GUIDA OPERATIVA ALL'UTILIZZO DELLO SPETTROFOTOMETRO FT-IR SPECTRUM TWO

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. **MODALITÀ OPERATIVE**
   - 8.1. **PRENOTAZIONE**
   - 8.2. **AVVIO**
   - 8.3. **ANALISI**
     - 8.3.1. Impostazione parametri d'acquisizione
     - 8.3.2. Acquisizione del background
     - 8.3.3. Posizionamento del campione in Riflettanza Attenuata **(**ATR**)**
     - 8.3.4. Posizionamento del campione in trasmissione **(**pastiglia di KBr o cella per liquidi**)**
     - 8.3.5. Acquisizione spettri
     - 8.3.6. Elaborazione spettri e funzioni di confronto
     - 8.3.7. Salvataggio spettri
     - 8.3.8. Esportazione dati
   - 8.4. **SPEGNIMENTO**
9. **PRESCRIZIONI DI SICUREZZA**
10. **ALLEGATO I - ISTRUZIONI OPERATIVE DI SICUREZZA**

1. INTRODUZIONE

La spettrofotometria IR a trasformata di Fourier (FT) è una tecnica di analisi che consente di misurare l'assorbimento di una radiazione elettromagnetica infrarossa da parte di un campione permettendone la caratterizzazione tramite l'identificazione di modi di vibrazione associati alla presenza nel composto di specifici gruppi funzionali, o a specifiche geometrie molecolari. In particolare, lo spettrofotometro Perkin Elmer FT-IR Spectrum Two consente di irradiare il campione alle lunghezze d'onda corrispondenti all'infrarosso (400-4000 cm^{-1}). Oltre a lavorare in trasmissione su campioni solidi, lo spettrofotometro è in grado di operare in riflessione attenuata (ATR), permettendo così l'analisi anche di campioni semisolidi e liquidi.

2. SCOPO E CAMPO DI APPLICAZIONE

La presente procedura ha lo scopo di indicare le modalità operative per l'utilizzo dello spettrofotometro Perkin-Elmer FT-IR Spectrum Two, 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 FT-IR Spectrum Two 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 FT-IR Spectrum Two.

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 Spectrum Two 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 Spectrum Two 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;
- **FT-IR**: Infrarosso a Trasformata di Fourier;
- **ATR**: Attenuated Total Reflectance; accessorio che consente di lavorare in modalità di riflessione attenuata.

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.

Data la rapidità delle analisi, l'utilizzo dello strumento non è vincolato a prenotazione. È pertanto indispensabile porre la massima cura nella compilazione del registro di utilizzo.

6. PARAMETRI AMBIENTALI

Lo strumento non necessita di particolari parametri ambientali, tuttavia il suo utilizzo ottimale avviene nell'intervallo 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 lavorare in trasmissione occorre munirsi di pastigliatore o cella per liquidi/soluzioni.

Lo strumento è dotato di accessorio ATR e di portacampioni per acquisire in trasmissione (Fig. 1a e b, rispettivamente).

Nei pressi dello strumento è a disposizione uno spazio per le operazioni di lavoro. Tale postazione è dotata di:

- Etanolo da utilizzare per la pulizia del cristallo e del piatto in cui è inserito, oltre che della punta di compressione del campione;

- Carta non abrasiva (Kleenex), necessaria per la pulizia del cristallo;
- Materiale di consumo di prima necessità (guanti, pipette Pasteur, carta).

Ogni utente che si appresta all'utilizzo dello strumento deve comunque premunirsi 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.

(a) **(b)**

Fig. 1 – Accessori in dotazione per l'acquisizione dei dati. (a) Portacampione per modalità ATR. **(b)** Portacampione per modalità in trasmissione.

8. MODALITÀ OPERATIVE

8.1 PRENOTAZIONE

Data la rapidità delle misure, per utilizzare lo strumento non è necessaria la prenotazione. Tuttavia, qualora il numero di campioni da analizzare sia tale da richiedere l'occupazione dello strumento per più di 1 h, è necessario avvisare per tempo gli utenti segnalando data, ora e prevista durata di occupazione dello strumento; in alternativa, è possibile avvisare il Tecnico di rifermento o il Responsabile dello Strumento.

8.2 AVVIO

- Lo strumento ed il pc annesso sono sempre accesi pertanto, una volta raggiunta la postazione, entrare nel proprio Account Windows. Per ogni gruppo di ricerca che possieda almeno una persona con abilitazione viene creato un solo account, intestato al proprio RADRL;

- Avviare il software di gestione dello spettrofotometro (Spectrum) ed entrare nel proprio account. Anche in questo caso, per ogni gruppo di ricerca che possieda almeno una persona con abilitazione viene creato un solo account, intestato al proprio RADRL (che coincide con l'account Windows).

