

Notice du Spectrofluorophotomètre RF-6000 (Shimadzu)



Numéro de série : A40245902212
Numéro contact :
Support technique : 01.60.95.10.10

Installation en septembre 2022
Identifiant : AnaPc99
MdP : AnaPc99

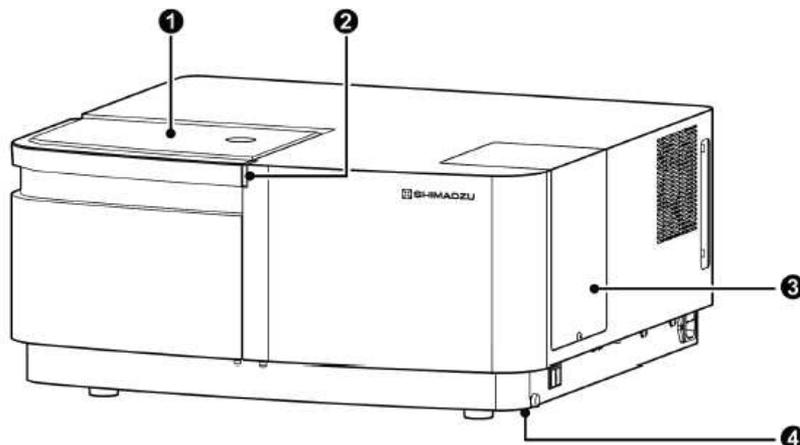
Sommaire

I.	Présentation de l'appareil.....	3
II.	Allumage de l'appareil	4
III.	Modes d'analyse	5
IV.	TP	6
1.	3D Spectrum.....	6
a.	Analyse.....	6
b.	Retraitement des données	8
2.	Photometric.....	9
V.	Eteindre l'appareil.....	12

I. Présentation de l'appareil

Le RF 6000 contient différents éléments :

- Une source correspondant à une lampe à arc au xénon longue durée (2000h)
- 2 monochromateurs (un pour l'excitation et un pour l'émission)
 - o Un photodiode pour l'excitation
 - o Un photomultiplicateur modèle R928 comme détecteur à l'émission (200 à 900 nm)
- Un porte échantillon
- Le logiciel LabSolutions RF



Numéro	Nom	Description
1	Couvercle de la chambre d'échantillon	Ouvrez et fermez ce couvercle lors de la mise en place de l'échantillon pour la mesure. La mesure ne peut pas démarrer lorsque le couvercle est ouvert. Si le couvercle est ouvert pendant la mesure, la mesure est interrompue.
2	Indicateur d'état LED	Indique l'état actuel à l'aide de différentes couleurs lorsque l'instrument est sous tension. <ul style="list-style-type: none">· État normal : allumé ou vert clignotant.· État anormal : Allumé ou rouge clignotant· Lampe non allumée : allumé ou orange clignotant· Pendant la mesure : Allumé en bleu.
3	Couvercle du boîtier de la lampe	Ouvrez et fermez ce couvercle lors de l'installation ou du remplacement de la lampe à arc au xénon.
4	Prise d'air	Prise d'air pour refroidir le boîtier de la lampe. Il est équipé d'un filtre à air pour éviter l'entrée de poussière.

II. Allumage de l'appareil

- Mettre sous tension l'appareil en appuyant sur le bouton sur le côté droit. Le voyant LED clignote **vert** pendant l'initialisation (**Ne pas ouvrir le capot pendant l'initialisation**) et passe au **vert** fixe lorsque l'initialisation est terminée.

