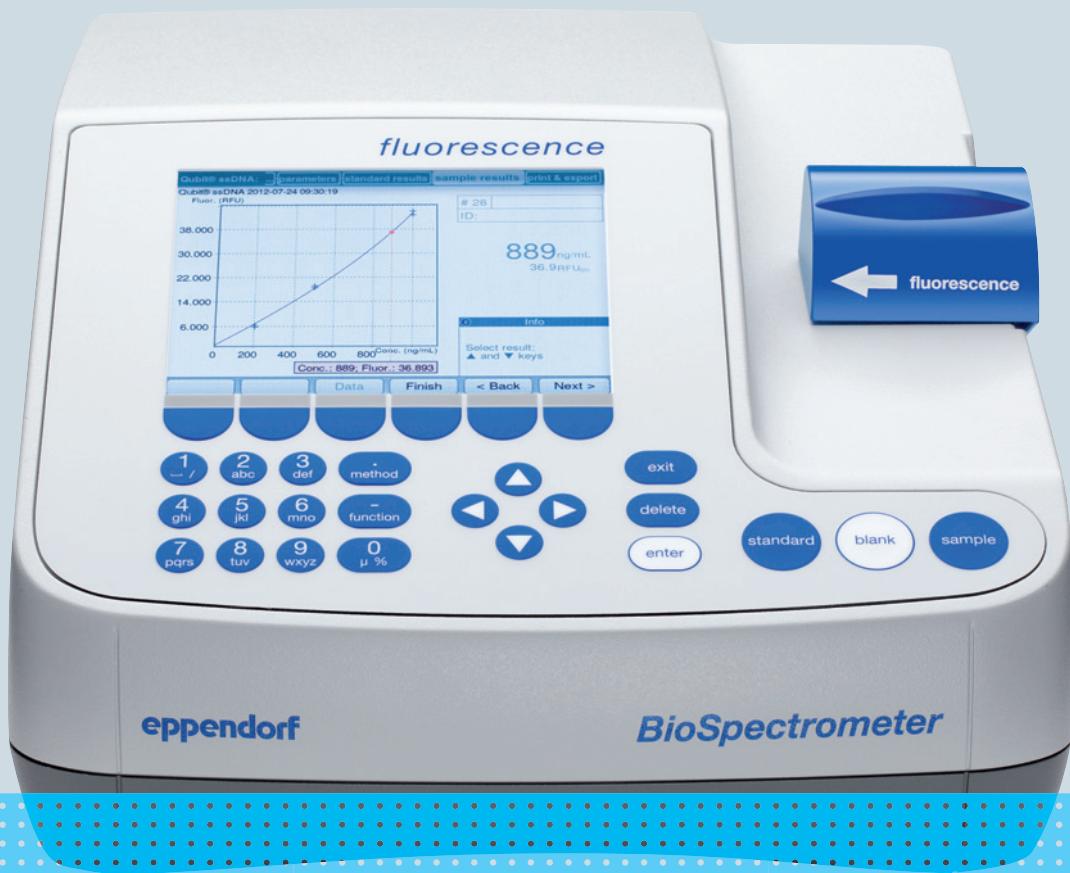


eppendorf

Register your instrument!  
[www.eppendorf.com/myeppendorf](http://www.eppendorf.com/myeppendorf)



## Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence

Istruzioni per l'uso

Copyright © 2019 Eppendorf AG, Germany. All rights reserved, including graphics and images. No part of this publication may be reproduced without the prior permission of the copyright owner.

### **Trademarks**

Cy® is a registered trademark of GE Healthcare UK Ltd., UK.

Hellma® is a registered trademark of Hellma GmbH & Co. KG, Germany.

OliGreen®, PicoGreen®, RiboGreen®, NanoOrange® and Qubit® are registered trademarks of Molecular Probes, Inc., USA.

Eppendorf® and the Eppendorf Brand Design are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany.

Eppendorf BioSpectrometer®, Eppendorf SpectraZoom® and UVette® are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany.

Registered trademarks and protected trademarks are not marked in all cases with ® or ™ in this manual.

Protected by U.S. Patent No. 8,464,171.

### **Notice**

The software of the BioSpectrometer fluorescence contains open source software. License information is available under *Functions > Info > Copyrights*.

## Indice

<b>1</b>	<b>Avvertenze per l'utilizzo</b>	<b>7</b>
1.1	Impiego delle presenti istruzioni	7
1.2	Simboli di pericolo e gradi di pericolo	7
1.2.1	Simboli di pericolo	7
1.2.2	Gradi di pericolo	7
1.3	Convenzioni grafiche	8
1.4	Abbreviazioni	9
<b>2</b>	<b>Avvertenze di sicurezza generali</b>	<b>11</b>
2.1	Uso conforme	11
2.2	Richiesta all'utente	11
2.3	Pericoli in caso di uso conforme	11
2.3.1	Danni alle persone	11
2.3.2	Danni all'apparecchio	13
2.4	Informazioni sulla responsabilità da prodotto	14
2.5	Avvertenze di sicurezza sul dispositivo	14
<b>3</b>	<b>Descrizione del prodotto</b>	<b>15</b>
3.1	Panoramica dei prodotti	15
3.2	Dotazione	15
3.3	Caratteristiche del prodotto	16
3.3.1	Metodi	16
3.3.2	Uso	16
3.3.3	Emissione dei risultati	16
3.3.4	Autotest del dispositivo	17
<b>4</b>	<b>Installazione</b>	<b>19</b>
4.1	Predisposizione dell'installazione	19
4.2	Scelta dell'ubicazione	19
4.3	Collegamento dell'apparecchio alla rete	19
4.4	Connessione in rete dell'apparecchio	20
4.5	Collegamento di una stampante alla porta USB	20
4.5.1	Stampante termica DPU-S445	20
4.6	Collegamento del PC o della chiavetta USB per l'esportazione dei dati	21
<b>5</b>	<b>Uso</b>	<b>23</b>
5.1	Controlli	23
5.1.1	Inserimento di testo	25
5.2	Inserimento della cuvetta	25
5.3	Descrizione generale del processo di misurazione	27
5.3.1	Preparazione della misurazione	27
5.3.2	Processo di misurazione	27
5.3.3	Indicazioni importanti per le misurazioni	31

<b>6 Metodi</b> .....	<b>33</b>
6.1 Selezione del metodo .....	33
6.2 Descrizione dei metodi di fotometria .....	34
6.2.1 Gruppo di metodi Absorbance .....	34
6.2.2 Gruppo di metodi Routine .....	35
6.2.3 Gruppo di metodi Basic .....	36
6.2.4 Gruppo di metodi Advanced .....	37
6.3 Descrizione dei metodi fluorimetrici .....	37
6.3.1 Gruppo di metodi Routine .....	37
6.3.2 Gruppo di metodi Basic .....	38
6.4 Parametri del metodo .....	39
6.5 Esecuzione del metodo .....	44
6.5.1 check parameters .....	44
6.5.2 measure standards .....	45
6.5.3 measure samples .....	46
6.5.4 measure samples: visualizzazioni dei risultati .....	49
6.5.5 process results .....	55
6.5.6 process results: Opzioni .....	57
6.5.7 print & export .....	60
6.5.8 Conclusione della serie di misurazioni .....	63
<b>7 Funzioni</b> .....	<b>65</b>
7.1 Funzioni del gruppo principale User .....	65
7.1.1 Results memory .....	66
7.1.2 General method parameters .....	68
7.1.3 Absorbance spectra library .....	71
7.1.4 Device settings .....	71
7.1.5 Device calibration .....	74
7.1.6 Informazione .....	74
<b>8 Manutenzione</b> .....	<b>75</b>
8.1 Pulizia .....	75
8.1.1 Pulizia del coperchio del vano cuvette .....	76
8.2 Disinfezione/Decontaminazione .....	77
8.3 Verifica del dispositivo .....	77
8.3.1 Verifica dell'unità spettrometrica .....	77
8.3.2 Verifica dell'unità fluorimetrica .....	81
8.3.3 Autotest del dispositivo .....	82
8.4 Sostituzione dei fusibili .....	83
8.5 Decontaminazione prima della spedizione .....	84
<b>9 Risoluzione dei problemi</b> .....	<b>85</b>
9.1 Anomalie generiche .....	85
9.2 Messaggi di errore .....	87
9.3 Flag dei risultati .....	91
<b>10 Trasporto, immagazzinamento e smaltimento</b> .....	<b>95</b>
10.1 Trasporto .....	95
10.2 Immagazzinamento .....	95
10.3 Smaltimento .....	96

<b>11 Specifiche tecniche</b> .....	<b>97</b>
11.1 Alimentazione .....	97
11.2 Condizioni ambientali .....	97
11.3 Peso/dimensioni .....	97
11.4 Caratteristiche fotometriche .....	98
11.5 Fluorimeter .....	98
11.6 Ulteriori parametri tecnici .....	99
11.7 Parametri di applicazione .....	100
<b>12 Procedure di valutazione</b> .....	<b>101</b>
12.1 Valori di estinzione .....	101
12.1.1 Blank .....	101
12.1.2 Correzione del fondo .....	101
12.1.3 Correzione della cuvetta .....	102
12.2 Trasmissione .....	102
12.3 Valutazione con fattore o standard .....	103
12.4 Valutazione con curva/retta standard .....	104
12.5 Diluizione .....	105
12.6 Speciali procedure di valutazione per acidi nucleici e proteine UV .....	105
12.6.1 Correzione $A_{260}$ e correzione $A_{280}$ .....	105
12.6.2 Rapporto $A_{260}/A_{280}$ e rapporto $A_{260}/A_{230}$ .....	106
12.6.3 Conversione in concentrazioni molari e quantità di acido nucleico .....	106
12.6.4 Calcolo del fattore per la proteina in "General Method Parameter" .....	108
12.7 Procedura speciale di analisi per i metodi Dye .....	108
12.7.1 Calcolo del fattore per il colorante sulla base dei coefficienti di estinzione .....	108
12.7.2 Calcolo del FOI .....	109
12.7.3 Conversione in quantità di colorante .....	109
12.8 Dual wavelength .....	110
12.9 Fluorimetria .....	111
12.9.1 Valori RFU .....	111
12.9.2 Bianco .....	111
12.9.3 Analisi con uno standard e una curva/retta standard, diluizione .....	111
<b>13 Informazioni per l'ordine</b> .....	<b>113</b>
<b>Certificati</b> .....	<b>115</b>



## 1 Avvertenze per l'utilizzo

### 1.1 Impiego delle presenti istruzioni

- ▶ Prima di mettere in funzione l'apparecchio per la prima volta, leggere le presenti istruzioni per l'uso. Se necessario, attenersi alle istruzioni per l'uso degli accessori.
- ▶ Le presenti istruzioni per l'uso fanno parte del prodotto e vanno conservate in un punto facilmente raggiungibile.
- ▶ Accudire sempre il manuale di istruzioni in caso di trasferimento dell'apparecchio a terzi.
- ▶ La versione attuale delle istruzioni per l'uso nelle lingue disponibili si può consultare sulla pagina web [www.eppendorf.com/manuals](http://www.eppendorf.com/manuals).

### 1.2 Simboli di pericolo e gradi di pericolo

#### 1.2.1 Simboli di pericolo

Le avvertenze di sicurezza riportate nelle presenti istruzioni sono contraddistinte dai simboli e gradi di pericolo indicati di seguito.

	<b>Scossa elettrica</b>		<b>Sostanze esplosive</b>
	<b>Sostanze tossiche</b>		<b>Luogo pericoloso</b>
	<b>Danno materiale</b>		

#### 1.2.2 Gradi di pericolo

<b>PERICOLO</b>	<i>Causa lesioni gravi o mortali.</i>
<b>AVVERTENZA</b>	<i>Può provocare lesioni gravi o mortali.</i>
<b>ATTENZIONE</b>	<i>Può provocare lesioni di lieve o media entità.</i>
<b>AVVISO</b>	<i>Può causare danni materiali.</i>

### 1.3 Convenzioni grafiche

Illustrazione	Significato
1.	Operazioni nell'ordine descritto
2.	
▶	Operazioni senza un ordine predefinito
•	Elenco
	Premere questo tasto per eseguire l'operazione descritta.
o sample	
	Premere questo tasto funzione (softkey) per eseguire l'operazione descritta.
o [Copy]	
	Informazioni aggiuntive

## 1.4 Abbreviazioni

### A

Assorbanza

### DNA

Deoxyribonucleic acid – acido desossiribonucleico (DNA)

### dsDNA

double stranded DNA – DNA a doppio filamento

### Metodi Dye

Metodi del gruppo **Dye labels** per la misurazione di biomolecole marcate con coloranti

### FOI

Frequency of Incorporation: misura della quantità di molecole di colorante in riferimento al numero di nucleotidi nelle biomolecole marcate con coloranti

### M

mol/L (*molare*)

### OD600

Densità ottica con una lunghezza d'onda pari a 600 nm

### RFU

Relative Fluorescence Unit – unità di fluorescenza relativa: misura dell'intensità per misurazioni della fluorescenza

### RNA

Ribonucleic acid – acido ribonucleico (RNA)

### ssDNA

single stranded DNA – DNA a singolo filamento

### T

Trasmissione: la trasparenza denominata trasmissione (T) viene calcolata come quoziente tra  $I$  (luce che fuoriesce dalla cuvetta) e  $I_0$  (luce che entra nella cuvetta):  $T = I/I_0$

### UV

Raggi ultravioletti

### Vis

Visible light – luce visibile

### CV

Coefficiente di variazione (deviazione standard/valore medio), in percentuale

**Avvertenze per l'utilizzo**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Italiano (IT)

## 2 Avvertenze di sicurezza generali

### 2.1 Uso conforme

L'ambito di impiego di BioSpectrometer fluorescence è il laboratorio di ricerca per la biologia molecolare, la biochimica e la biologia cellulare. BioSpectrometer fluorescence è destinato esclusivamente all'utilizzo in ambienti chiusi. I criteri di sicurezza specifici per paese per l'utilizzo di dispositivi elettrici in laboratorio devono essere rispettati.

BioSpectrometer fluorescence è destinato alla determinazione tramite fotometria della concentrazione di analiti nei liquidi e all'acquisizione di spettri di assorbanza in funzione della lunghezza d'onda in cuvette. Inoltre è possibile effettuare misure della fluorescenza per la quantificazione delle biomolecole.

Usare esclusivamente accessori Eppendorf o raccomandati da Eppendorf.

### 2.2 Richiesta all'utente

L'apparecchio e gli accessori possono essere utilizzati solo da personale specializzato appositamente addestrato.

Prima di utilizzare l'apparecchio, leggere attentamente le istruzioni per l'uso e il manuale d'uso degli accessori e prendere conoscenza delle sue modalità operative.

### 2.3 Pericoli in caso di uso conforme

#### 2.3.1 Danni alle persone



##### PERICOLO! Scosse elettriche dovute all'infiltrazione di liquidi.

- ▶ Prima di procedere con la pulizia o la disinfezione, spegnere l'apparecchio e scollegarlo dalla rete elettrica.
- ▶ Evitare la penetrazione di liquidi all'interno dell'alloggiamento.
- ▶ Non effettuare alcuna pulizia o disinfezione a spruzzo sulla cassa.
- ▶ Collegare di nuovo l'apparecchio all'alimentazione elettrica solo dopo averne completamente asciugato l'interno e l'esterno.



##### PERICOLO! Pericolo di esplosione.

- ▶ Non mettere in funzione l'apparecchio in ambienti in cui si lavora con sostanze a rischio di esplosione.
- ▶ Non trattare con questo apparecchio sostanze esplosive o altamente reattive.
- ▶ Non trattare con questo apparecchio alcuna sostanza che possa generare un'atmosfera esplosiva.

---

**AVVERTENZA! Scossa elettrica dovuta a danni all'apparecchio o al cavo di rete.**



- ▶ Accendere l'apparecchio solo se questo e il cavo di rete non sono danneggiati.
- ▶ Mettere in funzione solo apparecchi che siano stati installati o riparati in modo appropriato.
- ▶ In caso di pericolo, isolare l'apparecchio dalla tensione di rete. Estrarre la spina o la presa con messa a terra dall'apparecchio. Utilizzare l'apposito dispositivo di esclusione della rete elettrica (per es. il pulsante d'emergenza in laboratorio).

**AVVERTENZA! Danni a causa di radiazioni UV.**



Le cuvette per microlitri come ad es. Hellma® TrayCell (oppure cuvette per microlitri con struttura simile) guidano la radiazione della sorgente luminosa all'interno della cuvetta in modo tale che questa possa fuoriuscire verso l'alto a coperchio non chiuso.

- ▶ Prima dell'avvio di una misurazione, assicurarsi che il coperchio si trovi sulla cuvetta per microlitri.

**AVVERTENZA! Danni per la salute dovuti a sostanze chimiche aggressive, tossiche o radioattive o anche liquidi infettivi e germi patogeni.**



- ▶ Rispettare le disposizioni nazionali previste per il contatto con queste sostanze, il livello di sicurezza del vostro laboratorio biologico, nonché le schede tecniche di sicurezza e le istruzioni per l'uso del produttore.
- ▶ Indossare i dispositivi di protezione individuale.
- ▶ Consultare le disposizioni complete sul contatto con germi o materiale biologico della categoria di rischio II o superiore del "Laboratory Biosafety Manual" (fonte: World Health Organisation, Laboratory Biosafety Manual, nella versione valida aggiornata).

**AVVERTENZA! Pericolo per la salute dovuto a contaminazione dell'apparecchio e degli accessori.**



- ▶ Decontaminare l'apparecchio e gli accessori prima di conservarli o spedirli.

---

**ATTENZIONE! Rischi per la sicurezza dovuti ad accessori e pezzi di ricambio errati.**



Gli accessori e i pezzi di ricambio non raccomandati da Eppendorf pregiudicano la sicurezza, il funzionamento e la precisione dell'apparecchio. Per i danni causati da accessori o pezzi di ricambio che non siano quelli raccomandati da Eppendorf o dovuti ad un utilizzo improprio, si esclude ogni garanzia e responsabilità da parte di Eppendorf.

- ▶ Usare esclusivamente accessori raccomandati da Eppendorf e pezzi di ricambio originali.
-

## 2.3.2 Danni all'apparecchio



### AVVISO! Danni dovuti a sostanze chimiche aggressive.

- ▶ Non utilizzare sull'apparecchio e sugli accessori prodotti chimici aggressivi quali, ad esempio, basi forti e deboli, acidi forti, acetone, formaldeide, idrocarburi alogenati o fenoli.
- ▶ In caso di contaminazione con sostanze chimiche aggressive, pulire immediatamente l'apparecchio con un detergente neutro.



### AVVISO! Danni all'apparecchio a causa della gassificazione con sostanze chimiche aggressive.

- ▶ Non effettuare alcuna disinfezione dell'apparecchio tramite gassificazione.



### AVVISO! Corrosione dovuta a detergenti e disinfettanti aggressivi.

- ▶ Non utilizzare detergenti corrosivi, né solventi aggressivi o prodotti abrasivi per lucidare.
- ▶ Non incubare per lungo tempo gli accessori in disinfettanti o detergenti aggressivi.



### AVVISO! Danni ai componenti elettronici dovuti a formazione di condensa.

In seguito al trasporto dell'apparecchio da un ambiente freddo a un ambiente più caldo si può formare della condensa all'interno dell'apparecchio stesso.

- ▶ Dopo l'installazione dell'apparecchio, aspettare almeno 3 h. Soltanto dopo collegare l'apparecchio alla rete elettrica.



### AVVISO! Compromissione del funzionamento a causa di danni meccanici.

- ▶ In seguito a danneggiamento meccanico del dispositivo, assicurarsi tramite un controllo che le funzioni di misurazione e valutazione funzionino correttamente.



### AVVISO! Danni dovuti a surriscaldamento.

- ▶ Non installare l'apparecchio in prossimità di fonti di calore (ad es. riscaldamento, essiccatore).
- ▶ Non esporre l'apparecchio alla luce diretta del sole.
- ▶ Assicurarsi che l'aria possa circolare liberamente. Mantenere una distanza di almeno 5 cm da ogni foro di aerazione.



### AVVISO! Danni alle cose dovuti a impiego errato.

- ▶ Il prodotto deve essere utilizzato solo per l'impiego previsto descritto nelle istruzioni per l'uso.
- ▶ In caso di impiego di sostanze chimiche, assicurarsi che i materiali siano sufficientemente resistenti.
- ▶ In caso di dubbi, rivolgersi al produttore dell'apparecchio.



**AVVISO! Danni dovuti a imballaggio non conforme.**

Eppendorf AG non risponde per danni causati da un imballaggio non appropriato.

- ▶ Conservare e trasportare l'apparecchio solo nella confezione originale.
- AVVISO! Danni a causa di una pulizia del vano cuvette non appropriata.**

- ▶ Pulire il vano cuvette solo con un bastoncino di cotone inumidito (vedi *Pulizia a pag. 75*).
- ▶ Non far penetrare alcun liquido nel vano cuvette.
- ▶ Non toccare con le dita il vano cuvette.

## 2.4 Informazioni sulla responsabilità da prodotto

Nei seguenti casi è possibile che la protezione prevista per l'apparecchio risulti compromessa. La responsabilità per eventuali danni a persone e cose ricade sul gestore se:

- l'apparecchio non viene utilizzato in modo conforme alle istruzioni per l'uso;
- l'apparecchio viene impiegato al di fuori del campo d'applicazione qui descritto;
- l'apparecchio viene utilizzato con accessori o articoli di consumo non consigliati da Eppendorf AG;
- l'apparecchio è stato sottoposto a manutenzione e riparazione da parte di una persona non autorizzata da Eppendorf AG;
- l'utilizzatore apporta modifiche non autorizzate all'apparecchio.

## 2.5 Avvertenze di sicurezza sul dispositivo

Illustrazione	Significato	Ubicazione
	<p>Luogo pericoloso</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Attenersi alle istruzioni per l'uso.</li> </ul>	Retro del dispositivo
	<p>Se il dispositivo viene aperto, deve essere nuovamente regolato.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Non aprire il dispositivo.</li> </ul>	Lato inferiore del dispositivo

### 3 Descrizione del prodotto

#### 3.1 Panoramica dei prodotti

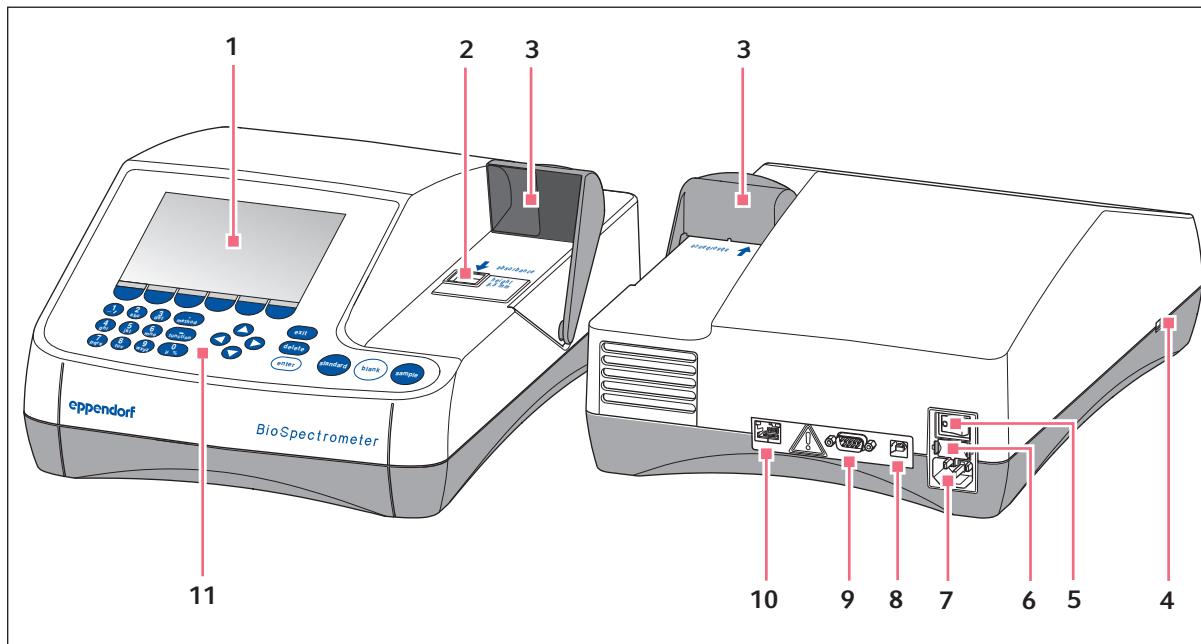


Fig. 3-1: Vista anteriore e posteriore

- |   |                                |
|---|--------------------------------|
| 1 Display                                 | 7 Alimentatore di rete         |
| 2 Vano della cuvetta                      | 8 Porta USB per PC             |
| 3 Coperchio del vano cuvette              | 9 Attacco RS-232 per stampante |
| 4 Porta USB per chiavetta USB e stampante | 10 Porta Ethernet              |
| 5 Interruttore di rete                    | 11 Elementi di comando         |
| 6 Portafusibili                           |                                |

La targhetta di identificazione si trova sul lato inferiore del dispositivo, dietro sulla sinistra.

#### 3.2 Dotazione

Quantità	Descrizione
1	<b>BioSpectrometer fluorescence</b>
1	<b>Cavo di rete</b>
4	<b>4 UVette</b> Cuvetta Eppendorf originale, confezionata singolarmente, PCR clean, Protein-free
1	<b>Istruzioni per l'uso in più lingue</b>

## Descrizione del prodotto

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Italiano (IT)

### 3.3 Caratteristiche del prodotto

BioSpectrometer fluorescence riunisce due procedure di misurazione spettroscopiche in un solo dispositivo: spettrofotometria e fluorimetria. Può eseguire sia misurazioni spettrofotometriche nella regione UV-VIS da 200 nm a 830 nm nonché misurazioni fluorimetriche con due combinazioni di lunghezze d'onda definite nella regione visibile (eccitazione 470 nm/emissione 520 nm ed eccitazione 470 nm/emissione 560 nm). È destinato alla misurazione di liquidi in cuvette per lo sviluppo e la ricerca nell'ambito della biologia molecolare, delle biotecnologie, della biochimica e della biologia cellulare. Con questo dispositivo si possono utilizzare cuvette in vetro e in plastica con un volume da 1  $\mu$ L a 3000  $\mu$ L (fotometria) o da 60  $\mu$ L a 3000  $\mu$ L (fluorimetria).

#### 3.3.1 Metodi

##### Fotometria

Numerosi metodi per la determinazione della concentrazione di acidi nucleici, proteine e acidi nucleici e proteine marcati con coloranti, nonché il metodo OD 600 per la determinazione della densità dei batteri tramite turbidimetria sono già preprogrammati. Anche i modelli di metodo per diverse procedure di misurazione e analisi (misurazioni con una o più lunghezze d'onda, acquisizioni dello spettro, valutazioni con fattore, standard e curva standard) sono preprogrammati. È possibile creare metodi propri sulla base dei metodi e dei modelli preprogrammati. Con i metodi del gruppo di metodi **Absorbance** si può misurare rapidamente i valori di assorbanza o gli spettri senza un'ulteriore valutazione. Nel gruppo di metodi **Absorbance** vi è anche un metodo con il quale potete definire il grado di trasmissione di un campione.

##### Fluorimetria

I metodi per la determinazione della concentrazione di acidi nucleici con PicoGreen, RiboGreen, OliGreen e con reagenti Qubit nonché di proteine con NanoOrange sono preprogrammati. Contengono anche versioni rapide dei metodi per acidi nucleici per una misurazione veloce con solo due standard. Come nel caso della spettrofotometria, i modelli di metodo per diverse procedure di analisi (con fattore, standard e curva standard) sono preprogrammati.

#### 3.3.2 Uso

I metodi e i modelli preprogrammati sono riuniti in gruppi definiti in modo chiaro, dai quali è possibile selezionare rapidamente il metodo desiderato. Dopo aver richiamato il metodo, si viene guidati in precisi passaggi attraverso il processo di misurazione. Una finestra di aiuto sul display fornisce indicazioni utili in caso di bisogno. I 3 tasti rotondi per la misurazione (**standard**, **blank**, **sample**) consentono un avvio rapido e diretto della misurazione.

#### 3.3.3 Emissione dei risultati

BioSpectrometer fluorescence fornisce i risultati sul display dell'apparecchio nonché tramite una stampante fornita da Eppendorf. Tramite una porta USB, i dati dei risultati possono essere trasferiti dall'apparecchio a una chiavetta USB, una stampante o direttamente a un PC. Se l'apparecchio è collegato a una rete, è possibile stampare i risultati su una stampante di rete oppure inviarli via e-mail. Non è possibile salvare i risultati su un'unità di rete.

### 3.3.4 Autotest del dispositivo

Subito dopo l'accensione, il dispositivo esegue un autotest del funzionamento dell'unità spettrometrica e dell'unità fluorimetrica. Per controllare il dispositivo in modo più completo, richiamare la funzione **Device calibration** (vedi *Autotest del dispositivo a pag. 82*).

**Descrizione del prodotto**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Italiano (IT)

## 4      **Installazione**

### 4.1    **Predisposizione dell'installazione**

- ▶ Conservare la scatola per il trasporto e il materiale d'imballaggio per un eventuale trasporto successivo in tutta sicurezza o per l'immagazzinamento.
- ▶ Controllare che la spedizione sia completa confrontando le indicazioni sulla dotazione (vedi *Dotazione a pag. 15*)
- ▶ Ispezionare tutti i componenti per accettare la presenza di eventuali danni di trasporto.

