

QCM-D Biolin Scientific
Dipartimento di Chimica – DICUS – (Stanza 175, Ed. P1)



La microbilancia a cristalli di quarzo (QCM-D) è una tecnica con sensibilità dell'ordine dei nanogrammi che utilizza onde acustiche generate dall'oscillazione di una piastra piezoelettrica a cristallo singolo di quarzo per misurare la massa. La QCM-D fornisce informazioni in tempo reale sulle proprietà viscoelastiche del film adsorbito, come viscosità, elasticità e densità. La sensibilità massima in liquido è di 1 ng/cm^2 . Lo spessore massimo del film che può essere misurato varia da alcune centinaia di nanometri a qualche micron, a seconda della rigidità del film. La QCM-D ha un'ampia gamma di applicazioni, alcuni esempi includono: cinetica delle interazioni molecolari (ad esempio, interazioni proteina-proteina), interazioni molecola-superficie (ad esempio, affinità delle biomolecole al sito di legame di una superficie funzionalizzata), formazione di film polimerici e loro interazioni con i diversi costituenti dei mezzi liquidi, effetto dei tensioattivi su vari rivestimenti, applicazioni dei biosensori, ecc.

La base del funzionamento della QCM-D è legata alla proprietà intrinseca del quarzo, la piezoelettricità. Il cristallo di quarzo è un materiale piezoelettrico che genera un campo elettrico quando viene applicata una sollecitazione. I cristalli utilizzati nel QCM-D sono a forma di disco con elettrodi metallici sovrapposti sulle due facce, come una piastra parallela, Figura 1 a). Quando un campo elettrico alternato viene applicato al cristallo, esso risuona alla frequenza del campo applicato a causa dell'effetto piezoelettrico inverso. La frequenza di tale oscillazione, Figura 1 b), è determinata dallo spessore del cristallo e dalla velocità delle onde di taglio nel quarzo.

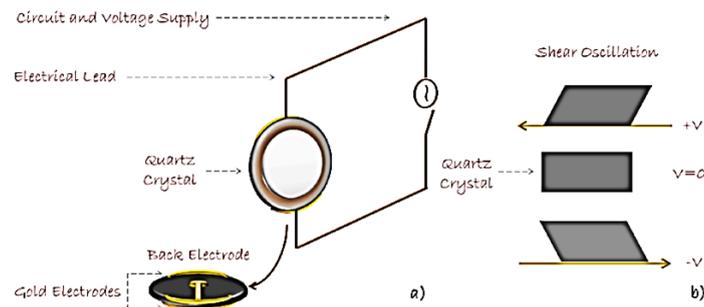


Figura 1. Schema a) Rappresentazione dei componenti e del campo elettrico applicato sul cristallo di quarzo. b) Oscillazione del cristallo di quarzo.

Inoltre, l'oscillazione decade con il tempo dopo l'interruzione della tensione applicata e la dissipazione descrive il tempo necessario per il decadimento dell'ampiezza. Sauerbrey evidenziò la natura estremamente sensibile di questi materiali piezoelettrici alle variazioni di massa sulla superficie dei cristalli di quarzo e mise in relazione la variazione di massa per unità di area sul cristallo QCM con la variazione osservata nella frequenza di oscillazione del cristallo mediante la cosiddetta equazione di Sauerbrey:

$$\Delta f = - C_f \times \Delta m$$

Dove Δf , è la variazione di frequenza osservata (Hz); Δm , è la variazione di massa per unità di superficie (g/cm^2) e C_f è il fattore di sensibilità del cristallo utilizzato, che per i sensori con una frequenza di risonanza di $4,95 \pm 0,02$ MHz è $18,06 \pm 0,15$ $\text{ng}/\text{cm}^2 \text{ Hz}^1$. Per i film sottili omogenei che non dissipano energia, la relazione tra la frequenza di risonanza e la massa del film adsorbito è lineare:

$$\Delta m = \frac{C_f}{n} \Delta f$$

Dove, n è il numero di overtone. La relazione Sauerbrey è valida se i) la massa adsorbita è piccola rispetto alla massa del cristallo di quarzo; ii) si ha la formazione di un film rigido; iii) la massa adsorbita è uniformemente distribuita sull'area del cristallo. Tuttavia, quando la relazione di Sauerbrey non è applicabile, la correlazione tra frequenza e massa è più complicata ed è necessaria un'interpretazione più complessa dei dati.

