# GUIDA OPERATIVA ALL'UTILIZZO DELLO SPETTROFOTOMETRO UV-VIS-NIR LAMBDA 750

LISTA DI DISTRIBUZIONE:

| |
|---|
| La presente SOP verrà inserita nella piattaforma di Dipartimento SCVSA-SERVIZI e sarà accessibile a tutti gli utenti |

| PREPARATO | DATA | VERIFICATO | DATA | APPROVATO | DATA |
|---|---|---|---|---|---|
| Dr. Bonati Beatrice | 06/20 | Prof. Tegoni Matteo | 12/20 | Prof. Corradini Roberto | 12/20 |

**INDICE**


1. **INTRODUZIONE**
2. **SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE**
3. **RIFERIMENTI**
4. **DEFINIZIONI E ABBREVIAZIONI**
5. **QUALIFICA DEL PERSONALE**
6. **PARAMETRI AMBIENTALI**
7. **MATERIALI E APPARECCHIATURE DA UTILIZZARE**
8. **MODALITA' OPERATIVE**
   - 8.1. **PRENOTAZIONE**
   - 8.2. **AVVIO STRUMENTO**
     - 8.2.1. Calibrazione
     - 8.2.2. Allineamento raggio
   - 8.3. **ANALISI**
     - 8.3.1. Impostazione misura
     - 8.3.2. Acquisizione spettri
     - 8.3.3. Data Processor Viewer (DPV) ed elaborazione dati
     - 8.3.4. Salvataggio ed esportazione dati
   - 8.4. **SPEGNIMENTO**
9. **PRESCRIZIONI DI SICUREZZA**
10. **ALLEGATO I - ISTRUZIONI OPERATIVE DI SICUREZZA**

## 1. INTRODUZIONE

La spettrofotometria UV-Visibile-NIR è una tecnica di analisi che consente di misurare l'assorbimento di una radiazione elettromagnetica da parte di un campione. Essendo l'assorbimento elettromagnetico specie-specifico a determinate lunghezze d'onda (ε) e avendo esso un andamento lineare rispetto alla concentrazione (Legge di Lambert-Beer), questa tecnica consente un'analisi sia qualitativa che quantitativa delle sostanze in esame. In particolare, lo spettrofotometro UV-Visibile-NIR consente di irradiare il campione alle lunghezze d'onda corrispondenti all'ultravioletto (190-380 nm), alla luce visibile (380-800 nm) ed al vicino infrarosso (800-3000 nm), fornendo un ampio intervallo spettrale di indagine.

## 2. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

La presente procedura ha lo scopo di indicare le modalità operative per l'utilizzo dello spettrofotometro Perkin-Elmer UV-Vis-NIR Lambda 750, ubicato nel laboratorio di spettrofotometria del l'Edificio di Chimica (13.01.1.078). Può essere utilizzata come documento di consultazione dagli operatori autorizzati per un corretto uso dello strumento.

Lo spettrofotometro Perkin-Elmer UV-Vis-NIR Lambda 750 è stato acquisito dal Dipartimento SCVSA nell'ambito del finanziamento "Dipartimenti di eccellenza 2017" e pertanto le sue modalità di gestione, accesso, fruizione e funzionamento fanno capo al Regolamento per l'utilizzo delle attrezzature acquisite mediante il finanziamento "Dipartimenti di eccellenza 2017".

## 3. RIFERIMENTI

- UNI EN ISO 9001: 2008 "Sistemi di gestione per la qualità";
- UNI CEI EN ISO/IEC 17025: 2005 "Requisiti generali per la competenza dei laboratori di prova e di taratura";
- PG 01.03.13 "Gestione degli Strumenti" Dipartimento di Scienze Chimiche, della Vita e della Sostenibilità Ambientale. Università di Parma;

- Regolamento per l'utilizzo delle attrezzature acquisite mediante il finanziamento "Dipartimenti di eccellenza 2017";
- D. Lgs. 81/2008 "Testo unico in materia di salute e sicurezza nei luoghi di lavoro" https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2008/04/30/008G0104/sg;
- DM 363/1998 "Regolamento recante norme per l'individuazione delle particolari esigenze delle Università e degli istituti di istruzione universitaria ai fini delle norme contenute nel Decreto Legislativo 19 settembre 1994, n.626, e successive modificazioni ed integrazioni" https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/1998/10/21/098G0414/sg;
- Sistema di gestione UniPR per la Sicurezza del Lavoro https://www.unipr.it/spp;
- Manuale d'uso spettrofotometro Perkin Elmer UV-Vis-NIR Lambda 750.

