

Manuale Fluoromax Plus HORIBA in breve

1) Accensione strumento

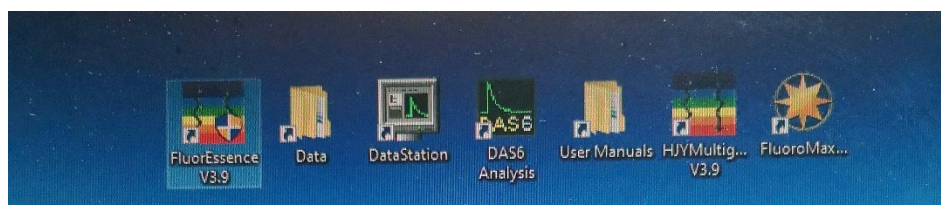
Il pulsante di accensione dello spettrofluorimetro è posizionato nella parte inferiore destra dello strumento. Quando lo strumento viene acceso lo strumento esegue una serie di test di auto diagnosi e quindi la lampada ad arco di xenon si accende. HORIBA raccomanda di lasciare la lampada accesa durante brevi periodi di inattività, in quanto ogni operazione di accensione corrisponde, in termini di usura della lampada, a circa un'ora di funzionamento.

Una volta acceso lo strumento è possibile accendere il computer di gestione dello strumento.

La password del computer che gestisce lo spettrofluorimetro è "horiba"

2) Acquisizione degli spettri

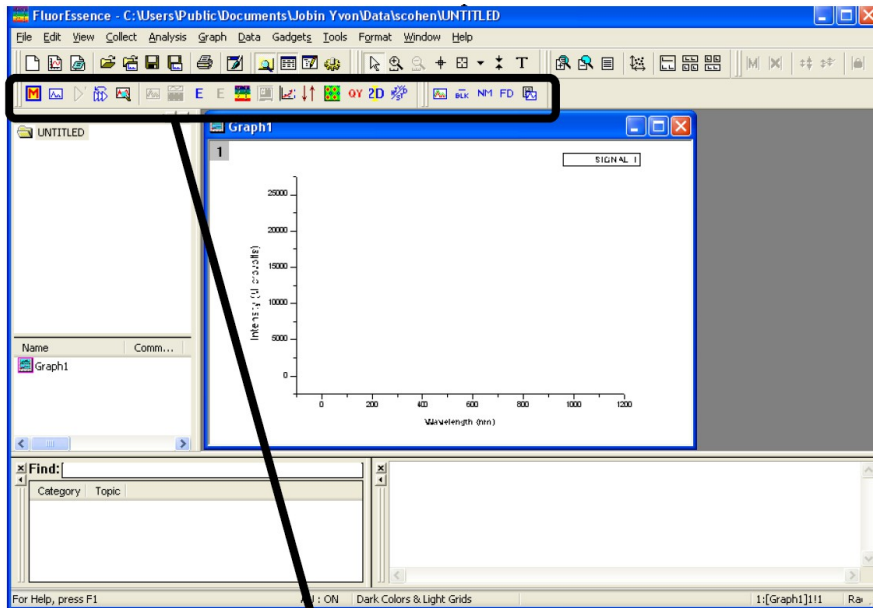
Una volta acceso lo strumento ed il computer selezionare sul desktop del PC l'icona del programma di gestione dello strumento, **FluorEssence™ V3.9**



Le altre icone sono: Data, link alla cartella condivisa dove di default lo strumento salva i dati acquisiti; DataStation e DAS6 Analysis sono i programmi di acquisizione ed analisi delle misure risolte nel tempo (decadimento di fluorescenza); User Manuals è la directory in cui sono contenuti i manuali dello strumento e di tutti i software di gestione dello strumento e di elaborazione dati; HJYMultigroup V3.9 è un software dedicato per misure specifiche di calcio intracellulare; FluoroMax permette di accendere e spegnere la lampada allo xenon.

ATTENZIONE: I software di gestione dello strumento e per l'elaborazione dei dati hanno bisogno di una chiave hardware per poter girare sul computer. Hanno necessariamente bisogno di trovare collegata al computer la **chiavetta USB** presente sul retro del computer, che quindi non va **MAI RIMOSSA**.

A questo punto si apre il programma che presenta la seguente finestra di dialogo



Appare subito evidente la somiglianza con la schermata di Origin, infatti il software di gestione dello strumento è costruito sul pacchetto Origin (in particolare la versione 8), e non è altro che una versione customizzata da Horiba-Jobin Yvon, per la gestione dello strumento e l'acquisizione degli spettri. Il box in grassetto mette in evidenza la barra dei comandi per la gestione dell'esperimento.

