
	<b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b> <i>Análises de tamanho e potencial zeta – Zetasizer Nano ZS90</i>		
	<b>Proposto por:</b> Francisco L. S. Bustamante	<b>Analisado por:</b>	<b>Aprovado por:</b> Célia M. Ronconi

## 1. OBJETIVO

Descrever o procedimento a ser adotado para realização de análises de tamanho de partículas e de potencial zeta no equipamento Malvern Zetasizer Nano ZS90 localizado no laboratório 104 no prédio da Física Velha, Campus Valonguinho.

## 2. DEFINIÇÕES E ABREVIATURAS

*Tabela 1 Termos e siglas*

TERMO / SIGLA	OBJETO
UFF	Universidade Federal Fluminense
LAMATE	Laboratório Multiusuário de Caracterização de Materiais
DLS	Dynamic Light Scattering
Da	Dalton (unidade de massa atômica)
M3-PALS	Mixed Mode Measurement - Phase Analysis Light Scattering
SOP	Standard Operating procedure

## 3. REFERÊNCIAS

### 3.1. Documentos complementares


MALVERN. *Zetasizer Nano Series User Manual*. MAN0485 Issue 1.1. April 2013.  
MALVERN. *Zetasizer Nano Series Basic Guide*. MAN0486 Issue 1.0. September 2012.  
MALVERN. *Zetasizer Nano Series Accessories Guide*. MAN0487 Issue 1.1. April 2013.

## 4. RESPONSABILIDADES GERAIS

*Tabela 2 Responsabilidades gerais*

NOME	FUNÇÃO	RESPONSABILIDADE
Célia Machado Ronconi	Coordenador do laboratório	Gerenciar o laboratório
Francisco L. S. Bustamante	Químico	Manutenção periódica
Evelyn C. dos Santos	Aluna de doutorado	Manutenção na ausência do químico responsável

<b>Código:</b> POP-LAMATE-003	<b>Data de aprovação:</b> 04/11/2014	<b>Revisão:</b> 0	<b>Página 1 de 13</b>
----------------------------------	---	----------------------	-----------------------

	<b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b> <i>Análises de tamanho e potencial zeta – Zetasizer Nano ZS90</i>		
	<b>Proposto por:</b> Francisco L. S. Bustamante	<b>Analisado por:</b>	<b>Aprovado por:</b> Célia M. Ronconi

## 5. CONDIÇÕES E DESCRIÇÕES GERAIS

Antes de começar o procedimento de medida, ligue o nobreak, o instrumento e o computador. Aguarde 30 minutos para realizar análises para que o laser estabilize. É normal que o equipamento apite algumas vezes ao inicializar. Considere o arranjo da Figura 1 como guia das principais partes do equipamento. O botão de ligar se encontra no painel traseiro do equipamento.

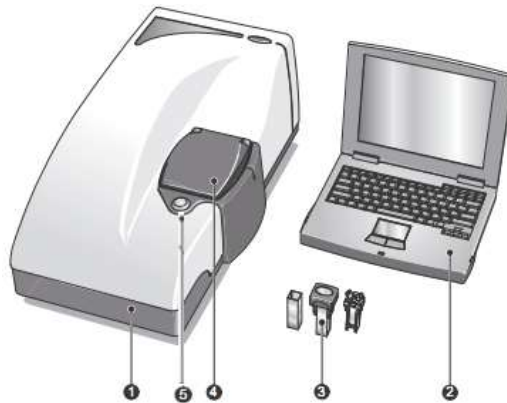


Figura 1 Principais partes. 1) Equipamento; 2) computador com o software do equipamento; 3) cubetas; 4) área da cubeta do equipamento; 5) botão de acesso à área da cubeta e indicador de status


### 5.1. Preparo da amostra

Consulte o capítulo 5 do manual do usuário do equipamento para detalhes sobre as faixas de concentração para cada tipo de medida e cuidados necessários no preparo das amostras.

### 5.2. Seleção e preenchimento da cubeta

Consulte o Manual de Acessórios do equipamento para a relação completa de cubetas e suas especificações. Para os procedimentos padrão descritos neste POP podem ser utilizadas as seguintes cubetas:

Tabela 3 Cubetas citadas no POP

Cubeta	Parâmetro	Especificação
<b>Vidro – abertura quadrada com 4 faces polidas (PCS115)</b> 	Tipo de medida	Tamanho, massa molar
	Solventes típicos	Água, maior parte dos solventes orgânicos e inorgânicos
	Qualidade ótica	Excelente
	Volume mínimo de amostra	1 mL

<b>Código:</b> POP-LAMATE-003	<b>Data de aprovação:</b> 04/11/2014	<b>Revisão:</b> 0	<b>Página 2 de 13</b>
----------------------------------	---	----------------------	-----------------------



**PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO**  
*Análises de tamanho e potencial zeta – Zetasizer Nano ZS90*

**LAMATE**

**Proposto por:**  
Francisco L. S. Bustamante

**Analisado por:**

**Aprovado por:**  
Célia M. Ronconi

**Policarbonato – eletrodos de berílio/cobre folheados com ouro (DTS1060)**



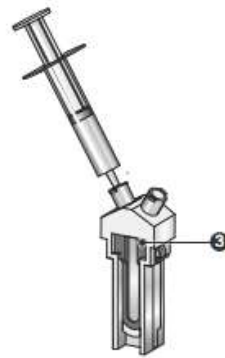
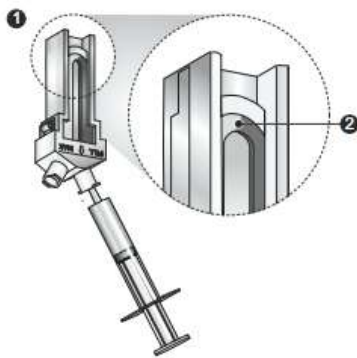
Tipo de medida	Tamanho, potencial zeta
Solventes típicos	Água, água/etanol <b><i>Não resistente a solventes orgânicos.</i></b>
Qualidade ótica	Boa a muito boa
Volume mínimo de amostra	0,75 mL

**Observação:** Também há uma cubeta de abertura quadrada com 4 faces de policarbonato. Esta cubeta, devido ao seu material, não é resistente a solventes orgânicos.