Toujours allumer l'appareil avant le logiciel

- Attendre 30 minutes de temps de chauffage et de stabilisation.
- Allumer le PC



- Double-cliquer sur  (LabSolutions RF)
- Le menu suivant s'ouvre, il regroupe tous les modes d'analyse possibles :



III. Modes d'analyse

Application	Caractéristiques
Spectrum	Permet de scanner toutes les longueurs d'onde d'excitation à une longueur d'onde d'émission fixe pour capturer un spectre de fluorescence ou scanner toutes les longueurs d'onde d'émission à une longueur d'onde d'excitation fixe
3D Spectrum	Permet de réaliser un balayage des longueurs d'émission et d'excitation pour capturer un spectre 3D.
Quantitation	Permet de créer une courbe d'étalonnage à partir de l'intensité de fluorescence capturée pour déterminer la concentration d'échantillons inconnus.
Photometric	Permet de capturer l'intensité de fluorescence à n'importe quelle longueur d'onde d'émission et d'excitation fixe.
Time course	Permet de capturer les changements d'intensité de fluorescence au fil du temps à n'importe quelle longueur d'onde fixe.



Sélectionner un mode d'analyse, la fenêtre de l'application s'ouvre, cliquer sur , la connexion s'établit avec l'instrument et l'initialisation des paramètres commence.

Lorsqu'une connexion est établie avec l'instrument, la longueur d'onde et l'intensité de fluorescence par défaut sont affichées en temps réel dans la partie supérieure de l'état de l'instrument situé à droite de la fenêtre principale de l'application d'analyse.

La section inférieure affiche l'état d'éclairage et le temps de fonctionnement cumulé de la lampe source lumineuse et le type de tous les accessoires installés. Le temps de fonctionnement cumulé de la lampe source lumineuse est mis à jour toutes les heures.



Pour changer de modes d'analyse, il faut cliquer sur  puis après avoir chargé le nouveau module,