## 4. DEFINIZIONI E ABBREVIAZIONI

- **RADRL**: Responsabile dell'Attività Didattica e di Ricerca del Laboratorio o Responsabile dell'attività;
- **Responsabile dello strumento**: docente tra i Membri del Dipartimento, designato dal Consiglio di Dipartimento, a cui fare riferimento e che supervisiona e coordina la gestione dello strumento. **Per lo spettrofotometro Lambda 750 il Responsabile dello strumento è il Prof. Tegoni Matteo**;
- **Tecnico di riferimento**: tecnico che opera nella gestione e manutenzione dello strumento secondo le indicazioni fornite dal Responsabile dello stesso. **Per lo spettrofotometro Lambda 750 il Tecnico di riferimento è la Dr.ssa Bonati Beatrice**;
- **Operatore**: personale del Dipartimento identificato dal Responsabile dello strumento ed abilitato in quanto adeguatamente addestrato all'utilizzo dello strumento;
- **SCVSA**: Scienze Chimiche, della Vita e della Sostenibilità Ambientale;
- **A**: assorbanza;
- **ε**: Assorbanza specifica molare (anche detto Coefficiente di estinzione molare). Specifico per ogni sostanza ad una lunghezza d'onda;

- **d**: cammino ottico. Spessore della soluzione attraversata dal raggio;
- **Legge di Lambert-Beer**: A = εCd; legge matematica che descrive l'andamento dell'assorbimento delle sostanze;
- **Cuvetta**: recipiente contenente la soluzione campione che verrà irradiata;
- **Cuvetta macro**: cuvetta standard, con capacità di circa 3,5 mL (Fig. 1a, a sinistra);
- **Cuvetta semi-micro**: cuvetta a volume ridotto rispetto ad una cuvetta macro (Fig. 1a). Il comparto di accoglimento della soluzione si restringe lateralmente rispetto alla direzione del raggio. Esso ha quindi un volume ridotto rispetto a quello della cuvetta macro (a parità di d) e raggiunge quantità massime di circa 1,5 mL;
- **Cuvetta micro**: cuvetta con volume ridotto rispetto ad una cuvetta macro e ad una cuvetta semi-micro (Fig. 1a). A parità di d il volume raggiunge quantità massime di circa 0,7 mL;
- **Cuvette oscurate**: cuvette in materiale opaco alla trasmissione della radiazione (in genere di colore nero, Figura 1b).

**(a)** **(b)**


**Fig. 1 – Tipologie di cuvette. (a)** Da sinistra, cuvetta macro, micro e semimicro. **(b)** Cuvetta micro oscurata.

## 5. QUALIFICA DEL PERSONALE

L'utilizzo dello spettrofotometro è riservato a personale abilitato, preventivamente formato tramite apposito corso di utilizzo, ed autorizzato dal Responsabile dello strumento e dal proprio

RADRL. L'abilitazione viene rilasciata in seguito ad apposito corso di utilizzo tenuto dal Tecnico di riferimento o dal Responsabile dello strumento.

Il RADRL accerta che l'operatore che si accinge ad utilizzare lo spettrofotometro sia stato formato ed abilitato.

**È cura e obbligo dell'operatore informare tempestivamente il Tecnico di riferimento o il Responsabile dello strumento in caso di qualsiasi imprevisto o necessità, in particolare sospetti malfunzionamenti o postazioni di lavoro trovate in situazione di disordine al momento dell'accesso allo strumento.**

Lo strumento è prenotabile solo attraverso la piattaforma SCVSA-SERVIZI, pertanto solo da coloro che ne hanno utenza. Inoltre, chi prenota deve avere accesso a fondi economici, il cui capitolo di imputazione va specificato in fase di prenotazione.