O preenchimento da cubeta de vidro deve ser feito inclinando-a e escorrendo lentamente a solução pela parede para evitar bolhas. Certifique-se que a cubeta está seca e limpa pelo lado de fora após inserir a amostra para evitar danos aos eletrodos do porta cubeta do equipamento. Para isso, seque-a com papel macio antes de inseri-la no equipamento.



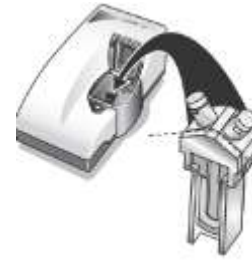
O preenchimento da cubeta de policarbonato deve ser feito com base nos seguintes passos. Certifique-se que a cubeta e seus eletrodos estão secos e limpos pelo lado de fora após inserir a amostra para evitar danos aos eletrodos do porta cubeta do equipamento. Para isso, seque-a com papel macio antes de inseri-la no equipamento. **Atenção: cubeta não resistente a solventes orgânicos.**



- 1) Acople uma seringa contendo a amostra em uma das entradas da cubeta. Inverta a cubeta.
- 2) Insira a amostra lentamente até metade do tubo em U interno.
- 3) Vire a cubeta com as entradas para cima e continue inserindo a amostra lentamente até atingir o limite ilustrado acima.
- 4) Remova a seringa. Verifique se há bolhas sacudindo lentamente a cubeta. Coloque as tampas em cada saída. Certifique-se que uma das tampas está colocada firmemente e a outra com folga, para evitar pressão na cubeta.

	<b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b> <i>Análises de tamanho e potencial zeta – Zetasizer Nano ZS90</i>		
	<b>Proposto por:</b> Francisco L. S. Bustamante	<b>Analisado por:</b>	<b>Aprovado por:</b> Célia M. Ronconi


Aperte o botão 5 indicado na Figura 1 para abrir o compartimento do equipamento onde a cubeta será colocada.



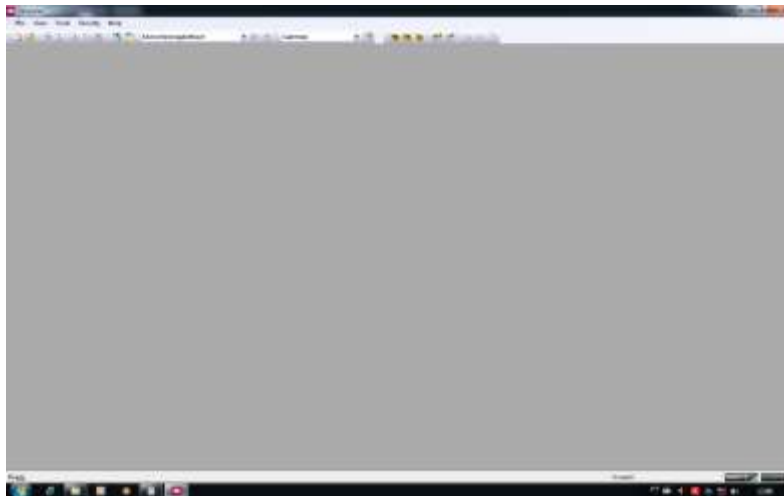
No caso da cubeta de policarbonato, há um lado preferencial da cubeta. Neste lado há a presença de uma linha no topo da cubeta, conforme indicado na figura ao lado. Este lado deve estar virado para o usuário quando a cubeta for inserida no porta cubeta do instrumento.

### 5.3. Inicialização do software e reconhecimento das funções básicas

I. Ligue o equipamento antes de inicializar o software.

II. Na área de trabalho, dê um duplo clique no ícone do equipamento  Zetasizer.



III. Aparecerá a janela inicial do software. Caso algum usuário tenha utilizado o software anteriormente e não tenha fechado seus resultados, aparecerá a janela de resultados deste usuário.



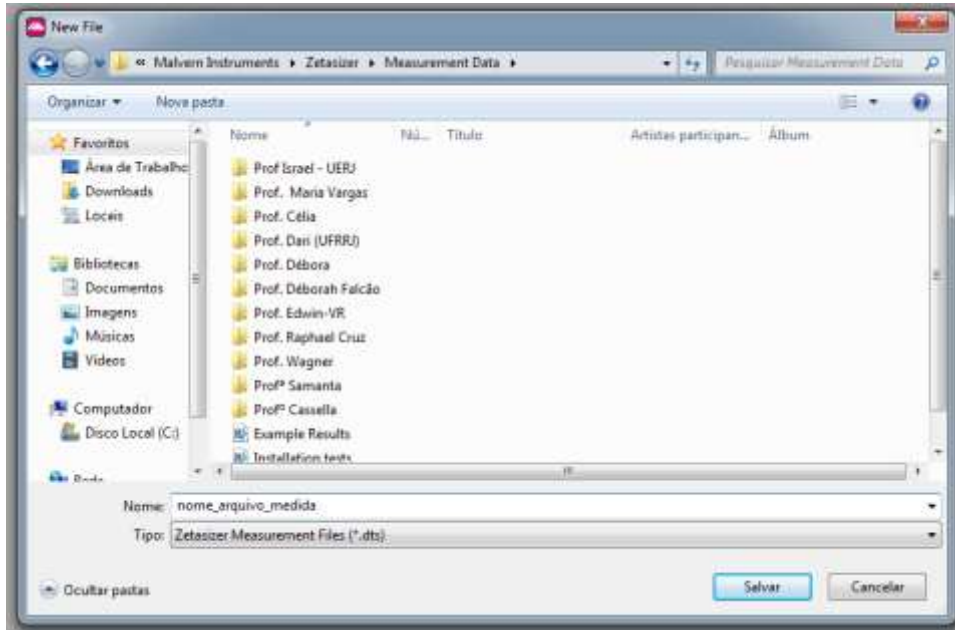
IV. Crie um arquivo onde todas as suas medidas serão guardadas. Vá em **File** → **New** → **Measurement File...**