il faut cliquer sur



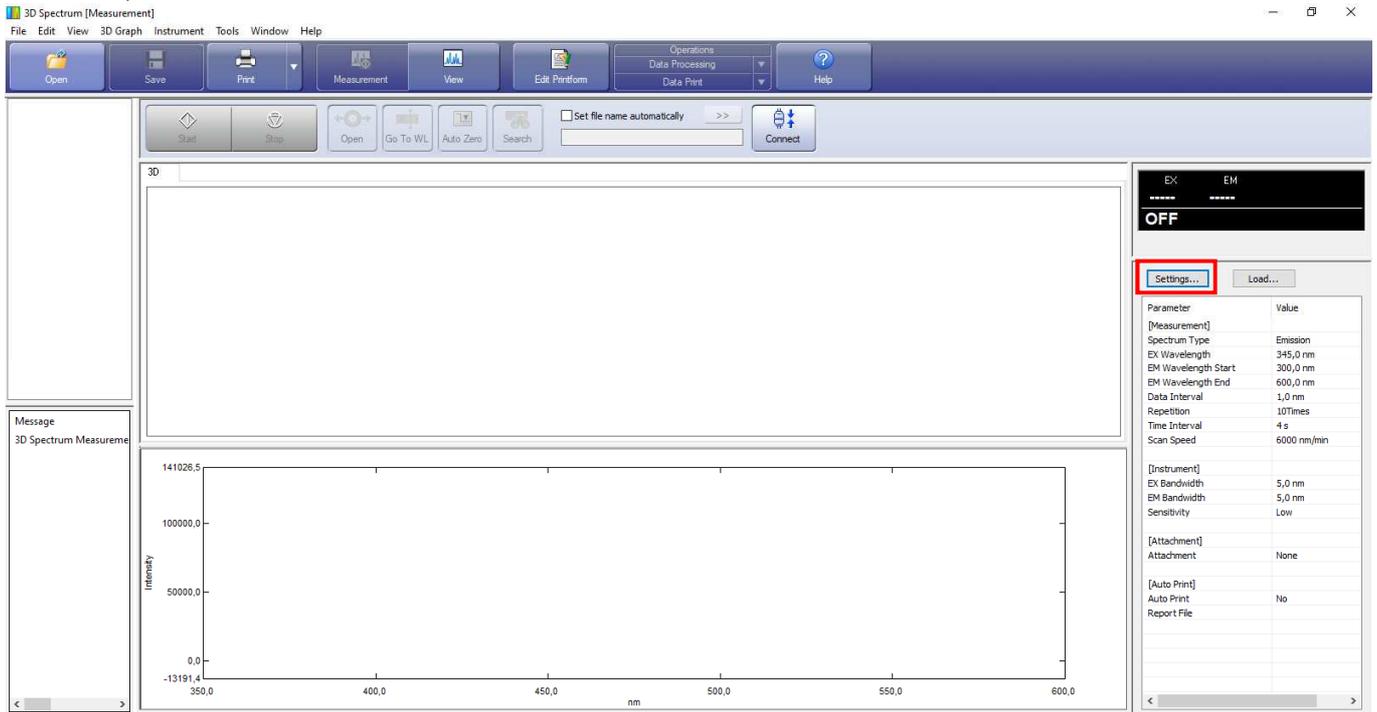
IV. TP

1. 3D Spectrum

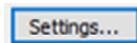
a. Analyse



- Cliquer sur le mode 3D Spectrum, la fenêtre suivante s'ouvre :



- Cliquer sur



- Cliquer sur

- Dans l'onglet « **Measurement** », renseigner les informations indiquées ci-dessous :

3D Spectrum Measurement Parameters

Measurement Instrument Attachment

Spectrum Type: 3D

Excitation Start (nm): 270,0 End (nm): 390,0 Data Interval (nm): 2,0

Emission Start (nm): 350,0 End (nm): 600,0 Data Interval (nm): 2,0

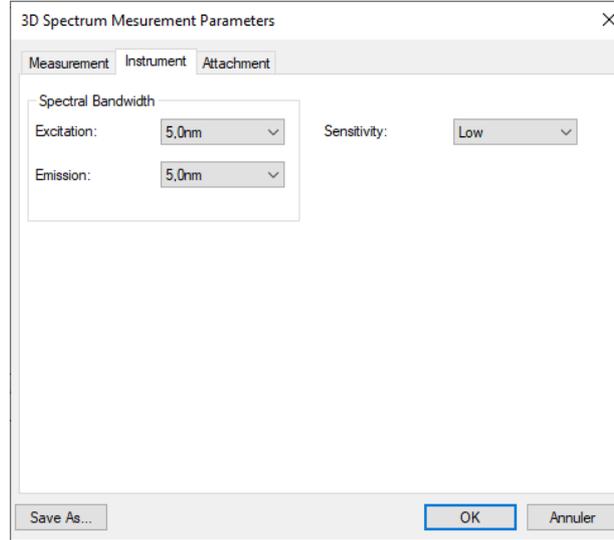
Scan Speed (nm/min): 2000

Perform Auto Print

Report File :

Save As... OK Annuler

- Dans l'onglet « **Instrument** », renseigner les informations indiquées ci-dessous :



- Cliquer sur « **Save As** » pour enregistrer les paramètres de mesure du spectre dans un fichier en lien avec votre analyse (dans TP CFI/ année/ nom étudiants/paramètres fluo-date) puis sur « **OK** »

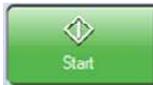


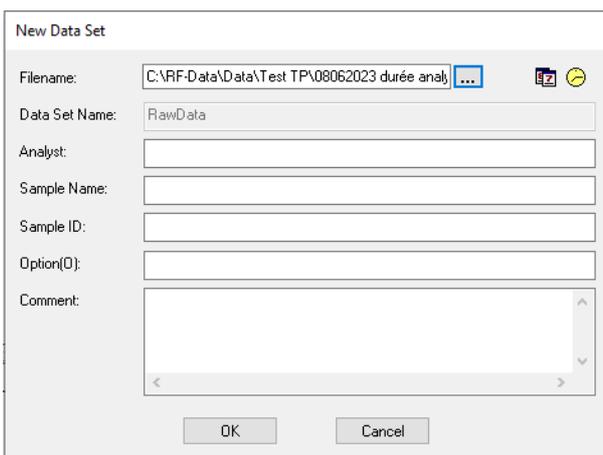
- **Rincer 3 fois la cuve avec votre solvant** lors des manipulations, cliquer sur  pour caler l'intensité à 0.

Attention, le remplissage de la cuve est à réaliser avec des gants sur la paillasse au-dessus d'un récipient « poubelle » car vous utilisez une solution très corrosive. Les parois de la cuve seront essuyées avec un papier absorbant.

