámetros, 25
contexto actual, 20
control de temperatura, 48
convección de la sustancia disuelta, 48
corrección
 de dispersión luminosa, 10, 11
corrección de dispersión luminosa, 10, 11
corrección de fondo, 27, 28
cuadro de diálogo
 opciones e información del método, 63
 parámetros de longitudes de onda
 fija, 60
cuadro de diálogo de configuración, 20
cuadro de diálogo de parámetros, 76
cuantificación, 25, 87
cursor del ratón, 21

D

datos, 29
 absorbencia, 87
 acceso, 30, 31
 almacenamiento, 67
 almacenamiento local, 67
 archivar, 67
 borrar, 72
 borrar estándares, 72
 borrar resultados matemáticos, 72
 cargar, 67
 cuadro de selección de archivos, 71
 eliminar, 72
 evaluación, 31
 extensión del archivo, 68
 formato, 67
 guardar, 67
 guardar datos seleccionados, 69
 guardar muestras como, 67
 información del archivo, 71
 nombre del archivo, 68
 recuperar, 67, 71
 sustituir, 68
 transferencia a través de la red, 67
datos de muestra, 32
datos espectrales sin procesar, 34
datos sin procesar, 29
de plástico
 portezuela, 17
derivada, 26
desarrollo de un método analítico, 24
descarga de plasma, 11
descripción
 del instrumento, 13
desgasificada, 48
determinación de la pureza, 98
dimetil formamida, 47
dimetil sulfóxido, 47
Dirección IP, 37, 38, 56
disolvente, 40, 56
disolventes, 46
disolventes utilizados habitualmente, 46
disolventes volátiles, 48

dispersiones coloidales, 48
dispositivo de muestreo, 21
disulfuro de carbono, 47

E

ecuación, 25, 31
ecuación definible por el usuario, 27
ejemplos, 99
elemento activo, 21
en blanco, 40, 50
especificaciones ópticas de las celdas, 41
espectro, 25
espectrofotómetro, 33, 36
 vista frontal, 13
 vista posterior, 16
espectrógrafo, 12
 lente, 10
 rendija, 10
espectros procesados, 30
espectroscopia derivada, 98
espectroscopia UV-visible
 fundamentos, 98
estado, 38
estándar, 28, 32
 externo, 95
éter etílico, 47

F

filtro de corte, 49
filtro óptico, 49
filtro para corrección de dispersión
 luminosa, 10, 11
formación de burbujas, 48
formiato de metilo, 47
fotodegradación, 49
fuente de radiación, 10

G

glicerol, 47
GPIB
 conector, 17

H

haz colimado, 10
 haz luminoso, 41, 44
 homogeneidad, 50

I

identidad, 28
 idoneidad del disolvente, 46
 impresora, 37, 38
 configurada, 73
 indicador, 14
 indicador de estado, 14
 información de la muestra, 27
 informe
 resultados, 73
 instalación, 36
 instrumento
 calentamiento, 57
 conjuntos electrónicos, 10
 conjuntos mecánicos, 10
 construcción, 10
 descripción, 13
 diseño, 10
 instrumento de haz único, 40
 interfase de usuario
 elementos, 19
 intervalo de muestreo, 12
 isopropanol, 47

J

JetDirect, 36

K

kit de test, 28

L

lámpara de deuterio, 10
 lámpara de wolframio, 10

lámparas, 11
 acceso a través de la portezuela, 17
 deuterio, 10
 wolframio, 10
 LAN, 36
 lente, 10
 lente de la fuente, 10, 11
 ley de Beer, 87
 limpieza de celdas, 44
 línea de mensajes, 38
 línea vertical de tres puntos, 27, 30
 linealidad deficiente, 42
 localizar pico, 77
 localizar valle, 77
 longitud de onda, 30
 longitud de onda de corte, 49
 longitud de onda fija, 25, 26, 59
 longitud de onda utilizada, 30
 luz ambiental, 13
 luz falsa, 13, 40

M

manager level (nivel de administrador), 24, 58
 manipulación de celdas, 46
 manual didáctico
 espectroscopia derivada, 98
 fundamentos de la espectroscopia UV-visible, 98
 principios básicos, 98
 matriz de diodos, 13, 33
 matriz de fotodiodos, 13
 máximo, 25
 máximo de absorbencia, 76
 mecanismo de transporte multicelda, 84
 7 celdas, 86
 8 celdas, 84
 conector, 16

medida
 en blanco, 56
 información de la muestra, 93
 muestra, 57, 92
 referencia, 56
 ruido, 57
 medidas de la más alta precisión, 44
 medir
 estándar, 91
 información del estándar, 91
 menú, 20
 metálica
 portezuela, 17
 metanol, 47
 método, 25, 29, 32, 34, 62
 actual, 65
 calibrado, 34, 87
 cargar, 64
 cargar método, 64
 guardar, 62
 guardar método como, 62
 imprimir, 64, 66
 información, 65
 informe, 64
 modificado, 64
 nombre, 63
 opciones e información, 63
 parámetro, 29
 parámetros, 62
 presentación preliminar, 66
 recuperar, 64
 utilizado por última vez, 58
 mezcla, 48
 mínimo, 25

modalidad, 23
 advanced (avanzado), 25
 cambiar, 25
 color calculations (cálculos de colores), 25
 combined reports (informes combinados), 25
 dissolution testing (comprobación de disolución), 25
 estándar, 59, 76, 87
 execute advanced method (ejecutar método avanzado), 24
 kinetics (cinética), 25
 multibath dissolution testing (comprobación de disolución multibañ), 25
 standard (estándar), 24
 thermal denaturation (desnaturalización térmica), 25
 utilizado por última vez, 58
 verification and diagnostics (verificación y diagnósticos), 24, 95
 módulo de mezcla, 50
 muestra, 40, 51
 compartimento, 12
 muestra/tabla de resultados, 61, 69, 79
 muestras líquidas, 40
 m-xileno, 47