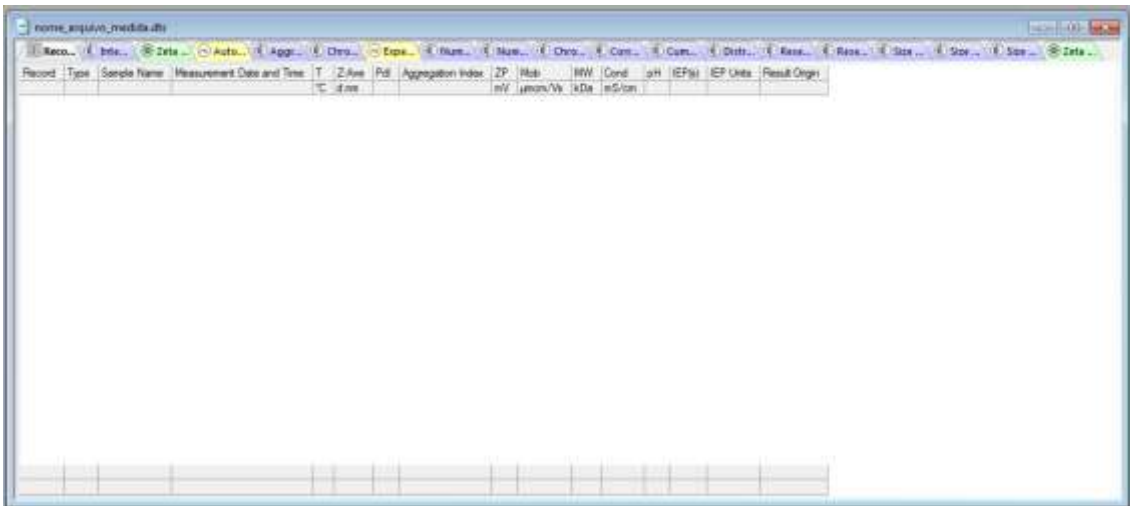
<b>Código:</b> POP-LAMATE-003	<b>Data de aprovação:</b> 04/11/2014	<b>Revisão:</b> 0	<b>Página 4 de 13</b>
----------------------------------	---	----------------------	-----------------------



	<b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b> <i>Análises de tamanho e potencial zeta – Zetasizer Nano ZS90</i>		
	<b>Proposto por:</b> Francisco L. S. Bustamante	<b>Analisado por:</b>	<b>Aprovado por:</b> Célia M. Ronconi

- V. Caso ainda não exista, crie uma pasta para seu orientador e, dentro desta pasta, crie uma com o seu nome. Nomeie o arquivo. Lembre-se de que este é o arquivo que guardará todas as suas análises que serão feitas no equipamento e não apenas uma delas. Recomenda-se colocar seu próprio nome no arquivo.



- VI. Aparecerá na tela a janela do arquivo de medidas. Cada nova medida que realizar aparecerá como uma linha nesta janela.

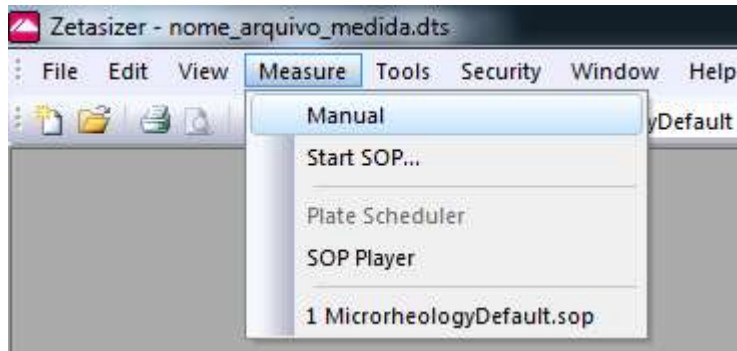


	<b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b> <i>Análises de tamanho e potencial zeta – Zetasizer Nano ZS90</i>		
	<b>Proposto por:</b> Francisco L. S. Bustamante	<b>Analisado por:</b>	<b>Aprovado por:</b> Célia M. Ronconi

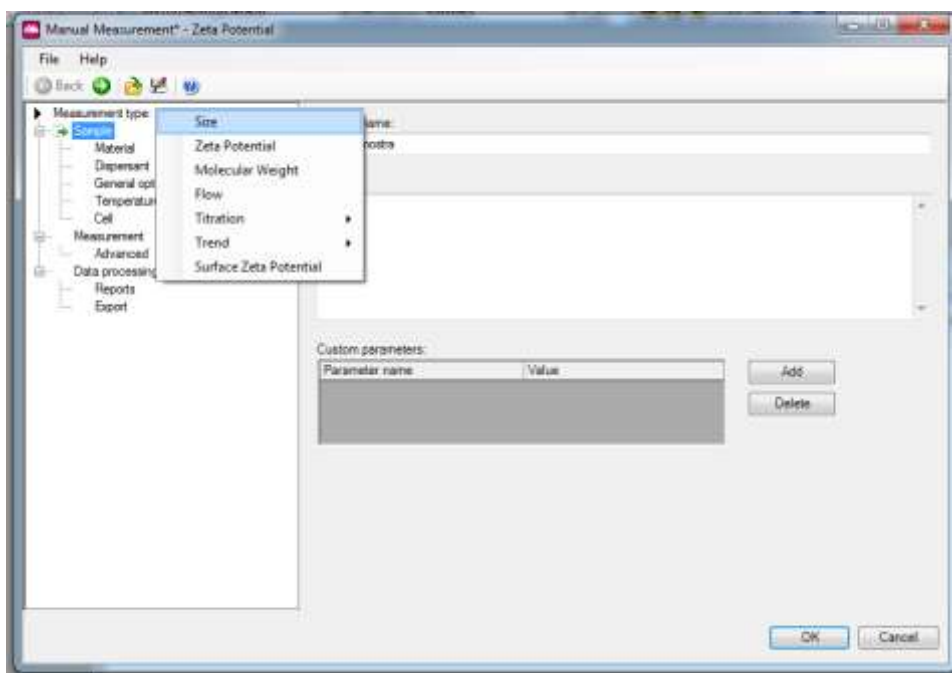
#### 5.4. Medidas manuais



Nesse tipo de medida, todos os parâmetros são especificados antes de cada medida.