### 4.2    **Scelta dell'ubicazione**

Selezionare il luogo dove collocare BioSpectrometer fluorescence in base ai criteri indicati di seguito.

- 2 prese con messa a terra per BioSpectrometer fluorescence e per la stampante.
- Tavolo da laboratorio fisso con piano di lavoro perfettamente piano.  
Ingombro del dispositivo: 50 cm (con stampante: 75 cm) di larghezza, 50 cm di profondità.
- Temperatura da 15 °C a 35 °C.
- Evitare le variazioni di temperatura (ad es. a causa di finestre aperte).
- Evitare l'esposizione alla luce solare diretta.
- Umidità dell'aria: da 25 % a 70 % di umidità relativa.



Controllare che nessun oggetto si trovi al di sotto del dispositivo (ad es. fogli sciolti, fascicoli), che possono ostacolare il passaggio dell'aria.

### 4.3    **Collegamento dell'apparecchio alla rete**

1. Porre BioSpectrometer fluorescence su un piano di lavoro adatto.
2. Accertarsi che la tensione e la frequenza di rete corrispondano ai dati riportati sulla targhetta del modello.
3. Collegare l'apparecchio all'alimentazione di corrente e accenderlo tramite l'interruttore di rete.
4. Rimuovere la pellicola di protezione del display.

## 4.4 Connessione in rete dell'apparecchio



La connessione in rete dell'apparecchio è opzionale. È possibile utilizzare l'apparecchio anche senza connessione alla rete.  
informazioni relative alle impostazioni di rete. (vedi *Device settings a pag. 71*)

Premessa

Cavo Ethernet (RJ45)

1. Collegare il cavo Ethernet alla presa di rete.
2. Collegare il cavo Ethernet alla presa Ethernet **10** (vedi *Panoramica dei prodotti a pag. 15*).



### Stampante di rete

Una stampante di rete viene riconosciuta automaticamente dall'apparecchio in base alle seguenti condizioni:

- la stampante si trova nello stesso segmento di rete dell'apparecchio,
- la stampante supporta il protocollo Zeroconf,
- la stampante è di tipo PostScript.

## 4.5 Collegamento di una stampante alla porta USB

### 4.5.1 Stampante termica DPU-S445

Premessa

La versione software installata sull'apparecchio è 3.4.4.0 o superiore.

Nelle impostazioni di stampa è selezionata la stampante termica DPU-S445 (vedi *Device settings a pag. 71*).

Collegare la stampante termica DPU-S445 alla porta USB per la stampante.

1. Collegare il cavo della stampante alla porta USB per la stampante **4** (vedi *Panoramica dei prodotti a pag. 15*).
2. Collegare il cavo della stampante alla stampante.
3. Collegare la stampante con l'alimentatore fornito in dotazione e il cavo di rete (accessori della stampante) alla rete elettrica e accenderla.

Avvertenze sulla stampante sono riportate nelle istruzioni per l'uso della stampante.

## 4.6 Collegamento del PC o della chiavetta USB per l'esportazione dei dati

È possibile collegare una chiavetta USB, **formattata FAT 32**, alla porta USB **4** (vedi *Panoramica dei prodotti a pag. 15*).

In alternativa, per l'esportazione dei dati si può collegare il dispositivo direttamente a un PC tramite un cavo USB.

### Premessa

- PC con Windows, versione XP, SP2 o versione successiva.
  - Cavi USB con un connettore di tipo A e di tipo B ciascuno.
- Collegare il dispositivo con il PC tramite il cavo USB alla porta USB **8** (vedi *Panoramica dei prodotti a pag. 15*).
-  • Non è necessario alcun software PC per il trasferimento dei dati: i pacchetti di dati trasferiti vengono riconosciuti dal PC come una chiavetta USB viene riconosciuta come supporto dati rimovibile. Per poter visualizzare i dati, basta aprire il pacchetto di dati.
- Avviare il trasferimento di dati sulla chiavetta USB o sul PC al termine della serie di misurazioni della fase **print & export** del metodo (vedi *print & export a pag. 60*).

**Installazione**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Italiano (IT)

## 5 Uso

### 5.1 Controlli

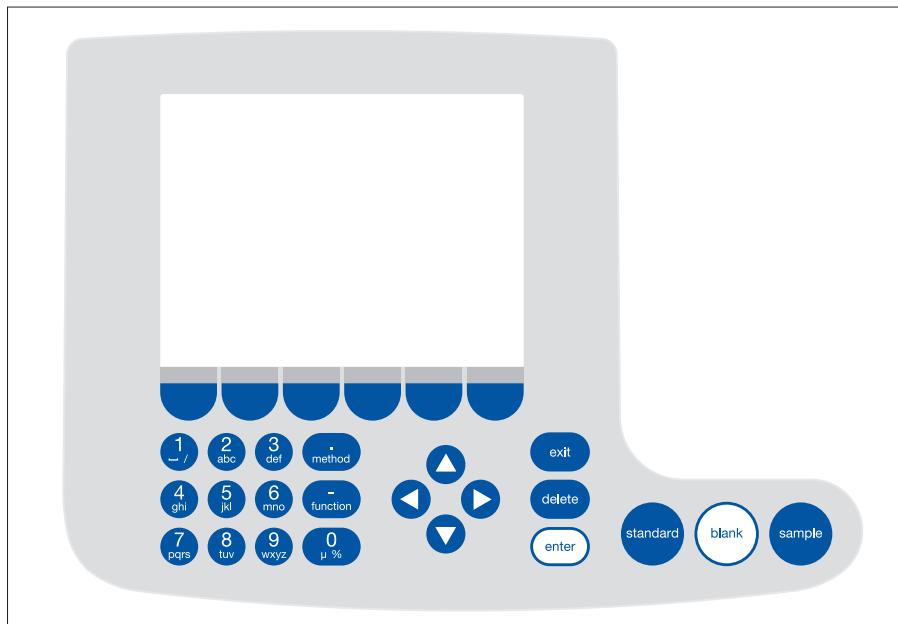


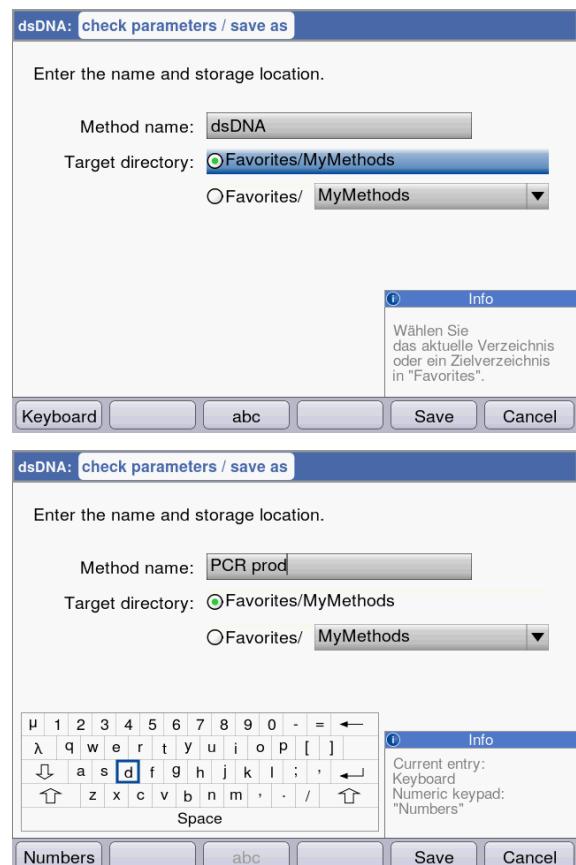
Fig. 5-1: Controlli di BioSpectrometer fluorescence

Tasto	Funzione
	Tastiera: inserimento cifre e testo. Tasti da <b>1</b> a <b>9</b> nonché <b>0</b> : per l'inserimento di testo è possibile immettere, oltre alle cifre, anche lettere e caratteri speciali premendo più volte un tasto. In alternativa è possibile passare con [Keyboard] a una tastiera su schermo.
	Accanto ai tasti per l'inserimento: richiamo della scelta di metodi. Accanto ai tasti per l'inserimento: richiamo della selezione delle funzioni.
	Softkey: scelta delle funzioni. L'assegnazione dei tasti varia a seconda della finestra di dialogo del software. La funzione attuale viene visualizzata sul display direttamente al di sopra del tasto.

Tasto	Funzione
	<p>Muovere il cursore verso sinistra, destra, verso l'alto e il basso.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Navigazione tra campi di inserimento.</li> <li>• Tasti cursore  e  all'interno di un campo di inserimento: navigazione in una sequenza di caratteri.</li> <li>• Tasti  e  in una schermata dei risultati: navigazione tra i risultati di una serie di misurazioni di campioni.</li> <li>• Tasti  e  all'interno di un grafico: navigazione sull'asse delle x del grafico, ad es. per visualizzare i valori di estinzione in funzione delle lunghezze d'onda in una scansione.</li> </ul>
  	<p>Abbandono della selezione attuale passando al livello immediatamente successivo.</p> <p>Cancellazione di quanto inserito. In una sequenza di caratteri viene cancellato il carattere a sinistra del cursore</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Richiamo del metodo o della funzione selezionati.</li> <li>• Apertura dell'elenco.</li> <li>• Conferma dei dati inseriti o delle selezioni.</li> </ul>
  	<p>Avvio della misurazione standard.</p> <p>Avvio della misurazione del bianco.</p> <p>Avvio della misurazione dei campioni.</p>

### 5.1.1 Inserimento di testo

È possibile inserire del testo per l'assegnazione di nomi di metodi e unità dei risultati. Limitazione: per i nomi dei metodi sono consentite solo cifre e lettere nonché il trattino basso "\_".



Inserimento tramite tastiera:

con i tasti cursore **↖** e **↗** si può navigare nel campo di inserimento e modificare singole posizioni all'interno dei nomi.

Softkey:

- [Keyboard]: visualizzazione della tastiera.
- [abc]: passaggio da caratteri maiuscoli a minuscoli e viceversa durante l'inserimento tramite tastiera.
- [Save]: salvataggio del testo inserito.
- [Cancel]: interruzione dell'inserimento di testo.

Inserimento tramite tastiera su schermo:

con i tasti cursore, selezionare i caratteri visualizzati e confermare con il tasto **enter**. Come nel caso di una tastiera per PC, con il tasto "MAIUSC" o con il tasto di blocco delle maiuscole è possibile passare dalle maiuscole alle minuscole e viceversa per gli inserimenti immediatamente successivi o per tutti gli inserimenti seguenti.

Softkey:

- [Numbers]: passaggio all'inserimento tramite tastiera.
- [Save]: salvataggio del testo inserito.
- [Cancel]: interruzione dell'inserimento di testo.

### 5.2 Inserimento della cuvetta

Inserire nella sede della cuvetta le comuni cuvette rettangolari in vetro o in plastica.

- Dimensioni esterne: 12,5 mm x 12,5 mm
- Altezza percorso ottico: 8,5 mm dalla base della cuvetta
- Altezza complessiva: almeno 36 mm

Le cuvette devono essere trasparenti per tutta la relativa lunghezza d'onda misurata. Per misurazioni UV, Eppendorf mette a disposizione una cuvetta in plastica (UVette) trasparente per lunghezze d'onda a partire da 220 nm, adatta anche per l'analisi degli acidi nucleici.

**Cuvettes**

	Eppendorf µCuvette G1.0	Hellma® TrayCell*	UVette®	Ultra-micro	Semi-micro	Macro
Basic area 12.5 mm × 12.5 mm						
Min. overall height	36 mm					
Min. filling level	10 mm					
Light path	8.5 mm					
Max. height of base	7 mm					
	0 mm					
Min. volume Photometry	See manufacturer information	See manufacturer information	50 µL	70 µL	400 µL	1000 µL
Min. volume Fluorimetry	See manufacturer information	not suitable	60 µL * or similar microliter cuvette	70 µL	400 µL	1000 µL

## Premessa

- La cuvetta non presenta polvere, impronte digitali o graffiature.
- Il vano della cuvetta è privo di particelle, polvere e liquido.
- Il volume di misurazione all'interno della cuvetta è sufficiente. Rispettare il volume di misurazione minimo.
- La soluzione di misurazione è priva di particelle e bollicine.
- Fluorimetria: la soluzione di misurazione è priva di sostanze che presentino una propria fluorescenza indesiderata o limitino la fluorescenza della sostanza da analizzare.
- La temperatura della cuvetta è superiore alla temperatura del punto di rugiada relativa alle condizioni ambientali (umidità e temperatura).



La direzione del percorso ottico è indicata da una freccia sull'alloggiamento.

- Fotometria: la direzione del percorso ottico dal di dietro verso il davanti è contrassegnata come "assorbance" sull'alloggiamento.
- Fluorimetria: la direzione del percorso ottico da destra verso sinistra e viceversa è contrassegnata come "fluorescence" sulla copertura del vano della cuvetta.

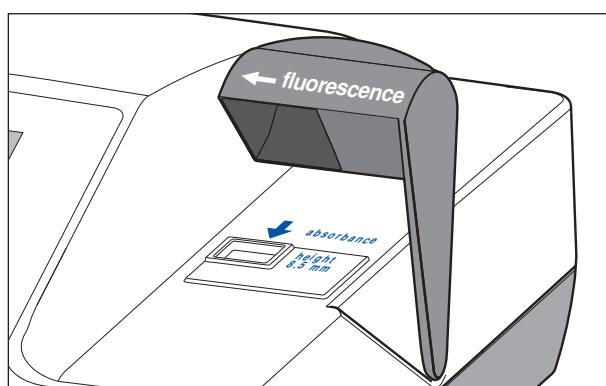


Fig. 5-2: Contrassegno del percorso ottico

1. Posizionare la cuvetta in modo tale che la finestra ottica della cuvetta sia rivolta verso il percorso ottico.
2. Premere verso il basso la cuvetta al momento dell'inserimento, fino a incontrare una leggera resistenza.
3. Fluorimetria: chiudere la copertura del vano della cuvetta prima della misurazione.

## 5.3 Descrizione generale del processo di misurazione

### 5.3.1 Preparazione della misurazione

1. Accendere l'apparecchio ed eventualmente la stampante.

Il dispositivo esegue un autotest (durata circa 1 minuto) e visualizza la scelta di metodi.

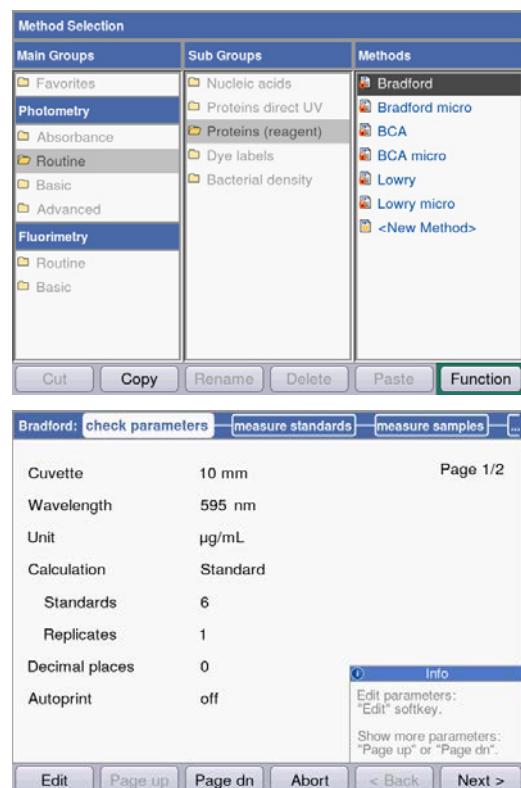
2. Preparare le cuvette per la misurazione (vedi *Inserimento della cuvetta a pag. 25*).
3. Preparare le soluzioni per la misurazione dei bianchi ed eventualmente degli standard e dei campioni.
4. Aprire la copertura del vano cuvette.



Le soluzioni di misurazione con assorbanza inferiore a 0,05 A non dovrebbero essere impiegate per standard e campioni. Anche se il valore limite di rilevazione del dispositivo è considerevolmente inferiore, i disturbi delle soluzioni di misurazione (ad es. particelle, bollicine, torbidità) influiscono molto sull'affidabilità dei risultati a valori di assorbanza così ridotti. Ulteriori informazioni come ad es. il manuale n. 013 sono consultabili sul nostro sito Internet [www.eppendorf.com](http://www.eppendorf.com).

### 5.3.2 Processo di misurazione

#### 5.3.2.1 Selezione del metodo



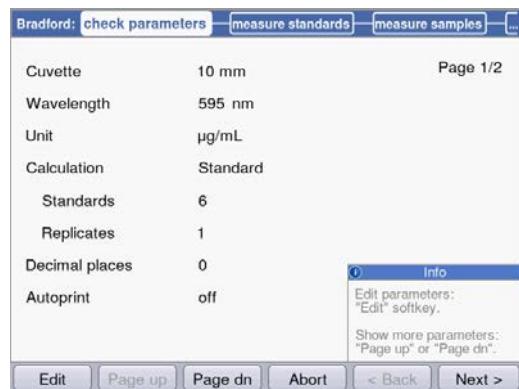
- Selezionare con i tasti cursore il metodo desiderato e richiamarlo con il tasto **enter**. Una panoramica e una descrizione dettagliata dei metodi sono consultabili nel prossimo capitolo (vedi *Metodi a pag. 33*).

**Procedura guidata:** la procedura guidata sul bordo superiore della schermata guida l'utente passo dopo passo durante l'esecuzione del metodo.

**Finestra di aiuto:** a ogni passaggio vengono visualizzati in basso a destra delle indicazioni utili.

**Softkey:** con i softkey [< Back] e [Next >] ci si può spostare al passaggio precedente o successivo del metodo all'interno della procedura guidata.

### 5.3.2.2 Verifica dei parametri

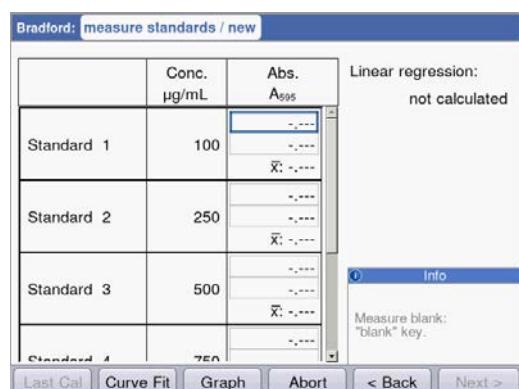


- ▶ Verificare l'impostazione dei parametri. Con i softkey [Page dn] e [Page up] si possono richiamare le pagine dell'elenco dei parametri. Con [Edit] si modificano e si salvano i parametri.

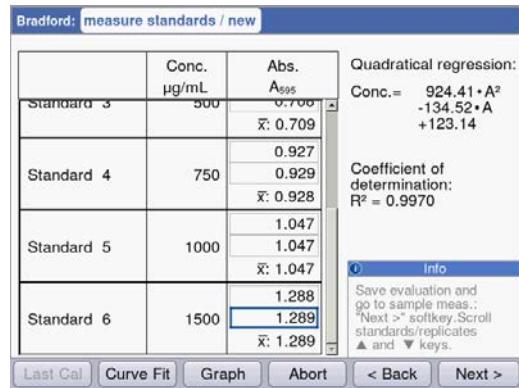
### 5.3.2.3 Misurazione del bianco e degli standard



In caso di analisi senza standard (ad es. misurazioni di DNA) non si può ricorrere a questo passaggio.

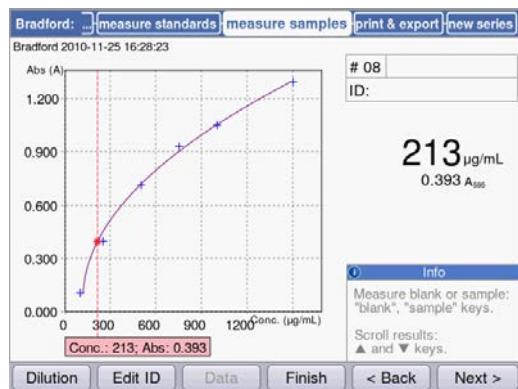


1. Prima di tutto, misurare un bianco (tasto **blank**).
  2. Misurare tutti gli standard in sequenza (tasto **standard**).
- Sullo schermo viene segnalato il prossimo standard da misurare. Con i softkey [Graph] e [Table] è possibile passare a un'altra modalità di visualizzazione dei risultati.



- ▶ Con [Next] si accetta l'analisi effettuata con i risultati standard.

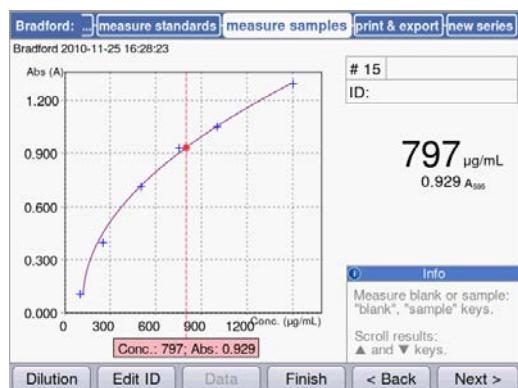
### 5.3.2.4 Misurazione dei campioni



- Con il tasto **sample** si misurano i campioni in sequenza.

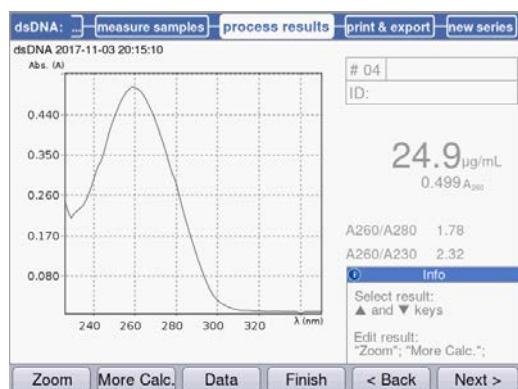
I risultati dei bianchi sono memorizzati per una serie di misurazioni. Tuttavia è sempre possibile effettuare una nuova misurazione dei bianchi (nella rappresentazione qui di fianco di un processo di misurazione con valutazione tramite curva standard, viene visualizzato il grafico della valutazione standard oltre al risultato dei campioni).

### 5.3.2.5 Chiusura del metodo



- Premere [Finish] per terminare la serie di misurazioni e per ritornare alla scelta dei metodi.
- Spegnere il dispositivo al termine di tutte le misurazioni e chiudere la copertura del vano cuvette per proteggere il vano dallo sporco.

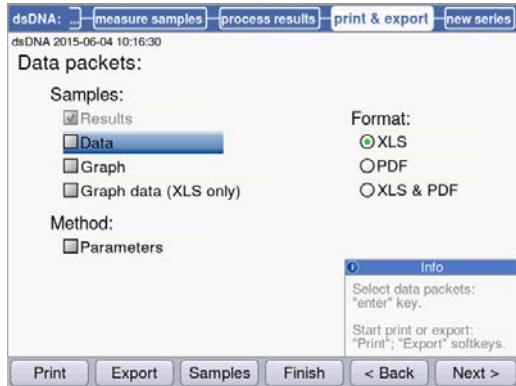
### 5.3.2.6 Opzionale: elaborazione successiva dei risultati



Per certi metodi, nel passaggio **process results** è possibile elaborare i risultati in un secondo momento. Ad esempio si può utilizzare la funzione zoom **SpectraZoom** negli spettri.

- Con i tasti cursore **▲** e **▼** selezionare in modo mirato i risultati della serie di misurazioni che si desidera elaborare.

### 5.3.2.7 Stampa ed esportazione



1. Comporre pacchetti di dati per tutti i campioni o per campioni selezionati.
2. Stampare i dati, salvarli su una chiavetta USB, trasferirli a un PC tramite un cavo USB oppure esportarli attraverso e-mail.

### 5.3.3 Indicazioni importanti per le misurazioni



Per ciascuna misurazione verificare quanto indicato di seguito.

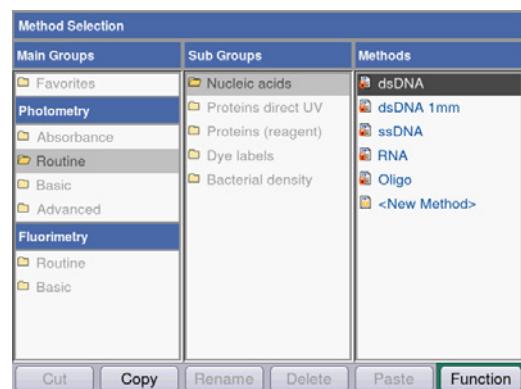
- Per le cuvette in plastica: quante misurazioni possono essere eseguite di seguito e in modo affidabile nella cuvetta?
- Prima delle misurazioni di campioni o di standard, misurare il bianco della cuvetta per compensare anche il bianco della cuvetta oltre a quello del reagente.
- I risultati dei bianchi sono memorizzati per una serie di misurazioni, ma una nuova misurazione del bianco è possibile in qualsiasi momento, anche tra misurazioni di campioni.
- I valori di assorbanza e i valori RFU visualizzati corrispondono sempre ai valori misurati direttamente. Il fattore di diluizione o il fattore cuvetta, nonché i valori di assorbanza di background, vengono considerati solo per il calcolo dei risultati successivo (vedi *Valori di estinzione a pag. 101*).
- Il tempo compreso tra l'avvio di una misurazione e la visualizzazione di un risultato di misurazione è solitamente pari a circa 2 - 3 secondi. Se il rilevatore viene raggiunto da poca luce (valori di assorbanza elevati o valori RFU ridotti), è possibile aumentare la durata della misurazione fino a 9 secondi (fotometria) o 6 secondi (fluorimetria), per accrescere la precisione della misurazione
- Assicurarsi che i valori di assorbanza misurati non superino il valore limite massimo del campo di misurazione fotometrico. In questo caso, annullare il risultato della misurazione. Il valore limite massimo del campo di misurazione fotometrico non dipende solo dalla lunghezza d'onda (vedi *Caratteristiche fotometriche a pag. 98*), ma anche dal bianco della cuvetta. Le cuvette ultra-micro con un piccolo diaframma come **TrayCell** (Hellma) possono possedere un valore del bianco della cuvetta pari a circa  $A = 1$  al massimo. Di questo valore viene ridotto il campo di misurazione fotometrico a disposizione. Si può stimare il valore del bianco della cuvetta misurando la cuvetta riempita con acqua demineralizzata come campione rispetto al vano cuvette come bianco. Il valore del bianco della cuvetta Eppendorf  $\mu$ Cuvette G1.0 è da trascurare (quasi  $A = 0$ ).  
Fluorimetria: una fluorescenza elevata della cuvetta (tipico delle cuvette in plastica) può limitare il campo di misurazione disponibile.
- A misurazione ultimata, rimuovere tutta la soluzione di misurazione prima d'inserire la soluzione di misurazione successiva, per ridurre al minimo la diffusione. Se, a causa di notevoli differenze di concentrazione, si prevede la diffusione di un campione al campione successivo, sciacquare la cuvetta tra una misurazione e l'altra.
- In caso di differenze di temperatura tra la lampada e l'ambiente è possibile che si verifichi una variazione fotometrica. Se l'apparecchio proviene da un ambiente più freddo, attendere che raggiunga la temperatura ambiente.  
Evitare brusche variazioni di temperatura. Effettuare una nuova misurazione del bianco in caso di lunghe serie di misurazioni o di misurazioni effettuate dopo un intervallo di tempo piuttosto lungo.



## 6 Metodi

### 6.1 Selezione del metodo

I metodi e i modelli di un metodo sono già preprogrammati alla consegna. I due gruppi principali **Photometry** e **Fluorimetry** sono suddivisi in sottogruppi.



Metodi protetti dalla scrittura		I metodi più importanti della biologia molecolare. È possibile modificare i parametri, ma questi possono essere salvati solo sotto un nuovo nome di metodo.
Metodi non protetti dalla scrittura		È possibile modificare a piacere i parametri e iniziare la misurazione direttamente dopo averli salvati.
Modelli per nuovi metodi		Per una programmazione più facile dei nuovi metodi, ogni gruppo di metodi contiene un modello già preprogrammato con set di parametri completi. I parametri possono essere modificati a piacere e possono essere salvati sotto un nuovo nome.

Per richiamare un metodo, selezionare con i tasti cursore prima il gruppo principale, poi il sottogruppo e quindi il metodo. Confermare ogni volta con **enter**.

Tab. 6-1: Metodi fotometrici

<b>Absorbance</b>	Metodi per misurazioni di estinzione e trasmissione veloci e semplici senza ulteriori valutazioni.
<b>Routine</b>	Metodi della biologia molecolare utilizzati frequentemente. I metodi sono preprogrammati come fissi. Una modifica dei parametri è tuttavia possibile salvando sotto un altro nome.
<b>Basic</b>	Metodi per la valutazione di misurazioni dell'estinzione con fattore, standard o curva/retta standard.
<b>Advanced</b>	Metodi per la valutazione di due procedure di misurazione a due lunghezze d'onda.
<b>Favorites</b>	In <b>Favorites</b> è possibile configurare le proprie cartelle con <b>&lt;New Folder&gt;</b> e copiare i metodi utilizzati frequentemente in queste cartelle per poter accedere rapidamente a questi metodi.