## 6. PARAMETRI AMBIENTALI

Lo strumento non necessita di particolari parametri ambientali, tuttavia il suo utilizzo ottimale avviene nel range di temperatura di 15-35 °C e di valori di umidità relativa compresi tra il 20 e 80%, priva di condensa.

## 7. MATERIALI E APPARECCHIATURE DA UTILIZZARE

Per l'utilizzo dello spettrofotometro è necessario munirsi di cuvette di dimensioni esterne non superiori a 1 cm per ogni lato, di materiale, capacità e cammino ottico diversi a seconda delle necessità (range di misura, quantità di campione a disposizione, concentrazione). Le cuvette non sono in dotazione comune allo strumento. Per questo spettrofotmetro è possibile utilizzare cuvette macro e semimicro (Fig. 1). **Le cuvette micro sono idonee solo se oscurate (Fig. 1b).** A seconda della tipologia, potrebbe essere necessario modificare la posizione del raggio incidente effettuandone l'allineamento (par. **8.2.2**). Indipendentemente dalla sostanza che si vuole analizzare,

è vietato utilizzare cuvette senza tappo, onde evitare sversamenti inopportuni che possono risultare dannosi per la salute dell'operatore e per lo strumento.

Nei pressi dello strumento è a disposizione uno spazio per le operazioni di lavoro. Tale postazione è dotata di materiale di consumo di prima necessità (guanti, acqua distillata, pipette Pasteur), tuttavia è opportuno che ogni utente sia munito di tutto il necessario per eseguire, in sicurezza, tutte le operazioni da effettuare in loco. Questo materiale deve essere rimosso dalla postazione di lavoro al termine della sessione di lavoro.

## 8. MODALITA' OPERATIVE

### 8.1 PRENOTAZIONE

Lo strumento è utilizzabile solo su prenotazione. Questa viene effettuata tramite il portale di dipartimento SCVSA-SERVZI al link https://scvsa-servizi.campusnet.unipr.it/do/dotazioni.pl/Show?_id=0slj.

Per potere prenotare è necessario possedere un'utenza presso la piattaforma ed accedervi con le proprie credenziali.

### 8.2 AVVIO STRUMENTO

- Accendere lo strumento con l'apposito pulsante posto sopra (lato destro) **almeno 20 minuti prima** di iniziare ad acquisire gli spettri;
- Accendere il pc;
- Avviare il software di gestione dello spettrofotometro (UV WinLab) ed entrare nel proprio account. Per ogni gruppo di ricerca che possiede almeno una persona con abilitazione viene creato un solo account, intestato al proprio RADRL;

#### 8.2.1 Calibrazione

Lo strumento è impostato per richiedere una calibrazione con cadenza mensile. Se in questo arco temporale nessun operatore vi ha preceduti, all'avvio del software comparirà una finestra che ve ne richiederà l'avvio automatico. Procedere cliccando su "Ok".

In caso di necessità è possibile operare una calibrazione manuale, a cui procederà il Tecnico di riferimento sotto specifica richiesta da parte dell'operatore interessato.