L'icona più importante di tutte è la seguente



Cliccando su questa icona si accede al setup dell'esperimento: è possibile scegliere il tipo di esperimento da effettuare. Solamente nella prima accensione della giornata il software chiede quale configurazione hardware si vuole caricare, se quella **Fluoromax DSS** o quella **Fluoromax R928P**. Abbiamo 10 secondi di tempo per scegliere la configurazione, se non viene operata nessuna scelta dall'operatore viene effettuata la scelta di default che è quella Fluoromax R928P, quella più comunemente usata, quella che permette di fare esperimenti sia di eccitazione che di emissione di fluorescenza nell'UV e visibile. La configurazione Fluoromax DSS è per poter utilizzare il rivelatore a stato solido per le misure di fluorescenza IR.

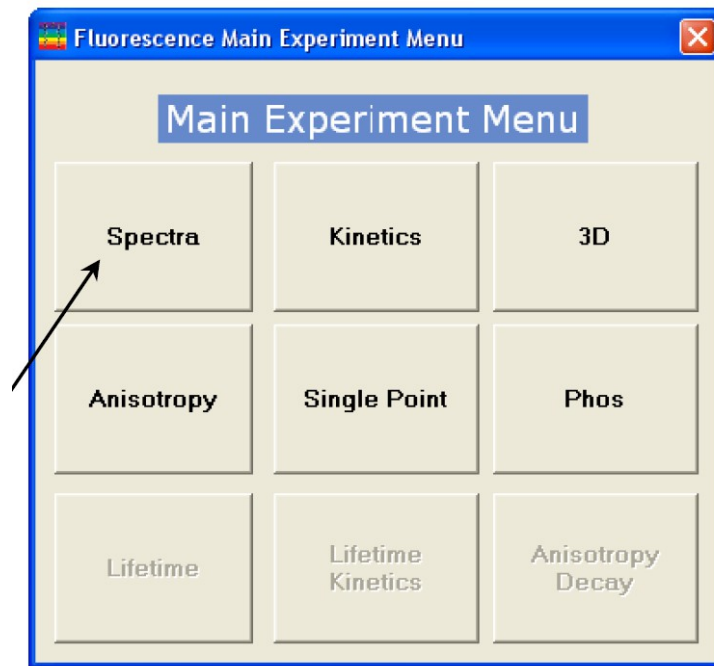
Scegliete quindi la configurazione Fluoromax R928P, oppure lasciate passare i dieci secondi di tempo.

Il software apre il pannello di controllo dei parametri dell'esperimento utilizzato l'ultima volta, quindi questo può essere o misure di eccitazione di fluorescenza, oppure di emissione. Se la

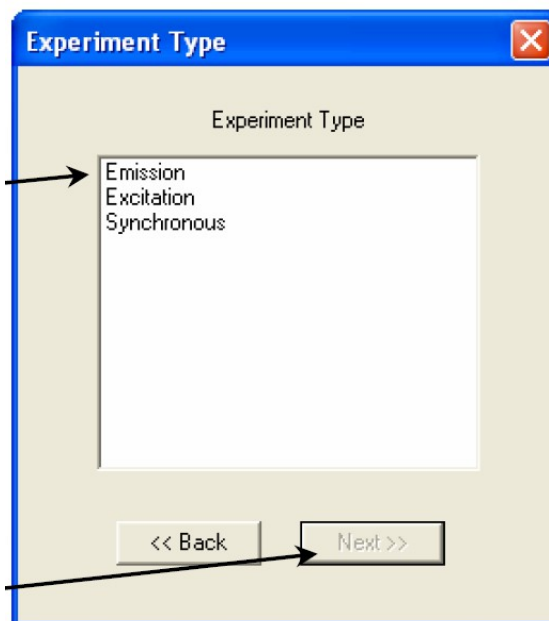


configurazione non dovesse andare bene, utilizzando il pulsante si può cambiare la configurazione.