**Metodi**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Italiano (IT)

Tab. 6-2: Metodi fluorimetrici

<b>Routine</b>	Misurazioni fluorimetriche degli acidi nucleici e delle proteine con reagenti dell'azienda Invitrogen (l'esecuzione di questa procedura potrebbe richiedere una licenza da parte dell'azienda Molecular Probes, Inc., Eugene, OR, USA o Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, USA).
<b>Basic</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Metodi per la valutazione di misurazioni della fluorescenza con standard o curva/retta standard.</li> <li>Metodi <b>Raw fluorescence</b> per una misurazione rapida della fluorescenza senza ulteriore valutazione.</li> </ul>

In tutte le cartelle è possibile creare nuovi metodi con **<New Method>**.

In **Favorites** si possono creare delle proprie cartelle (ad es. per l'assegnazione a persone specifiche), rinominarle e eliminarle.

Tab. 6-3: Softkey nella selezione dei metodi

[Cut] e [Paste]	Taglia e incolla metodi.
[Copy] e [Paste]	Copia e incolla metodi.
[Delete]	Elimina metodi.
[Rename]	Rinomina metodi.

I metodi copiati o tagliati possono essere incollati in un'altra cartella sotto **Favorites** o sotto un nuovo nome nella cartella originaria. Navigare con i tasti cursore nella colonna **Methods** della cartella desiderata e premere [paste] per incollare i metodi.

## 6.2 Descrizione dei metodi di fotometria

Questo capitolo illustra i metodi preprogrammati e i modelli di un metodo.

### 6.2.1 Gruppo di metodi *Absorbance*

#### Single $\lambda$

- Misurazione dell'estinzione con una lunghezza d'onda.
- Nessuna valutazione successiva.
- Determinazione della trasmissione di un campione possibile.

#### Multi $\lambda$

- Misurazioni dell'estinzione con due e fino a sei lunghezze d'onda.
- Nessuna valutazione successiva.

#### Scan

- Misurazione di uno spettro delle lunghezze d'onda di estinzione su una gamma definita di lunghezze d'onda.
- Visualizzazione della lunghezza d'onda e dell'estinzione nello spettro navigando con un cursore delle lunghezze d'onda.
- Modifica della sezione dello spettro attraverso 3 diverse varianti di zoom.
- Rilevamento del picco possibile.

## 6.2.2 Gruppo di metodi *Routine*

I metodi del gruppo ***Routine*** sono preprogrammati come metodi fissi. Dopo aver modificato dei parametri nei metodi preprogrammati fissi, si deve quindi assegnare un nuovo nome al metodo.

### Nucleic acids

- Determinazione della concentrazione degli acidi nucleici con misurazione a 260 nm e valutazione tramite fattore.
- Diversi metodi per acidi nucleici come dsDNA o RNA sono preprogrammati. I parametri si differenziano per il fattore.
- Metodo preprogrammato per cuvette per microlitri: misurazione di DNA in volumi campione nell'ordine dei microlitri con percorso ottico pari a 1 mm (con cuvette per microlitri come Eppendorf  $\mu$ Cuvette G1.0 o Hellma® TrayCell).
- Le seguenti informazioni aggiuntive sulla purezza dell'acido nucleico misurato vengono visualizzate e possono essere estratte, se necessarie, dai parametri di misurazione:
  - rapporto A260/A280 e rapporto A260/A230
  - spettro delle lunghezze d'onda di estinzione dell'acido nucleico
  - estinzione della lunghezza d'onda di fondo (preimpostazione: 320 nm; in questo caso, l'estinzione del solo acido nucleico deve essere circa pari a zero).
- La correzione della torbidità tramite il parametro **Background** è preimpostata.
- Conversione delle concentrazioni in concentrazioni molari nonché (previa indicazione del volume del campione) in quantità di acido nucleico possibile (fase del metodo: **process results**).

### Proteins direct UV

- Determinazione della concentrazione delle proteine con misurazione a 280 nm e valutazione tramite fattore o standard.
- Metodi preprogrammati per ottenere le estinzioni direttamente come risultati (*Protein A 280*) nonché per una valutazione tramite coefficienti di estinzione specifici per l'albumina (*Albumin A 280*).
- Metodo preprogrammato per cuvette per microlitri: misurazione della proteina in volumi campione nell'ordine dei microlitri con percorso ottico pari a 1 mm (con cuvette per microlitri come Eppendorf  $\mu$ Cuvette G1.0 o Hellma® TrayCell).
- Le seguenti informazioni aggiuntive sulla purezza delle proteine misurate vengono visualizzate e possono essere estratte, se necessarie, dai parametri di misurazione:
  - spettro delle lunghezze d'onda di estinzione delle proteine
  - estinzione della lunghezza d'onda di fondo (preimpostazione: 320 nm; in questo caso, l'estinzione della sola proteina deve essere circa pari a zero).
- La correzione della torbidità tramite il parametro **Background** è preimpostata.
- Durante la programmazione dei metodi, con la semplice selezione della proteina da una lista predefinita è possibile importare il relativo fattore. La definizione dei fattori avviene separatamente nelle funzioni del gruppo **Gen. method param.** Diverse proteine sono preprogrammate in **Gen. method param..** È possibile aggiungerne altre.

### Proteins (with reagent)

- Determinazione della concentrazione delle proteine con misurazione in seguito a reazione cromatica e valutazione tramite standard o fattore (tipicamente: valutazione con curva standard).
- I metodi *Bradford*, *Bradford micro*, *Lowry*, *Lowry micro*, *BCA* e *BCA micro* sono già preprogrammati. A seconda del produttore del reagente, è eventualmente necessario cambiare "Curve fit" (tipo di curva standard).

**Dye labels**

- Per biomolecole marcate con coloranti: determinazione della concentrazione della biomolecola (acido nucleico o proteina) con misurazione a 260 o 280 nm nonché del colorante in un processo di misurazione.
- Valutazione con fattore. Oltre alla biomolecola, è possibile misurare parallelamente fino a due coloranti a due lunghezze d'onda diverse.
- Valutazione aggiuntiva del tasso di incorporazione del colorante (FOI). Scelta tra due procedure di calcolo FOI diverse.
- Metodi già preprogrammati: *ssDNA*, marcato con *Cy 3* o *Cy 5*.
- Correzione dell'influsso dello spettro del colorante sull'esattezza della misurazione della biomolecola possibile.
- Correzione della torbidità tramite il parametro **Background** possibile.
- Informazioni aggiuntive sulla purezza delle sostanze misurate: rapporto A260/A280 e rapporto A260/A230 (valori rapporto solo per acidi nucleici), spettro delle lunghezze d'onda di estinzione.
- Durante la programmazione dei metodi, con la semplice selezione della biomolecola e del colorante da liste predefinite è possibile importare diversi parametri, come le lunghezze d'onda di misurazione e i fattori di valutazione. La definizione di questi parametri avviene separatamente nelle funzioni del gruppo **Gen. method param.** Diversi acidi nucleici, proteine e coloranti sono preprogrammati in **Gen. method param..** Altri acidi nucleici, proteine e coloranti possono essere aggiunti.
- Solo per acidi nucleici marcati: conversione delle concentrazioni in concentrazioni molari nonché (previa indicazione del volume del campione) in quantità di acido nucleico e colorante possibile (fase del metodo: **process results**).

**Bacterial density**

- Turbidimetria per la determinazione della densità dei batteri.
- La misurazione a 600 nm è già preprogrammata.
- Informazioni aggiuntive: spettro delle lunghezze d'onda di estinzione.



La misurazione della densità dei batteri a 600 nm non è una misurazione assoluta. Ci sono diversi fattori che possono influenzare il risultato della misurazione. Informazioni dettagliate sono consultabili alla nostra pagina Internet [www.eppendorf.com](http://www.eppendorf.com)

**6.2.3 Gruppo di metodi *Basic*****Factor, Standard**

- Misurazione di una lunghezza d'onda e valutazione tramite fattore o standard.
- I metodi per la valutazione tramite fattore e standard sono preprogrammati.
- Visualizzazione dello spettro di lunghezze d'onda di emissioni.
- Correzione della torbidità tramite il parametro **Background** possibile.

**Calibration curve**

- Misurazione a una lunghezza d'onda e successiva valutazione con una serie da 2 a 12 standard.
- Si possono selezionare diverse procedure di valutazione ("Curve fit") come la regressione lineare, la regressione non lineare.
- Rappresentazione grafica e tabellare dei risultati standard.
- È possibile utilizzare l'ultima valutazione standard salvata.
- Un metodo per la valutazione con curva standard è preprogrammato.

## 6.2.4 Gruppo di metodi *Advanced*

### Dual wavelength

- Misurazione di due lunghezze d'onda e valutazione dei valori di estinzione misurati con due formule base (sottrazione, divisione)
- È possibile definire delle varianti delle formule di base.
- Il risultato può essere valutato con un fattore, con uno standard o con una serie standard.
- I metodi per il calcolo per sottrazione e per divisione e la successiva valutazione con fattore sono preprogrammati.

## 6.3 Descrizione dei metodi fluorimetrici

### 6.3.1 Gruppo di metodi *Routine*

I metodi del gruppo ***Routine*** sono preimpostati come metodi fissi. Dopo aver modificato i parametri nei metodi preimpostati come fissi, occorre quindi assegnare un nuovo nome ai metodi.

I metodi preimpostati, riportati di seguito, si basano sulle disposizioni di lavoro della ditta Invitrogen in merito ai vari reagenti. L'esecuzione di tali procedure potrebbe richiedere una licenza della ditta Molecular Probes, Inc., Eugene, OR, USA o Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA, USA.

#### Nucleic acids

Determinazione fluorimetrica della concentrazione di acidi nucleici in seguito alla reazione con reagenti.

- Misurazione di DNA con PicoGreen, analisi con una curva/retta standard.
- Misurazione di RNA con RiboGreen, analisi con una curva/retta standard.
- Misurazione di oligonucleotidi con OliGreen, analisi con una curva/retta standard.

Le varianti dei programmi dei metodi sono state programmate come "short methods". In "short methods" si possono effettuare delle misurazioni solo con due standard (lo standard zero e un ulteriore standard). I risultati non sono così accurati come nel caso della misurazione con più standard, l'accuratezza ottenuta è comunque sufficiente per molti scopi, dato che la curva standard (relazione tra il segnale di misurazione e la concentrazione) è approssimativamente lineare.

- Misurazione di DNA con reagenti Qubit, analisi con una curva/retta standard.  
Nessun "short method", dato che die curva standard non è lineare.

#### Proteins

Determinazione fluorimetrica della concentrazione di proteine in seguito alla reazione con reagenti.

- Misurazione di proteine con NanoOrange, analisi con una curva/retta standard.  
Questo metodo si basa sulle indicazioni di lavoro della ditta Invitrogen in merito a tale reagente.  
Nessun "short method", dato che die curva standard non è lineare.



I metodi con i reagenti Qubit differiscono da quanto riportato nelle disposizioni di lavoro della ditta Invitrogen. È richiesta in più la preparazione di due diluizioni standard.

Per quanto concerne la preparazione dei campioni e il procedimento, Eppendorf è in grado di fornire ulteriori informazioni a riguardo. I dati di contatto del servizio di supporto applicativo (Application Support) sono riportati sul retro delle presenti istruzioni per l'uso.

### 6.3.2 Gruppo di metodi *Basic*

#### Raw fluorescence

- Misurazione del valore RFU.
- È preimpostato un metodo di misurazione con la lunghezza d'onda di emissione di 520 nm.

#### Standard

- Misurazione del valore RFU e analisi mediante uno standard.
- È preimpostato un metodo di analisi con uno standard.

#### Calibration curve

- Misurazione dei valori RFU e analisi mediante 2-12 standard
- Sono selezionabili diverse procedure di analisi come la regressione lineare ("Curve fit") e la regressione non lineare.
- Visualizzazione dei risultati standard con rappresentazione grafica e in formato tabellare.
- È possibile utilizzare l'ultima analisi standard memorizzata.
- È preimpostato un metodo di analisi con la curva di calibrazione.

## 6.4 Parametri del metodo

Questo capitolo descrive i parametri per la programmazione dei metodi. La sequenza dei parametri visualizzata dall'apparecchio può essere leggermente diversa rispetto alla sequenza della tabella per quanto riguarda pochi metodi, per una rappresentazione chiara dei parametri. La tabella rappresenta l'insieme di tutti i parametri disponibili per i diversi metodi. Per il singolo metodo è richiesto e rappresentato sul display solo un numero limitato di parametri.

Parametri	Inserimento	Spiegazione
Cuvette	Selezione: 10   5   2   1   0,5   0,2   0,1 mm	Altezza percorso ottico cuvetta. I valori di estinzione vengono sempre convertiti automaticamente dall'apparecchio a un'altezza del percorso ottico pari a 10 mm di una cuvetta standard (vedi <i>Valori di estinzione a pag. 101</i> ). Fattori come "50" per il calcolo delle concentrazioni dsDNA non devono pertanto essere modificati, se si modifica il parametro <b>Cuvette</b> .
No. of wavelengths	Immissione valori: Intervallo: da 2 a 6.	Solo per il gruppo di metodi <b>Multi <math>\lambda</math></b> . Numero delle lunghezze d'onda alle quali si deve effettuare la misurazione.
Wavelength	Immissione valori: Lunghezza d'onda di misurazione in nm. Intervallo: da 200 a 830 nm.	Lunghezza d'onda di misurazione: la concentrazione viene calcolata sulla base dell'estinzione misurata a questa lunghezza d'onda. Per i gruppi di metodi <b>Multi <math>\lambda</math></b> nonché <b>Dual wavelength</b> immettere più di una lunghezza d'onda. Per alcuni gruppi di metodi (ad es. <b>Nucleic acids</b> e <b>Proteins direct UV</b> ) le lunghezze d'onda sono preprogrammate come fisse. Per il gruppo di metodi <b>Dye labels</b> non immettere le lunghezze d'onda singolarmente nell'esecuzione del metodo. Queste si importano automaticamente con la semplice selezione della biomolecola e del colorante dalla funzione <b>General Method Parameters</b> .
Wavelength (em)	Selezione: 520 nm   560 nm	Solo per il gruppo di metodi fluorimetrici <b>Basic</b> : Lunghezza d'onda di misurazione: Lunghezza d'onda di misurazione: la concentrazione viene calcolata sulla base della fluorescenza misurata a questa lunghezza d'onda (lunghezza d'onda di emissione). Nei metodi del gruppo <b>Routine</b> la lunghezza d'onda è preprogrammata come fissa.
Wavelength (ex)	Nessun inserimento possibile. Lunghezza d'onda: 470 nm	Solo per gruppi di metodi fluorimetrici: Viene visualizzata la lunghezza d'onda di eccitazione di 470 nm.

## Metodi

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Italiano (IT)

Parametri	Inserimento	Spiegazione
Unit	Selezione: mg/mL   $\mu$ g/mL   ng/mL   pg/mL   $\mu$ g/ $\mu$ L   mg/dL   $\mu$ mol/mL   nmol/mL   pmol/mL   pmol/ $\mu$ L   U   U/mL   U/L   %   Abs   A/min Possibilità di programmare liberamente altre unità nella funzione <b>General Method Parameters/ Units</b> . Max. 7 caratteri.	Unità per il risultato di concentraz. Nei metodi preprogrammati fissi del gruppo <b>Routine</b> la scelta è limitata alle unità adatte a questi metodi.
Formula type	Selezione: division   subtraction	Solo per il gruppo di metodi <b>Dual wavelength</b> . Tipo di formula per il conteggio delle estinzioni a entrambe le lunghezze d'onda di misurazione prima della valutazione con fattore o standard.
Formula: <i>a</i>	Immissione valori: valore per <i>a</i> nella formula di valutazione. Limite: max. 5 caratteri, punto decimale compreso.	Solo per il gruppo di metodi <b>Dual wavelength</b> . Valore per <i>a</i> nelle formule: $[(a*A1) / (b*A2)] * c + d$ e $[(a*A1) - (b*A2)] * c + d$ .
Formula: <i>b</i>	Immissione valori: valore per <i>a</i> nella formula di valutazione. Limite: max. 5 caratteri, punto decimale compreso.	Solo per il gruppo di metodi <b>Dual wavelength</b> . Valore per <i>b</i> nelle formule: $[(a*A1) / (b*A2)] * c + d$ e $[(a*A1) - (b*A2)] * c + d$ .
Formula: <i>c</i>	Immissione valori: valore per <i>c</i> nella formula di valutazione. Limite: max. 5 caratteri, punto decimale compreso.	Solo per il gruppo di metodi <b>Dual wavelength</b> . Valore per <i>c</i> nelle formule: $[(a*A1) / (b*A2)] * c + d$ e $[(a*A1) - (b*A2)] * c + d$ .
Formula: <i>d</i>	Immissione valori: valore per <i>d</i> nella formula di valutazione. Limite: max. 5 caratteri, punto decimale compreso.	Solo per il gruppo di metodi <b>Dual wavelength</b> . Valore per <i>d</i> nelle formule: $[(a*A1) / (b*A2)] * c + d$ e $[(a*A1) - (b*A2)] * c + d$ .
Calculation	Selezione: Factor   Standard	Procedura di valutazione per il calcolo della concentrazione del campione a partire dall'estinzione misurata.

Parametri	Inserimento	Spiegazione
Factor	Immissione valori: fattore. Limite: max. 6 caratteri, punto decimale compreso.	Fattore per la conversione di valori di estinzione/valori RFU in concentrazione. Nei gruppi di metodi indicati di seguito è possibile inserire anche fattori negativi: <b>Dual wavelength, Factor</b> . Per il gruppo di metodi <b>Dye labels</b> non immettere i fattori singolarmente nell'esecuzione del metodo. Queste si importano automaticamente con la semplice selezione della biomolecola e del colorante dalla funzione <b>General Method Parameters</b> .
Protein	Selezione: elenco di tipi di proteine indicati nella funzione <b>General Method Parameters/ Proteins</b> .	Solo per i gruppi di metodi <b>Dye labels</b> e <b>Proteins direct UV</b> . Per la selezione della proteina, dalla funzione <b>General Method Parameters/Proteins</b> si importa anche il relativo parametro <b>Factor</b> programmato in quella sede.
Standards	Immissione valori: n° di standard. Intervallo: da 1 a 12.	Numero delle diverse concentrazioni standard per la valutazione con standard. Con alcuni metodi, il numero di standard è limitato a un piccolo intervallo compreso tra 1 e 12.
Replicates	Immissione valori: numero dei replicati per standard. Intervallo: da 1 a 3.	Numero delle misurazioni ripetute per le diverse concentrazioni standard.
Std. Conc.	Immissione valori: valori di concentrazione degli standard. Limite: max. 6 caratteri, punto decimale compreso.	A seconda del numero degli standard, questo parametro viene messo a disposizione per tutti gli standard (ad es.: Std. Conc. 1, Std. Conc. 2, ...).
Decimal places	Immissione valori: numero degli spazi dopo la virgola decimale per il risultato. Intervallo: da 0 a 3.	Numero degli spazi dopo la virgola decimale per il risultato di concentrazione misurato.
Dye 1	Selezione: elenco di coloranti indicati nella funzione <b>General Method Parameters/Dyes</b> .	Solo per il gruppo di metodi <b>Dye labels</b> . Per la selezione del colorante, dalla funzione <b>General Method Parameters/Dyes</b> si importa anche il parametro relativo al colorante programmato in quella sede: fattore, lunghezza d'onda, eventualmente fattori di correzione per la misurazione a 260 o 280 nm (vedi descrizione del parametro seguente).

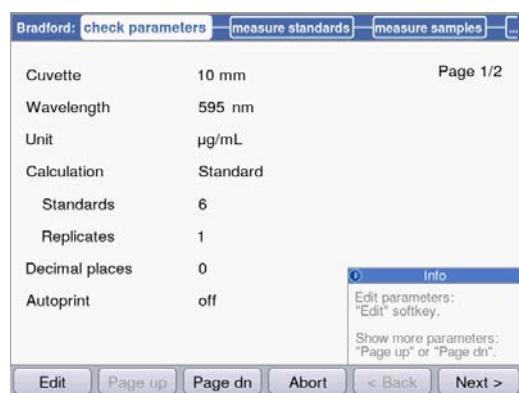
## Metodi

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Italiano (IT)

Parametri	Inserimento	Spiegazione
Correct A260 1	Selezione: on   off	<p>Solo per il gruppo di metodi <b>Dye labels</b>.            Correzione dell'influsso dello spettro del colorante sull'estinzione alla lunghezza d'onda di misurazione della biomolecola (260 o 280 nm). Gli spettri del colorante hanno in parte un'estinzione ridotta a 260 e 280 nm. Queste estinzioni alterano i calcoli per gli acidi nucleici o le proteine di questi metodi. Per ridurre al minimo questa alterazione, si utilizzano fattori di correzione se noti per i singoli coloranti. Se il parametro è attivato, il fattore di correzione viene importato dalla funzione <b>General Method Parameters/Dyes</b>.</p>
Correct A 280 1	Selezione: on   off	<p>Solo per il gruppo di metodi <b>Dye labels</b>.            Per una spiegazione, consultare la descrizione del parametro riportato sopra <b>Correct A 260 1</b>.</p>
Dye 2 active	Selezione: on   off	<p>Solo per il gruppo di metodi <b>Dye labels</b>.            Possibilità di misurare parallelamente anche un secondo colorante. Applicazione: marcatura di una biomolecola con due coloranti.</p>
Dye 2	Selezione: elenco di coloranti indicati nella funzione <b>General Method Parameters/Dyes</b> .	<p>Solo per il gruppo di metodi <b>Dye labels</b> per la misurazione di 2 coloranti.            Scelta del secondo colorante (cfr. parametro <b>Dye 1</b>).</p>
Correct A260 2	Selezione: on   off	<p>Solo per il gruppo di metodi <b>Dye labels</b> per la misurazione di 2 coloranti.            Analogo al parametro <b>Correct A 260 1</b>.</p>
Correct A 280 2	Selezione: on   off	<p>Solo per il gruppo di metodi <b>Dye labels</b> per la misurazione di 2 coloranti.            Analogo al parametro <b>Correct A 280 1</b>.</p>
Show scan	Selezione: on   off	Visualizzazione di una scansione (grafico delle lunghezze d'onda di estinzione) oltre al risultato durante la misurazione dei campioni.
Start $\lambda$	Immissione valori: Lunghezza d'onda in nm. Intervallo: da 200 a 830 nm.	Lunghezza d'onda iniziale per la scansione.
Stop $\lambda$	Immissione valori: Lunghezza d'onda in nm. Intervallo: da 200 a 830 nm. Il valore deve essere superiore al valore per <b>Start <math>\lambda</math></b> .	Lunghezza d'onda finale per la scansione.

Parametri	Inserimento	Spiegazione
A260/A280	Selezione: on   off	Solo per acidi nucleici. Visualizzazione del rapporto A260/A280 oltre al risultato durante la misurazione del campione.
A260/A230	Selezione: on   off	Solo per acidi nucleici. Visualizzazione del rapporto A260/A230 oltre al risultato durante la misurazione dei campioni.
FOI	Selezione: none   dye/kb   pmole/ μg	Solo per il gruppo di metodi <b>Dye labels</b> . Visualizzazione di FOI oltre al risultato durante la misurazione dei campioni. FOI (Frequency of Incorporation) è una misura per il numero di molecole di colorante incorporate nell'acido nucleico per molecola di acido nucleico. Le unità sono "dye/kb" (molecola di colorante ogni 1000 basi) o "pmole/μg" (pmol di colorante per μg di acido nucleico). "none": nessun calcolo FOI.
Background	Selezione: on   off	prima del calcolo dei risultati di un campione, si sottrae l'estinzione di una lunghezza d'onda di fondo, alla quale l'analita da misurare deve indicare un'estinzione pari a zero, dall'estinzione della lunghezza d'onda di misurazione. Applicazione frequente: correzione della torbidità parziale per la misurazione degli acidi nucleici (lunghezze d'onda di fondo a questo proposito: 320 nm o 340 nm).
Wavelength	Lunghezza d'onda in nm. Intervallo: da 200 a 830 nm.	Lunghezza d'onda alla quale si deve misurare il fondo. L'analita da misurare deve presentare allo stato puro il valore di estinzione zero.
Background for dyes	Selezione: on   off	Solo per il gruppo di metodi <b>Dye labels</b> . Ricorso alla correzione del fondo per la misurazione del colorante (vedi parametro <b>Background</b> ).
Wavelength	Lunghezza d'onda in nm. Intervallo: da 200 a 830 nm.	Solo per il gruppo di metodi <b>Dye labels</b> . Lunghezza d'onda alla quale si deve misurare il fondo per il colorante. Il colorante da misurare allo stato puro e non contaminato deve presentare a questa lunghezza d'onda il valore di estinzione zero.
Autoprint	Selezione: on   off	Stampa di un risultato della misurazione direttamente dopo la misurazione con una stampante termica. Saranno stampati solo i dati dei risultati essenziali. Per ottenere dati più dettagliati è possibile comporre i pacchetti di dati desiderati e stamparli al termine della serie di misurazioni nel passaggio del metodo <b>print &amp; export</b> .
Trasmissione	Selezione: on   off	Se viene selezionato il parametro <b>Calculate Transmission</b> , viene visualizzata la trasmissione (in %) del campione.

## 6.5 Esecuzione del metodo



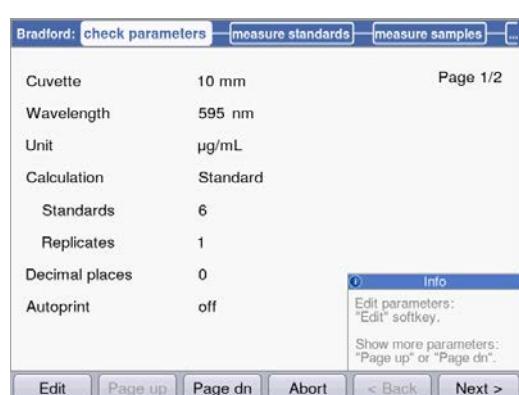
La procedura guidata presente sul margine superiore della schermata vi conduce attraverso l'esecuzione del metodo. La fase del metodo di volta in volta attiva viene evidenziata.

L'esecuzione di un metodo comprende al massimo 5 fasi. La fase di volta in volta attiva viene evidenziata visivamente. Dopo l'ultima fase **print & export** di una serie di misurazioni, come fase successiva, viene proposto l'avvio di una nuova serie di misurazioni. Questa inizia di nuovo con la misurazione dei campioni.

Fase del metodo	Spiegazione
<b>check parameters</b>	Verifica dei parametri del metodo. Eventuali modifiche.
<b>measure standards</b>	Solo nei metodi con analisi degli standard: misurazione e analisi degli standard. In alternativa, è possibile utilizzare l'ultima analisi degli standard salvata.
<b>measure samples</b>	Misurazione dei campioni.
<b>process results</b>	Solo per alcuni metodi: elaborazione successiva dei risultati, ad es. zumata dei grafici di scansione.
<b>print &amp; export</b>	Composizione di pacchetti di dati per la stampa o l'esportazione.

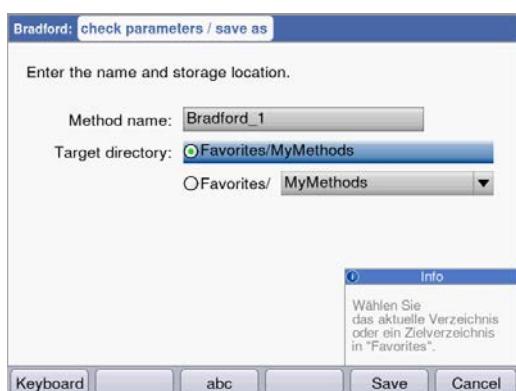
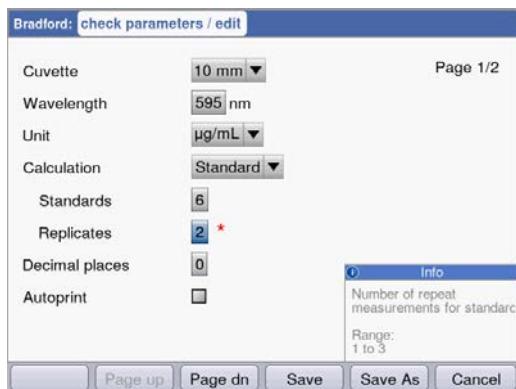
Con i tasti softkey [**Next >**] e [**< Back**] è possibile navigare tra le varie fasi dei metodi. Con [**Abort**] e [**Finish**] si può interrompere o terminare la misurazione. Dopo la prima misurazione di campioni, la denominazione di questo tasto softkey passa da [**Abort**] a [**Finish**].

### 6.5.1 check parameters



#### Softkey

- [Page dn] e [Page up]: cambia tra le pagine di parametri da 1 a 3.
- [Edit]: passa in modalità modifica per parametri.



### Modalità modifica per parametri:

I parametri modificati vengono contrassegnati con un asterisco rosso, fintanto che la modifica non è stata salvata.

### Softkey

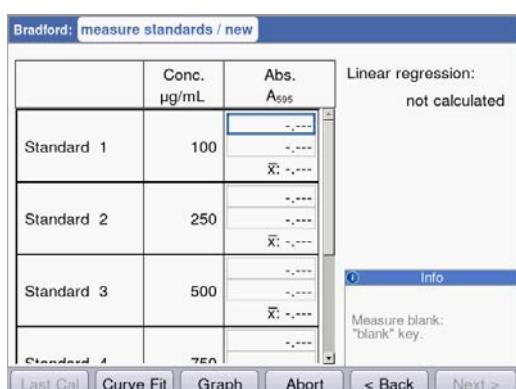
- [Save] e [Save as]: salva modifiche. Con [Save as] è necessario dare al metodo un nuovo nome. È sempre questo il caso, quando vengono cambiati i metodi preprogrammati dalla Eppendorf del gruppo **Routine**.
- [Cancel]: esci dalla modalità modifica senza salvataggio delle modifiche.