- I. Vá em **Measure** → **Manual**

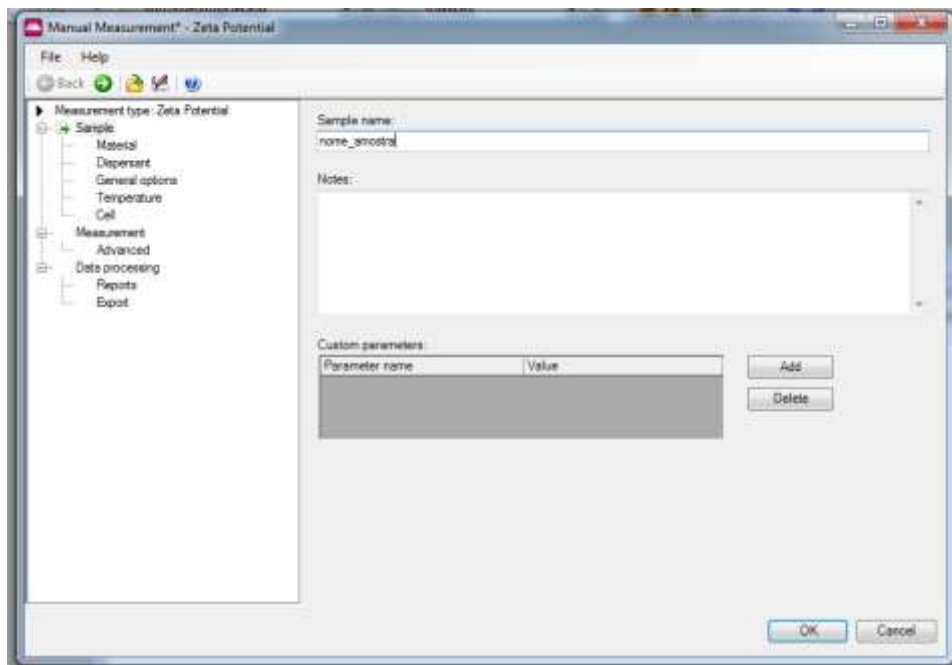


- II. Na janela que aparece, selecione o tipo de medida que deseja realizar em *Measurement type*. Por exemplo, *size* para tamanho de partícula ou *zeta potential* para potencial zeta.

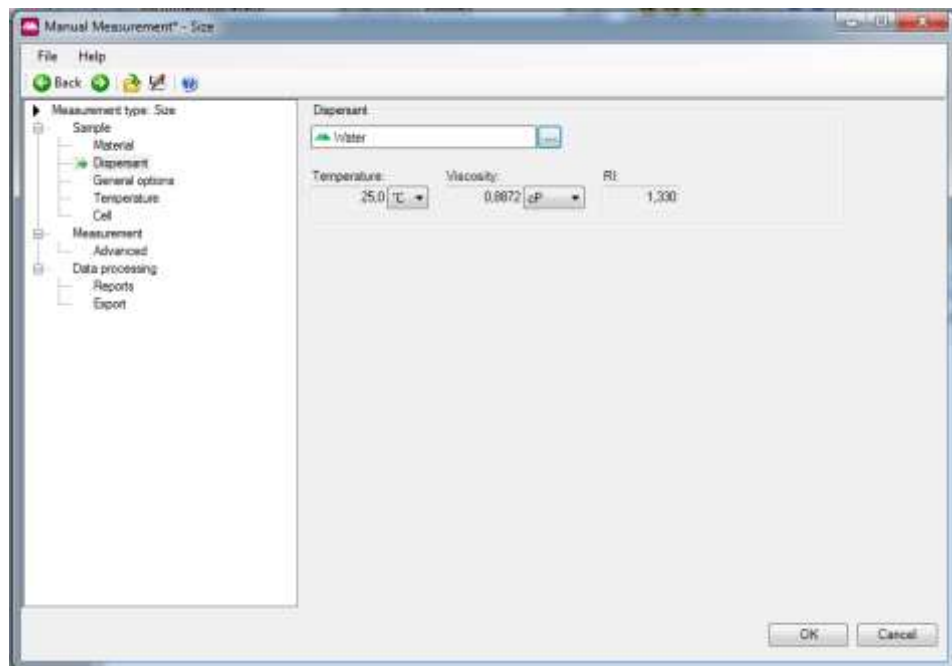


	<b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b> <i>Análises de tamanho e potencial zeta – Zetasizer Nano ZS90</i>		
	<b>Proposto por:</b> Francisco L. S. Bustamante	<b>Analisado por:</b>	<b>Aprovado por:</b> Célia M. Ronconi