### 8.2.2 Allineamento raggio

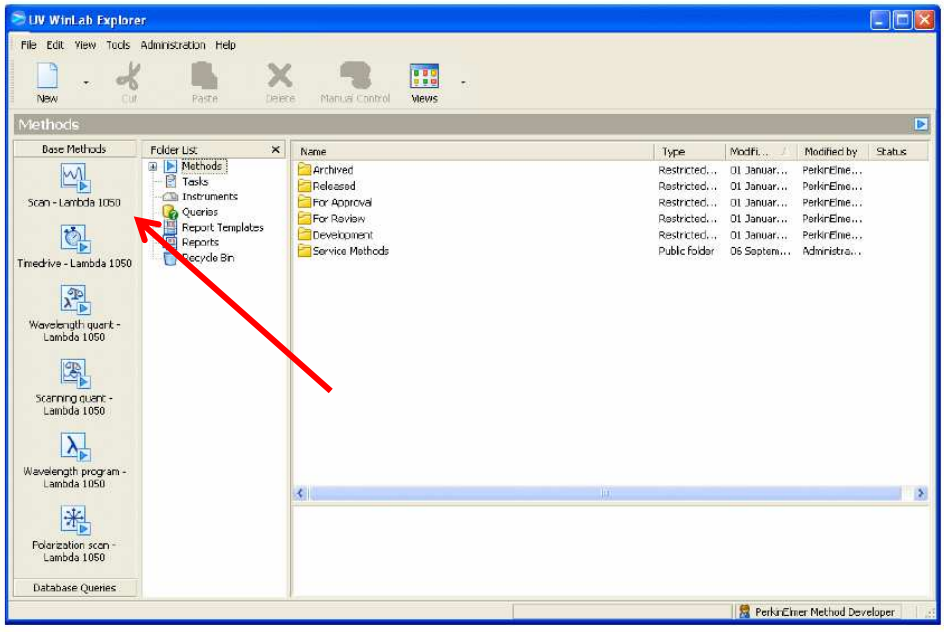
Con l'utilizzo di cuvette semi-micro non oscurate (Fig. 1a, a destra) potrebbe essere necessario agire sulla regolazione dell'alloggiamento delle cuvette, così da verificare ed eventualmente garantire che la soluzione venga attraversata correttamente dal raggio incidente. L'operazione di allineamento del raggio non può essere effettuata dagli utenti, pertanto chi ne avesse necessità deve contattare il Responsabile dello strumento o il Tecnico di riferimento.

## 8.3 ANALISI

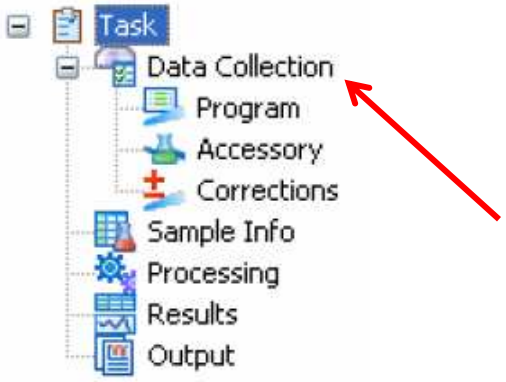
Lo strumento è dotato di numerose applicazioni che lo rendono in grado di acquisire spettri in diverse modalità. In questo documento verrà illustrata la procedura standard di monitoraggio della lunghezza d'onda; per le altre più specifiche funzioni si rimanda al manuale d'uso del software, presente in formato elettronico sul desktop del pc a cui è collegato lo strumento.

### 8.3.1 Impostazione misura

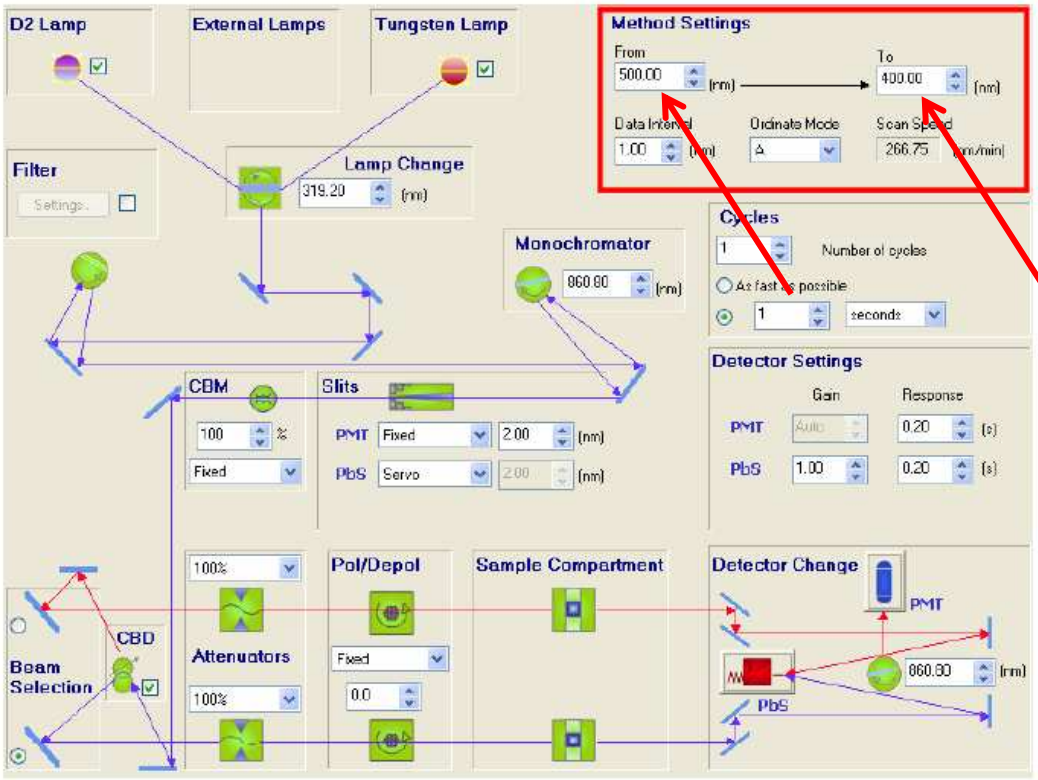
Una volta avviato il software, nella colonna di tasti rapidi a sinistra ("Base Methods") è possibile scegliere la metodologia di acquisizione a disposizione. Cliccare su "Scan-Lambda 750 new".