Salvataggio del metodo con un nuovo nome: è possibile salvare il metodo nella stessa cartella in cui è stato lanciato oppure nel gruppo di metodi **Favorites** in una cartella a scelta.

Si può digitare il nome (massimo 20 caratteri) attraverso una tastiera inserita (softkey [Keyboard]) oppure direttamente tramite tastierino (vedi *Inserimento di testo a pag. 25*).

Dopo aver salvato, si torna alla schermata **check parameters**.

## 6.5.2 measure standards



### Softkey

- [Last cal]: accesso all'ultima analisi degli standard salvata per questo metodo, per utilizzarla per le misurazioni dei campioni.
- [Curve fit]: procedura per selezionare l'analisi degli standard. La procedura può essere modificata anche in un secondo momento, purché il risultato non sia stato salvato. Indicazioni sulla scelta della procedura di valutazione sono riportate nel capitolo Procedure di valutazione (vedi *Valutazione con curva/retta standard a pag. 104*).
- [Graph]: passa alla visualizzazione grafica dei risultati standard.

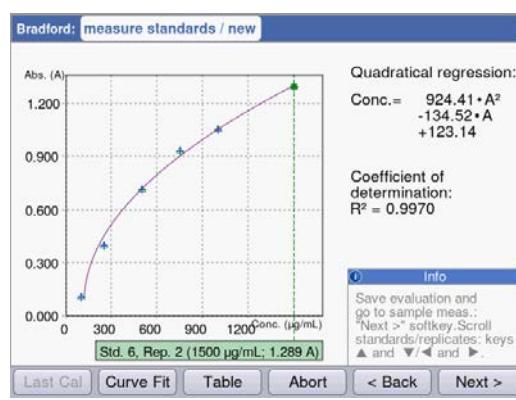
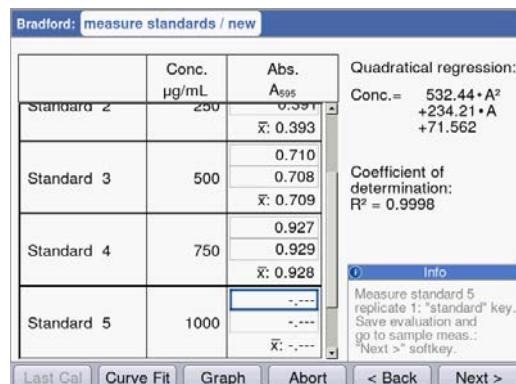
Il primo standard da misurare è evidenziato nella schermata. Dopo il valore del bianco (tasto **blank**), misurare in sequenza tutti gli standard (tasto **standard**).

In caso misuriate un replicato per ogni standard, il valore medio per ogni standard viene calcolato e indicato automaticamente.

Con i tasti cursore **▲** e **▼** potete selezionare anche determinati standard per la misurazione. In questo modo, è possibile anche una nuova misurazione di singoli standard.

**Metodi**

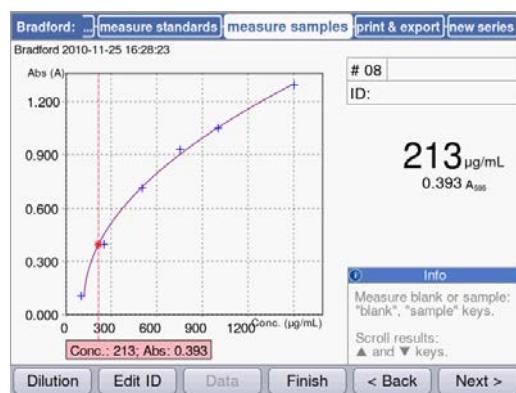
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Italiano (IT)

**Softkey**

- [Table]: passa alla visualizzazione tabellare dei risultati standard.
- [Next >]: salva l'analisi degli standard e passa alla misurazione dei campioni.

### 6.5.3 measure samples

Con il tasto **sample** si misurano i campioni in sequenza. I risultati del valore del bianco rimangono memorizzati per una serie di misurazioni, ma è sempre possibile effettuare una nuova analisi del valore del bianco. Con i tasti **▲** e **▼** è possibile navigare tra i risultati di campione ottenuti fino a quel momento con la serie di misurazioni.



Non appena si raggiunge la quantità minima di risultati per la valutazione con la procedura selezionata (Curve fit), il risultato della valutazione viene rappresentato sul lato destro della schermata. È quindi possibile salvare anzitempo la valutazione e passare alla misurazione di campioni tramite il tasto [Next >].

Rappresentazione grafica della valutazione standard. Con i tasti cursore **▲** e **▼** è possibile navigare tra gli standard per visualizzare i risultati. Nel caso ci sia più di un replicato per ogni standard, è possibile passare tra i diversi risultati replicati con **◀** e **▶**. I singoli standard possono essere selezionati e misurati oppure misurati nuovamente anche nella rappresentazione grafica.

**Visualizzazione dei risultati**

- Il risultato relativo alla concentrazione (6 caratteri con virgola mobile) viene evidenziato in modo netto.
- Con la grafica: risultato a destra della visualizzazione.
- Senza grafica: risultato al centro della visualizzazione.
- Oltre al risultato, viene visualizzato in piccolo anche il valore di estinzione che sta alla base.

## Ulteriori dati

- In alto a destra; prima riga:  
Numero di campioni: viene conteggiato in modo progressivo e riportato a "1" per ogni nuova serie di misurazioni.
- Diluizione del campione (se indicata)
- In alto a destra; seconda riga:  
Identificazione del campione (**ID**) (se indicata)
- In alto a sinistra:  
Nome del file al quale sono stati esportati i dati del passaggio del metodo **print and export** in formato Excel (vedi a pag. 60).

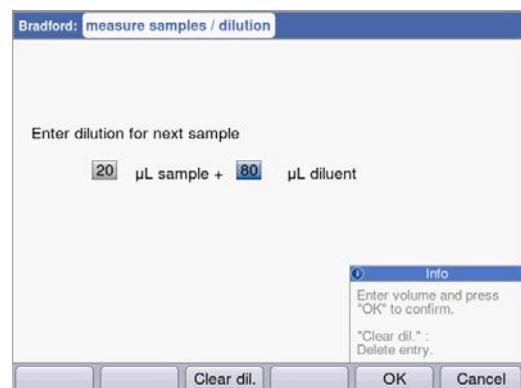
## Softkey

- [Dilution]: inserisce la diluizione del campione.
- [Edit ID]: indica l'ID del campione.
- [Data]: visualizza dati aggiuntivi relativi ai risultati (non con tutti i metodi).
- [Finish]: termina la serie di misurazioni e torna alla selezione dei metodi.



I valori di estinzione visualizzati corrispondono sempre ai valori misurati direttamente. Il fattore di diluizione o quello relativo alle cuvette nonché le estinzioni di fondo sono considerati solo per il successivo calcolo dei risultati (vedi *Valori di estinzione a pag. 101*).

## Indicazione della diluizione



Il softkey [Dilution] è attivo dopo aver effettuato la misurazione del valore del bianco (tasto **blank**).

1. Premere il softkey [Dilution].
2. Indicare i volumi per il campione (massimo 3 caratteri) e per il tampone di diluizione (massimo 4 caratteri).

I successivi risultati di campione vengono moltiplicati dall'apparecchio per il fattore di diluizione calcolato.

## Softkey

- [Clear dil.]: cancella i valori per la diluizione del campione.
- [OK]: conferma la diluizione e torna alla misurazione di campioni.
- [Cancel]: interrompe l'inserimento e torna alla misurazione di campioni.

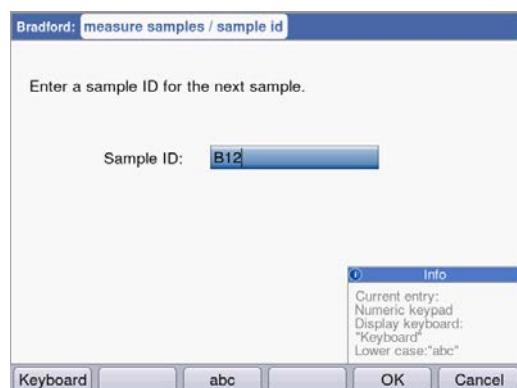
La diluizione è utilizzata per tutti i successivi risultati di campione finché non viene modificata con un nuovo inserimento.

**Metodi**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Italiano (IT)

**Indicazione dell'ID del campione**

L'ID viene utilizzata per il successivo risultato di campione. Immettendo un'ID, viene specificata l'ultima ID inserita per poter così inserire rapidamente delle ID progressive. Non è possibile assegnare la stessa ID a due risultati della stessa serie di misurazioni.



1. Premere il softkey [Edit ID].

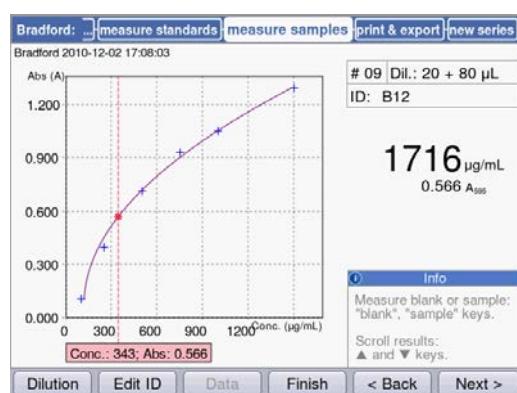
2. Inserire le ID campione (massimo 12 caratteri).

Alternative per l'inserimento di testo:

- Tastiera: premendo il tasto più volte di seguito, scorreranno le opzioni di inserimento di questo tasto.
- Visualizzazione della tastiera con softkey [Keyboard] su schermo: selezionare il simbolo con i tasti cursore e confermare con enter.

**Softkey**

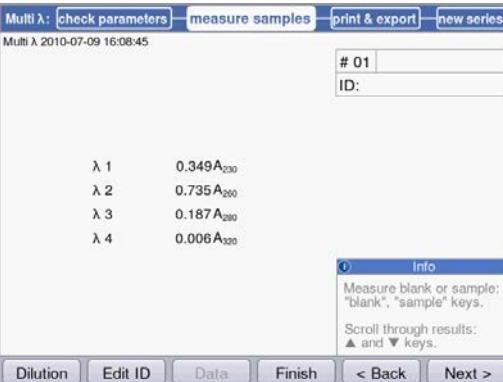
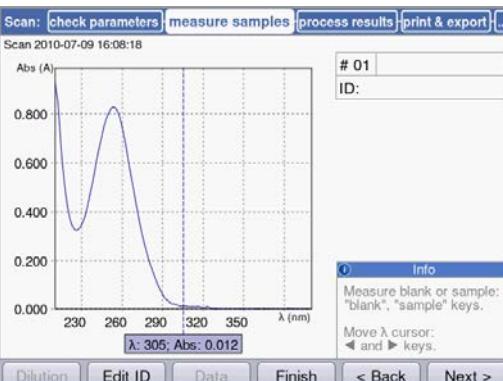
- [Keyboard]: visualizzazione tastiera su schermo.
- [abc]: passaggio dalle lettere maiuscole a quelle minuscole e viceversa durante l'inserimento tramite tastiera.
- [OK]: conferma l'inserimento ID e torna alla misurazione di campioni.
- [Cancel]: interrompe l'inserimento e torna alla misurazione di campioni.

**Schermata dei risultati con diluizione e ID**

Schermata dei risultati con diluizione e ID campione.

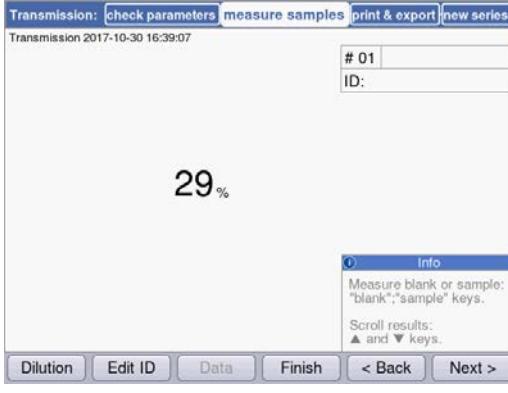
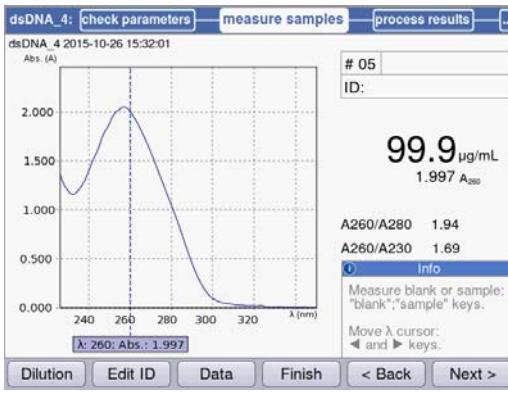
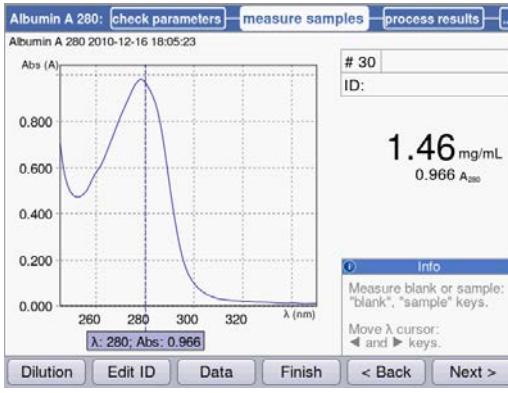
### 6.5.4 measure samples: visualizzazioni dei risultati

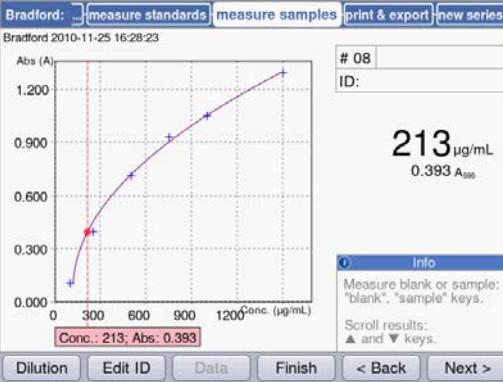
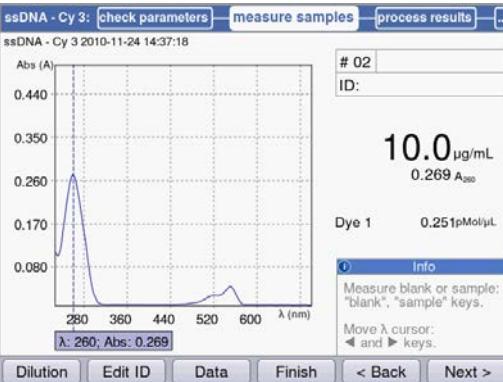
In questa sezione si può ottenere una rappresentazione delle tipiche visualizzazioni dei risultati per tutti i gruppi di metodi nonché una panoramica di altri dati dei risultati, alla quale si giunge premendo il softkey [Data].

Gruppo di metodi	Visualizzazione dei risultati	Spiegazione
<b>Fotometria</b>		
<b>Gruppo principale Absorbance</b>		
Single $\lambda$		<p>Visualizzazione dei risultati:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Estinzione alla lunghezza d'onda di misurazione</li> <li>Solo con diluizione o con una cuvetta differente da 10 mm: visualizzazione aggiuntiva del valore di estinzione prima della conversione.</li> </ul>
Multi $\lambda$		<p>Visualizzazione dei risultati:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Estinzioni alle lunghezze d'onda di misurazione</li> </ul> <p>Dati aggiuntivi (softkey [Data]):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Solo con diluizione o con una cuvetta differente da 10 mm: valori di estinzione prima della conversione.</li> </ul>
Scan		<p>Visualizzazione dei risultati:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Scansione (grafico con indicazione della lunghezza d'onda di estinzione)</li> <li>Navigare tra i punti di misurazione del grafico con <math>\leftarrow</math> e <math>\rightarrow</math>.</li> </ul>

## Metodi

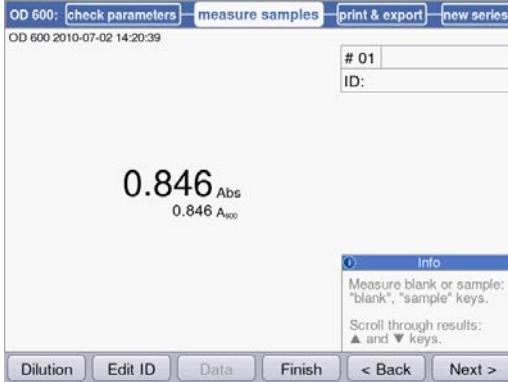
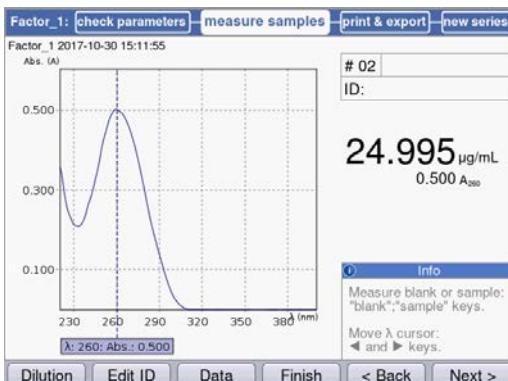
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Italiano (IT)

Gruppo di metodi	Visualizzazione dei risultati	Spiegazione
Fotometria		
<b>Trasmissione</b>		
		<p>Visualizzazione dei risultati:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Trasmissione del campione in [%]</li> <li>I risultati delle cuvette con uno spessore inferiore a 10 mm vengono contrassegnati nel risultato.</li> </ul>
<b>Gruppo principale Routine</b>		
Nucleic acids		<p>Visualizzazione dei risultati:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Risultato di concentrazione con estinzione alla lunghezza d'onda di misurazione</li> <li>Può essere disattivato nei parametri: rapporto A260/A280</li> <li>Può essere disattivato nei parametri: rapporto A260/A230.</li> <li>Può essere disattivato nei parametri: scansione.</li> </ul> <p>Navigare tra i punti di misurazione del grafico che possono essere utilizzati per il calcolo dei risultati, con <b>◀</b> e <b>▶</b>.</p> <p>Dati aggiuntivi (softkey [Data]).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>valore di estinzione per 280 nm;</li> <li>valore di estinzione per 230 nm;</li> <li>valore di estinzione per la lunghezza d'onda di fondo.</li> </ul>
Proteins direct UV		<p>Visualizzazione dei risultati:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Risultato di concentrazione con estinzione alla lunghezza d'onda di misurazione</li> <li>Può essere disattivata nei parametri: scansione.</li> </ul> <p>Navigare tra i punti di misurazione del grafico che possono essere utilizzati per il calcolo dei risultati, con <b>◀</b> e <b>▶</b>.</p> <p>Dati aggiuntivi (softkey [Data]).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>valore di estinzione per 260 nm;</li> <li>valore di estinzione per la lunghezza d'onda di fondo.</li> </ul>

Gruppo di metodi Fotometria	Visualizzazione dei risultati	Spiegazione
Proteins (with reagent)		<p>Visualizzazione dei risultati:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Risultato di concentrazione con estinzione alla lunghezza d'onda di misurazione.</li> <li>In caso di analisi con una serie standard: grafico della valutazione standard con rappresentazione aggiuntiva del risultato di campione.</li> </ul>
Dye labels		<p>Visualizzazione dei risultati:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Risultati di concentrazione con estinzione alla lunghezza d'onda di misurazione della biomolecola;</li> <li>Se nei parametri risulta attivata: scansione.</li> </ul> <p>Navigare tra i punti di misurazione del grafico con  e .</p> <p>Dati aggiuntivi (softkey [Data]). Se i parametri corrispondenti sono stati attivati:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>rapporto A260/A280 e rapporto A260/A230.</li> <li>valori di estinzione per 280 nm e 230 nm nonché per le lunghezze d'onda di misurazione del colorante.</li> <li>Valore FOI.</li> <li>Valori di estinzione per le lunghezze d'onda di fondo.</li> </ul> <p>Nel caso della misurazione di proteine marcate con coloranti non si visualizzano i rapporti e il valore FOI.</p>

## Metodi

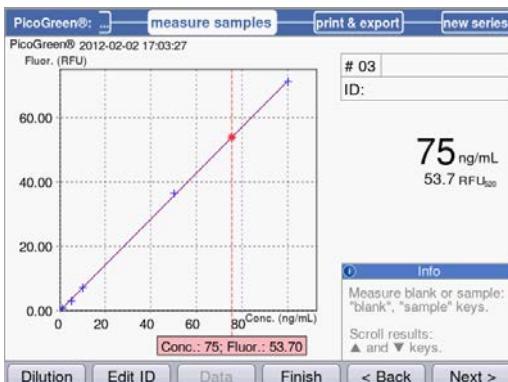
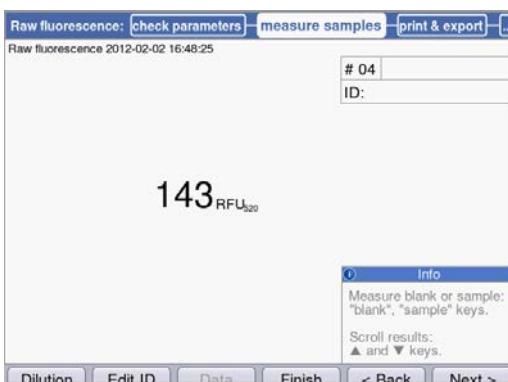
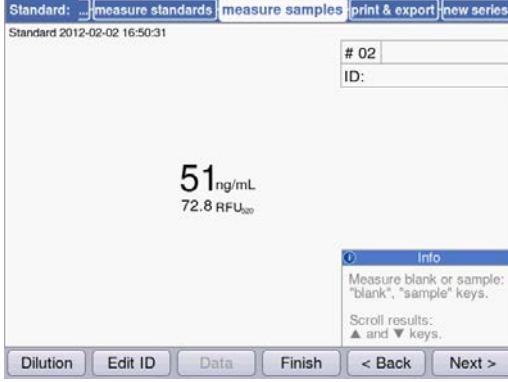
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Italiano (IT)

Gruppo di metodi	Visualizzazione dei risultati	Spiegazione
Fotometria		
<b>Bacterial density</b>		<p>Visualizzazione dei risultati:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Risultato calcolato con estinzione alla lunghezza d'onda di misurazione.</li> <li>Se nei parametri risulta attivata: scansione.</li> <li>Navigare tra i punti di misurazione del grafico con <b>◀</b> e <b>▶</b>.</li> </ul>
<b>Gruppo principale Basic</b>		
Factor, standard		<p>Visualizzazione dei risultati:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Risultato di concentrazione con estinzione alla lunghezza d'onda di misurazione.</li> <li>Se nei parametri risulta attivata: scansione.</li> <li>Navigare tra i punti di misurazione del grafico con <b>◀</b> e <b>▶</b>.</li> <li>Con il softkey [Data] vengono visualizzati i valori di estinzione per le lunghezze d'onda di fondo.</li> </ul>
Calibration curve	Analogo a <i>Proteins (with reagent)</i> (vedi sopra)	<p>Visualizzazione dei risultati:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Risultato di concentrazione con estinzione alla lunghezza d'onda di misurazione.</li> <li>Grafico della valutazione standard con rappresentazione aggiuntiva del risultato di campione.</li> </ul>

Gruppo di metodi	Visualizzazione dei risultati	Spiegazione
Fotometria		
<b>Gruppo principale Advanced</b>	<p><b>Dual wavelength</b></p> 	<p>Visualizzazione dei risultati:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Risultato di concentrazione: viene calcolato sulla base di <math>A_{\text{calc.}}</math> con fattore o valutazione standard.</li> <li><math>A_{\text{calc.}}</math>: viene calcolato con la formula definita nei parametri sulla base delle estinzioni misurate a entrambe le lunghezze d'onda.</li> <li>Valori di estinzione misurati a entrambe le lunghezze d'onda di misurazione.</li> </ul> <p>Dati aggiuntivi (softkey [Data]). Se i parametri corrispondenti sono stati attivati:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>valore di estinzione per la lunghezza d'onda di fondo.</li> </ul>

## Metodi

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Italiano (IT)

Gruppo di metodi	Visualizzazione dei risultati	Spiegazione
Fluorimetria		
Gruppo principale <i>Routine</i>		
<b>Nucleic acids</b>		
		<p>Visualizzazione dei risultati:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Risultato di concentrazione con valore RFU alla lunghezza d'onda di misurazione</li> <li>Grafico della valutazione standard con rappresentazione aggiuntiva del risultato di campione.</li> </ul>
Proteins	Analogo a <i>Nucleic acids</i> (vedi sopra).	Visualizzazione dei risultati:
<b>Gruppo principale <i>Basic</i></b>		
Raw fluorescence		<p>Visualizzazione dei risultati:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Valore RFU alla lunghezza d'onda di misurazione</li> <li>Solo con la diluizione: visualizzazione aggiuntiva del valore RFU prima della conversione.</li> </ul>
Standard		<p>Visualizzazione dei risultati:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Risultato di concentrazione con valore RFU alla lunghezza d'onda di misurazione</li> </ul>

Gruppo di metodi Fluorimetria	Visualizzazione dei risultati	Spiegazione
<b>Calibration curve</b>	Analogo a <i>Nucleic acids</i> (vedi sopra).	Visualizzazione dei risultati: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Risultato di concentrazione con valore RFU alla lunghezza d'onda di misurazione</li> <li>• Grafico della valutazione standard con rappresentazione aggiuntiva del risultato di campione.</li> </ul>

### 6.5.5 process results

Dopo la misurazione dei campioni, nell'esecuzione del metodo, seguono due fasi opzionali: **process results** e **print & export**.

Con alcuni metodi, nella fase **process results** è possibile elaborare i risultati. Esempio: modifica della sezione dello spettro di una scansione.

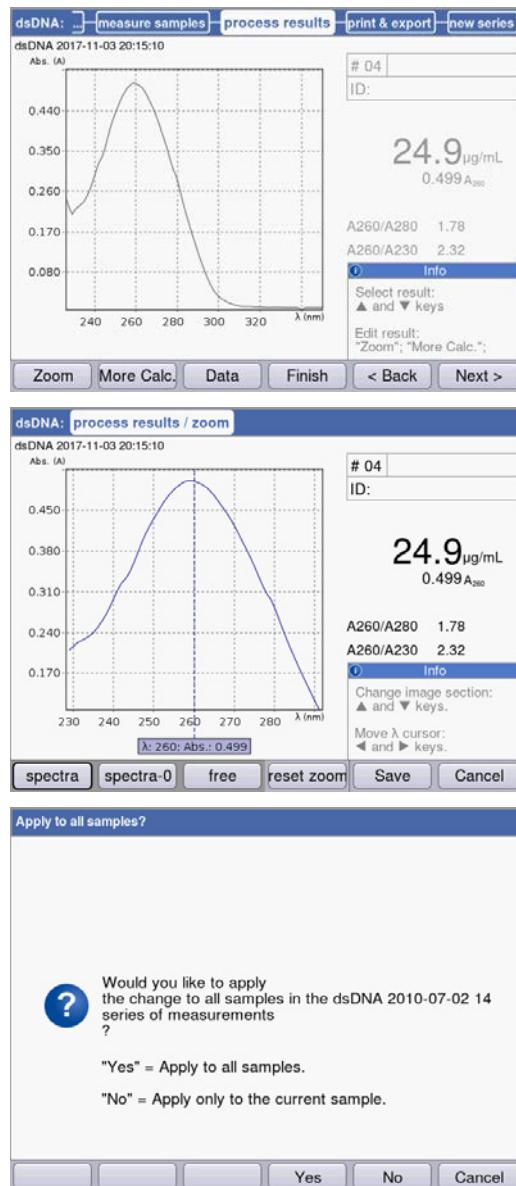
Come nella visualizzazione dei risultati, è possibile navigare con i tasti cursore e tra i risultati di campione della serie di misurazioni e selezionare in modo mirato dei risultati per la post-elaborazione.

Tab. 6-4: Opzioni: Panoramica

Opzione	Spiegazione	Disponibile nel metodo
Zoom	Modifica il limite degli assi nel grafico delle lunghezze d'onda di estinzione, per limitare la rappresentazione a sezioni ingrandite del grafico.	In linea generale tutti i metodi per i quali è disponibile ed è stato attivato il parametro <b>Scan</b> . <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Multi λ</b></li> <li>• <b>Scan</b></li> <li>• <b>Nucleic acids</b></li> <li>• <b>Proteins direct UV</b></li> <li>• <b>Dye labels</b></li> </ul>
More calculations	Converte i risultati di concentrazione in concentrazioni molari nonché (dopo aver indicato il volume) in quantità totali.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Nucleic acids</b></li> <li>• <b>Dye labels</b> (con acidi nucleici come biomolecole)</li> </ul>
Peak detection	Riconosce i picchi negli spettri delle lunghezze d'onda di estinzione.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Scan</b></li> </ul>

## Metodi

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Italiano (IT)



Su entrambi i softkey a sinistra sono disponibili opzioni per la post-elaborazione. In questo esempio: [Zoom] e [More Calculations].