8.3 ANALISI

8.3.1 Impostazione parametri d'acquisizione

Cliccando sulla casella "Instrument", in alto a destra, in basso verranno visualizzate le impostazioni di analisi. Da qui è possibile modificare i parametri di acquisizione come n. di scansioni, intervallo spettrale di lavoro e definizione. In tutti gli account è stata creata una cartella con directory "Spettri IR" all'interno dei Documenti, nella quale gli spettri si salveranno autonomamente ed automaticamente nella loro estensione originale non appena acquisiti.

8.3.2 Acquisizione del background

Per acquisire il background cliccare su "Background" , avendo prima cura di controllare che il cristallo sia perfettamente pulito.

8.3.3 Posizionamento del campione in Riflettanza Attenuata (ATR)

Lo strumento in condizioni standard monta l'accessorio per acquisire in ATR (Fig. 1a).

L'accessorio possiede 3 punte, eventualmente sostituibili ed inseribili a semplice pressione:

- Punta standard (identificabile tramite un segno rosso). L'utilizzo di questa punta è consigliato in condizioni standard (campioni solidi e semisolidi in quantità sufficienti per consentirne l'analisi). **Va sempre lasciata inserita al termine delle operazioni di lavoro**.
- Punta tronco-conica. È idonea per campioni solidi e semisolidi in limitate quantità in quanto presenta una riduzione della superficie di pressione sul campione. Poiché l'utilizzo di tale punta determina che la pressione gravi solo sul cristallo e non sulla superficie adiacente è opportuno limitarne l'uso quando strettamente necessario.
- Punta cava. È idonea per il contenimento dei campioni liquidi.

Per l'acquisizione dello spettro occorre posizionare il campione sul cristallo, così che questo venga completamente coperto, e successivamente la sua compressione tramite il pistone apposito. Non è necessario abbondare con il campione, rendendo peraltro più difficoltose le operazioni di pulizia. L'abbassamento del pistone avviene tramite la rotazione dell'apposita manopola. Durante la

Preview (par. 8.3.5) il software mostra la quantità relativa di forza impressa; in questa fase è ancora possibile eventualmente modificarla.

8.3.4 Posizionamento del campione in trasmissione (pastiglia di KBr o cella per liquidi)

Per lavorare in trasmissione occorre munirsi di pastigliatore o cella per liquidi/soluzioni.

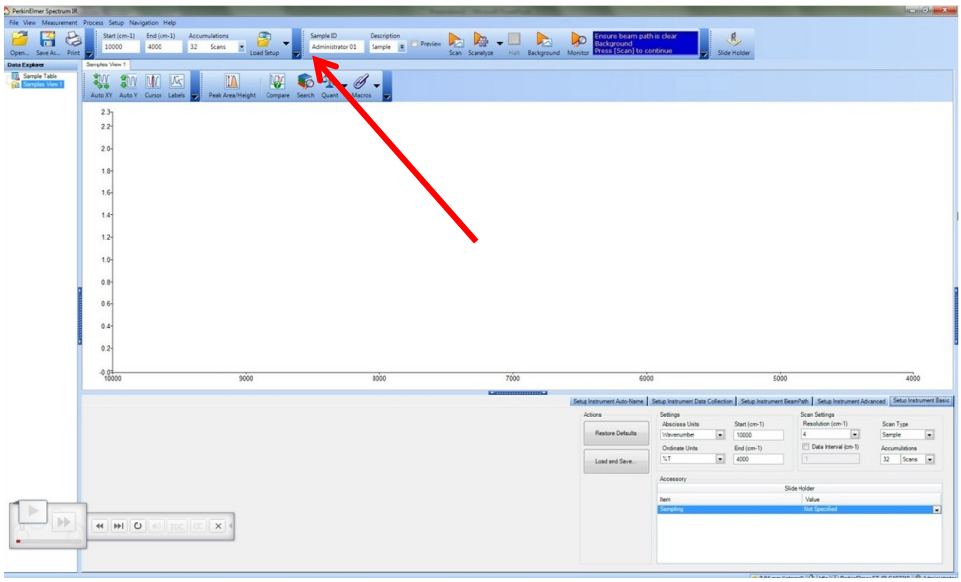
Per acquisire in trasmissione occorre montare il portacampione idoneo (Fig. 1b):

- Con delicatezza, scollegare l'accessorio ATR dallo strumento;
- Incastrare nel vano apposito il portacampione per pastiglie (Fig. 1b);
- Infilare lungo le fenditure del portacampione il sostegno con la pastiglia.

Per la preparazione della pastiglia è disponibile una postazione nella quale è possibile avere accesso ad una pressa.