In Figura 2 è riportato un esempio di un esperimento QCM-D. Il grafico mostra l'adsorbimento di proteina albumina umana (HSA) (a) e di un anticorpo per HSA (c). Le fasi (b) e (d) corrispondono ai lavaggi con il buffer. Le variazioni di frequenza (Δf , Hz) sono mostrate in blu sull'asse sinistro e le variazioni di dissipazione (ΔD , 1×10^{-6}), legate alla viscoelasticità del film, sono mostrate in rosso sull'asse destro. Si noti che alla variazione di frequenza dello step (a) non corrisponde ad una variazione della dissipazione, indicativo della rigidità del film di HSA adsorbito sul cristallo di quarzo. Al contrario, l'adsorbimento dell'anticorpo in corrispondenza dello step (c) produce un'ampia variazione di frequenza e di dissipazione, indicando sia la quantità di massa adsorbita sia l'aumento delle caratteristiche viscoelastiche del film dovute all'incorporazione delle molecole di acqua. Inoltre, la fase di lavaggio (d) mostra un cambiamento conformazionale dell'anticorpo, dovuto alla rimozione dell'eccesso di anticorpo presente sul film, tramite il lavaggio con il buffer.

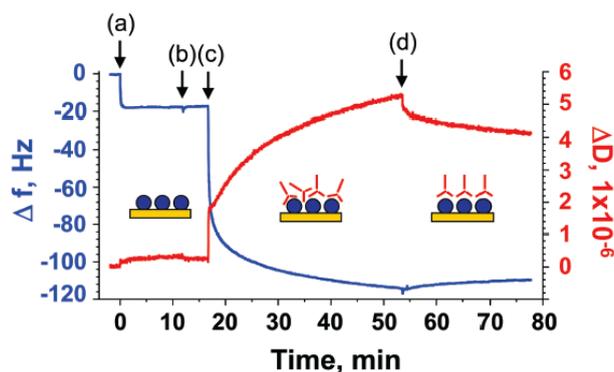


Figura 2. Raw data di un esperimento QCM-D. (a) adsorbimento di HSA; step (b) lavaggio con buffer; step (c) flusso di anticorpo dell'HSA e successivo adsorbimento; step (d) lavaggio dell'eccesso di anticorpo. (Rif. Journal of Biomolecular Techniques, 9, 151–158, 2008)

Riferimenti:

1. PhD Thesis Eleftheria Diamanti, 2016. Department of Science and Technology of Polymers, University of the Basque Country (UPV/EHU), Donostia-San Sebastián.
2. Sauerbrey, G. The Use of Quartz Oscillators for Weighing Thin Layers and for Microweighing, Vol. 155, 1959.
3. Dixon, M.C. Quartz Crystal Microbalance with Dissipation Monitoring: Enabling Real-Time Characterization of Biological Materials and Their Interactions. Journal of Biomolecular Techniques, 9, 151–158, 2008.

Procedure di Misura della QCM-D

Le fasi necessarie per le misure di QCM-D sono elencate in Tabella 1. Tutte le fasi sono descritte in dettaglio nei manuali e video a disposizione degli utenti.

È obbligatorio l'uso dei guanti in tutti gli step del processo.

Tabella 1. Fasi della preparazione del sistema - Setup - Misura.