III. Coloque o nome de sua amostra em *Sample name*. Caso ache necessário, coloque informações relevantes em *Notes*.



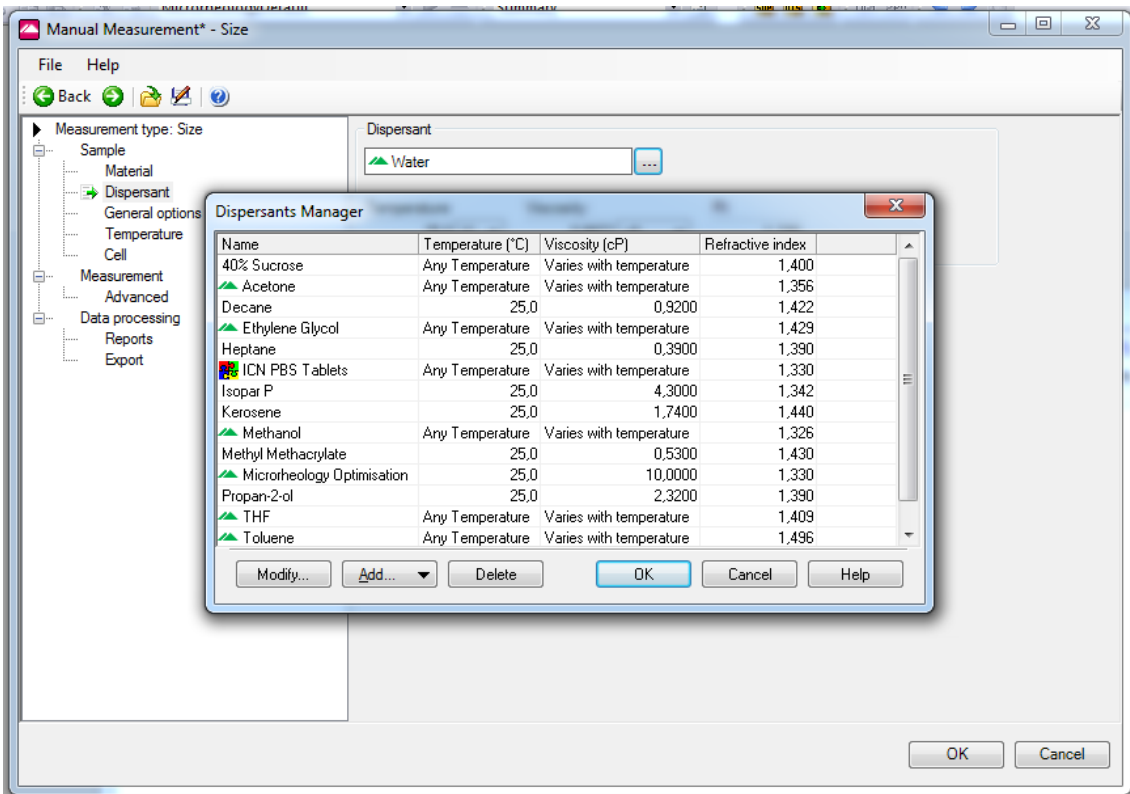
IV. No menu esquerdo selecione *Dispersant*.



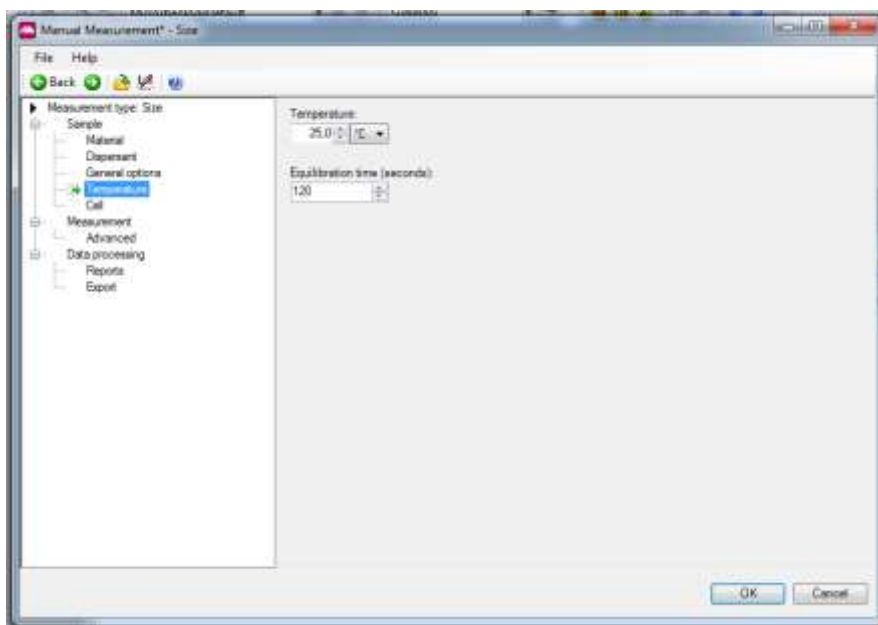
<b>Código:</b> POP-LAMATE-003	<b>Data de aprovação:</b> 04/11/2014	<b>Revisão:</b> 0	<b>Página 7 de 13</b>
----------------------------------	---	----------------------	-----------------------

	<b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b> <i>Análises de tamanho e potencial zeta – Zetasizer Nano ZS90</i>		
	<b>Proposto por:</b> Francisco L. S. Bustamante	<b>Analisado por:</b>	<b>Aprovado por:</b> Célia M. Ronconi

- V. Clique no botão com três pontos e selecione o dispersante na janela que aparecerá.  
**Atenção:** Verifique a compatibilidade de seu dispersante com a cubeta para não danificar a mesma.





- VI. Selecione *Temperature* no menu esquerdo para selecionar a temperatura de análise e quanto tempo o aparelho esperará para equilíbrio térmico antes da medida.



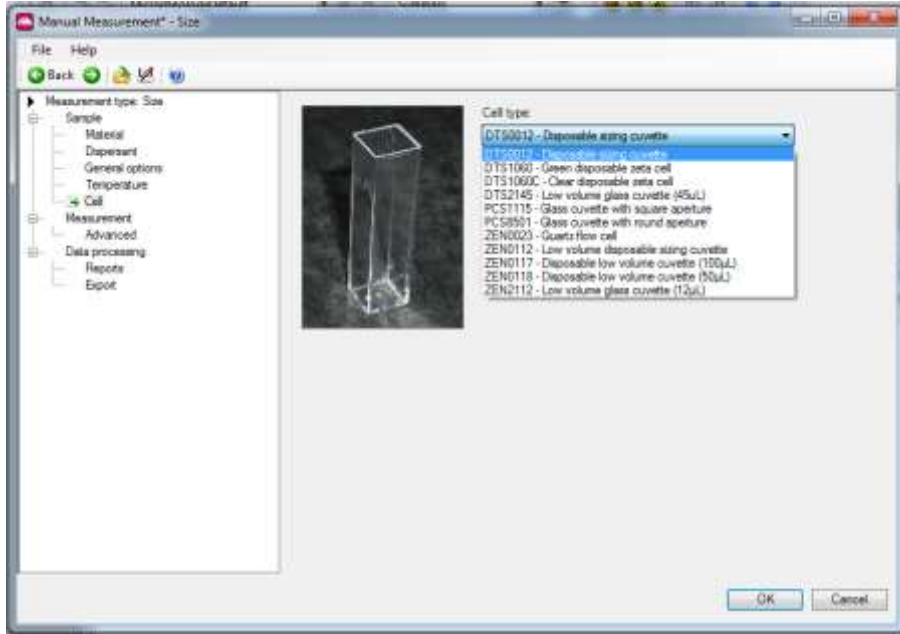
<b>Código:</b> POP-LAMATE-003	<b>Data de aprovação:</b> 04/11/2014	<b>Revisão:</b> 0	<b>Página 8 de 13</b>
----------------------------------	---	----------------------	-----------------------