Appare quindi il pannello di scelta del main experiment menu

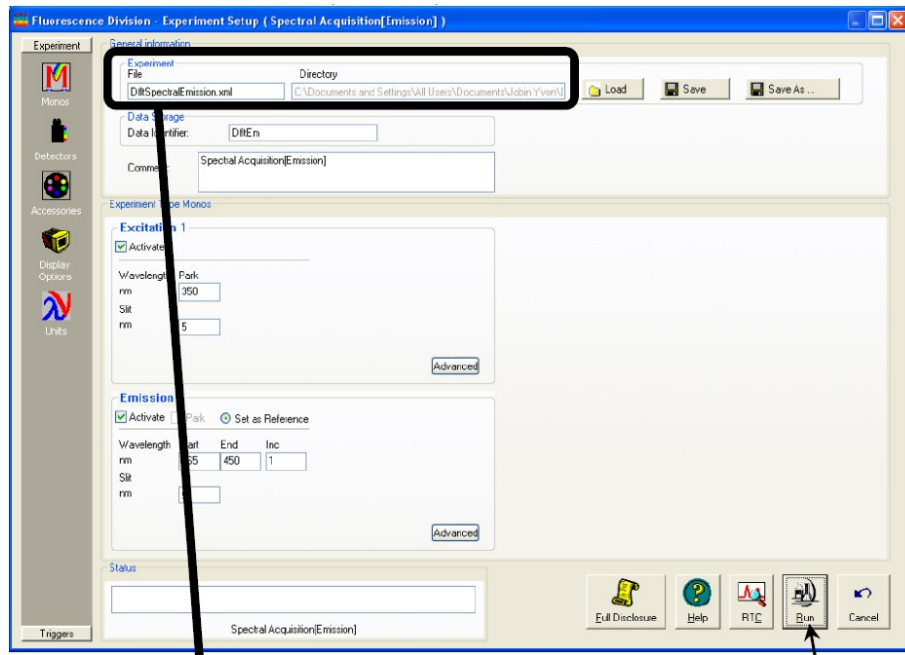


Fare click su **Spectra** ed appare una finestra in cui è possibile scegliere il tipo di esperimento da effettuare



Scegliendo "**Emission**" il software carica le impostazioni tipiche per un esperimento di emissione di fluorescenza, quindi dovrà poi essere selezionata una lunghezza d'onda di eccitazione ed un intervallo di lunghezze d'onda per l'acquisizione dello spettro di emissione. Scegliendo "**Excitation**" il software carica le impostazioni per un tipico esperimento di misura dello spettro di eccitazione di fluorescenza, quindi dovrò poi impostare la lunghezza d'onda fissa a cui acquisisco il segnale di fluorescenza, e l'intervallo di scansione della radiazione di eccitazione.

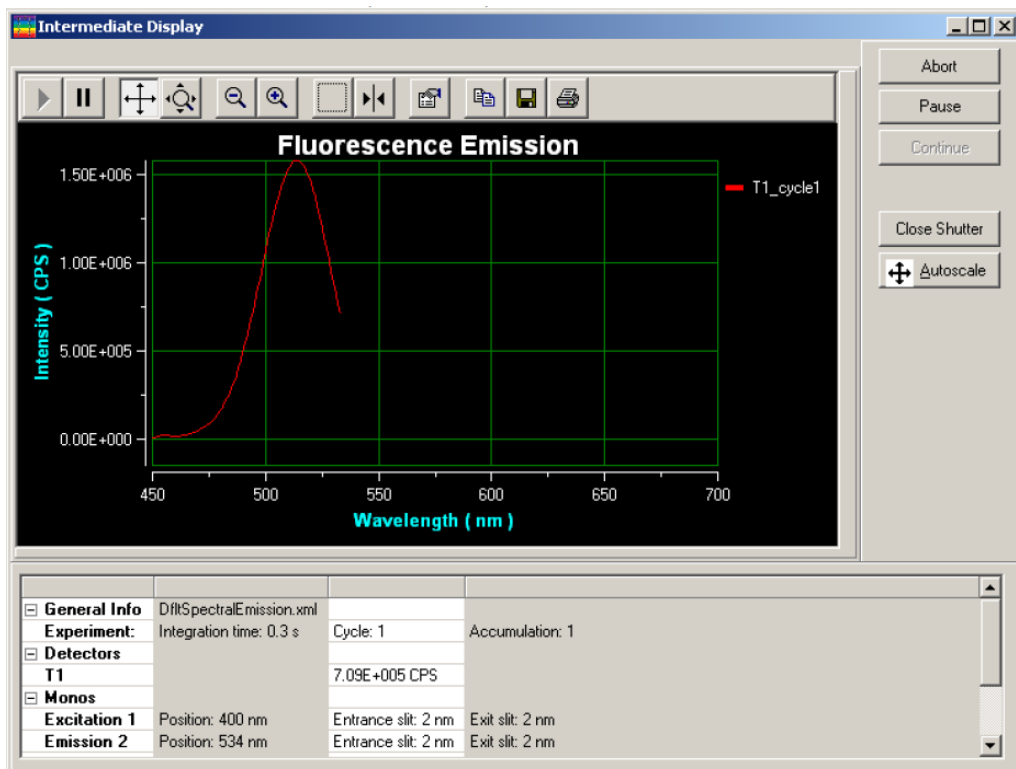
Supponiamo di voler registrare uno spettro di emissione di fluorescenza, selezioniamo "Emission" e si apre questa schermata



In alto a sinistra possiamo scegliere il nome del file che andremo ad acquisire. Selezioniamo poi i parametri sperimentali, sia per quanto riguarda la lunghezza d'onda di eccitazione che per quanto riguarda l'intervallo di lunghezze d'onda da andare ad acquisire in emissione. In questa schermata è possibile andare anche a selezionare la larghezza delle fenditure dei due monocromatori, quello di eccitazione e quello di emissione, in termini di banda passante (nm).