Preparazione del sensore	Mantenimento e pulizia del sensore
Preparazione delle soluzioni	Degassificazione Stabilità della temperatura
Setup misura	Modulo di flusso Montaggio del sensore nel modulo di flusso Collegamento dei tubi Configurazione della piattaforma di misura Assemblaggio piattaforma di misura
Esecuzione misura	Procedura di misura Verifica delle prestazioni del sistema QSoft401 Acquisition Software
Fine misura	Procedura standard di pulizia dello strumento

□ Preparazione del sensore

Il sensore è costituito da un disco di quarzo con elettrodi d'oro. La superficie del sensore può essere ricoperta da uno strato di SiO_2 , Au o altri materiali a seconda della tipologia di esperimento. I due lati dei cristalli hanno diverse funzioni: il lato active electrode, sarà a contatto con il campione durante la misura, Figura 3 (a). Sul lato posteriore, ci sono il contro elettrodo e i contatti elettrici per gli elettrodi, Figura 3 (b). **I contatti elettrici non devono mai andare in contatto con i liquidi (campioni, buffer, soluzioni di lavaggio, etc.).** Il bordo circolare opaco dell'elettrodo è un'area di maggiore rugosità rispetto all'area centrale lucida.

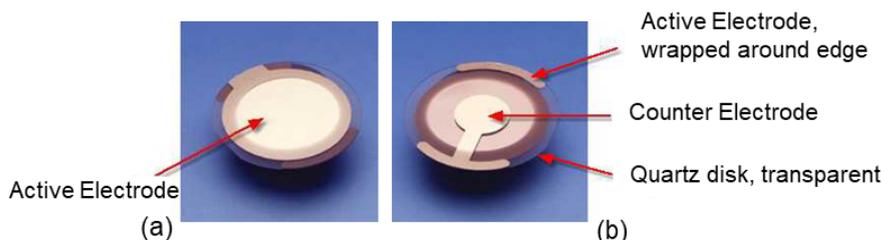


Figura 3. Descrizione cristalli di quarzo. (a) Active electrode, va in contatto con la soluzione. In fase di montaggio la faccia è rivolta verso il basso. (b) Counter electrode in fase di montaggio la faccia è rivolta verso l'alto e non deve mai andare in contatto con i liquidi.

Mantenimento e Pulizia del sensore. Il sensore deve essere conservato nella sua scatola, in un ambiente pulito e privo di polvere. **Non toccare mai il sensore con le mani.** Maneggiare sempre il sensore utilizzando un paio di pinzette (in dotazione) che devono avere un'estremità rotonda e la superficie di presa liscia. Tenere il sensore sul bordo esterno dell'area dell'elettrodo per evitare graffi, come mostrato in Figura 4. **Evitare di graffiare la parte centrale del sensore. Non prendere mai il sensore in prossimità degli elettrodi.**

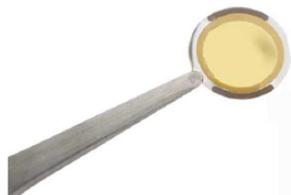


Figura 4. Si prende il sensore toccando solo la parte trasparente del film, utilizzando le pinzette con punta rotonda e superficie liscia.

Le proprietà della superficie del sensore sono fondamentali per l'interazione del campione con la stessa, **pertanto, per ottenere misure riproducibili, è necessario utilizzare procedure adeguate di pulizia per la preparazione della superficie.** Un sensore anche se nuovo potrebbe essere contaminato da idrocarburi e polvere: si consiglia sempre una pulizia prima dell'utilizzo per avere risultati QCM-D riproducibili. Il metodo di pulizia più appropriato dipende dal sensore e dal campione. Nel manuale a disposizione degli utenti **QSense "Instrument care and sensor pre-cleaning"** sono riportati i protocolli di pulizia della superficie del sensore, che tengono conto della funzionalizzazione superficiale (SiO_2 , Au etc.) e delle diverse applicazioni.

Prima di iniziare un ciclo di pulizia leggere attentamente il manuale QSense "Instrument care and sensor pre-cleaning" onde evitare di danneggiare il sensore e lo strumento.

Procedura di pulizia standard da effettuarsi prima dell'utilizzo di un sensore nuovo.

!!! Durante la procedura di pulizia per proteggere al meglio i sensori, utilizzare il supporto in PTFE QSense (QLCH 301). Il supporto in PTFE mantiene i sensori in posizione stabile, evitando che si graffino e si tocchino durante l'immersione in un ambiente liquido.!!!