- Ne pas cocher « **set file name automatically** »
- Rincer 3 fois la cuve avec votre échantillon et disposer votre solution de quinine appropriée



- Cliquer sur , la fenêtre suivante s'ouvre :

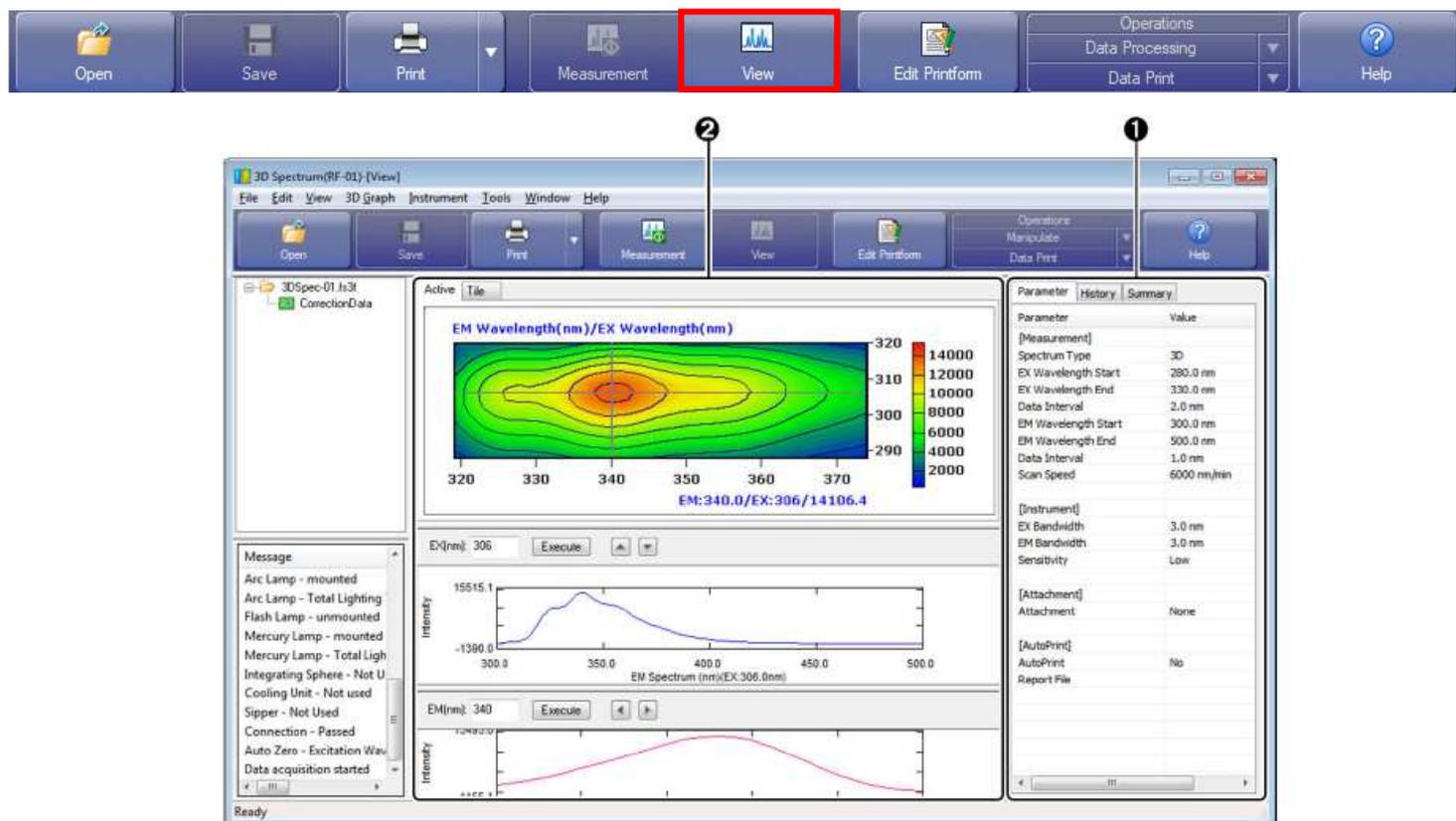


Indiquer un nom d'analyse et sélectionner le dossier où les résultats seront rangés : dossier « TP CFI/ année/ nom étudiants ».