In seguito a delle modifiche, è possibile uscire dalla modalità attuale con entrambi i softkey a destra:

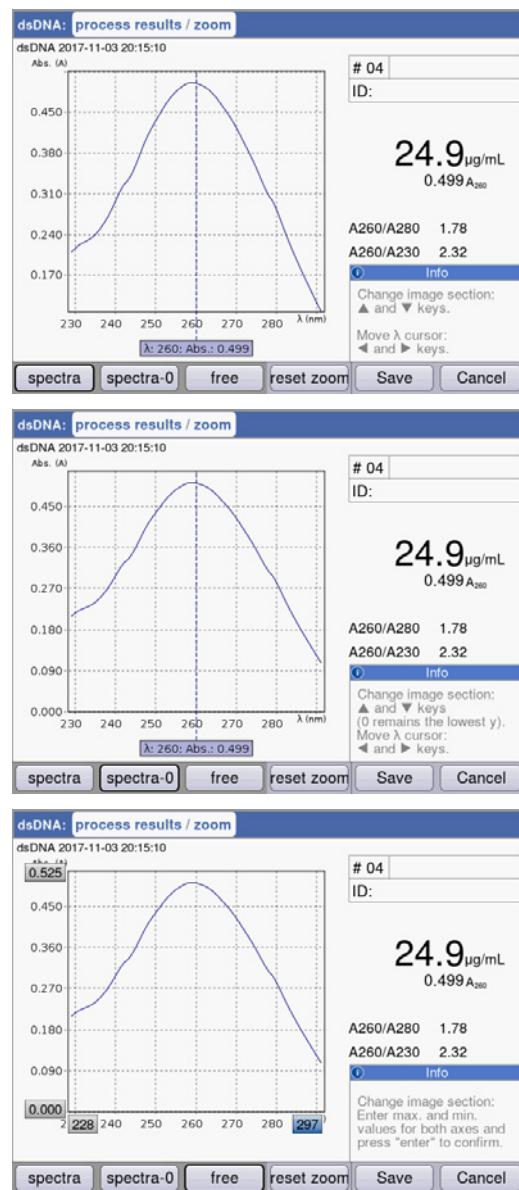
- [Save]: salva modifica e torna alla fase **process results**.
- [Cancel]: interrompe e torna alla fase **process results**.

Dopo aver salvato le modifiche, è possibile applicarle con [Yes] a tutti i campioni della serie di misurazioni.

## 6.5.6 process results: Opzioni

### Zoom

Premere il softkey [Zoom] e selezionare una delle varianti indicate di seguito.



#### Variante [spectra]:

- Tasti cursore **◀** e **▶**: muovere il cursore delle lunghezze d'onda. In questo modo si determina il centro dell'ingrandimento sopra l'asse x.
- Tasti cursore **▲** e **▼**: ingrandisce e rimpicciolisce gradualmente la sezione visualizzata dell'asse x secondo la procedura SpectraZoom. La sezione visualizzata dell'asse y viene adattata ad ogni passaggio in modo tale che il valore massimo e minimo dei dati da rappresentare utilizzino al meglio tale sezione.

#### Variante [spectra-0]:

corrisponde alla variante [spectra] con la seguente eccezione:  
il limite inferiore della sezione dell'asse y rappresentata corrisponde sempre a "0 A".

#### Variante [free]:

è possibile inserire liberamente i limiti di intervallo per entrambi gli assi.  
Navigazione tra campi di immissione con i tasti cursore (**▲**, **▼**, **◀**, **▶**).

Con tutte e 3 le varianti, il softkey [reset zoom] consente di ritornare alla rappresentazione di partenza dello spettro.

**Metodi**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Italiano (IT)

**More calculations**

Premere il softkey [More calc.].

**dsDNA: process results / more calc.**

dsDNA 2012-06-01 17:04:47

Entries:  
Total volume of sample: 100  $\mu$ L # 13  
Molecular mass: 297 basepairs  
196 kDa

Calculations:  
dsDNA: 6.0  $\mu$ g/mL 6.0  $\mu$ g/mL 0.120  $A_{260}$   
0.6  $\mu$ g total amount in sample  
30.7 pmol/mL  
3.1 pmol total amount in sample

**ssDNA - Cy 3: process results / more calc.**

ssDNA - Cy 3 2010-11-29 12:08:12

Entries:  
Total volume of sample: 50  $\mu$ L # 03  
Molecular mass: 300 bases  
0 kDa

Calculations:  
ssDNA: 9.0  $\mu$ g/mL 9.0  $\mu$ g/mL 0.244  $A_{260}$   
0.5  $\mu$ g total amount in sample  
Dye 1 0.214 pmol/ $\mu$ L  
Cy3: 0.214 pmol/ $\mu$ L  
10.7 pmol total amount in sample

Save Cancel

**Gruppo di metodi Nucleic acids:**

- Dopo aver inserito la massa molare (alternativamente in basi/paio di basi o in kDa): conversione del risultato di concentrazione in concentrazione molare.
- Dopo aver inserito il volume del campione: calcolo della quantità totale nel campione.

**Gruppo di metodi Dye labels:**

acido nucleico:

- Dopo aver inserito la massa molare (alternativamente in basi/paio di basi o in kDa): conversione del risultato di concentrazione in concentrazione molare.
- Dopo aver inserito il volume del campione: calcolo della quantità totale nel campione.

Colorante:

- Dopo aver inserito il volume del campione: calcolo della quantità totale nel campione.



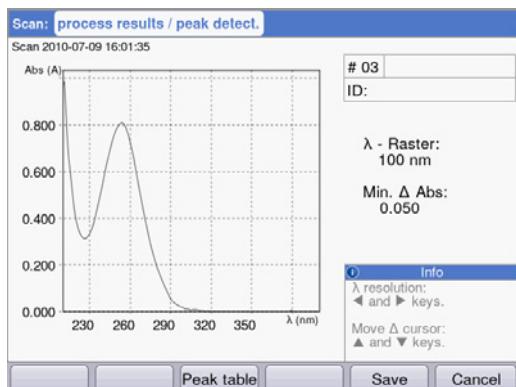
- Per **dsDNA**, si utilizza un acido nucleico a doppio filamento per il conteggio della concentrazione molare. Per i metodi **ssDNA**, **RNA** e **Oligo** si utilizza un acido nucleico a singolo filamento.
- Per i metodi che sono stati nuovamente programmati nel gruppo principale **Routine**, nel gruppo di metodi **Nucleic acids** tramite **<New Method>**, si utilizzano sempre acidi nucleici a doppio filamento per il calcolo della concentrazione molare.

**Peak detection**

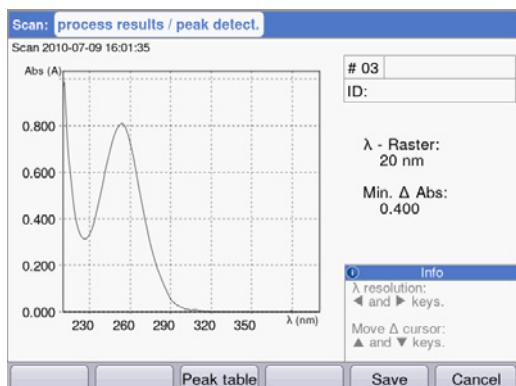
Premere il softkey [Peaks]. Per il rilevamento del picco è possibile scegliere tra due criteri:

- **Griglia  $\lambda$** : griglia di valutazione sulla scala delle lunghezze d'onda per il rilevamento del picco (ad es. 10 nm).  
Beispiel 10 nm: si valuta la sezione dello spettro da -5 nm a +5 nm relativamente al picco da riconoscere.
- **Min.  $\Delta$  Abs**: differenza minima tra il picco da riconoscere e il valore di estinzione più basso nella griglia di valutazione. Allo stesso tempo, nessun valore di estinzione della griglia deve essere più elevato del valore del picco (ad es.: 0.5).

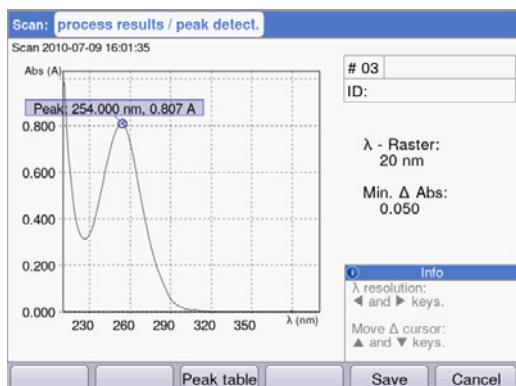
## Esempi:

Griglia  $\lambda$ : 100 nm, min.  $\Delta$  Abs: 0.050:

Il picco non viene riconosciuto in quanto la griglia  $\lambda$  è troppo grande: i valori di estinzione al margine sinistro della griglia superano i valori di estinzione del picco.

Griglia  $\lambda$ : 20 nm, min.  $\Delta$  Abs: 0.200:

Il picco non viene riconosciuto in quanto il valore specificato per **Min. Δ Abs** è troppo elevato. La differenza tra l'estinzione del picco e l'estinzione più bassa della griglia è inferiore a 0,2 A.

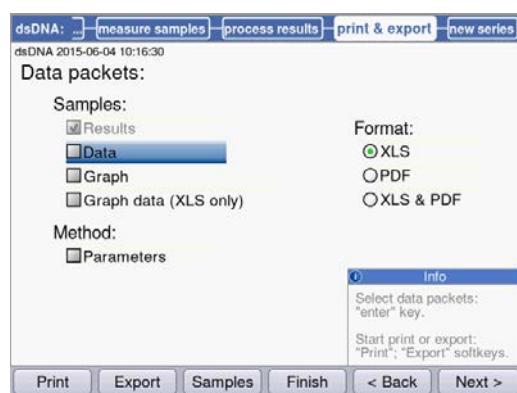
Griglia  $\lambda$ : 20 nm, min.  $\Delta$  Abs: 0.050:

Il picco viene riconosciuto.

### 6.5.7 print & export

Nell'ultima fase opzionale è possibile comporre pacchetti di dati per tutti o per alcuni campioni selezionati da una serie di misurazioni:

- per la stampa tramite stampante
- per l'esportazione su una chiavetta USB
- per l'esportazione attraverso cavo USB direttamente su un PC
- per l'esportazione via e-mail



#### Selezione di pacchetti di dati

- Navigare con i tasti cursore e confermare con **enter**.

#### Selezione del formato

- XLS: esportazione in tabella Excel.
- PDF: esportazione o stampa in formato PDF.

#### Softkey

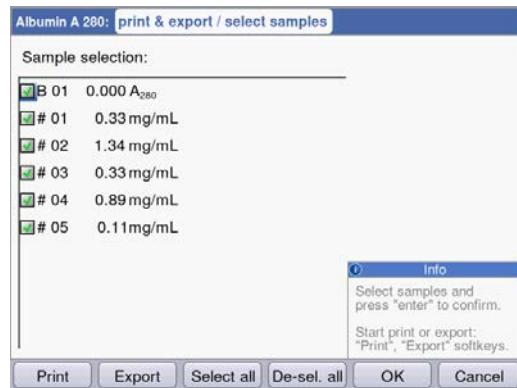
- [Print]: avvia stampa.
- [Export]: avvia esportazione.
- [Sample]: seleziona i singoli risultati di campione.

#### Selezione di pacchetti di dati

Results	Dati dei risultati primari; non selezionabili poiché vengono sempre trasferiti.
Data	Ulteriori dati dei risultati mostrati durante la misurazione nelle visualizzazioni dei risultati premendo il softkey [Data].
Graph	Spettro delle lunghezze d'onda di estinzione.
Graph data	I dati di base numerici per il grafico. "export only": solo per l'esportazione, stampa non possibile.
Parameters	Parametri del metodo
Standards/Results	Dati dei risultati della valutazione standard.
Standards/Graph	(Solo per valutazioni standard con più standard:) grafico estinzione - concentrazione.

Sono offerti solo i pacchetti di dati disponibili a seconda del metodo e dell'impostazione dei parametri.

## Selezione dei singoli risultati di campione



## Avvio dell'esportazione

I dati vengono convertiti in un file Excel (.xls) o in formato PDF. I file Excel sono leggibili con versioni Excel a partire da Excel 97. Per ognuno dei pacchetti di dati selezionati viene creato un foglio elettronico in Excel. Il nome del file è composto dal nome del metodo, dall'ora e dalla data della serie di misurazioni.



## Esportazione su chiavetta USB

1. Collegare una chiavetta USB, con formattazione FAT-32, alla porta USB **4** (vedi *Panoramica dei prodotti a pag. 15*).
2. Con [Export] avviare "Esportazione su un supporto di memorizzazione esterno".

## Esportazione su PC

Requisiti del sistema operativo del PC: Windows XP, SP2 o versioni successive.

1. Collegare il dispositivo con il PC tramite il cavo USB alla porta USB **8** (vedi *Panoramica dei prodotti a pag. 15*).
2. In caso di esportazioni ripetute, assicurarsi che i dati precedentemente esportati siano stati salvati sul disco fisso del PC, in quanto altrimenti verrebbero sovrascritti con la nuova esportazione.
3. Con [Export] avviare "Esportazione sul PC".
4. Il pacchetto di dati esportato viene visualizzato sul proprio PC come supporto dati rimovibile con il nome "eppendorf". Aprire il file in questa unità e salvarlo sul disco fisso.

## Selezione di campioni

- Premere il softkey [Samples] per richiamare la funzione di selezione di campioni.
- Navigare con i tasti cursore e confermare con **enter**.

## Softkey

- [Select all]: seleziona tutti i campioni
- [De-Sel. all]: riporta alla selezione.

## Selezione della variante per l'esportazione

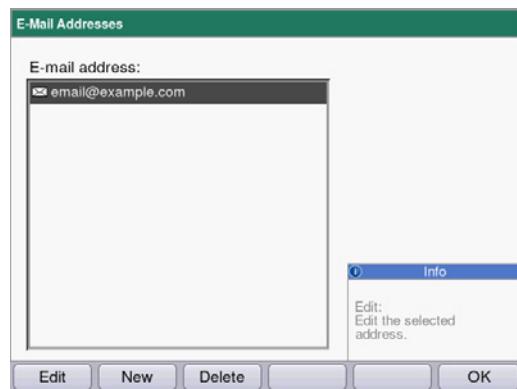
- Navigare con i tasti cursore e confermare con **enter**.
- Esportazione su un supporto di memorizzazione esterno: salva i dati su una chiavetta USB. Se non è stata collegata alcuna chiavetta USB, questa opzione non può essere selezionata.
- Esportazione su un PC: salva i dati su un PC.
- Esportazione via e-mail: invia i dati a un indirizzo e-mail.

**Metodi**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Italiano (IT)

**Esportazione tramite un indirizzo e-mail**

1. Selezionare dalla lista un indirizzo e-mail oppure selezionare "Edit" per inserirne uno nuovo.
2. Con [Export] avviare "Invio a un indirizzo e-mail".

**Modifica degli indirizzi e-mail**

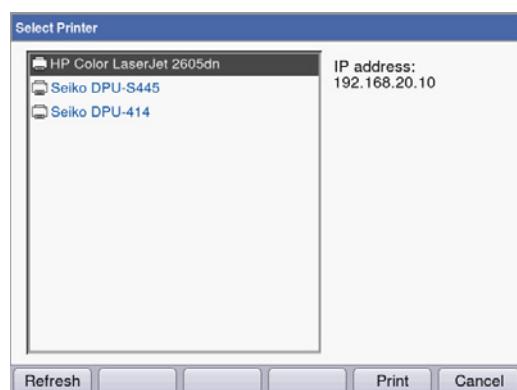
- Selezionare "Edit" nell'elenco a discesa e confermare con **enter**. Si apre una finestra in cui è possibile modificare gli indirizzi e-mail.
- [Edit]: modifica indirizzo e-mail.
- [New]: crea nuovo indirizzo e-mail.
- [Delete]: elimina indirizzo e-mail.

**Avvio della stampa**

I dati possono essere stampati in rete tramite stampante oppure attraverso stampante USB collegata.



Se l'apparecchio è collegato a una rete, tutte le stampanti compatibili vengono automaticamente riconosciute e visualizzate. Se non sussiste alcuna connessione alla rete, è possibile selezionare solo una stampante USB collegata.

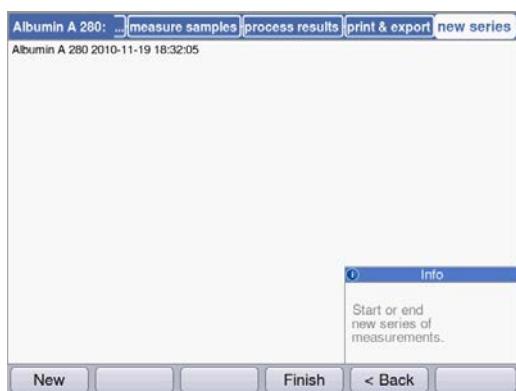


1. Selezionare una stampante.
2. Con [Print] avviare la stampa dei dati.

## 6.5.8 Conclusione della serie di misurazioni

Al termine dell'ultimo passaggio del metodo **print & export**, è possibile avviare una nuova serie di misurazioni con il metodo selezionato o selezionare un nuovo metodo.

### Conclusione della serie di misurazioni e avvio di una nuova serie di misurazioni



- Softkey [Next >]: accesso alla fase **new series**
- Softkey [New]: accesso alla fase **measure samples** e avvia una nuova serie di misurazioni.

### Conclusione della serie di misurazioni e selezione di un nuovo metodo

- Softkey [Finish]: chiude la serie di misurazioni e accede alla selezione dei metodi.

**Metodi**

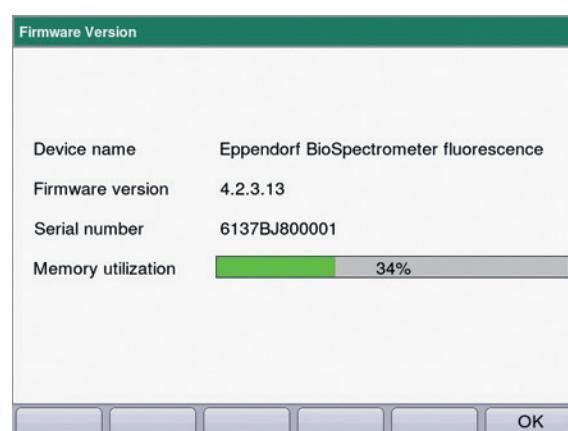
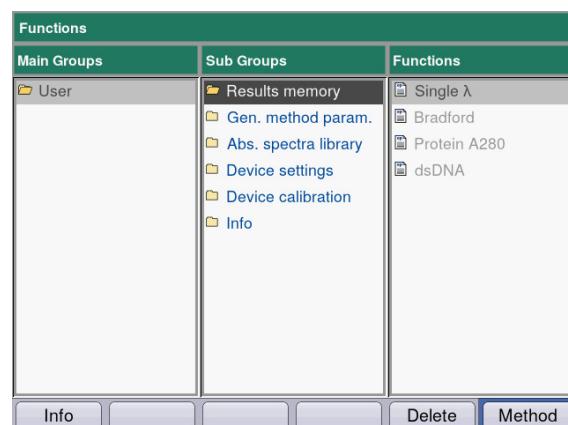
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Italiano (IT)

## 7 Funzioni

### 7.1 Funzioni del gruppo principale *User*

Con il tasto **function** o il softkey [Function] potrete accedere a un menu che vi permetterà di selezionare le funzioni per regolare le impostazioni dell'apparecchio o richiamare i risultati salvati.

Le funzioni sono strutturate in 3 colonne, analogamente alla selezione dei metodi. Le funzioni del gruppo principale *User* sono accessibili. Come per la selezione dei metodi, è possibile navigare con il cursore, per selezionare prima il sottogruppo desiderato e poi, nella colonna destra, la funzione desiderata. Per accedere alla funzione, premere il tasto **enter**.



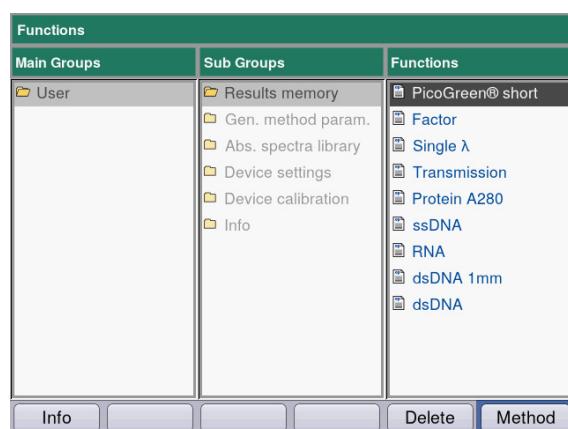
#### Softkey [Info]:

- Versione firmware
- Numero di serie del BioSpectrometer fluorescence
- Attuale utilizzo della memoria

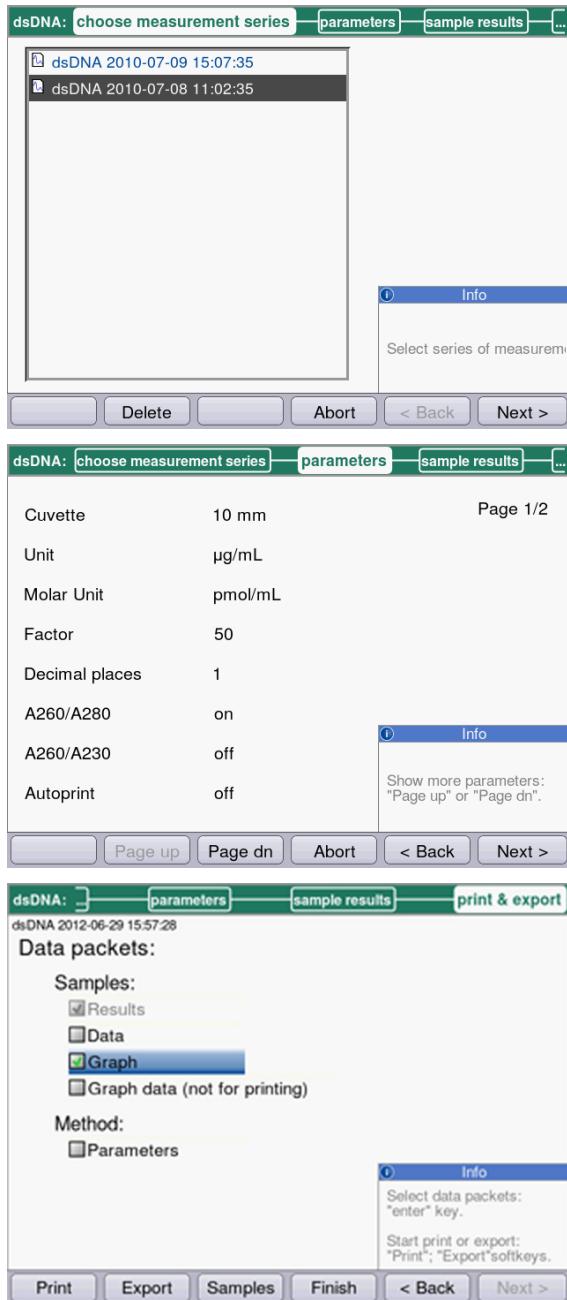
Tab. 7-1: Panoramica delle funzioni

Sottogruppo	Spiegazione
<b>Results memory</b>	<p>Visualizzazione dei risultati memorizzati. I risultati sono accessibili secondo una struttura organizzata per metodi e serie di misurazioni e, inoltre, possono essere stampati, esportati e cancellati dalla memoria. Si possono cancellare singole serie di misurazioni, tutte le serie di misurazioni di un metodo o l'intera memoria con i risultati.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Per cancellare il metodo e tutte le relative serie di misurazioni, premere il softkey <b>Delete</b>.</li> <li>▶ Confermare con <b>enter</b>.</li> </ul>
<b>General method parameters</b>	<p>I parametri, utilizzabili globalmente con diversi metodi, sono memorizzati al centro dello spazio <b>Functions</b>. I parametri impostati in fabbrica non possono essere cancellati. I nuovi parametri creati possono essere modificati liberamente. Nella fase <b>Check parameters</b> i parametri globali sono selezionabili semplicemente attraverso caselle di controllo.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Proteins, Nucleic acids, Dyes</b> contengono parametri utilizzabili per i metodi del gruppo <b>Dye labels</b> e <b>Proteins direct UV</b>.</li> <li>• <b>Units</b>: unità per risultati di concentrazioni che è possibile utilizzare per molti metodi.</li> </ul>
<b>Absorbance spectra library</b>	<p>Spettri delle lunghezze d'onda di estinzione di sostanze importanti, ad es. il DNA. Gli spettri forniscono informazioni e possono essere utilizzati come comparazione rispetto allo spettro di un risultato del campione.</p>
<b>Device settings</b>	Impostazioni modificabili dell'apparecchio, ad es. la lingua.
<b>Device calibration</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Possibilità di verifica dello spettrofotometro. A tale scopo, è necessario un kit di filtri Eppendorf.</li> <li>• Possibilità di controllo dell'unità di rilevamento della fluorescenza.</li> </ul>
<b>Informazione</b>	Licenze open source e informazioni sui marchi registrati.

### 7.1.1 Results memory



- ▶ Selezionare nella colonna di destra il metodo per cui desiderate accedere ai risultati memorizzati.
- ▶ Per cancellare il metodo e tutte le relative serie di misurazioni, premere il softkey **Delete**.
- ▶ Confermare con **enter**.

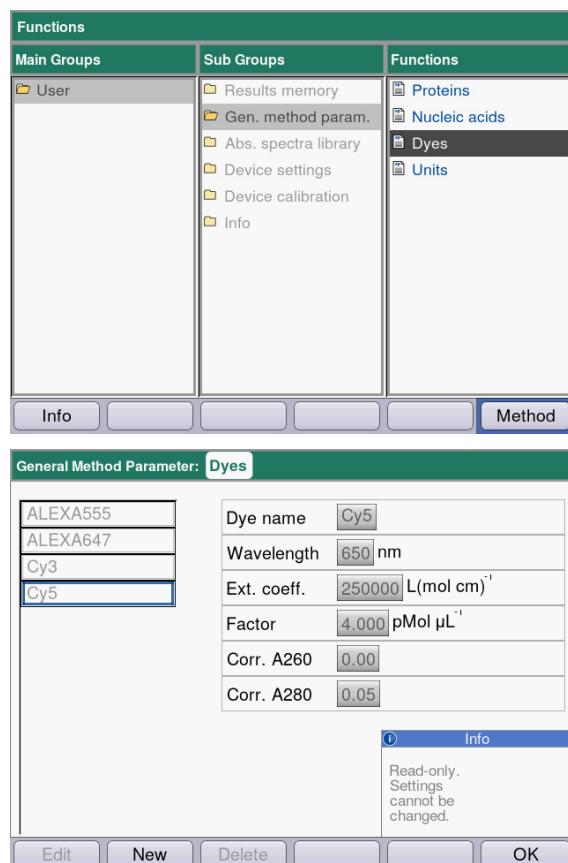


- ▶ Selezionare la serie di misurazioni desiderata con il cursore.
- ▶ Per cancellare il metodo e tutte le relative serie di misurazioni, premere il softkey **Delete**.
- ▶ Confermare con **enter**.

Come nell'esecuzione del metodo, anche qui è possibile, a seconda della serie, selezionare l'opzione di stampa ed esportazione attraverso la visualizzazione dei parametri, degli standard, dei risultati di campione e infine dei pacchetti di dati. L'assegnazione dei softkey corrisponde all'assegnazione nell'esecuzione del metodo.

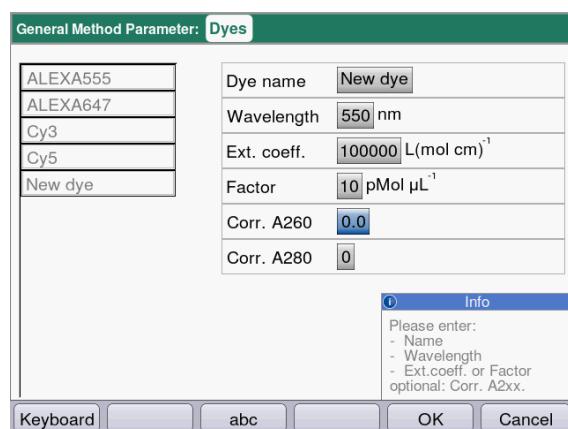
- ▶ Se si vogliono stampare o esportare i risultati, selezionare i pacchetti dei dati. L'esecuzione della stampa e dell'esportazione, così come il significato dei tasti di funzione, corrisponde alla fase **print & export**.

### 7.1.2 General method parameters



#### Softkey

- [Edit]: modifica il gruppo di parametri selezionato.
- [New]: crea un nuovo gruppo di parametri.
- [Delete]: elimina il gruppo di parametri selezionato.
- [OK]: torna alla selezione delle funzioni.



- ▶ Selezionare nella colonna di destra il gruppo di parametri per cui desiderate modificare i parametri.
- ▶ Confermare con **enter**.

In questo esempio, sono riportati i gruppi di parametri per diversi coloranti (coloranti per i metodi Dye) e sono collocati rispettivamente sotto un nome. Sotto questo nome, è possibile importare nel programma di metodi il gruppo di parametri desiderato, durante la modifica di un metodo Dye. I dyes presenti di fabbrica sono protetti dalla scrittura e non possono essere modificati, né cancellati.