Accertarsi che tutti i parametri siano corretti, quindi fare click sul pulsante "Run", in basso a destra.

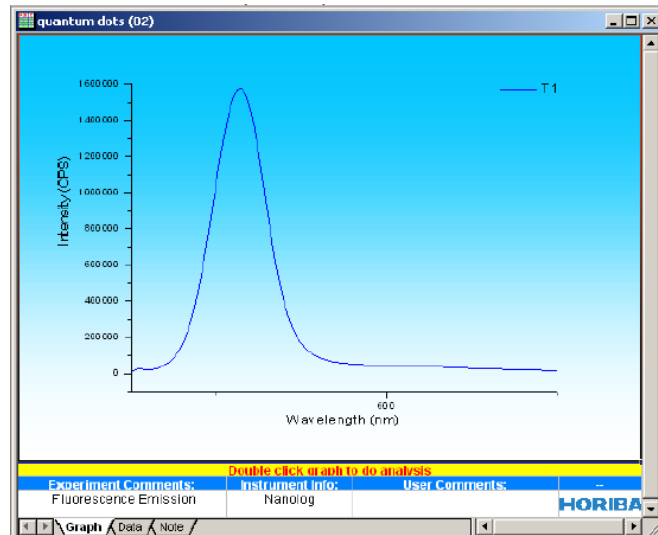
Lo spettro parte e si apre la seguente finestra a video



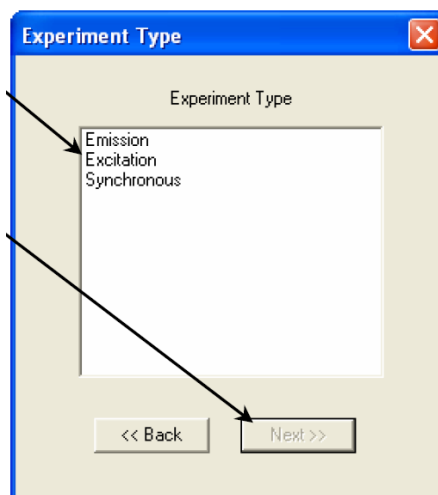
Il massimo numero di conteggi di fotoni al secondo in cui il rivelatore (un tubo fotomoltiplicatore) ha ancora una risposta lineare è di 2.000.000 cps. Se il valore misurato dovesse essere maggiore è consigliabile chiudere le fenditure, in modo da diminuire l'intensità della radiazione che raggiunge il rivelatore.

In caso di prima misura nel progetto Origin, al termine della scansione il programma chiede di assegnare un nome al progetto Origin che viene creato.

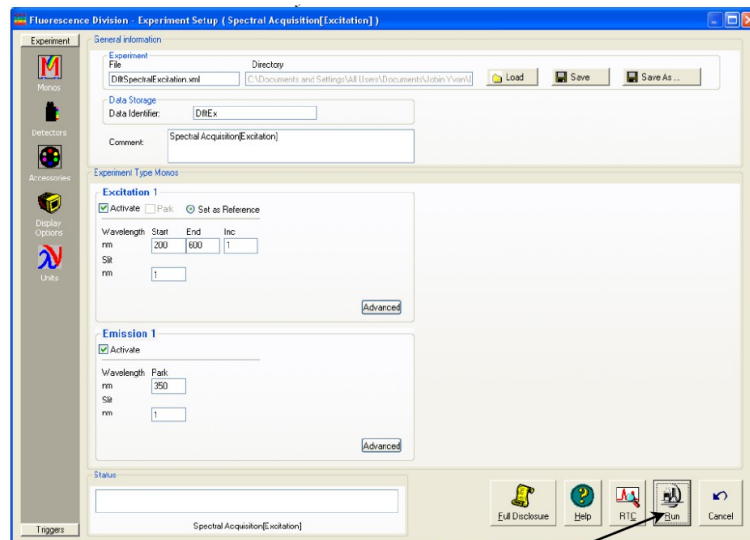
Il programma crea, all'interno del progetto Origin una struttura di tipo Embedded Graph in cui è contenuta tutta l'informazione relativa allo spettro registrato



Nel caso invece di voler registrare uno spettro di eccitazione di fluorescenza, sempre scegliendo l'opzione Spectra, all'interno del menu sperimentale principale, si deve scegliere l'opzione Excitation



Si apre quindi la seguente finestra dove è possibile selezionare i parametri voluti per l'esperimento



Quindi selezionando il pulsante Run parte la registrazione dello spettro.

3) Spegnimento dello strumento

Chiudere il programma di gestione dello strumento, FluoroEssence. A questo punto è possibile spegnere l'interruttore generale del FluoroMax Plus.