Per procedere con l'impostazione della misura tenere come riferimento il menù "Task" presente nel riquadro sulla sinistra della finestra successiva.




- Scegliere "Data collection" per aprire la pagina di impostazione misura;
- Modificare il range di lunghezza d'onda di acquisizione (in alto a destra), oltre ad altri parametri selezionabili che si raccomanda di modificare con accortezza e solo se necessario;




- Cliccare su "Sample info". Da qui è possibile gestire il lavoro tramite le finestre "Sample" e "Graphs", spostandosi dall'una all'altra selezionandole. In particolare:

- rimanere nella finestra "Sample" per compilare l'elenco dei campioni e nominarli. L'elenco dei campioni rimane modificabile per tutta la seduta di lavoro;
- rimanere nella finestra "Graphs" per visualizzare gli spettri acquisiti o in acquisizione.

### 8.3.2 Acquisizione spettri

Lo strumento possiede due alloggiamenti per cuvette paralleli, lavorando in modalità doppio raggio. Tuttavia è possibile anche l'utilizzo in modalità singolo raggio.

Per acquisire gli spettri tenere come riferimento i pulsanti presenti nella barra degli strumenti posizionata nella parte alta della schermata.

Per misure a doppio raggio:

- Cliccare su "Autozero" senza inserire cuvette negli alloggiamenti;
- Posizionare la cuvetta del riferimento nella postazione più vicina all'operatore e la cuvetta del campione nella postazione rimanente, ovvero quella più lontana all'operatore;
- Cliccare su "Start"

Per misure a singolo raggio, utilizzare solo la postazione vicina all'operatore:

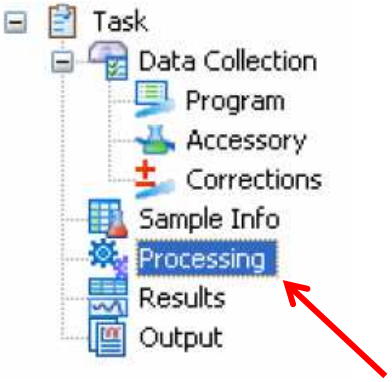
- Caricare la cuvetta del riferimento nella postazione vicina all'operatore;
- Cliccare su "Autozero"
- Togliere la cuvetta del riferimento dall'alloggiamento e sostituirla con quella del campione;
- Cliccare su "Start"

È possibile interrompere l'acquisizione in ogni momento cliccando su "Stop"

### 8.3.3 Data Processor Viewer (DPV) ed elaborazione dati

Lo strumento possiede in dotazione il programma Data Processor & Viewer (il cui collegamento è a disposizione sul Desktop del pc), dedicato alla gestione dei dati ed abbinato a quello di acquisizione (UV WinLab). Da qui è possibile visualizzare, elaborare, modificare, salvare ed esportare spettri già esistenti. Il programma consente anche l'esportazione degli spettri in numerosi formati oltre all'originale (.sp), ovvero .asc, .csv, .dx. Consente, inoltre, di copiare uno o più spettri per incollarlo/i in un documento, o in un programma di elaborazione immagini, tramite il comando "Copia negli appunti", che compare cliccando con il tasto destro del mouse su un punto qualsiasi dello sfondo dello spettro acquisito ed in visualizzazione.