#### Display

- a sinistra: nome Dye. selezionare con **▲** e **▼**.
- a destra: parametro corrispondente

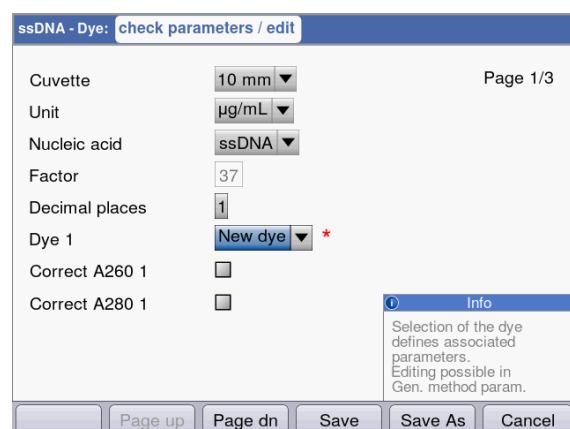
- ▶ Per modificare un gruppo di parametri, selezionare con **▲** e **▼** il parametro da modificare.

- ▶ Confermare con **enter**.

### Softkey

- [OK]: salva l'immissione e torna alla selezione del gruppo di parametri.
- [Cancel]: torna alla selezione del gruppo di parametri senza modifiche.

Durante la programmazione di un metodo dei gruppi di metodi **Dye labels** o **Proteins direct UV**, è possibile accedere alle voci contenute in **General Method Parameter**.



Selezionare il nome del colorante, per importare il corrispondente gruppo di parametri nel programma di metodi. Selezionando "edit" con il parametro "Nucleic acid", è possibile anche accedere direttamente alla funzione **General Method Parameter** per visualizzare e modificare i parametri.

Tab. 7-2: Parametri in General Method Parameter

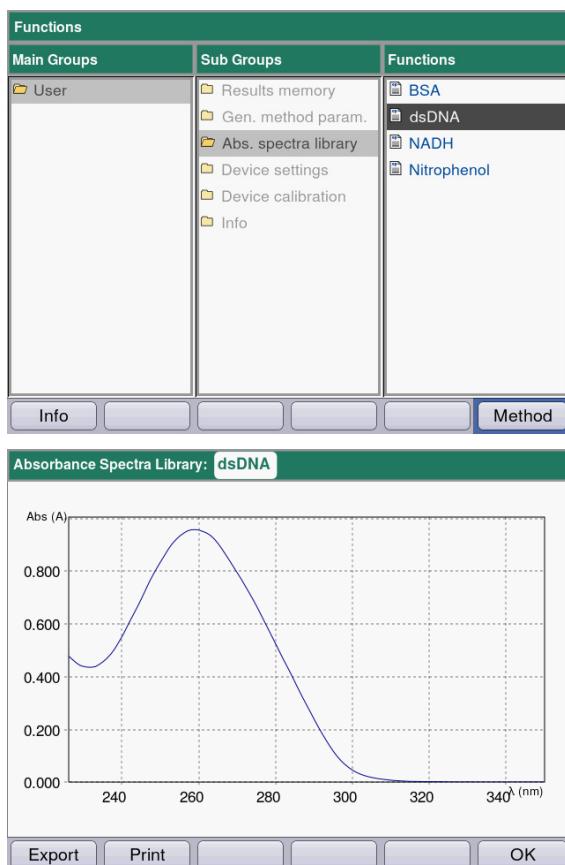
Parametri	Spiegazione
<b>Proteins</b>	Questi parametri sono caricati nei parametri di metodo, selezionando una proteina, durante la programmazione di un metodo del gruppo <b>Dye labels</b> o <b>Proteins direct UV</b> . I parametri programmati in fabbrica sono protetti dalla scrittura e non possono essere modificati, né cancellati.
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Protein name</li> <li>• Factor</li> <li>• <math>A_{0.1\%}</math></li> <li>• Ext.coeff.</li> <li>• Molecular mass</li> </ul>	Accanto al nome e alla lunghezza d'onda, per definire il fattore per calcolare la concentrazione dall'estinzione, è possibile inserire i seguenti dati: fattore <b>o</b> $A_{0,1\%}$ <b>o</b> coefficiente di estinzione e massa molare.
<b>Nucleic acids</b>	Questi parametri sono caricati nei parametri di metodo, selezionando un acido nucleico, durante la programmazione di un metodo del gruppo <b>Dye labels</b> . I parametri programmati in fabbrica sono protetti dalla scrittura e non possono essere modificati, né cancellati.
<ul style="list-style-type: none"> <li>• NA name</li> <li>• Factor</li> <li>• Double-stranded</li> </ul>	Il fattore serve per calcolare la concentrazione dall'estinzione. Il parametro double-stranded influisce sul calcolo della concentrazione molare dell'acido nucleico (vedi <i>Conversione in concentrazioni molari e quantità di acido nucleico a pag. 106</i> )

Parametri	Spiegazione
<b>Dyes</b>	<p>Questi parametri sono caricati nei parametri di metodo, selezionando un colorante (Dyes), durante la programmazione di un metodo del gruppo <b>Dye labels</b>.</p> <p>I parametri programmati in fabbrica sono protetti dalla scrittura e non possono essere modificati, né cancellati.</p>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dye name</li> <li>• Wavelength</li> <li>• Ext.coeff.</li> <li>• Factor</li> <li>• Corr. A260</li> <li>• Corr. A280</li> </ul>	<p>Accanto al nome, per definire il fattore per calcolare la concentrazione dall'estinzione, è possibile inserire i seguenti dati: fattore <b>o</b> coefficiente di estinzione.</p> <p>I fattori di correzione per estinzioni a 260 o 280 nm vengono utilizzati, se nei parametri dei metodi è attivata la funzione di correzione. Maggiori dettagli sono contenuti nel capitolo relativo all'analisi (vedi <i>Correzione A<sub>260</sub> e correzione A<sub>280</sub> a pag. 105</i>).</p>
<b>Units</b>	<p>Tra tutte le unità disponibili, durante la programmazione dei parametri dei metodi, è possibile selezionare un'unità.</p> <p>Le unità che vengono utilizzate nei metodi preprogrammati sono contrassegnate in grigio e non possono essere cancellate.</p>
• Unit	Immettere un'unità non ancora programmata per il risultato relativo alla concentrazione.



- Nella banca dati expasy è possibile individuare le caratteristiche delle proteine che non risultano come preprogrammazione di fabbrica: <http://www.expasy.org/tools/protparam.html>.
- Una tabella con i valori  $A_{1\%}$  per molte proteine si trovano anche in: C.N.Pace et al., Protein Science (1995), 4: 2411–2423 (Tabelle 5). I valori  $A_{1\%}$  si devono moltiplicare per 0,1, per ottenere i valori  $A_{0,1\%}$  necessari.

### 7.1.3 Absorbance spectra library

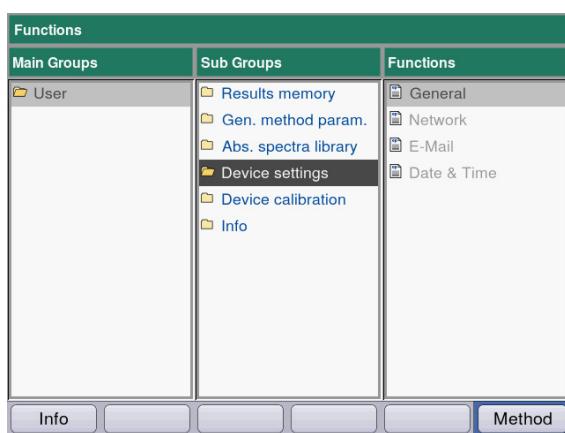


Nella colonna di destra, selezionare lo spettro a cui si desidera accedere e confermare con **enter**.

#### Softkey

- [Export] e [Print]: esporta e/o stampa su una chiavetta USB o su un PC tramite cavo USB (vedi *print & export a pag. 60*).
- [OK]: torna alla selezione delle funzioni.

### 7.1.4 Device settings



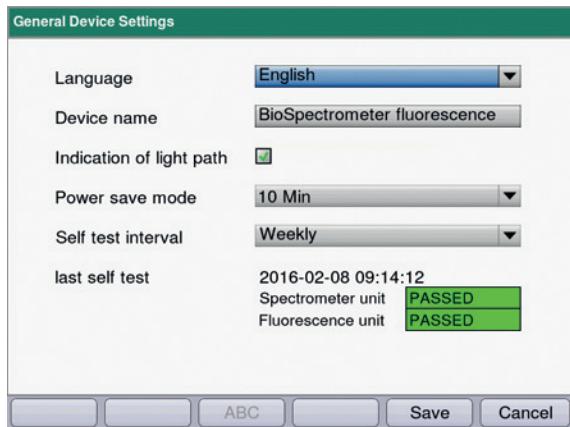
È possibile adattare le seguenti impostazioni:

#### Device Settings

- General
- Network
- E-Mail
- Date and Time

**Funzioni**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Italiano (IT)

**General Device Settings**

- Selezione della lingua: tedesco, inglese, francese, spagnolo, italiano, giapponese\*).
- Nome dell'apparecchio
- Intervallo di tempo per l'attivazione della modalità a risparmio energetico.
- Frequenza di esecuzione automatica dell'autotest dell'apparecchio dopo l'accensione.
- Nota sull'indicazione del percorso ottico.
- Vengono visualizzate le informazioni relative all'ultimo autotest.

\*) In caso di cambio lingua, ad es. in giapponese vengono cambiati i caratteri. Ciò può comportare una visualizzazione non corretta di parti del testo.

- ▶ Spegnere e riaccendere l'apparecchio. Le lingue vengono visualizzate in modo corretto dopo il riavvio.

**Softkey**

- [Save]: salva le modifiche e torna alla selezione delle funzioni.
- [Cancel]: torna alla selezione del gruppo di parametri senza modifiche.

**Network Settings**

IP	<input checked="" type="checkbox"/> Get IP settings via DHCP
IP address	192.168.20.61
Subnet mask	255.255.255.0
Default gateway	192.168.20.1
DNS <input type="checkbox"/> Get DNS settings via DHCP	
Primary DNS server	192.168.20.1
Secondary DNS server	192.168.20.1

**Test** **MAC Info** **Save** **Cancel**

### Network Settings

Chiedere all'amministratore di rete quali impostazioni siano necessarie.

- Selezione, se le impostazioni IP debbano risultare automaticamente tramite DHCP. Le impostazioni IP possono essere inserite anche manualmente.
  - Indirizzo IP
  - Maschera di sottorete
  - Gateway standard
- Selezione, se le impostazioni DNS debbano risultare automaticamente tramite DHCP (disponibile solo se le impostazioni IP vengono generate automaticamente tramite DHCP). È possibile inserire manualmente le seguenti impostazioni DNS:
  - server DNS primario
  - server DNS secondario

### Softkey

- [MAC Info]: informazioni sulle impostazioni di rete.
- [Save]: salva le modifiche e torna alla selezione delle funzioni.
- [Cancel]: torna alla selezione del gruppo di parametri senza modifiche.

**E-Mail Settings**

SMTP server	mailserver.example.com
Port	25
Sender e-mail address	biospec@example.com
<input checked="" type="checkbox"/> Use SMTP authentication	
User name	
Password	
Recipient e-mail address	email@example.com

**Test** **ABC** **Save** **Cancel**

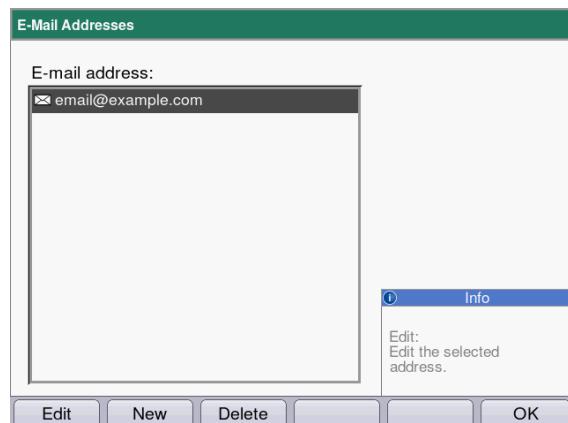
### Email Settings

Chiedere all'amministratore di rete quali impostazioni siano necessarie.

- SMTP Server: inserire il server e-mail.
- Registrare la porta.
- Mittente: inserire il nome dell'apparecchio.
- Utilizzare l'autenticazione SMTP: Se è necessaria un'autenticazione, si devono assegnare un nome utente e una password.
- Indirizzo e-mail del destinatario: lista con gli indirizzi e-mail.

**Funzioni**

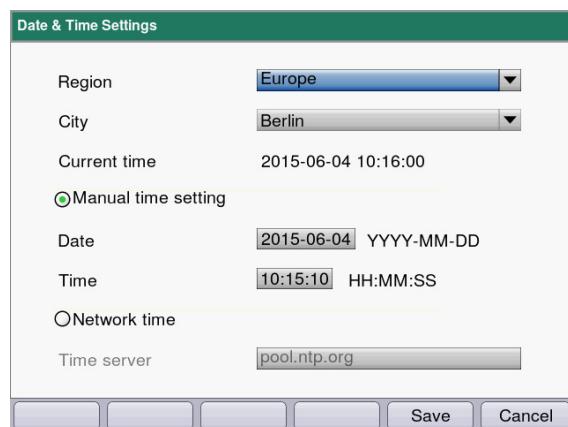
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Italiano (IT)

**Modifica degli indirizzi e-mail**

- Selezionare "Edit" nell'elenco a discesa e confermare con **enter**.  
Si apre una finestra in cui è possibile modificare gli indirizzi e-mail.

**Softkey**

- [Edit]: modifica indirizzo e-mail.
- [New]: crea nuovo indirizzo e-mail.
- [Delete]: elimina indirizzo e-mail.

**Date and Time Settings**

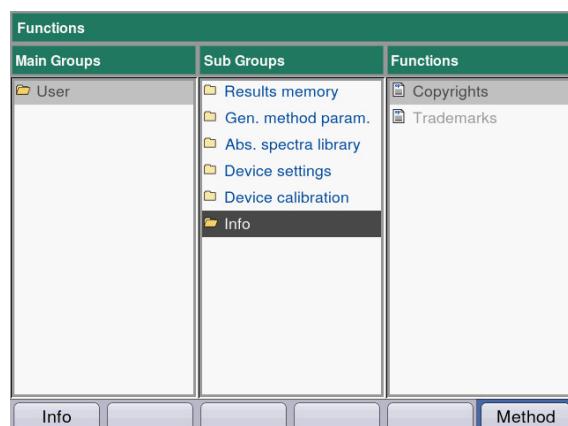
- Selezione della regione.
- Selezione della città.
- Visualizzazione di data e ora attuali
- Impostazione manuale di data e ora: inserire la data e l'ora.
- Sincronizzazione temporale di rete  
Time server: inserire il time server desiderato.

**Softkey**

- [Save]: salva le modifiche e torna alla selezione delle funzioni.
- [Cancel]: torna alla selezione del gruppo di parametri senza modifiche.

**7.1.5 Device calibration**

Il test dell'apparecchio è descritto separatamente (vedi *Verifica del dispositivo* a pag. 77).

**7.1.6 Informazione**

Sotto la voce di menu **Copyright** si trovano le informazioni relative alle licenze per il software open source e ai marchi registrati.

## 8 Manutenzione

### 8.1 Pulizia

#### **PERICOLO! Scosse elettriche dovute all'infiltrazione di liquidi.**



- ▶ Prima di procedere con la pulizia o la disinfezione, spegnere l'apparecchio e scollegarlo dalla rete elettrica.
- ▶ Evitare la penetrazione di liquidi all'interno dell'alloggiamento.
- ▶ Non effettuare alcuna pulizia o disinfezione a spruzzo sulla cassa.
- ▶ Collegare di nuovo l'apparecchio all'alimentazione elettrica solo dopo averne completamente asciugato l'interno e l'esterno.

#### **AVVISO! Corrosione dovuta a detergenti e disinfettanti aggressivi.**



- ▶ Non utilizzare detergenti corrosivi, né solventi aggressivi o prodotti abrasivi per lucidare.
- ▶ Non incubare per lungo tempo gli accessori in disinfettanti o detergenti aggressivi.

1. Detergere le superfici con un panno inumidito con un detergente delicato.

#### **Pulizia del vano della cuvetta.**

2. Pulire il vano della cuvetta soltanto con un bastoncino di cotone senza pelucchi inumidito di etanolo o di isopropanolo. Evitare di porre il liquido a contatto con il vano della cuvetta. Se per eliminare lo sporco è stato necessario inumidire il vano con acqua, passare infine un bastoncino di cotone inumidito di etanolo o di isopropanolo, per asciugarlo più velocemente.

Sul lato interno sinistro del vano della cuvetta, all'interno del percorso ottico, è inserita una lastra di vetro. Pulire con cura la lastra.

### 8.1.1 Pulizia del coperchio del vano cuvette

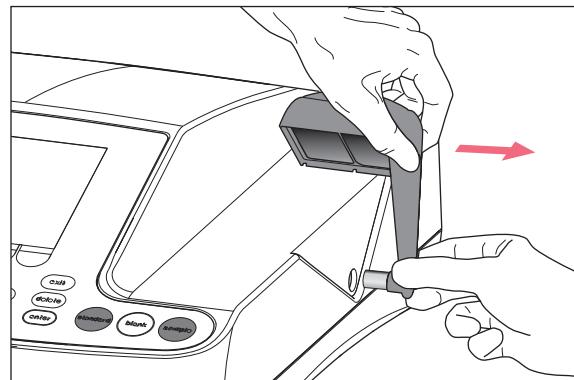
Se non si desidera pulire solo la superficie direttamente accessibile della copertura del vano della cuvetta, è possibile smontare la copertura.



- ▶ Non immergere la copertura del vano della cuvetta in un prodotto detergente.
- ▶ Pulire la copertura del vano della cuvetta come descritto.

1. Sollevare la copertura del vano della cuvetta con una mano.

2. Afferrare la copertura con la mano libera  
all'altezza del perno di bloccaggio e portarla  
verso destra finché il perno non è completamente  
fuoriuscito.



- Portare verso destra la copertura con un angolo di 90 gradi.

3. Pulire la copertura con un panno oppure con un bastoncino di cotone senza pelucchi inumidito con del detergente blando.

4. Spingere fino all'arresto il perno di bloccaggio all'interno dell'alloggiamento.  
Il perno di bloccaggio scompare completamente nell'alloggiamento.



- In caso di inutilizzo del fotometro, richiudere il vano della cuvetta con l'apposita copertura blu per proteggerlo dalla polvere e dalla sporcizia.

## 8.2 Disinfezione/Decontaminazione

**PERICOLO! Scosse elettriche dovute all'infiltrazione di liquidi.**



- ▶ Prima di procedere con la pulizia o la disinfezione, spegnere l'apparecchio e scollegarlo dalla rete elettrica.
- ▶ Evitare la penetrazione di liquidi all'interno dell'alloggiamento.
- ▶ Non effettuare alcuna pulizia o disinfezione a spruzzo sulla cassa.
- ▶ Collegare di nuovo l'apparecchio all'alimentazione elettrica solo dopo averne completamente asciugato l'interno e l'esterno.

1. Pulire l'apparecchio prima della disinfezione con un detergente blando (vedi *Pulizia a pag. 75*).
2. Scegliere il metodo di disinfezione corrispondente all'ambito d'uso, conformemente alle disposizioni e alle linee guida vigenti.
3. Utilizzare ad es. alcol (etanolo, isopropanolo) o disinfettanti contenenti alcol.
4. Detergere le superfici con un panno inumidito di disinfettante.
5. Se ai fini della disinfezione è necessario smontare il coperchio del vano cuvette, procedere allo smontaggio e al montaggio come descritto (vedi *Pulizia del coperchio del vano cuvette a pag. 76*).
6. Una volta smontato, il coperchio del vano cuvette può essere disinfettato mediante disinfezione a spruzzo.

## 8.3 Verifica del dispositivo

### Premesse

- Rispettare le condizioni ambientali (vedi *Condizioni ambientali a pag. 97*).
- Effettuare la verifica a circa 20 °C. Evitare le variazioni di temperatura (ad es. a causa di finestre aperte).
- Rimuovere il filtro dalla scatola immediatamente prima dell'uso e proteggerne la superficie dallo sporco e dai danneggiamenti.
- Proteggere il filtro dalla polvere, dal calore, dai liquidi e da vapori aggressivi.
  - In caso di controllo dell'unità spettrometrica: l'etichetta del filtro utilizzato è rivolta verso il davanti.
  - Controllo dell'unità di rilevamento della fluorescenza: l'etichetta del filtro utilizzato è rivolta verso destra.
- Il vano della cuvetta non presenta tracce di sporco.

### 8.3.1 Verifica dell'unità spettrometrica

Per la verifica dell'accuratezza fotometrica e dell'accuratezza delle lunghezze d'onda, Eppendorf mette a disposizione un kit di filtri (kit di filtri di riferimento BioSpectrometer). Il kit contiene un filtro in bianco A0 e tre filtri A1, A2 e A3 per la verifica dell'accuratezza fotometrica nonché 3 filtri per la verifica dell'accuratezza delle lunghezze d'onda nell'intervallo da 260 nm a 800 nm. I valori di estinzione dei filtri vengono misurati rispetto al filtro in bianco A0. Oltre alle informazioni sull'accuratezza, si forniscono anche informazioni sulla precisione: dalle 15 misurazioni per ogni lunghezza d'onda viene calcolato, accanto al valore medio, anche il coefficiente di variazione (valore CV).

Per la misurazione, inserire per primo il filtro in bianco (per la misurazione in bianco), e poi il filtro di prova come cuvette nell'apposito vano. I valori di estinzione misurati per il filtro di prova vengono confrontati con

## Manutenzione

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Italiano (IT)

l'intervallo di valori consentito. I valori limite dell'intervallo consentito sono riportati per i singoli filtri in una tabella sul coperchio della scatola dei filtri.

Se volete documentare i valori, potete stamparli o esportarli dopo la misurazione. Si possono salvare al massimo 12 controlli. Se la memoria è piena, i valori dei controlli più vecchi vengono sovrascritti.

**BioSpectrometer fluorescence  
reference filter set**

**eppendorf**

Function : Device calibration/Spectrometer unit

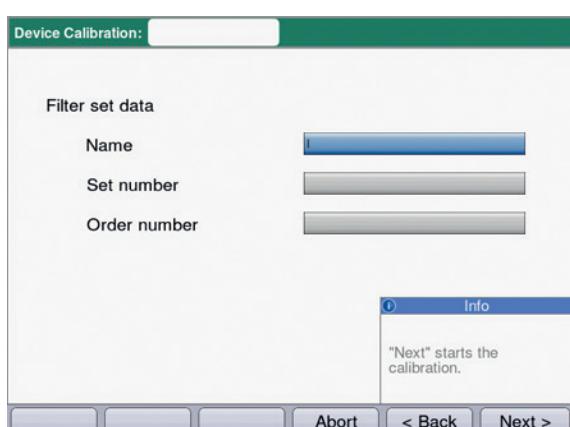
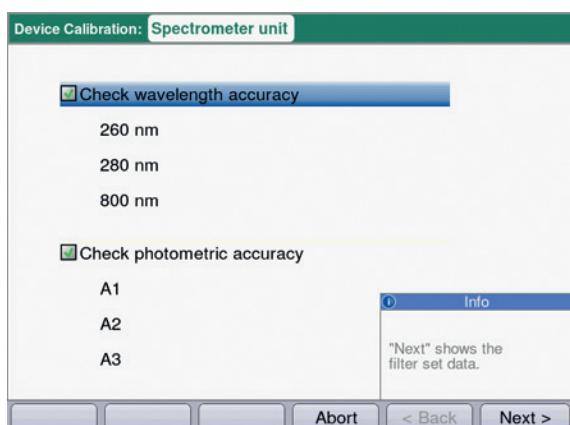
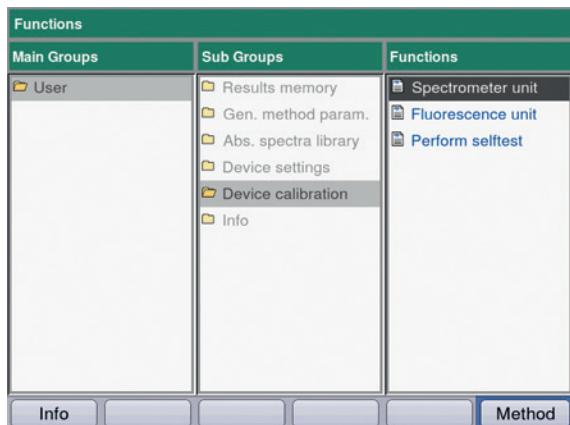
Order No./Best. Nr.: 6137 928.009

Set No./Satz Nr.: 958

Limits measured against Blank A 0 at approx. 20°C Grenzwerte gemessen gegen Blank A 0 bei ca. 20°C												
SN: 6135	914.958	916.958	917.958	937.958	921.958	922.958						
Filter Type	Blank A 0	Sample 260 nm	Sample 280 nm	Sample 800 nm	Sample A 1	Sample A 2						
Limiting values (A)/Grenzwerte (E)												
260 nm	0.000	1.169-1.357	--	--	0.147-0.171	0.821-0.872						
280 nm	0.000	--	1.053-1.315	--	0.142-0.166	0.826-0.877						
320 nm	0.000	--	--	--	0.136-0.160	0.850-0.903						
405 nm	0.000	--	--	--	0.135-0.159	0.905-0.961						
550 nm	0.000	--	--	--	0.139-0.163	0.925-0.982						
562 nm	0.000	--	--	--	0.139-0.163	0.924-0.981						
595 nm	0.000	--	--	--	0.139-0.163	0.921-0.978						
700 nm	0.000	--	--	--	0.136-0.160	0.911-0.967						
800 nm	0.000	--	--	1.066-1.243	0.134-0.158	0.901-0.957						
Random error of wavelength Zufällige Messabweichung der Wellenlänge												
Random error of photometer Zufällige Messabweichung des Photometers												
Limiting values CV (%)/Grenzwerte VK (%)												
260 - 405 nm		≤ 3.0 %		≤ 3.0 %	≤ 2.0 %	≤ 1.5 %						
550 - 800 nm		≤ 3.0 %		≤ 3.0 %	≤ 2.0 %	≤ 3.0 %						
<b>Fluorescence unit</b>												
Filter Type		F0147 Sample Fluorescence F1 520 nm / 560 nm										
		0.95-1.05										
Random error of the fluorescence measurement Zufällige Messabweichung der Fluorescencemessung												
Limiting values CV (%)/Grenzwerte VK (%)												
520 / 560 nm		≤ 3.0 %										
Filter auf NIST® rückführbar / Filter traceable to NIST®												
<p><b>Wavelength and photometric characterization of filters:</b> All characterizations are performed on a Cary 100 Bio reference UV/Vis spectrophotometer, serial number EL 99023107. The instrument is requalified regularly by the manufacturer, and is confirmed and documented to perform within manufacturer's specifications.</p> <p><b>Wellenlängen- und photometrische Bestimmung der Filter:</b> Alle Messungen werden auf einem Cary 100 Bio Referenz UV/Vis Spektrophotometer, Seriennummer EL 99023107 durchgeführt. Dieses Instrument wird regelmäßig vom Hersteller requalifiziert und die spezifikationsgemäße Funktion dokumentiert.</p>												
		21.12.2017			Signature Unterschrift							
6137 928.025-03												

Fig. 8-1: Lato interno del coperchio della scatola dei filtri (esempio)

### 8.3.1.1 Verifica dell'accuratezza fotometrica



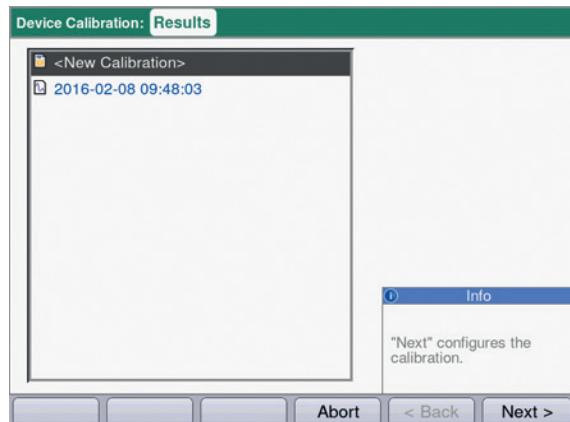
1. Nel gruppo **Device calibration** selezionare la funzione **Spectrometer unit** e confermare con **enter**.
2. Scegliere se si vuole verificare l'errore sistematico delle lunghezze d'onda, l'accuratezza fotometrica oppure entrambi. Confermare con **enter**.
3. Passare al passaggio successivo con **[Next >]**.
4. Compilare i campi di immissione. I dati sono opzionali.
5. Passare al passaggio successivo con **[Next >]**.



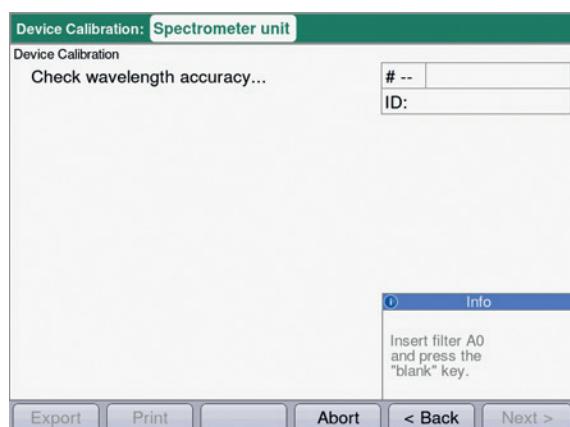
- Se viene eseguita una calibrazione per la prima volta, il passo 6 viene meno.
- Se è stata già eseguita una calibrazione, vengono visualizzati i risultati delle ultime calibrazioni.