	<b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b> <i>Análises de tamanho e potencial zeta – Zetasizer Nano ZS90</i>		
	<b>Proposto por:</b> Francisco L. S. Bustamante	<b>Analisado por:</b>	<b>Aprovado por:</b> Célia M. Ronconi

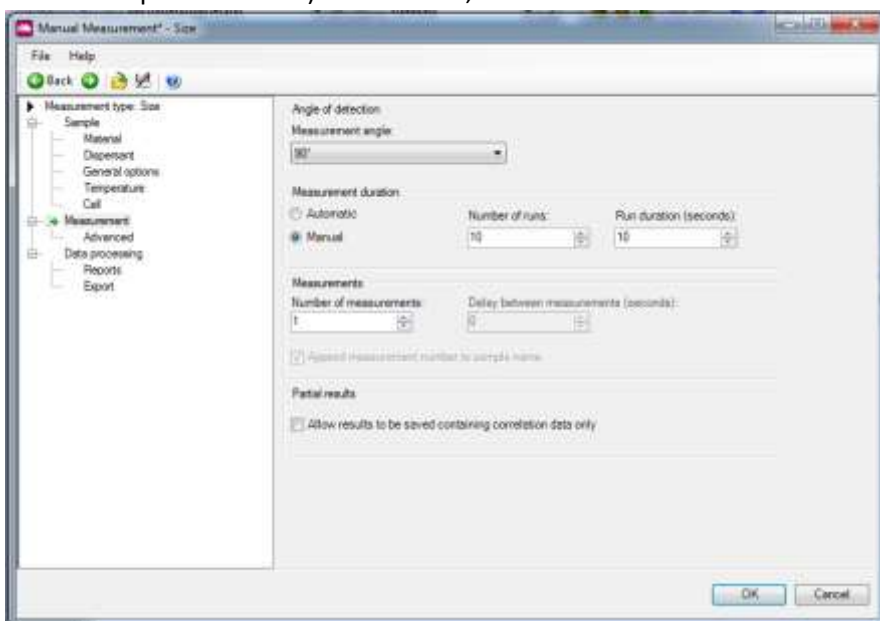
VII. Selecione *Cell* para escolher a cubeta que será utilizada.

**Atenção:** A aparência desta janela pode mudar dependendo do tipo de medida (tamanho ou potencial zeta). No entanto, o princípio é o mesmo, selecionar a cubeta que será utilizada no experimento.





VIII. Em *Measurement* modifique os parâmetros de medida. Para uma primeira análise, onde não se conhece muitas características da amostra, recomenda-se iniciar com uma medida contendo 10 corridas de 10 segundos cada. Altere esses valores à medida que for obtendo mais informações sobre sua amostra.

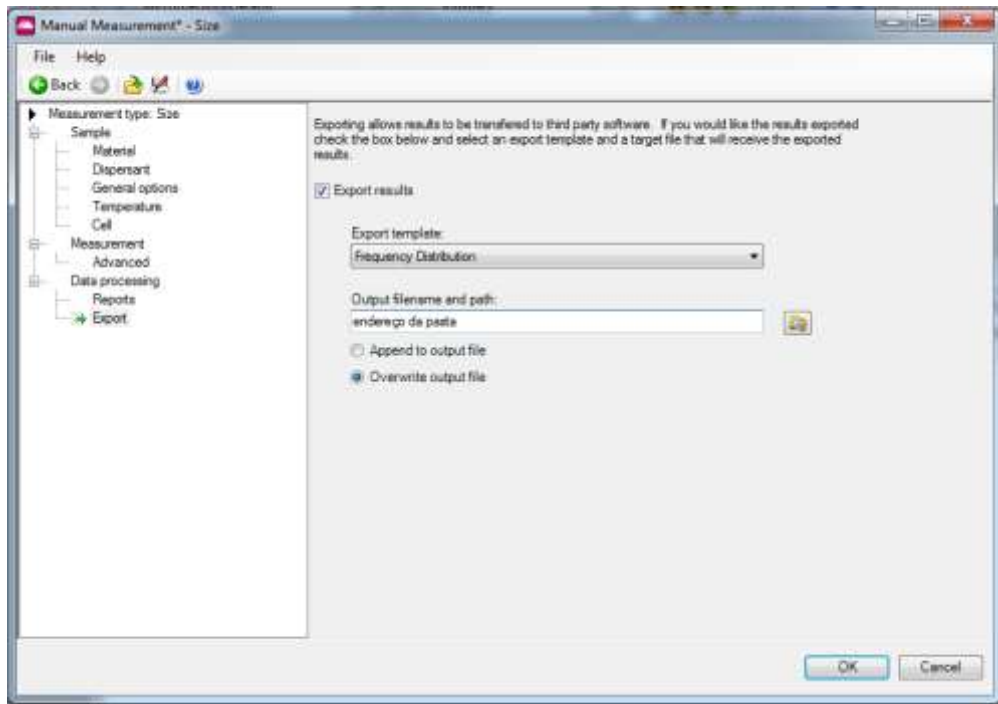
**Atenção:** A aparência desta janela pode mudar dependendo do tipo de medida (tamanho ou potencial zeta). No entanto, os valores usuais são os mesmos.