Sono tuttavia disponibili numerose elaborazioni matematiche anche dal software di acquisizione (UV WinLab), accessibili tramite il comando "Processing" presente nel menù "Task" nel riquadro di sinistra.




### 8.3.4 Salvataggio ed esportazione dati

Il programma consente di salvare "Task" (cartella di lavoro, con gli spettri acquisti) e metodo (ambiente di lavoro, senza gli spettri acquisiti), e di esportare gli spettri in varie estensioni.

Per salvare un "Task" si procede da "File" e poi "Save Results". Si può scegliere se aggiornare un Task esistente ("To Task") o salvarne uno nuovo ("New Task").

Per salvare un metodo si procede da "File" e poi "Save Settings". Si può scegliere se aggiornare un metodo esistente ("To Method") o salvarne uno nuovo ("New Method").

L'esportazione degli spettri può avvenire attraverso varie modalità.

Per esportare gli spettri **SINGOLARMENTE** ed in estensione originale **(.sp) o ASCII**:

- Cliccare con il tasto desto del mouse direttamente sullo spettro o sul riquadro riassuntivo in basso e selezionare "Save as";
- Scegliere l'estensione desiderata.

Per esportare **PIÙ SPETTRI CON UN'UNICA OPERAZIONE** ed in estensione originale **(.sp), ASCII e .csv (questa operazione consente l'esportazione anche dello spettro del riferimento)**:

- Da "File" cliccare su "Export";
- Dalla finestra riassuntiva selezionare gli spettri che si desidera esportare ed indicare in quale estensione.

È possibile esportare i dati anche utilizzando il programma **Data Processor Viewer**, che fornisce ulteriori possibilità di azione (par. 8.3.3). Tramite il comando "Send to DPV", selezionabile dal menù "File" o dal corrispondente tasto rapido presente nella parte alta della schermata, si riesce ad inviare i dati direttamente da un programma all'altro.

### 8.4 SPEGNIMENTO

Al termine della seduta di lavoro:

- Chiudere il software (UV WinLab);
- Spegnere lo strumento tramite l'apposito pulsante posto in alto sul lato destro;
- Compilare obbligatoriamente il registro di utilizzo digitale, presente come file excel sul desktop;
- Spegnere il pc.

Inoltre, prima di allontanarsi gli operatori sono tenuti a:

- Controllare che non siano rimaste cuvette all'interno dello strumento;
- Pulire e riordinare adeguatamente la postazione di lavoro, rimuovendo ogni materiale che non fosse nella dotazione standard della postazione;
- Avvisare il Tecnico di riferimento nel caso in cui fosse esaurito il materiale di consumo a disposizione.

## 9. PRESCRIZIONI DI SICUREZZA

Tutte le operazioni descritte devono essere eseguite utilizzando gli idonei Dispositivi di Protezione Individuale obbligatori in laboratorio (guanti in nitrile, camice e occhiali para-schizzi) e comunque seguendo le indicazioni presenti nel documento al seguente link https://www.unipr.it/sites/default/files/allegatiparagrafo/07-02-2018/ios_03_spettrofot_uv-vis.pdf ed allegato alla presente SOP (Allegato I) . Tutte le operazioni che prevedono la manipolazione di prodotti chimici devono essere effettuate utilizzando la cappa aspirante a disposizione nel laboratorio ad uso comune (13.01.1.076) adiacente a quello in cui è posizionato lo strumento, rispettando le comuni norme di sicurezza previste dagli atti normativi (D. Lgs. 81/2008, DM

363/1998) e dagli atti interni di riferimento (sistema di gestione sicurezza, Documento di Valutazione dei Rischi). Si raccomanda l'utilizzo di tappi per le cuvette; questi devono essere a tenuta se si utilizzano solventi bassobollenti. È necessario inoltre comunicare in anticipo al Responsabile dello strumento (comunque prima dell'inizio della sessione di lavoro) l'eventuale intenzione di utilizzare solventi o sostanze che possono produrre vapori tossici o corrosivi.