## Manutenzione

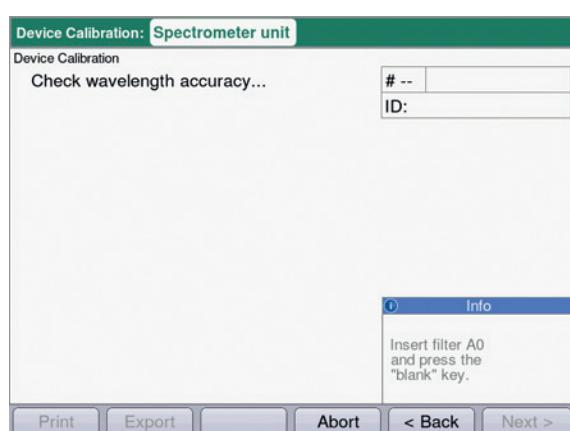
Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Italiano (IT)



6. Scegliere <New Calibration> e avviare la nuova calibrazione con [Next >].



7. Seguire le indicazioni nella finestra *Info* e misurare per prima cosa il filtro in bianco A0.



8. Dopo il valore del bianco A0 avviare il primo filtro di prova.

Nella casella informativa vengono visualizzati i seguenti filtri di prova (qui: SAMPLE 260).

Device Calibration: Spectrometer unit

Device Calibration 2016-02-08 09:48:03

Check photometric accuracy... # 06  
ID: SAMPLE A3

Wavelength	Mean	CV
260 nm	1.917 A	0.2 %
280 nm	1.847 A	0.3 %
320 nm	1.751 A	0.3 %
405 nm	1.661 A	0.3 %
550 nm	1.502 A	0.3 %
562 nm	1.489 A	0.2 %
595 nm	1.456 A	0.4 %
700 nm	1.376 A	0.6 %
800 nm	1.309 A	1.1 %

Info  
Select results:  
▲ and ▼ keys.

Print Export Finish < Back Next >

9. Visualizzazione dei risultati in seguito alla misurazione di tutti e 3 i filtri di prova per la verifica dell'accuratezza fotometrica. Con i tasti **▲** e **▼** è possibile consultare nuovamente i risultati per i singoli filtri di prova.

**Softkey**

- [Finish]: completa la verifica.
- [Export]: esporta i risultati come PDF.
- [Print]: stampa i risultati.

10. Confrontare i valori medi e i valori CV con la tabella fornita. Se i valori misurati non rientrano nell'intervallo di valori consentito, rivolgersi al servizio di assistenza Eppendorf.

### 8.3.2 Verifica dell'unità fluorimetrica

Functions

Main Groups	Sub Groups	Functions
User	<input type="checkbox"/> Results memory <input type="checkbox"/> Gen. method param. <input type="checkbox"/> Abs. spectra library <input type="checkbox"/> Device settings <input type="checkbox"/> Device calibration <input type="checkbox"/> Info	<input type="checkbox"/> Spectrometer unit <input type="checkbox"/> Fluorescence unit <input type="checkbox"/> Perform selftest

Info Method

1. Nel gruppo **Device calibration** selezionare la funzione **Fluorescence unit**. Confermare con **enter**.
2. Inserire il filtro F1 nel vano della cuvetta. Premere il softkey **Measure**. Il dispositivo misura il filtro di prova 15 volte a 2 lunghezze d'onda di emissione. Dopo la misurazione, il display visualizza 2 valori caratteristici: "Ratio" con indice della regolazione corretta e "CV" come indice di rumore.

Device Calibration:

Filter set data

Name	<input type="text" value="I"/>
Set number	<input type="text"/>
Order number	<input type="text"/>

Info  
"Next" starts the calibration.

Abort < Back Next >

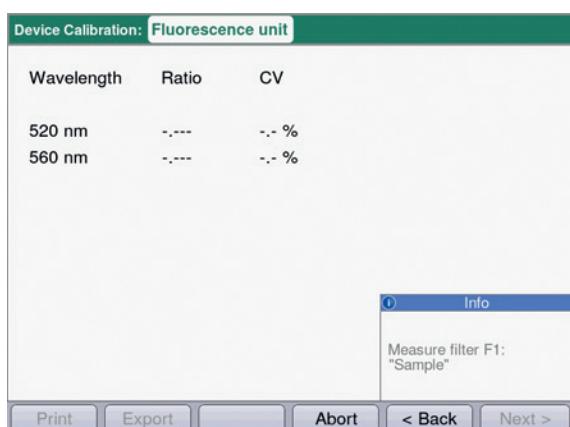
3. Compilare i campi di immessione. I dati sono opzionali.
4. Passare al passaggio successivo con [Next >].



- Se viene eseguita una calibrazione per la prima volta, il passo 5 viene meno.
- Se è stata già eseguita una calibrazione, vengono visualizzati i risultati delle ultime calibrazioni.



5. Scegliere <New Calibration> e avviare la nuova calibrazione con [Next >].



6. Confrontare i valori caratteristici con quelli riportati nella tabella fornita in dotazione. Se i valori misurati non rientrano nell'intervallo di valori consentito, rivolgersi al servizio di assistenza Eppendorf.

### 8.3.3 Autotest del dispositivo

La frequenza dell'autotest automatico (durata circa 1 minuto) può essere impostata con la funzione **Device settings** (vedi *Device settings a pag. 71*). L'impostazione di fabbrica dell'**intervallo dell'autotest** è "ogni settimana".

Durante l'autotest vengono controllati i seguenti punti:

- Verifica del rilevatore
  - determinazione della deviazione casuale della misurazione per l'intero spettro a disposizione
- Verifica della sorgente luminosa
  - Verifica dell'energia massima a disposizione della sorgente luminosa e della qualità della conduzione della luce attraverso il dispositivo
  - Determinazione della deviazione casuale della misurazione di un segnale presso il sensore di riferimento
  - Determinazione dell'altezza del segnale del sensore di riferimento
  - Determinazione separata dell'intensità della luce nella regione UV

- Determinazione della deviazione sistematica e casuale della misurazione della lunghezza d'onda
  - Posizione di un picco di intensità nella regione UV dello spettro
  - Precisione della posizione di un picco di intensità nella regione UV dello spettro
- Determinazione della deviazione casuale della misurazione della luce di eccitazione ("rumore")
- Determinazione dell'altezza e della deviazione del segnale della luce emessa

► Nel gruppo **Device calibration** selezionare la funzione **Perform selftest** e confermare con **enter**.

Al termine dell'autotest, il display visualizza il messaggio **PASSED**.

Se il display visualizza il messaggio **FAILED**, significa che l'autotest non è riuscito. Se non è possibile rimediare a questo errore (vedi *Messaggi di errore a pag. 87*), rivolgersi al servizio di assistenza Eppendorf.

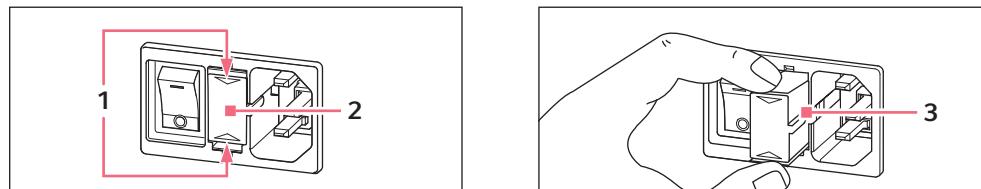
## 8.4 Sostituzione dei fusibili



**PERICOLO! Scosse elettriche.**

- Prima di procedere con la manutenzione o la pulizia, spegnere l'apparecchio e staccare la spina.

Il portafusibile si trova tra la presa di allacciamento alla rete e l'interruttore di rete.



1. Rimuovere la spina.
2. Comprimere la parte superiore e inferiore delle molle in materiale plastico **1** ed estrarre completamente il portafusibile **2**.
3. Sostituire i fusibili guasti e reinserire il portafusibile. Assicurarsi che la rotaia di guida **3** sia posizionata correttamente.

## 8.5 Decontaminazione prima della spedizione

Se l'apparecchio viene spedito al servizio di assistenza tecnica autorizzato per la riparazione o al concessionario per lo smaltimento, fare attenzione a quanto segue.



### AVVERTENZA! Pericolo per la salute dovuto a contaminazione dell'apparecchio.

1. Osservare le note del certificato di decontaminazione. Sono consultabili in formato PDF sul nostro sito Internet ([www.eppendorf.com/decontamination](http://www.eppendorf.com/decontamination)).
2. Decontaminare tutti i componenti che si desidera spedire.
3. Allegare alla spedizione la certificazione di decontaminazione compilata in tutte le sue parti.

## **9      Risoluzione dei problemi**

### **9.1    Anomalie generiche**

<b>Anomalia</b>	<b>Possibile causa</b>	<b>Rimedio</b>
I risultati della misurazione sono imprecisi.	<ul style="list-style-type: none"><li>• Reagente scaduto.</li><li>• Preparazione del reagente non corretta.</li><li>• Pipettaggio non corretto.</li><li>• Tempo d'incubazione precedente la misurazione non corretto.</li><li>• Cuvetta sporca.</li><li>• Riempimento parziale della cuvetta con soluzione di misurazione e presenza di bolle.</li><li>• Torbidità nella soluzione di misurazione.</li><li>• Deviazioni dello spettrofotometro.</li><li>• Vano della cuvetta sporco.</li><li>• Fluorimetria: le sostanze interferenti rafforzano o indeboliscono il segnale di fluorescenza.</li><li>• Fluorimetria: la copertura del vano della cuvetta non è chiusa.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>▶ Verificare che il reagente sia ancora stabile e che sia stato preparato correttamente.</li><li>▶ Per la preparazione utilizzare, se necessario, acqua pulita e demineralizzata di buona qualità.</li><li>▶ Verificare la calibrazione della pipetta e il corretto pipettaggio della stessa.</li><li>▶ Se il metodo prevede un tempo d'incubazione prima dell'avvio della misurazione, verificare che la temperatura e il tempo d'incubazione siano corretti.</li><li>▶ Pulire e sciacquare la cuvetta. In caso di sostituzione della cuvetta, verificare che la finestra ottica della cuvetta sia pulita e che non entri in contatto con le dita.</li><li>▶ Se la finestra della cuvetta risulta sporca a causa di impronte digitali, pulirla passando un panno per laboratorio senza pelucchi imbevuto di etanolo o isopropanolo.</li><li>▶ Verificare che il volume minimo della cuvetta necessario per l'esecuzione della misurazione sia stato raggiunto e che non siano presenti bolle all'interno della soluzione di misurazione.</li><li>▶ Centrifugare le soluzioni turbide o contenenti particelle e utilizzare il residuo limpido.</li><li>▶ Rivolgersi al servizio di assistenza Eppendorf.</li><li>▶ Rispettare le condizioni ambientali.</li><li>▶ Evitare le variazioni di temperatura.</li><li>▶ Pulire il vano della cuvetta.</li><li>▶ Rimuovere le sostanze interferenti. Se le sostanze interferenti non possono essere rimosse, non è possibile utilizzare la tecnica di misurazione della fluorimetria.</li><li>▶ Chiudere la copertura del vano della cuvetta prima della misurazione.</li></ul>

Anomalia	Possibile causa	Rimedio
Risultati della misurazione non corretti.	<ul style="list-style-type: none"><li>• Errata programmazione del metodo.</li><li>• Preparazione della soluzione standard non corretta.</li><li>• Variazione dell'estinzione del reagente.</li><li>• La cuvetta non è posizionata correttamente.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>▶ Verificare il corretto inserimento dei parametri del metodo.</li><li>▶ Verificare la corretta applicazione dello standard e la corretta preparazione della soluzione di misurazione in riferimento allo standard corrispondente.</li><li>▶ In caso di estinzione instabile del reagente e di metodi con punto finale: durante la misurazione di una lunga serie di campioni, misurare il bianco del reagente non solo all'inizio, ma anche nel corso del processo. In caso di variazioni importanti del bianco reagente, quest'ultimo non è idoneo all'esecuzione di analisi attendibili e deve essere sostituito con un nuovo reagente.</li><li>▶ Posizionare la cuvetta nel suo vano in modo tale che le finestre ottiche siano rivolte nella direzione del percorso ottico.</li><li>▶ Percorso ottico nel caso della fotometria: da dietro verso davanti</li><li>▶ Percorso ottico nel caso della fluorimetria: da destra a sinistra</li></ul>

## 9.2 Messaggi di errore

È possibile abbandonare le schermate del dispositivo con messaggi di errore tramite il softkey [OK].

Gli errori di sistema devono essere valutati dal servizio di assistenza tecnica. Questi errori vengono indicati in lingua inglese (**System error ...**). In questi casi rivolgersi al servizio di assistenza tecnica. Altri messaggi di errore per i quali è possibile intervenire personalmente sono indicati nella tabella seguente.

Sintomo/ messaggio	Causa	Rimedio
Autotest non riuscito.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Copertura del vano cuvette aperto durante l'autotest.</li> <li>• Il vano cuvette non era vuoto durante l'autotest.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Ripetere l'autotest con un vano cuvette vuoto e a copertura del vano chiusa.</li> </ul>
	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Il dispositivo è difettoso.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Rivolgersi al servizio di assistenza Eppendorf.</li> </ul>
Esportazione del file impossibile.	<p>Durante l'esportazione dei dati:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• chiavetta USB formattata in modo errato o difettosa.</li> <li>• Chiavetta USB rimossa troppo presto (durante l'esportazione) dal dispositivo.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Formattare nuovamente o sostituire la chiavetta USB.</li> <li>▶ Collegare nuovamente la chiavetta USB e ripetere l'esportazione.</li> </ul>
Non è stato possibile inizializzare la stampante.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Stampante non collegata o spenta.</li> <li>• Stampante configurata in modo errato.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Collegare la stampante e accenderla.</li> <li>▶ Configurare nuovamente la stampante.</li> </ul> <p>Le impostazioni della stampante per una configurazione corretta sono riportate nella descrizione dell'installazione (vedi <i>Collegamento di una stampante alla porta USB a pag. 20</i>).</p>
Misurazione del bianco: un'intensità di un pixel che ha effetto su una lunghezza d'onda principale, secondaria o di scansione, è troppo bassa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La soluzione del bianco utilizzata per la misurazione del bianco ha un valore di estinzione troppo alto.</li> <li>• Soluzione del bianco errata o torbida.</li> <li>• Durante la scansione: gamma delle lunghezze d'onda troppo ampia in quanto l'assorbimento da parte del campione è eccessivo in una parte della gamma.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Controllare la soluzione del bianco ed eventualmente misurare di nuovo il bianco.</li> <li>▶ Durante le scansioni: adeguare la gamma delle lunghezze d'onda allo spettro del campione.</li> </ul>
Mis. di confr.: emissione nella lungh. d'onda mis. troppo elev.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La soluzione del bianco utilizzata per la misurazione del bianco ha una fluorescenza troppo alta.</li> <li>• Soluzione del bianco errata o torbida.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Controllare la soluzione del bianco e misurare di nuovo il bianco.</li> </ul>

Sintomo/ messaggio	Causa	Rimedio
Il nome inserito non è valido.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Errore durante l'inserimento del nome. Le cause possono essere diverse. Per stabilire la causa effettiva, consultare le informazioni contenute nella finestra di aiuto.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Consultare le informazioni contenute nella finestra di aiuto.</li> </ul>
Esiste già un metodo (oppure una cartella, Dye, Protein, Nucleic acid, Unit) con questo nome.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Il nome sotto il quale si desidera salvare il metodo è già stato utilizzato per un altro metodo della stessa cartella.</li> <li>• Il messaggio compare anche se sono stati inseriti nomi già assegnati a una cartella o (sotto <b>General Method Parameter</b>) a un acido nucleico (colorante, proteina, unità della concentrazione).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Assegnare un altro nome.</li> </ul>
I seguenti valori dei parametri non sono definiti in <b>General Method Parameter</b> .	<ul style="list-style-type: none"> <li>• All'apertura di un metodo, i cui parametri fanno riferimento a <b>General Method Parameter</b>, si è riscontrato che almeno un parametro (colorante, acido nucleico, proteina, unità) non si trova più lì e pertanto è stato probabilmente cancellato.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Selezionare un altro parametro dall'elenco a disposizione. Se necessario, programmare in <b>General Method Parameter</b> una nuova voce dell'elenco, per potervi accedere durante la programmazione di un metodo.</li> </ul>
Il valore del parametro contrassegnato con * non è definito in Gen. Meth. Param. definiti. Correggere il parametro.	<p>Questo messaggio di errore compare durante la modifica dei parametri dei metodi.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Il parametro non è definito in <b>General Method Parameter</b>.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Selezionare un altro parametro dall'elenco a disposizione. Se necessario, programmare in <b>General Method Parameter</b> una nuova voce dell'elenco, per potervi accedere durante la programmazione di un metodo.</li> </ul>
Intervallo di zoom non valido.	<p>Durante l'utilizzo dello zoom con indicazione libera dei valori limite (softkey [Free]):</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• valore inferiore al valore limite minimo del campo dello zoom.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Indicare valori non inferiori ai valori limite di 0,02 A e 10 nm.</li> </ul>
Le concentrazioni standard indicate non sono crescenti o decrescenti in modo uniforme. Correggi le concentrazioni standard.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Consultare il messaggio di errore.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Indicare concentrazioni standard tali che il primo standard abbia la concentrazione più bassa e le altre concentrazioni standard costituiscano una sequenza crescente.</li> </ul>

Sintomo/ messaggio	Causa	Rimedio
Almeno due concentrazioni standard indicate sono uguali. Correggi le concentrazioni standard.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Consultare il messaggio di errore.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Indicare concentrazioni standard tali che il primo standard abbia la concentrazione più bassa e le altre concentrazioni standard costituiscano una sequenza crescente.</li> </ul>
I valori misurati non sono rigorosamente monotoni!	<ul style="list-style-type: none"> <li>Errore durante la misurazione di una serie standard: i valori di estinzione misurati della serie standard non sono crescenti o decrescenti in modo continuo.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ripetere le misurazioni degli standard oppure cancellare il singolo risultato standard misurato in modo errato.</li> </ul>
L'ID non può essere inserita.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Errore nell'inserimento dell'ID campione. Le cause possono essere diverse. Per stabilire la causa effettiva, consultare le informazioni contenute nella finestra di aiuto.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Consultare le informazioni contenute nella finestra di aiuto.</li> </ul>
La diluizione non può essere inserita.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Errore nell'inserimento della diluizione. Le cause possono essere diverse. Per stabilire la causa effettiva, consultare le informazioni contenute nella finestra di aiuto.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Consultare le informazioni contenute nella finestra di aiuto.</li> </ul>
Non è possibile effettuare il calcolo in quanto il valore viene diviso per zero. Il risultato dell'assorbanza o il Parameter Formula "b" è uguale a zero.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Nella valutazione di un metodo del tipo <b>Division</b> (gruppo di metodi <b>Dual wavelength</b>), si è dovuto dividere per un risultato di assorbanza con il valore "zero". Ciò non è possibile in matematica.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Controllare i reagenti utilizzati e i campioni e ripetere la misurazione.</li> <li>Non inserire "zero" come valore per il Parameter Formula <b>b</b>.</li> </ul>
È possibile effettuare solo un'altra misurazione in questa serie. Il numero massimo di misurazioni per una serie è stato raggiunto.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Il numero di misurazioni di una serie di misurazioni è limitato a 99.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dopo 99 misurazioni al massimo, avviare una nuova serie di misurazioni.</li> </ul>

Sintomo/ messaggio	Causa	Rimedio
Intervallo di zoom non valido!	<p>Errore nel passaggio del metodo <b>process results</b> in modalità zoom.</p> <p>Campo dello zoom consentito per la scala di lunghezze d'onda:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• intervallo delle lunghezze d'onda minimo di 10 nm</li><li>• Inserire valori per le lunghezze d'onda compresi soltanto nell'intervallo programmato nei parametri per il metodo in questione.</li></ul> <p>Campo dello zoom consentito per la scala dell'assorbanza:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• intervallo di assorbanza pari ad almeno 0,02 A</li><li>• Valore limite minimo e massimo per l'intervallo di assorbanza +3 A o -3 A</li></ul>	► Rispettare i valori limite indicati per l'uso dello zoom.

### 9.3 Flag dei risultati

Le avvertenze e i messaggi di errore per i risultati compaiono nella finestra di aiuto in basso a destra nel display. In caso di avvertenze, l'intestazione della finestra di aiuto è gialla, in caso di messaggi di errore rossa.

Avvertenze: in considerazione dell'avvertenza visualizzata, decidere se il risultato è utilizzabile nel vostro caso.

Messaggi di errore: non viene rappresentato alcun risultato; il motivo viene indicato nel messaggio di errore.

Sintomo/ messaggio	Causa	Rimedio
La curva standard non è monotona. Selezionare un'altra procedura Curve Fit.	<ul style="list-style-type: none"><li>Durante la valutazione tramite curva standard con la procedura <b>Curve Fit</b> "spline interpolation", "quadratical regression" o "cubical regression" non si è prodotto alcun risultato utilizzabile.</li></ul>	► Selezionare un'altra procedura <b>Curve Fit</b> .
Alcuni valori di estinzione delle lunghezze d'onda secondarie sono troppo elevati e non vengono visualizzati.	<ul style="list-style-type: none"><li>Per almeno una lunghezza d'onda secondaria il valore di estinzione era al di sopra del range di misurazione.</li><li>Le lunghezze d'onda secondarie non vengono utilizzate per il calcolo del risultato della concentrazione, bensì per altri scopi. Ad esempio metodo <b>dsDNA</b>: estinzione a 280 nm per il calcolo del <b>Ratio 260/280</b>.</li><li>Torbidità nella soluzione di misurazione</li><li>Misurazioni ai limiti del campo di misurazione del fotometro.</li></ul>	► Se i valori di estinzione delle lunghezze d'onda secondarie sono essenziali: diluire il campione o eliminare la torbidità tramite centrifugazione e ripetere la misurazione.
Il risultato si trova al di fuori dell'intervallo delle concentrazioni standard.	<ul style="list-style-type: none"><li>Per i metodi con analisi tramite curve standard (procedura di analisi non lineare): il risultato dei campioni si trova al di fuori dell'intervallo delle concentrazioni standard per un valore fino al 5 %.</li></ul>	► Accettare il risultato della misurazione oppure misurare nuovamente il campione secondo condizioni, per cui il risultato si trovi nell'intervallo delle concentrazioni standard (diluire il campione o modificare le concentrazioni standard e misurare nuovamente).

Sintomo/ messaggio	Causa	Rimedio
Il coefficiente di determinazione è < 0,8.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Per i metodi con analisi di serie standard tramite procedura di regressione: il coefficiente di determinazione per l'analisi della regressione indica una deviazione considerevole dei punti di misurazione dalle rette di regressione.</li> <li>Torbidità nella soluzione di misurazione.</li> <li>Misurazioni ai limiti del campo di misurazione del fotometro.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Accettare il risultato della valutazione standard oppure misurare nuovamente gli standard.</li> <li>Fare attenzione alla limpidezza delle soluzioni di misurazione.</li> </ul>
Il coefficiente di determinazione per la valutazione con regressione della serie standard è < 0,8.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Per i metodi con analisi di serie standard tramite procedura di regressione: l'avvertenza compare in seguito alle misurazioni dei campioni se l'analisi della regressione per la serie standard era non lineare, ma l'analisi standard è stata accettata dall'utente.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Utilizzare i risultati dei campioni con la suddetta riserva o misurare nuovamente la serie standard e i campioni.</li> </ul>
Scansione: alcuni valori di estinzione misurati sono troppo elevati e non vengono visualizzati.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Per almeno una lunghezza d'onda della scansione il valore di estinzione era al di sopra del range di misurazione.</li> <li>Torbidità nella soluzione di misurazione.</li> <li>Misurazioni ai limiti del campo di misurazione del fotometro.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se gli intervalli della scansione non visualizzati sono essenziali: diluire il campione o eliminare la torbidità tramite centrifugazione e ripetere la misurazione.</li> </ul>
Il valore di estinzione in corrispondenza della lunghezza d'onda misurata è troppo elevato. L'emissione in corrispondenza della lunghezza d'onda misurata è troppo elevata.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Torbidità nella soluzione di misurazione.</li> <li>Superfici ottiche della cuvetta sporche.</li> <li>Orientamento errato della cuvetta inserita nel vano cuvette.</li> <li>Fotometria: valore di estinzione della soluzione di misurazione troppo elevato. Fluorimetria: emissione della soluzione di misurazione troppo elevata.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Misurare nuovamente considerando le possibili cause.</li> </ul>
Il risultato calcolato è negativo.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Soluzione di misurazione preparata in modo errato.</li> <li>Inserito fattore errato (segno errato).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Misurare nuovamente considerando le possibili cause.</li> </ul>

Sintomo/ messaggio	Causa	Rimedio
Almeno uno dei risultati è negativo.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Con metodi a più risultati (ad es. <b>Dye labels</b>).</li> <li>Soluzione di misurazione preparata in modo errato.</li> <li>Inserito fattore errato (segno errato).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Misurare nuovamente considerando le possibili cause.</li> </ul>
Il risultato ha più di 6 spazi prima della virgola decimale.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Concentrazione del campione troppo elevata.</li> <li>L'unità della concentrazione non è adatta all'intervallo previsto per le concentrazioni del campione.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Diluire il campione e misurare nuovamente.</li> <li>▶ Modificare l'unità di concentrazione (parametro <b>Unit</b>) e misurare nuovamente.</li> </ul>
Il risultato si trova oltre il 5 % circa al di fuori dell'intervallo delle concentrazioni standard.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Per i metodi con analisi tramite curve standard (procedura di analisi non lineare): Il risultato del campione si trova oltre il 5 % circa al di fuori dell'intervallo delle concentrazioni standard.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Misurare nuovamente il campione secondo condizioni, per cui il risultato si trovi nell'intervallo delle concentrazioni standard (diluire il campione o modificare le concentrazioni standard e misurare nuovamente).</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Non è possibile effettuare il calcolo in quanto il valore viene diviso per zero. Il risultato di assorbanza è zero.</li> <li>Errore durante il calcolo. Divisione per zero.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Per la valutazione è stato necessario dividere per zero il risultato di assorbanza. Ciò non è possibile in matematica. Esempi: calcolo di un fattore durante la calibrazione a un punto; calcolo di un Ratio 260/280 durante le misurazioni dell'acido nucleico.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Controllare i reagenti utilizzati e i campioni e ripetere la misurazione.</li> </ul>
Non è possibile effettuare il calcolo in quanto il valore viene diviso per zero. Il risultato di assorbanza o il Parameter Formula <b>b</b> è uguale a zero.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Nella valutazione di un metodo del tipo <b>Division</b> (gruppo di metodi <b>Dual wavelength</b>), si è dovuto dividere per un risultato di assorbanza con il valore "zero". Ciò non è possibile in matematica.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▶ Controllare i reagenti utilizzati e i campioni e ripetere la misurazione.</li> <li>▶ Non inserire "zero" come valore per il Parameter Formula <b>b</b>.</li> </ul>



## 10 Trasporto, immagazzinamento e smaltimento

### 10.1 Trasporto

- ▶ Utilizzare l'imballaggio originale per il trasporto.

	Temperatura dell'aria	Umidità relativa	Pressione atmosferica
Trasporto generale	-25 °C – 60 °C	10 % – 95 %	30 kPa – 106 kPa
Trasporto aereo	-40 °C – 55 °C	10 % – 95 %	30 kPa – 106 kPa

### 10.2 Immagazzinamento

	Temperatura dell'aria	Umidità relativa	Pressione atmosferica
Nell'imballaggio per il trasporto	-25 °C – 55 °C	25 % – 75 %	70 kPa – 106 kPa
Senza imballaggio per il trasporto	-5 °C – 45 °C	25 % – 75 %	70 kPa – 106 kPa

## 10.3 Smaltimento

In caso di smaltimento del prodotto occorre osservare le disposizioni legislative e regolamentari rilevanti in materia.

### Nota sullo smaltimento di dispositivi elettrici ed elettronici nella Comunità Europea

Nell'ambito della Comunità Europea, lo smaltimento degli apparecchi elettrici viene definito dalle normative nazionali che si basano sulla Direttiva UE 2012/19/UE sui rifiuti di apparecchiature elettriche ed elettroniche (RAEE).

In base a questa direttiva, tutti i dispositivi immessi sul mercato dopo il 13/08/2005 in ambito business-to-business (nel quale questo prodotto rientra) non devono essere smaltiti assieme ai rifiuti comunali o domestici. Per documentare tutto ciò, i prodotti riportano il seguente simbolo:



Poiché le normative in materia di smaltimento all'interno della UE possono divergere di Paese in Paese, si prega di contattare il proprio fornitore in caso di necessità.

## 11 Specifiche tecniche

### 11.1 Alimentazione

Alimentazione di tensione	Da 100 V a 240 V $\pm 10\%$ , da 50 Hz a 60 Hz
Categoria di sovratensione	II
Grado di imbrattamento	2
Potenza assorbita	Massima potenza richiesta come da targhetta di identificazione: 25 W Circa 15 W durante il funzionamento Circa 5 W con regolazione luminosa display
Interruzione dell'alimentazione ammessa	Circa 10 ms a 90 V Circa 20 ms a 230 V
Classe di protezione	I
Fusibili	T 2,5 A/250 V, 5 mm $\times$ 20 mm (2 pezzi)

### 11.2 Condizioni ambientali

Funzionamento	Temperatura ambiente: da 15 °C a 35 °C Umidità rel. dal 25 % al 70 % pressione atmosferica: da 86 kPa a 106 kPa
Pressione atmosferica	Utilizzo fino a un'altezza di 2000 m sopra il livello del mare

Proteggere dalla luce diretta del sole.