- Cliquer sur « **OK** »
- La mesure démarre et les données capturées sont représentées graphiquement en temps réel. L'analyse dure 8 minutes environ.

b. Retraitement des données

- Aller dans le mode « View » (entouré en rouge) pour interpréter le spectre



Numéro	Nom	Fonction
1	Paramètres	Affichage des informations sur les paramètres de mesure, l'historique des données et les informations récapitulatives des données affichées sur l'onglet
2	Vue graphique du spectre 3D	<p>Affichage des graphiques des données 3D.</p> <p>L'onglet Active affiche des graphiques de l'ensemble de données actuellement actif. Un "diagramme de distribution d'intensité en excitation et en émission" ou un "graphique de spectre 3D" peut être affiché dans l'affichage graphique.</p> <p>L'onglet Tile peut afficher jusqu'à six graphiques 3D sous forme de mosaïque. Faire glisser un nom de fichier de l'arborescence vers la zone de graphique.</p>

Rq : Il est possible que le détecteur sature (Intensités : 1000000 en sensibilité low et 10000 en sensibilité high). Si une saturation a lieu, l'appareil va émettre un bip.

Pour le TP, la sensibilité LOW est choisie.

- Choisir les longueurs d'onde appropriées pour un maximum d'excitation et d'émission de la quinine en se déplaçant avec la souris sur la zone d'intensité maximale.
- Double cliquer sur cette position (une ligne bleue et une ligne rouge se tracent)
- Imprimer ce spectre en cliquant sur File/ Print preview/ imprimer/ Microsoft print to PDF et enregistrer le document dans

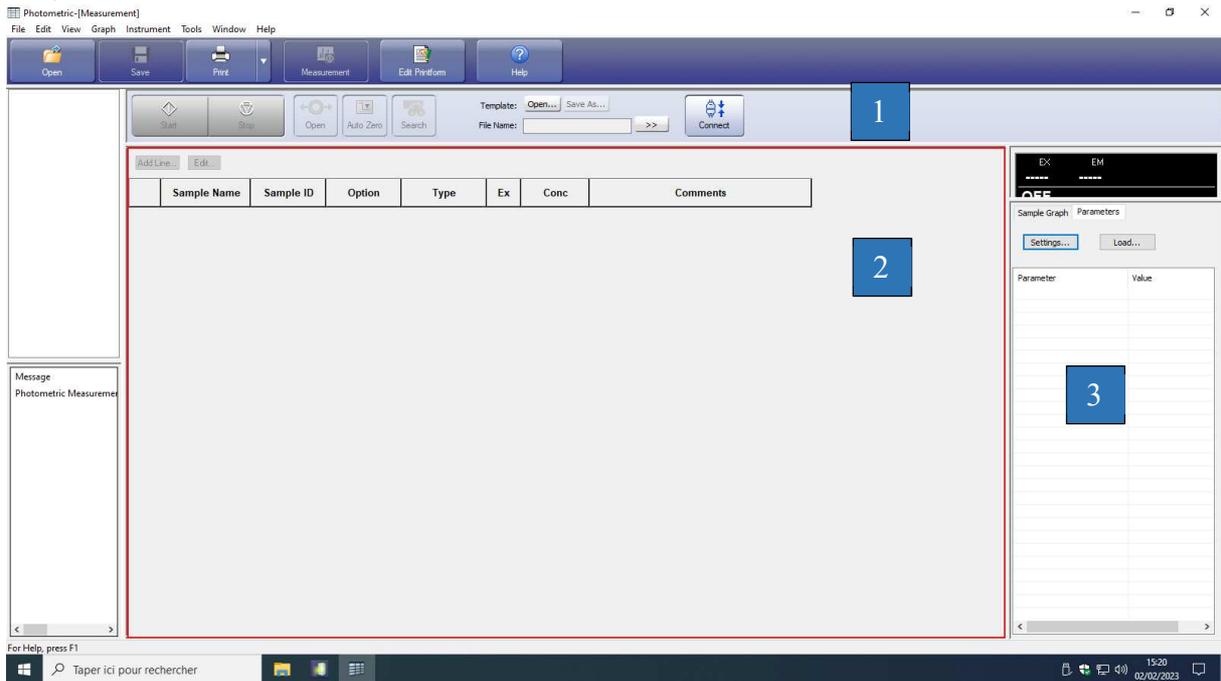
» Ce PC > Disque local (C:) > RF-Data > Parameters > TP CFI > 2023 > etudiant XXX