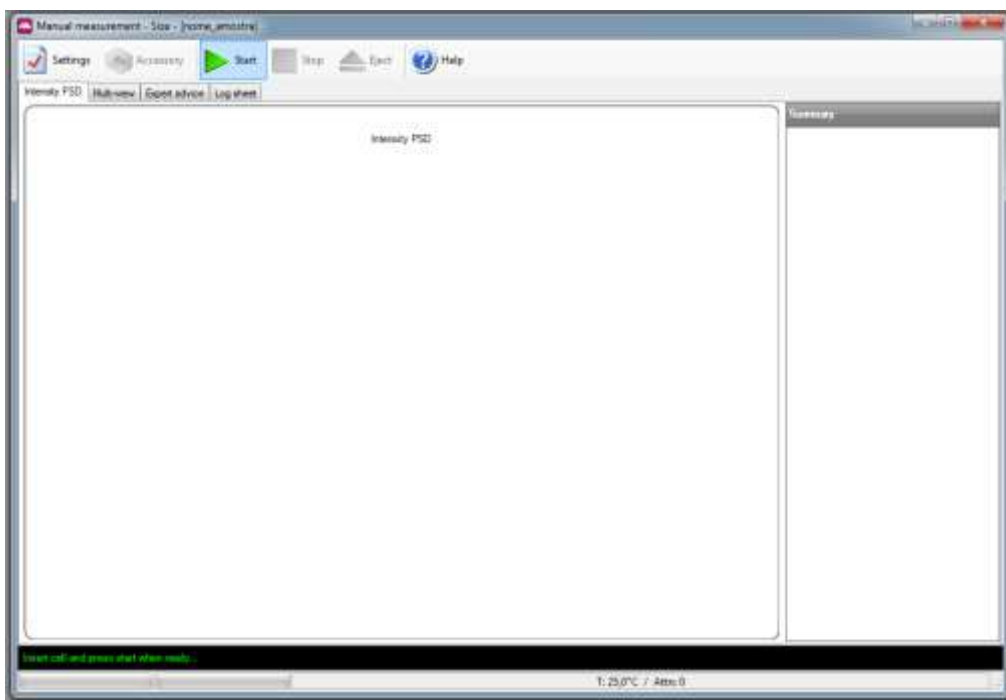
<b>Código:</b> POP-LAMATE-003	<b>Data de aprovação:</b> 04/11/2014	<b>Revisão:</b> 0	<b>Página 9 de 13</b>
----------------------------------	---	----------------------	-----------------------

	<b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b> <i>Análises de tamanho e potencial zeta – Zetasizer Nano ZS90</i>		
	<b>Proposto por:</b> Francisco L. S. Bustamante	<b>Analisado por:</b>	<b>Aprovado por:</b> Célia M. Ronconi



- IX. Selecione *Export* para criar um arquivo que receberá as informações de sua medida em formato que poderá ser importado posteriormente em softwares como Excel e Origin. Clique no ícone de pasta para selecionar a sua pasta e dar um nome para o arquivo.



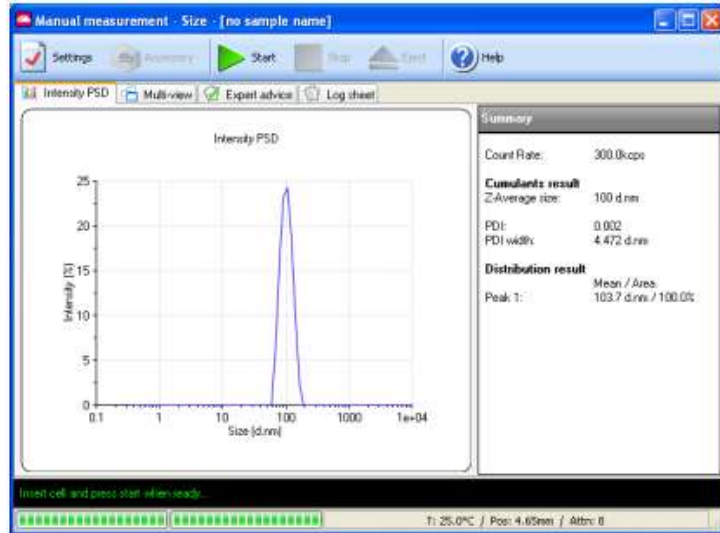
- X. Após clicar em OK, aparecerá a janela de medida. Clique em Start para iniciar a medida.



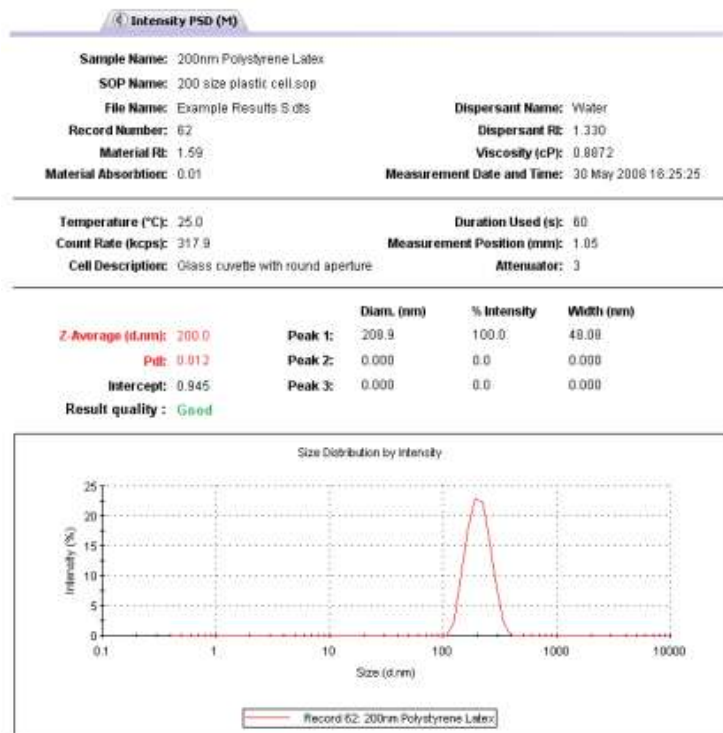
<b>Código:</b> POP-LAMATE-003	<b>Data de aprovação:</b> 04/11/2014	<b>Revisão:</b> 0	<b>Página 10 de 13</b>
----------------------------------	---	----------------------	------------------------

	<b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b> <i>Análises de tamanho e potencial zeta – Zetasizer Nano ZS90</i>		
	<b>Proposto por:</b> Francisco L. S. Bustamante	<b>Analisado por:</b>	<b>Aprovado por:</b> Célia M. Ronconi



XI. Após cada corrida, o gráfico na tela será atualizado.



XII. Após o término, volte para a janela do arquivo de medidas. Clique sobre o nome de sua amostra. Diversas abas aparecerão no topo da janela. Selecione a que contém informações que deseja visualizar. Verifique o status do item *Result Quality*. Caso não tenha como resultado *Good*, siga as instruções que aparecem na tela para visualizar as sugestões do software para melhorar a qualidade de sua análise.