8.3.5 Acquisizione spettri

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



- Nominare il file nello spazio "Sample ID";
- Cliccare sul tasto "Scan" posizionato a lato. Essendone selezionata la richiesta di default, comparirà una Preview dello spettro, acquisito con una sola scansione e quindi poco definito. Questa può essere molto utile come verifica, per esempio del corretto posizionamento

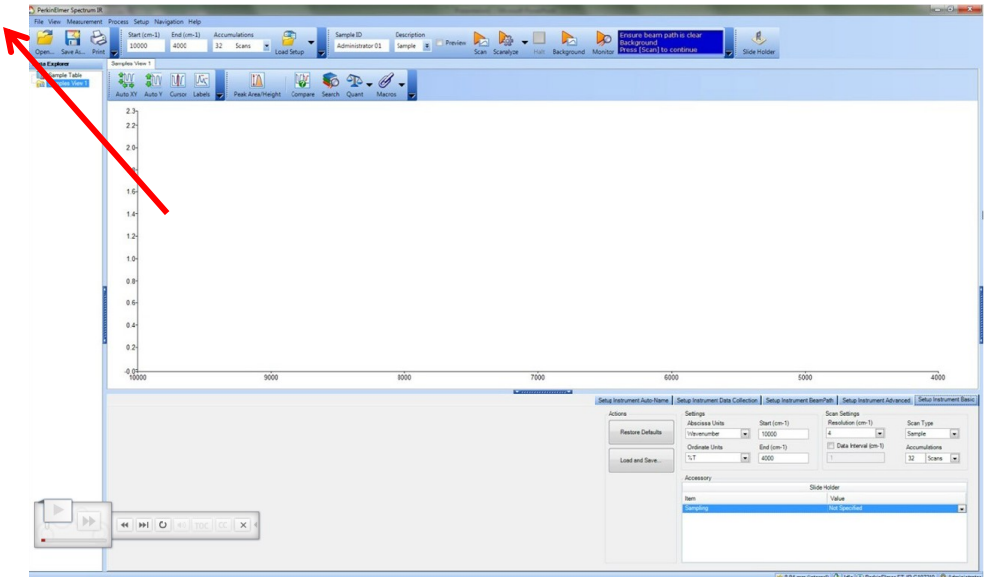
del campione sul cristallo. Se è richiesto il background, il simbolo del pulsante "Scan" viene visualizzato come quello del "Background" ;

- Se la Preview è soddisfacente cliccare di nuovo su "Scan" ed attendere che la percentuale di progressione dell'acquisizione dello spettro, visibile durante la misura tramite una barra a riempimento progressivo, arrivi al 100%.

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

8.3.6 Elaborazione spettri e funzioni di confronto

Il software possiede numerose applicazioni che consentono svariate elaborazioni dei dati e disponibili nel menù "Process" presente nella barra in alto.



Inoltre, è possibile operare un eventuale confronto degli spettri

- con altri spettri precedentemente acquisiti (funzione "Compare")
- con spettri standard presenti nei database della libreria (funzione "Search").

Cliccando sui corrispondenti pulsanti, è possibile avviare i confronti desiderati e modificare i parametri di impostazione nel riquadro visibile ed eventualmente ampliabile che compare nella parte bassa dello schermo.

8.3.7 Salvataggio spettri

Gli spettri vengono automaticamente salvati al termine della loro acquisizione nella cartella indicata come directory nelle impostazioni (par. 8.3.1). In alternativa

- da "File" e poi "Save as" comparirà una finestra di dialogo che consentirà di selezionare e salvare i files nella posizione desiderata. I files vengono salvati con l'estensione originale (.sp), compatibile con il software di lavoro (Spectrum), ma anche con il software Omnic
- cliccare con il tasto destro in un punto qualsiasi dello spettro in visualizzazione e selezionare "Save as binary"

Per ottenere gli spettri in un altro formato è necessario esportare i dati (par. 8.3.8).

8.3.8 Esportazione dati

Gli spettri sono esportabili in estensione originale (.sp, par. 8.3.7) e come dati (.asc). Per esportarli in formato ASCII cliccare con il tasto destro in un punto qualsiasi dello spettro in visualizzazione e selezionare "Save as ASC".

Se si vuole invece copiare uno o più spettri per incollarlo/i in un documento, è possibile attraverso 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. Questo garantisce una migliore definizione dell'immagine copiata rispetto ad altri canonici e familiari metodi validi per Windows.

8.4 SPEGNIMENTO

Al termine della seduta di lavoro:

- Chiudere il software (Spectrum);
- Se si è lavorato in trasmissione, reinstallare sullo strumento l'accessorio per misure in ATR;
- Compilare obbligatoriamente il registro di utilizzo digitale, presente come file excel sul desktop;
- Uscire dal proprio account Windows.

Non spegnere pc e strumento.

Inoltre, prima di allontanarsi gli operatori sono tenuti a:

- Controllare che ogni traccia di campione sia rimossa dal cristallo e dalla punta del pistone o dal portacampione per pastiglia;

- 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). È necessario comunicare in anticipo al Responsabile dello strumento (comunque prima dell'inizio della sessione di lavoro) l'eventuale intenzione di utilizzare sostanze o solventi che possono produrre polveri o vapori dannosi per la salute.
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 **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** **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.