- Fermer le mode 3D Spectrum et cliquer sur



2. Photometric

- Cliquer sur le mode , la fenêtre suivante s'ouvre :

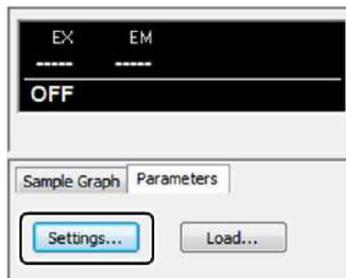


Zone 1 : Barre d'outils (démarrer et arrêter la mesure, contrôle de l'instrument)

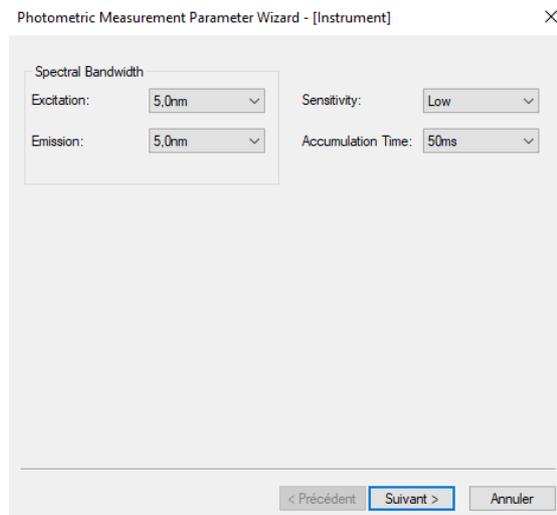
Zone 2 : Liste des échantillons

Zone 3 : Affichage des paramètres de la méthode

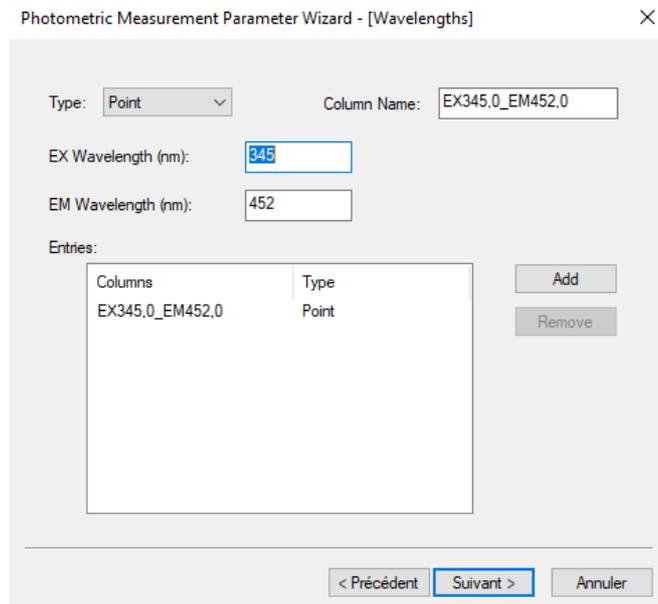
- Cliquer sur  dans l'onglet « **Parameters** »