### 11.3 Peso/dimensioni

Peso	5,4 kg
Dimensioni	Larghezza: 295 mm Profondità: 400 mm Altezza: 150 mm
Spazio richiesto	Larghezza: 500 mm (con stampante termica: 750 mm) Profondità: 500 mm

## 11.4 Caratteristiche fotometriche

Principio di misurazione	Spettrofotometro ad assorbimento monoraggio con raggio di riferimento
Sorgente luminosa	Lampada allo xenon
Decomposizione spettrale	Reticolo grafico olografico corretto per l'aberrazione
Ricevitore	Serire di diodi CMOS
Lunghezze d'onda	Da 200 nm a 830 nm
Scelta di lunghezze d'onda	A seconda del metodo, liberamente selezionabili
Larghezza di banda spettrale	$\leq 4$ nm
Aampiezza passo più piccola	1 nm
Deviazione sistematica della misurazione della lunghezza d'onda	$\pm 1$ nm
Deviazione casuale della misurazione della lunghezza d'onda	$\leq 0,5$ nm
Range di misurazione fotometrica	Da 0 A fino a 3,0 A a 260 nm
Precisione di lettura	$\Delta A = 0,001$
Deviazione casuale della misurazione del fotometro	$\leq 0,002$ a $A = 0$ $\leq 0,005$ (0,5 %) a $A = 1$
Deviazione sistematica della misurazione del fotometro	$\pm 1$ % a $A = 1$
Quota di luce parassita	$< 0,05$ %

## 11.5 Fluorimeter

Principio di misurazione	Fluorimetro a filtro confocale con raggio di riferimento
Sorgente luminosa	LED
Decomposizione spettrale	Combinazione di filtri dicroici e filtro passa-lungo
Ricevitore della radiazione luminosa	Fotodiodo
Lunghezza d'onda d'eccitazione	470 nm Larghezza di banda spettrale: 25 nm
Lunghezza d'onda di emissione I	520 nm Larghezza di banda spettrale: 15 nm
Lunghezza d'onda di emissione II	560 nm Larghezza di banda spettrale: 40 nm
Range di misurazione	Da 0,5 nM a 1 000 nM di fluoresceina sodica (lunghezza d'onda di emissione di 520 nm)
Deviazione casuale della misurazione del fluorimetro	$\pm 2$ % con 1 nM di fluoresceina sodica (lunghezza d'onda di emissione di 520 nm)

## 11.6 Ulteriori parametri tecnici

Materiale cuvette	Per misurazioni nella regione UV: vetro di quarzo o plastica trasparente agli UV (UVette di Eppendorf, da 220 nm a 1600 nm) Per misurazioni nella regione del visibile: vetro o plastica
Vano della cuvetta	12,5 mm x 12,5 mm, senza regolazione della temperatura
Altezza totale delle cuvette	Minimo 36 mm
Altezza del raggio di luce nella cuvetta	8,5 mm
Tastiera	22 tasti a sensore 6 tasti a sensore come softkey
Emissione dei risultati	Estinzione, trasmissione, concentrazione, scansione (spettro delle lunghezze d'onda di estinzione) Altri dati aggiuntivi a seconda del metodo (rapporto, FOI, estinzioni di fondo) Fluorimetria: RFU, concentrazione
Display	Display VGA TFT 5,7"
Lingue per la guida utente	inglese, francese, spagnolo, italiano, tedesco, giapponese
Interfacce	USB Master: per chiavetta USB e stampante termica DPU-S445 USB Slave: per collegamento con un PC Interfaccia di serie RS232: per stampante termica DPU-414 Interfaccia Ethernet RJ45: per collegamento con una rete Gli apparecchi collegati devono essere conformi ai requisiti di sicurezza indicati dalla norma IEC 60950-1.

## 11.7 Parametri di applicazione

Metodi	Metodi preprogrammati e liberamente programmabili per tutte le procedure di misurazione e valutazione: <ul style="list-style-type: none"> <li>• misurazioni dell'estinzione a una o più lunghezze d'onda, scansioni</li> <li>• misurazione della trasmissione con una lunghezza d'onda</li> <li>• misurazioni della fluorescenza a 520 nm o 560 nm</li> <li>• acidi nucleici e proteine, OD600, metodi dye (misurazione parallela della biomolecola e marcatura con colorante)</li> <li>• metodi con valutazione tramite fattore, standard e serie standard</li> <li>• procedura a due lunghezze d'onda con valutazione per sottrazione e divisione</li> </ul>
Valutazione a seconda del metodo	Estinzione, concentrazione tramite fattore e standard. RFU, concentrazione tramite standard Concentrazione tramite serie standard: <ul style="list-style-type: none"> <li>• regressione lineare</li> <li>• regressione non lineare (polinomio di secondo e terzo grado)</li> <li>• valutazione spline</li> <li>• interpolazione non lineare (valutazione punto a punto)</li> </ul> calcoli dell'estinzione per sottrazione e divisione Dati aggiuntivi per gli acidi nucleici: rapporto 260/280 e 260/230; concentrazione molare, rendimento totale Dati aggiuntivi per i metodi dye: FOI (Frequency of incorporation, tasso di incorporazione) Scansioni: ingrandimento, valutazione del picco
Memoria dei metodi	> 100 programmi di metodi
Memoria dei valori di misurazione e memoria di calibrazione	Memoria per > 1 000 risultati con tutti i dati della valutazione dei risultati e della valutazione standard, numero di campioni, nome dei campioni, data e set di parametri utilizzato del programma di metodi (il numero dei risultati salvati dipende dal numero dei metodi salvati)

## 12 Procedure di valutazione

In questo capitolo si descrivono le procedure di valutazione disponibili nei programmi di metodi nonché il calcolo di una diluizione con il software dell'apparecchio.



Per il confronto dei risultati di misurazione con i risultati di altri fotometri/spettrofotometri, fare attenzione che i valori possano dipendere dalla larghezza di banda dell'apparecchio. Nei casi indicati di seguito, le differenze possono essere considerevoli.

- Lo spettro di estinzione presenta un picco limitato presso la lunghezza d'onda di misurazione.
- Non si misura presso il valore massimo, bensì sul fianco di un picco.

Controllare pertanto l'esattezza del metodo con una misurazione degli standard.

In fluorimetria i valori RFU non possono essere confrontati da un apparecchio all'altro, bensì devono sempre essere rapportati agli standard della fluorescenza nota o della concentrazione.

### 12.1 Valori di estinzione

I valori di estinzione vengono rappresentati come  $A_{XXX}$  (XXX sta per la lunghezza d'onda). Queste visualizzazioni corrispondono sempre ai valori misurati direttamente, ossia senza correzioni che rientrano nella valutazione successiva, come ad es. le correzioni per le altezze del percorso ottico della cuvetta o le correzioni del fondo.

#### 12.1.1 Blank

Tutti i valori di estinzione fanno sempre riferimento al valore del bianco misurato per ultimo (blank). Una misurazione del bianco è pertanto obbligatoria all'inizio di ogni singola serie di misurazioni e anche possibile in qualsiasi momento durante una serie di misurazioni. Idealmente, la misurazione del bianco dovrebbe essere in grado di compensare tutti i possibili aspetti che influiscono sul valore di estinzione della soluzione di misurazione. Il bianco deve quindi essere misurato con il tampone utilizzato anche per la misurazione del campione nonché nello stesso tipo di cuvetta del valore campione – tranne che nel caso di un bilanciamento ottico delle cuvette usate per la misurazione del bianco e del campione una rispetto all'altra, le quali presentano pertanto lo stesso valore di estinzione alla lunghezza d'onda.

#### 12.1.2 Correzione del fondo

Applicazione principale: correzione parziale di falsificazioni dell'estinzione nelle misurazioni degli acidi nucleici a causa di torbidità nella soluzione di misurazione. Ad esempio, l'estinzione a 320 nm, che nel caso dei soli acidi nucleici dovrebbe essere pari a circa 0 A, viene sottratta dall'estinzione a 260 nm, la lunghezza d'onda degli acidi nucleici.

$$A_{XXX,corrBkgr} = A_{XXX} - A_{Bkgr}$$

$A_{XXX, FondCorr}$  = estinzione corretta aritmeticamente alla lunghezza d'onda XXX nm.

$A_{XXX}$  = estinzione misurata alla lunghezza d'onda XXX nm.

$A_{Fond}$  = estinzione misurata alla lunghezza d'onda di fondo.

### 12.1.3 Correzione della cuvetta

Tutti i valori di estinzione utilizzati per i calcoli dei risultati sono normalizzati a un'altezza del percorso ottico della cuvetta di 10 mm. Se una cuvetta viene utilizzata con un'altra altezza del percorso ottico, questa deve essere definita nel parametro **Cuvette**. In questo caso, prima della conversione in risultati di campione, le estinzioni misurate vengono corrette per ottenere risultati di misurazione con una cuvetta con un'altezza del percorso ottico di 10 mm.

**Questa correzione si applica a:**

- metodi con valutazione tramite fattore;
- metodi del gruppo **Absorbance**, per i quali si ottengono solo valori di estinzione.

**Questa correzione non si applica a:**

- metodi con valutazione tramite standard, in quanto si presuppone che gli standard e i campioni siano stati misurati in cuvette con la stessa altezza del percorso ottico;
- Calcoli con divisione: metodo **Division** (gruppo di metodi **Dual wavelength**) nonché calcolo di rapporti come  $A_{260}/A_{280}$  (nelle misurazioni degli acidi nucleici);

$$A_{XXX,corrCuv} = A_{XXX} \times \frac{10}{Cuv}$$

$A_{XXX, CuvCorr}$  = estinzione corretta aritmeticamente alla lunghezza d'onda XXX nm.

$A_{XXX}$  = estinzione misurata alla lunghezza d'onda XXX nm.

$Cuv$  = altezza del percorso ottico della cuvetta.

## 12.2 Trasmissione

Nel gruppo di metodi **Absorbance**, oltre alla pura estinzione, può essere determinata anche la trasmissione procentuale (T%).

$$T [\%] = 10^A \times 100$$

A = estinzione

T = trasmissione

### 12.3 Valutazione con fattore o standard

$$C = A \times F$$

$C$  = concentrazione calcolata.

$A$  = estinzione.

$F$  = fattore.

Il fattore è programmato nell'elenco dei parametri e può essere modificato. Fa sempre riferimento a un'altezza del percorso ottico della cuvetta di 10 mm. Se si modifica il parametro **Cuvette**, la modifica viene considerata dall'apparecchio per il calcolo dei risultati. Non è pertanto necessario modificare il fattore per la valutazione.

Se si modifica l'unità della concentrazione, ci si dovrà invece assicurare che il fattore sia stato adattato all'unità scelta.

Il fattore viene inserito direttamente come parametro nella procedura di valutazione "Factor", oppure calcolato nella procedura di valutazione "Standard" (valutazione con una concentrazione standard):

$$F = \frac{C_s}{A_s}$$

$F$  = fattore calcolato.

$C_s$  = concentrazione dello standard (inserito come parametro).

$A_s$  = estinzione misurata di uno standard.

È stato programmato per la misurazione multipla standard (2 o 3 replicati), si ottiene dalle estinzioni misurate dei replicati del valore medio e immesso come  $A_s$ .

## 12.4 Valutazione con curva/retta standard

Nel caso di una valutazione con più di uno standard, è possibile selezionare con [Curve fit] nel passaggio del metodo **measure standards/new** le seguenti procedure di valutazione per la curva/retta standard:

Procedure di valutazione	Descrizione	Numero minimo richiesto di punti standard
linear interpolation	Collegamento lineare punto a punto nel grafico estinzione - concentrazione della valutazione standard.	Almeno 2 standard.
linear regression	Regressione polinomiale per polinomi di primo grado.	Almeno 3 standard.
quadratical regression	Regressione polinomiale per polinomi di secondo grado.	Almeno 4 standard.
cubical regression	Regressione polinomiale per polinomi di terzo grado.	Almeno 5 standard.
spline interpolation	Interpolazione con spline cubiche naturali.	Almeno 3 standard.

Per la procedura di regressione è inoltre possibile stabilire che la retta di regressione (curva di regressione) passi per l'origine.



- Per le rette di calibrazione utilizzare la procedura "linear regression".
- Nel caso di andamento a curva, testare quale procedura di valutazione (regressione quadratica, regressione cubica, interpolazione spline) risulta essere la funzione più adatta per la valutazione standard. L'interpolazione spline collega i punti di misurazione con polinomi cubici, mentre le procedure di regressione applicano una funzione quadratica o cubica tra i punti di misurazione in modo tale che per i punti di misurazione risultino deviazioni il più possibile ridotte rispetto alla funzione.
- Nella procedura di regressione, oltre all'equazione di regressione calcolata, viene visualizzato anche il coefficiente di determinazione (coefficient of determination) come misura della dispersione dei punti di misurazione attorno alla funzione calcolata. Con un valore di < 0,8 per il coefficiente di determinazione, il risultato sarà accompagnato da un'avvertenza.
- Se il primo standard ha una concentrazione pari a "0", selezionare l'impostazione per la quale la retta di regressione (curva di regressione) passa per il vertice.
- Se nessuna delle procedure consigliate per l'andamento a curva porta a risultati soddisfacenti, selezionare la procedura "linear interpolation".

## 12.5 Diluizione

Le diluizioni immesse nel passaggio del metodo **measure samples** vengono considerate per il calcolo dei risultati:

$$C_{Dil, korr} = C \times \frac{V_p + V_{Dil}}{V_p}$$

$C_{Dil, Corr}$  = risultato convertito con fattore di diluizione

$V_p$  = volume del campione nella soluzione di misurazione

$V_{Dil}$  = volume del diluente nella soluzione di misurazione

## 12.6 Speciali procedure di valutazione per acidi nucleici e proteine UV

Questa sezione fa riferimento alla valutazione degli acidi nucleici o delle proteine nei gruppi di metodi **Nucleic acids** e **Proteins direct UV** nonché dei componenti delle biomolecole corrispondenti nel gruppo di metodi **Dye labels**.

### 12.6.1 Correzione A<sub>260</sub> e correzione A<sub>280</sub>

Applicazione: correzione dell'influsso dell'estinzione del colorante sull'estinzione degli acidi nucleici o delle proteine a 260 e 280 nm per i metodi del gruppo **Dye labels**.

L'applicazione della procedura di valutazione può essere attivata nei parametri **Correct A260** o **Correct A280**.

$$A_{XXX,corr} = A_{XXX} - CF \times A_{YYY}$$

$A_{XXX, Corr}$  = estinzione corretta aritmeticamente alla lunghezza d'onda 260 nm o 280 nm

$A_{XXX}$  = estinzione misurata alla lunghezza d'onda 260 nm o 280 nm

$CF$  = fattore di correzione per la lunghezza d'onda 260 nm o 280 nm (entrambi i fattori di correzione per 260 nm e per 280 nm sono specifici per un colorante e sono programmati in **General Method Parameter: Dyes** nell'area **Functions**).

$A_{YYY}$  = estinzione misurata alla lunghezza d'onda del colorante.



I valori di estinzione rappresentati nelle visualizzazioni dei risultati corrispondono ai valori di estinzione misurati direttamente e non corretti.

### 12.6.2 Rapporto A260/A280 e rapporto A260/A230

Applicazione: informazioni sulla purezza dell'acido nucleico misurato. Nei parametri dei metodi viene attivata la valutazione dei rapporti **A260/A280** e **A260/A230**.

Con "rapporto" si indicano i quozienti delle estinzioni misurate alle lunghezze d'onda indicate.

Valori dalla letteratura per il rapporto con acidi nucleici puri:

#### A260/A280

- DNA: da 1,8 a 1,9
  - RNA: da 1,9 a 2,0
- (Current Protocols in Molecular Biology, 1994)

#### A260/A230

Per il rapporto A260/A230, la letteratura riporta diversi dati per acidi nucleici puri:

- DNA: da 2,3 a 2,5  
(The Nucleic Acids, 1955)
- DNA: 1,9  
(Current Protocols in Molecular Biology, 1994)

I valori dipendono in misura considerevole dal valore del pH. Gli acidi nucleici non devono pertanto essere misurati in acqua, bensì in un tampone con un valore pH da 7 a 7,2 (ad esempio tampone TE).

### 12.6.3 Conversione in concentrazioni molari e quantità di acido nucleico

Si può ricorrere alla conversione solo per acidi nucleici e metodi dye con acidi nucleici come componenti delle biomolecole. Viene effettuata nel passaggio del metodo **process results/More calculations**.

#### 12.6.3.1 Calcolo della quantità

Applicazione: calcolo della quantità (massa) di acidi nucleici nell'intero volume del campione.

$$M = C \times V_{P,gesamt}$$

$M$  = quantità totale calcolata (massa) dell'acido nucleico nel recipiente di reazione. Unità:  $\mu\text{g}$ .

$C$  = concentrazione dell'acido nucleico ottenuta dalla misurazione. Unità:  $\mu\text{g}/\text{mL}$  o  $\text{ng}/\mu\text{L}$ .

$V_{P, totale}$  = volume totale del campione nel recipiente di reazione. Immettere questo valore in **More calculations**. Unità:  $\mu\text{L}$ .

### 12.6.3.2 Calcolo della concentrazione molare

Applicazione: calcolo della concentrazione molare dell'acido nucleico dalla concentrazione di massa e dalla massa molare relativa. La massa molare viene immessa direttamente oppure calcolata dall'apparecchio dal numero inserito delle basi o delle paia di basi per molecola di acido nucleico.

$$C_{Mol} = \frac{C \times 10^3}{MM}$$

$C_{Mol}$  = concentrazione molare calcolata dell'acido nucleico. Unità: pmol/mL.

$C$  = concentrazione di massa dell'acido nucleico ottenuta dalla misurazione. Unità:  $\mu\text{g/mL}$  o  $\text{ng}/\mu\text{L}$ .

$MM$  = massa molare relativa. Unità: kDa

Se in **More calculations** è stato inserito il numero delle basi o delle paia di basi per molecola di acido nucleico al posto della massa molare relativa, MM viene calcolata dal numero delle basi o delle paia di basi:

Per **dsDNA**:

$$MM = bp \times 2 \times 330 \times 10^{-3}$$

Per **ssDNA, RNA, Oligo**:

$$MM = b \times 330 \times 10^{-3}$$

$MM$  = massa molare relativa calcolata; unità: kDa

$bp$  = numero immesso delle paia di basi per molecola

$b$  = numero immesso delle basi per molecola



- Per **dsDNA**, si utilizza un acido nucleico a doppio filamento per il conteggio della concentrazione molare. Per i metodi **ssDNA, RNA** e **Oligo** si utilizza un acido nucleico a singolo filamento.
- Per i metodi che sono stati nuovamente programmati nel gruppo principale **Routine**, nel gruppo di metodi **Nucleic acids** tramite **<New Method>**, si utilizzano sempre acidi nucleici a doppio filamento per il calcolo della concentrazione molare.

#### 12.6.4 Calcolo del fattore per la proteina in "General Method Parameter"

Questa sezione è relativa solo al calcolo del componente della proteina nei gruppi di metodi **Dye labels** e **Proteins direct UV**. In questi gruppi di metodi si seleziona il componente della proteina nei parametri (vedi *Parametri del metodo a pag. 39*). Al componente della proteina è assegnato un fattore indicato nella funzione **General Method Parameter/Proteins** per ogni proteina. Alternativamente all'immissione del fattore si può indicare  $A_{0.1\%}$  o il coefficiente di estinzione più la massa molare della proteina. In questo caso il fattore viene calcolato come indicato di seguito:

$$F_p = \frac{1}{A_{0.1\%}}$$

$F$  = fattore per la proteina; unità: g/L.

$A_{0.1\%}$  = estinzione della proteina a una concentrazione di 0,1 % (1 g/L).

Con l'inserimento del coefficiente di estinzione molare e della massa molare relativa della proteina, si può calcolare  $A_{0.1\%}$  da quanto segue:

$$A_{0.1\%} = \frac{\varepsilon_p}{MM_p}$$

$\varepsilon_p$  = coefficiente di estinzione molare della proteina; unità:  $\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ .

$MM_p$  = massa molare relativa della proteina; unità: Da (immissione in **General Method Parameter** in kDa).

#### 12.7 Procedura speciale di analisi per i metodi Dye

##### 12.7.1 Calcolo del fattore per il colorante sulla base dei coefficienti di estinzione

Con i metodi Dye si calcola la concentrazione del colorante con un fattore sulla base dell'estinzione misurata (vedi *Valutazione con fattore o standard a pag. 103*). Il fattore viene inserito per ogni colorante nella funzione **General Method Parameter/Dyes**. In alternativa al fattore si può inserire il coefficiente di estinzione. In tal caso, il fattore si calcola nel modo seguente:

$$F_{Dye} = \frac{10^6}{\varepsilon_{Dye}}$$

$F$  = fattore per il colorante; unità: pmol/ $\mu\text{L}$ .

$\varepsilon$  = coefficiente di estinzione per il colorante; unità:  $\text{cm}^{-1}\text{Mol}^{-1}\text{L}$ .

### 12.7.2 Calcolo del FOI

Come valore per il rapporto tra le molecole del colorante e il numero dei nucleotidi presenti nell'acido nucleico viene calcolato e visualizzato nel caso dei metodi Dye il tasso di incorporazione (FOI = Frequency of Incorporation). Per il calcolo si può scegliere fra due unità finali differenti:

**I'unità MOLECOLA dye/kb**

$$FOI = \frac{A_{YYY}}{\varepsilon_{Dye}} \times \frac{10^6 \times MM_{nt}}{A_{XXX} \times F_{NA}}$$

**I'unità pmol/µg DNA (o, rispettivamente, RNA)**

$$FOI = \frac{A_{YYY}}{\varepsilon_{Dye}} \times \frac{10^9}{A_{XXX} \times F_{NA}}$$

$A_{YYY}$  = estinzione del colorante.

$A_{XXX}$  = estinzione dell'acido nucleico.

$MM_{nt}$  = massa molare media dei nucleotidi: 330 g/mol.

$F_{NA}$  = fattore per il calcolo dell'acido nucleico

$\varepsilon_{Dye}$  = coefficiente di estinzione per il colorante; unità:  $\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}$

### 12.7.3 Conversione in quantità di colorante

Il calcolo della quantità (massa) di colorante nell'intero volume del campione avviene nel passaggio procedurale **process results/More calculations**.

$$M = C \times V_{P, total}$$

$M$  = valore calcolato per la quantità (massa) complessiva del colorante nella provetta. Unità: pmol.

$C$  = concentrazione del colorante calcolata in base alla misurazione. Unità: pmol/µL.

$V_{P, total}$  = volume totale del campione nella provetta, viene inserito dall'operatore in **More calculations**.  
Unità: µL.

## 12.8 Dual wavelength

Per quanto concerne i metodi del gruppo **Dual Wavelength**, si possono conteggiare assieme i valori di estinzione, che sono stati misurati con due lunghezze d'onda, prima di procedere oltre con un'analisi dell'estinzione calcolata con un fattore o con uno standard.

Per il rilevamento dell'estinzione calcolata si può definire nei parametri un'analisi mediante divisione o sottrazione:

$$A_{calc} = \frac{a \times A_1}{b \times A_2} \times c + d$$

$$A_{calc} = [(a \times A_1) - (b \times A_2)] \times c + d$$

$A_1, A_2$  = valori di estinzione misurati.

$a, b, c, d$  = fattori che sono stati inseriti nei parametri. Si possono inserire anche valori negativi.

## 12.9 Fluorimetria

### 12.9.1 Valori RFU

**Relative Fluorescence Unit:** i valori RFU rappresentano la misura della fluorescenza rilevata. Diversamente dai valori di estinzione nell'ambito della fotometria, i valori RFU non sono confrontabili tra un apparecchio e l'altro, ma devono essere sempre riferiti agli standard della fluorescenza o concentrazione nota.

### 12.9.2 Bianco

Tutti i valori RFU sono sempre riferiti all'ultimo bianco misurato.

Il rilevamento del bianco è perciò obbligatorio all'inizio di ogni serie di misurazioni ed è possibile eseguirlo in qualsiasi momento anche durante una serie di misurazioni. L'ideale sarebbe che la misurazione del bianco sia in grado di andare a compensare qualsiasi tipo di influsso sul valore RFU della soluzione di misurazione. Il bianco dovrebbe essere quindi misurato con la stessa soluzione tampone utilizzata anche per la misurazione dei campioni nonché nella medesima cuvetta come avviene per il valore del campione, a meno che le cuvette impiegate per la misurazione del bianco e dei campioni non risultino allineate dal punto di vista ottico, ossia abbiano quindi lo stesso valore RFU in relazione alla lunghezza d'onda utilizzata per la misurazione.

### 12.9.3 Analisi con uno standard e una curva/retta standard, diluizione

L'analisi con uno standard o, rispettivamente, una curva/retta standard è analoga all'analisi dei metodi fotometrici (vedi *Valutazione con fattore o standard a pag. 103*).

Se si effettua l'analisi impiegando più di uno standard, con la funzione [Curve fit] nel passaggio procedurale **measure standards/new** si possono selezionare diverse procedure di analisi per la curva/retta standard (vedi *Valutazione con curva/retta standard a pag. 104*).

Il calcolo dei risultati della diluizione si effettua nello stesso modo in cui si procede nel caso dei metodi fotometrici (vedi *Diluizione a pag. 105*).

**Procedure di valutazione**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence  
Italiano (IT)

## 13 Informazioni per l'ordine

Cod. ord. (versione internazionale)	Cod. ord. (America settentrionale)	Descrizione
6135 000.009	–	<b>Eppendorf BioSpectrometer basic</b> 230 V/50 – 60 Hz, Spina di rete Europa
6135 000.017	6135000017	120 V/50 – 60 Hz, Spina di rete America del Nord
6137 000.006	–	<b>Eppendorf BioSpectrometer fluorescence</b> 230 V/50 – 60 Hz, Spina di rete Europa
6137 000.014	6137000014	120 V/50 – 60 Hz, Spina di rete America del Nord
6137 928.009	6137928009	<b>Set di filtri di riferimento per BioSpectrometer fluorescence</b> set di filtri per la verifica dell'accuratezza fotometrica e dell'errore sistematico delle lunghezze d'onda (secondo NIST) e per la verifica della precisione (deviazione casuale della misurazione) e della linearità fluorimetrica
6135 011.000	6135010004	<b>Thermal Printer DPU-S445</b> compreso alimentatore e cavo stampante 230 V, EU
6135 010.004	6135010004	115 V/110V, USA, JP
6135 012.007	6135010004	230 V, UK
0013 021.566	952010409	<b>Carta termica</b> 5 rotoli
0030 106.300	952010051	<b>Eppendorf UVette 220 nm – 1 600 nm</b> Cuvetta Eppendorf originale in plastica, PCR clean, Protein-free 50 - 2 000 µL, 80 pezzi, confezione singola
0030 106.318	952010069	<b>Eppendorf UVette routine pack 220 nm – 1 600 nm</b> Eppendorf Quality 50 - 2 000 µL, 200 pezzi, scatola richiudibile
0030 079.345	0030079345	<b>Eppendorf macro Vis Cuvettes</b> 10 x 100 pezzi
0030 079.353	0030079353	<b>Eppendorf semi-micro Vis Cuvettes</b> 10 x 100 pezzi
0030 119.851	0030119851	<b>Eppendorf Cuvette Rack</b> 36 alloggiamenti, per cuvette in vetro e plastica, con posti numerati 2 pezzi, polipropilene, autoclavabili



# Declaration of Conformity

The product named below fulfills the requirements of directives and standards listed. In the case of unauthorized modifications to the product or an unintended use this declaration becomes invalid.

**Product name:**

Eppendorf BioSpectrometer® fluorescence

**Product type:**

Photometer

**Relevant directives / standards:**

2014/35/EU: EN 61010-1

UL 61010-1, CAN/CSA C22.2 No. 61010-1

2014/30/EU: EN 55011, EN 61326-1

2011/65/EU: EN 50581

Date: December 28, 2015



Management Board



Philipp Heller  
Portfolio Management

Your local distributor: [www.eppendorf.com/contact](http://www.eppendorf.com/contact)  
Eppendorf AG · 22331 Hamburg · Germany  
[eppendorf@eppendorf.com](mailto:eppendorf@eppendorf.com)

Eppendorf® and the Eppendorf logo are registered trademarks of Eppendorf AG, Germany.  
U.S. Design Patents are listed on [www.eppendorf.com/ip](http://www.eppendorf.com/ip).  
All rights reserved, incl. graphics and pictures. Copyright 2015 © by Eppendorf AG.

[www.eppendorf.com](http://www.eppendorf.com)

ISO 9001  
Certified

ISO 13485  
Certified

ISO 14001  
Certified





# Evaluate Your Manual

Give us your feedback.

[www.eppendorf.com/manualfeedback](http://www.eppendorf.com/manualfeedback)

**Your local distributor:** [www.eppendorf.com/contact](http://www.eppendorf.com/contact)

Eppendorf AG · Barkhausenweg 1 · 22339 Hamburg · Germany  
[eppendorf@eppendorf.com](mailto:eppendorf@eppendorf.com) · [www.eppendorf.com](http://www.eppendorf.com)