N

neutralización de celdas nuevas, 44
 n-hexano, 47
 niveles de manejo, 23, 24
 nombre del operador, 30

O

obturador, 10, 11
 ocupado, 38
 offline (fuera de línea), 24
 online (en línea), 23
 operación, 20
 operación espectral, 30
 operator level (nivel de operador), 24
 optimización, 34

P

palanca de seguridad, 17
 panel de análisis, 20, 95
 panel del instrumento, 21
 panel lateral, 20
 pañuelos de papel para lente, 44
 papel
 orientación, 37
 tamaño, 37
 paralelismo, 41
 partículas, 48
 paso óptico
 configuración, 80
 patrones, 87
 actual, 32
 número de, 33
 número mínimo necesario, 33
 PC, 38
 peso, 27
 pipeta, 46
 piridina, 47
 polvo, 48
 portezuela de acceso a las lámparas, 17
 posición activa, 21
 precisión fotométrica deficiente, 42
 procesamiento, 29
 espectral, 30
 estándares, 32
 procesamiento espectral, 31
 Protocolo TCP/IP, 37
 pulsador blank, 15
 pulsador standard, 15
 pulsador stop, 15
 pulsadores, 15
 blank, 15
 sample, 15
 standard, 15
 stop, 15
 pulsadores de medida, 15
 pureza, 28

R

rango de concentración, 28
 rango de longitudes de onda útil de los disolventes, 46
 ranura para accesorios, 17
 ranuras para tarjetas MIO y accesorios, 17
 reacciones fotoquímicas, 49
 realización de medidas, 40
 red
 administrador, 37
 conexión, 38
 local, 56
 red de difracción, 10, 13
 red de difracción holográfica, 10, 13
 referencia, 38
 referencia interna, 27, 30
 relación, 25
 relación señal-ruido, 49
 rendija, 10, 13
 repetición de cálculo, 24
 reproducibilidad de longitudes de onda, 34
 resultados, 31, 33
 precisos, 57
 resultados exactos, 40
 retención de burbujas, 44
 RS-232C
 conector, 16
 ruido de solución, 48

S

sample
 pulsador, 15
 sensibilidad, 42
 servidor Bootp, 56
 Servidor Bootp CAG, 37, 38
 sesión
 control de instrumento, 23
 sólo análisis de datos, 23
 sesión de instrumento, 23
 símbolo, 20
 símbolo de puntero, 21
 sistema de espectroscopia, 9

- sistema de muestreo, 80
 - manual, 80
 - sistema de succión, 82
- sistema de succión, 44, 82
 - parámetro, 83
 - test de flujo, 83
- sistema de succión/muestreador, 48
- Sistema de uso general UV-visible Agilent 8453, 56
- sistema operativo, 38
- sistema óptico, 10
- software
 - uso general, 9, 18
- solución, 50
- soluciones, 98
 - aumento de la sensibilidad, 98
 - determinación de la pureza, 98
- soluciones viscosas, 49
- soporte de celda provista de termostato, 50
- soporte estándar para una celda, 53
- superficies ópticas, 44
- sustancias fotosensibles, 49

T

- tarea
 - análisis cuantitativo, 87
 - cuantificación, 25, 28, 87
 - espectro/picos, 25, 27
 - longitud de onda fija, 25, 26, 59
 - orientación, 26
 - relación/ecuación, 25, 27, 31
- tarea actual, 22
- tarea analítica, 25
- tarjeta MIO
 - ranura, 17
- test de flujo, 83
- tetracloruro de carbono, 47
- tolueno, 47
- trabajo rutinario, 62
- transmitancia, 26
- trimetilpentano
 - 2,2,4-trimetilpentano, 47

V

- valores, 62
- ventana, 22
 - gráfica, 22
 - muestra/tabla de resultados, 30
 - tabular, 22
- ventana principal de la aplicación, 23
- verificación del rendimiento, 95
- vista, 22, 26
 - calibración, 87
 - muestras, 61, 79
 - patrones, 87
 - resultados, 87, 93
- vista frontal del espectrofotómetro, 13
- vista posterior del espectrofotómetro, 16
- volumen, 28

Z

- zona abierta para muestras, 40

www.agilent.com

En este manual

Para que pueda empezar a utilizar rápidamente el nuevo sistema de espectroscopía UV-visible Agilent 8453, se incluyen procedimientos detallados y ejemplos de las operaciones y tareas básicas.

© Agilent Technologies Deutschland GmbH 2002,
2003

Impreso en Alemania
10/2003



G1115-95021



Agilent Technologies