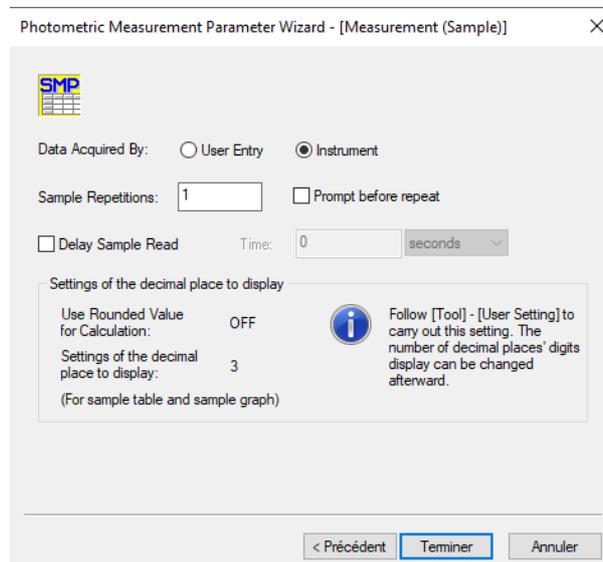
- Dans l'onglet « **Instrument** », renseigner les informations indiquées ci-dessous :



- Dans l'onglet « **Wavelengths** », renseigner les valeurs des longueurs d'excitation et d'émission trouvées précédemment. Cliquer sur « **Add** » puis sur « **Suivant** ».



- Dans l'onglet « **Measurement (Sample)** », sélectionner « **Instrument** » et cliquer sur « **Terminer** ».



- Cliquer sur « **Save as** » pour enregistrer la méthode, renseigner le nom et sélectionner le dossier où les résultats seront rangés : dossier « TP CFI/ année/ nom étudiants/nom échantillon » puis dans le dossier correspondant à l'année.

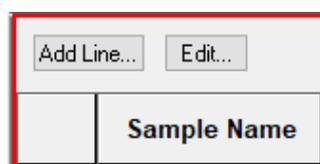
- Cliquer sur « **Close** ».

- Cliquer sur 

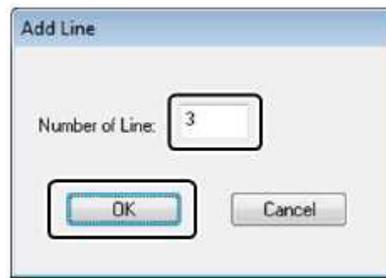
- Cliquer sur  dans la barre d'outils, compléter « **Filename** » et cliquer sur « **OK** »



- Créer le tableau des échantillons, cliquer sur « **Add Line** » au-dessus du tableau :



- Entrer le nombre ligne et cliquer sur « OK »



- Dans le tableau créé, indiquer le nom des échantillons



- **Rincer 3 fois la cuve avec votre solvant** lors des manipulations, cliquer sur  pour caler l'intensité à 0.
- Placer le 1^{er} échantillon (rincer la cuve 3 fois avec l'échantillon) dans le compartiment échantillon et fermer le couvercle
- Cliquer sur  (Répéter les mêmes opérations pour les autres échantillons)
- Une fois l'analyse des échantillons terminées, cliquer sur « **File/Save As/Data/ TP CFI/2023/etudiants xxx**»
- Cliquer sur « enregistrer »



Pour relever les données obtenues, cliquer sur le tableau de résultats puis sur « **File/ Print Preview/ imprimer/ Microsoft print to PDF** » et enregistrer le document généré dans

 > Ce PC > Disque local (C:) > RF-Data > Parameters > TP CFI > 2023 > etudiant XXX

Et poursuivre ainsi l'ensemble des mesures pour le TP.

Vous pouvez copier le tableau dans un fichier Excel pour le retraitement.



Appuyer sur

Fermer le logiciel

Eteindre l'appareil (côté droit) quand vous êtes sûrs de ne pas avoir à refaire d'analyse (30 min de stabilisation !)

V. Eteindre l'appareil



- Cliquer sur , la communication avec l'instrument s'arrête et "OFF" s'affiche sur l'état de l'instrument.
- Enregistrer toutes les données puis fermer l'application d'analyse et le menu LabSolutions RF
- Eteindre l'interrupteur de l'appareil situé à droite
- Eteindre l'ordinateur