<b>Código:</b> POP-LAMATE-003	<b>Data de aprovação:</b> 04/11/2014	<b>Revisão:</b> 0	<b>Página 11 de 13</b>
----------------------------------	---	----------------------	------------------------

	<b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b> <i>Análises de tamanho e potencial zeta – Zetasizer Nano ZS90</i>		
	<b>Proposto por:</b> Francisco L. S. Bustamante	<b>Analisado por:</b>	<b>Aprovado por:</b> Célia M. Ronconi

### 5.5. Medidas utilizando SOP (Standard Operating Procedure)

Nesse tipo de medida, os parâmetros ficam guardados em um arquivo previamente criado pelo usuário. Uma vez carregado o arquivo, a medida requer menos intervenção do usuário. É um tipo de medida útil para aqueles que já descobriram a condição ótima de análise para suas amostras, utilizando o tipo de medida anterior, e planejam analisar diversas amostras nas mesmas condições.

Consulte o capítulo 8 do manual do usuário do equipamento para detalhes sobre a criação e a utilização de SOPs.

### 5.6. Término da análise

Após o término da medida, retire a cubeta puxando-a lentamente para fora do compartimento de amostra. Descarte a solução em um rejeito apropriado. O laboratório não fornece frascos de rejeito, leve seu frasco. Lave a cubeta com água destilada em abundância. Seque-a bem por fora com um papel macio. Caso uma nova medida vá ser realizada em seguida, rinse a cubeta com a nova solução de medida algumas vezes para evitar efeitos de diluição.


Caso não vá realizar uma nova medida, feche o compartimento de amostra, certificando-se antes que o mesmo está limpo e seco. Feche o software do equipamento. Vá na pasta que indicou em *Export* para copiar os arquivos gerados pelo software e que podem ser abertos em softwares como Excel e Origin para geração de gráficos. É aconselhável, por questões de segurança, ir até a pasta com a arquivo dos dados originais de suas medidas e copia-lo para que tenha um backup de suas medidas. Para isto, localize a pasta C:\Users\Usuario\Documents\Malvern Instruments\Zetasizer\Measurement Data, abra sua pasta e copie o arquivo. **Não delete nem recorte o arquivo, apenas faça uma cópia.** As cópias podem ser retiradas do computador através de dispositivos USB ou de CD/DVD. O computador não possui acesso à internet para envio de e-mails.

Desligue o computador e o equipamento. Desligue o estabilizador e retire sua tomada da parede, deixando o adaptador conectado à tomada do estabilizador. **Registre o uso do equipamento no caderno de controle ao lado do mesmo.** Limpe a bancada tomando cuidado de guardar o material adequadamente e não danificar a bancada nem os equipamentos vizinhos com água ou solvente. Encubra o equipamento, o monitor e o conjunto teclado/mouse com o plástico bolha de proteção.

## 6. ANEXOS

Anexo 01 – Especificações da unidade ótica

<b>Código:</b> POP-LAMATE-003	<b>Data de aprovação:</b> 04/11/2014	<b>Revisão:</b> 0	<b>Página 12 de 13</b>
----------------------------------	---	----------------------	------------------------

	<b>PROCEDIMENTO OPERACIONAL PADRÃO</b> <i>Análises de tamanho e potencial zeta – Zetasizer Nano ZS90</i>		
	<b>Proposto por:</b> Francisco L. S. Bustamante	<b>Analisado por:</b>	<b>Aprovado por:</b> Célia M. Ronconi

## 7. HISTÓRICO DE REVISÕES

### 7.1. Primeira edição / versão 0

## ANEXOS

### Anexo 01 – Especificações da unidade ótica

Tabela 4 Especificações de cada tipo de medida

Tipo de medida	Parâmetro	Especificação
<b>Tamanho</b>	Faixa (diâmetro)	0,3 nm – 5 µm
	Volume mínimo da amostra	20 uL
	Concentração mínima (proteína)	10 mg/mL proteína de 15 kDa
	Ângulo de medida	13° e 90°
	Técnica de medida	DLS
<b>Potencial zeta</b>	Sensitividade	10 mg/mL proteína 66 kDa
	Faixa potencial zeta	> +/- 500 mV
	Faixa mobilidade	> +/- 20 µ.cm/V.s
	Concentração máxima	40 % m/v
	Volume mínimo da amostra	20 µL (com barreira de difusão)
	Condutividade máxima da amostra	200 mS/cm
	Exatidão da condutividade	+/- 10 %
<b>Massa molar</b>	Técnica de medida	M3 – PALS
	Faixa (estimada por DLS)	1000 Da a 2 x 10 <sup>7</sup> Da
	Faixa (calculada por plot de Debye)	10000 Da a 2 x 10 <sup>7</sup> Da
	Técnica de medida	Espalhamento estático da luz

Tabela 5 Especificações do laser

<b>Classe do laser (produto)</b>	Classe 1
<b>Classe do laser (quando aberto)</b>	Classe 3R
<b>Atenuação do laser</b>	Automática, transmissão de 100 % a 0,0003 %
<b>Tipo do laser</b>	Laser de gás He-Ne
<b>Potência máxima</b>	4 mW
<b>Diâmetro do feixe</b>	0,63 mm (1/e <sup>2</sup> )
<b>Divergência do feixe</b>	1,5 mrad
<b>Comprimento de onda do feixe</b>	632,8 nm
<b>Detector</b>	Fotodiodo Avalanche, Q.E. > 50 % em 633 nm
<b>Controle de condensação</b>	Dispositivo de purga utilizando ar seco

<b>Código:</b> POP-LAMATE-003	<b>Data de aprovação:</b> 04/11/2014	<b>Revisão:</b> 0	<b>Página 13 de 13</b>
----------------------------------	---	----------------------	------------------------