Documentazione di riferimento per la sicurezza in laboratorio: https://www.unipr.it/node/21590.

# ALLEGATO I

# IOS.03 SPETTROFOTOMETRO UV-Visibile o IR

Lo spettrofotometro è una strumentazione di laboratorio utilizzata in chimica analitica e nelle discipline affini per il riconoscimento delle sostanze in base allo spettro di assorbimento nel campo del visibile e della radiazione UV o IR.

## FATTORI DI RISCHIO

- Impiego di agenti chimici (**contatto/inalazione**)
- Radiazioni non ionizzanti e UV (**lesioni oculari**)
- Rotture accidentali delle provette (**tagli, esposizione ad agenti biologici e chimici)**

## PROCEDURA DI SICUREZZA

### PRIMA DELL'UTILIZZO

- Al primo utilizzo leggere attentamente le istruzioni di sicurezza fornite dal costruttore.
- Indossare i DPI necessari.
- Durante le operazioni di inizializzazione dello strumento (e di eventuale riscaldamento della lampada) assicurarsi che lo sportello di accesso al campionatore sia perfettamente chiuso.
- Non aprire lo sportello di accesso al campionatore se le fasi di inizializzazione dello strumento (e di eventuale riscaldamento della lampada) non sono terminate.

### DURANTE L'UTILIZZO

- Segnalare tempestivamente eventuali malfunzionamenti o guasti: spegnere la strumentazione avvisare il Responsabile del Laboratorio.
- Negli strumenti ove dovesse risultare accessibile la sorgente di radiazione, risulta sempre indispensabile schermare opportunamente l'emissione e limitare l'irraggiamento al solo campione.
- Chiudere sempre opportunamente le cuvette prima di Inserirle nell'apposito supporto; non procedere all'introduzione del campione nella cuvetta nelle immediate vicinanze della strumentazione, a meno che la stessa non sia localizzata al di sotto di una cappa di aspirazione. La preparazione del campione e della cuvetta deve essere effettuata all'interno di cappa di aspirazione; non riempire la cuvetta quando questa si trova già sul campionatore dello strumento.
- Dopo aver riposto le cuvette nell'apposito supporto, assicurarsi che lo sportello di accesso al campionatore sia perfettamente chiuso.
- Non manomettere di propria iniziativa nessun componente della strumentazione.

### DOPO L'UTILIZZO

- Estrarre le cuvette dall'apposito supporto senza rimuoverne la chiusura.
- Spegnere la strumentazione.
- Procedere ad eventuale pulizia della strumentazione e al riordino della zona di lavoro.

## DISPOSITIVI DI PROTEZIONE INDIVIDUALE

| | | |
|---|---|---|
| | | |
| È obbligatorio indossare indumenti protettivi – M010 | È obbligatorio indossare i guanti protettivi – M009 | È obbligatorio indossare le protezioni degli occhi – M004 |
| | **Guanti in lattice UNI EN 420: 2010**<br>**Guanti per rischio chimico UNI EN ISO 374-1: 2017** | **Occhiali di protezione UNI EN 166:2004** |

## CONTROLLI PERIODICI

| Riferimenti normativi | Tipo di controllo | Periodicità |
|---|---|---|
| D.lgs. 81/08 – Titolo III | **Controlli e manutenzione**<br>**Art. 71 – D.lgs. 81/08** | Come da istruzioni d'uso e libretto di manutenzione |

## NOTE

| |
|---|
| Rimuovere ogni oggetto che possa ostruire la circolazione di aria in prossimità dello strumento. |
| Il piano di lavoro deve essere stabile, con una superficie piana, asciutta e pulita, esente da correnti gassose corrosive e da eccessive vibrazioni. |