1. Tenere il sensore con un paio di pinzette da sotto per evitare di far passare eventuali contaminazioni dalla pinzetta al sensore, come illustrato in Figura 5. Sciacquare il sensore con acqua MilliQ ed infine con Etanolo puro o in alternativa Etanolo al 70%.
2. Asciugarlo lentamente di taglio con un flusso di N_2 o aria compressa, fino ad eliminare qualsiasi residuo di liquido.
3. In ultimo si consiglia la pulizia del sensore con una lampada UV-Ozone, irradiandolo per 60 minuti, per eliminare qualsiasi residuo organico.



Figura 5. Illustrazione di come lavare il sensore evitando di ri-contaminare il sensore con la punta delle pinzette.

□ Preparazione delle soluzioni

La QCM-D è sensibile alle variazioni della soluzione rispetto ai film applicati. Per evitare variazioni del segnale dovute a variazioni delle proprietà delle soluzioni, queste devono essere preparate con cura. Suggerimenti:

- i) utilizzare preferibilmente campioni filtrati (ove sia possibile) ad alta concentrazione e diluirli nel buffer (o solvente) appropriato poco prima della misura;
- ii) usare solventi o buffer dello stesso stock utilizzato per diluire il campione durante la misura;
- iii) preparare soluzioni fresche e degassarle sempre prima della misura.

Le variazioni di temperatura, le proprietà del solvente e le bolle d'aria influenzano notevolmente il segnale del sensore. Per ottenere misurazioni riproducibili, è necessario:

Degasare le soluzioni. Il buffer o solvente del campione deve essere sempre degassato (ad esempio, in un bagno sonicatore con funzione degas) prima della misurazione per ridurre il rischio di formazione di bolle d'aria.

Temperatura delle soluzioni. Per evitare la formazione di bolle e ridurre gli artefatti legati alla temperatura, le soluzioni dovrebbero avere circa la stessa temperatura della camera di misura. **Mantenere la temperatura all'interno della camera leggermente più bassa (~2 °C) rispetto alla temperatura delle soluzioni all'esterno.**

□ Set-up Misura

L'impostazione tipica di misura è la **modalità a flusso continuo**, in cui le soluzioni vengono fatte passare sulla/e superficie/i del sensore in successione, utilizzando una pompa esterna. Fermando la pompa dopo ogni risciacquo del campione, è possibile applicare una modalità stop-flow.

Prima di preparare la camera e il modulo di flusso per le misurazioni, è necessario osservare i seguenti punti:

- Pulire sempre con Etanolo 70% e poi asciugare le parti della camera/modulo di flusso;
- Utilizzare sempre azoto o un altro gas non reattivo quando si asciugano le parti della camera/modulo di flusso.
- Per asciugare e pulire le parti della camera/modulo di flusso, utilizzare solo tessuti morbidi e privi di pelucchi.
- **Utilizzare sempre i guanti e un paio di pinzette quando si maneggia l'O-ring.**
- Tenere il sensore con un paio di pinzette (come illustrato nel paragrafo del sensore). **NON prenderlo mai con le mani.**

Modulo di Flusso. Il modulo di flusso è il cuore del sistema di misura. Essendo completamente separato dal resto dello strumento, i diversi moduli di flusso possono essere tenuti separati per diversi tipi di esperimenti. **I moduli di flusso adatti a temperature più elevate (massimo 150 °C) sono identificati da una "H", iscritta sul lato del modulo.** Sul modulo di flusso sono presenti un ingresso e un'uscita, contrassegnati da frecce. Per garantire una stabilità ottimale della temperatura durante la misurazione, le soluzioni devono essere convogliate secondo il verso delle frecce riportate sul modulo, Figura 6 (a). Quando la soluzione entra nel modulo, attraversa un canale a serpentina, dove si stabilizza alla temperatura impostata, prima di entrare nella camera dove si trova la superficie del sensore, Figura 6 (b). Successivamente il flusso è diretto verso l'uscita. L'intero modulo quando è bloccato in posizione sulla piattaforma viene riscaldato/raffreddato alla temperatura settata. **Tutte le parti del modulo esposte alle soluzioni possono essere smontate per la pulizia – vedi manuale "Instrument care and sensor pre-cleaning Biolin Scientific".**

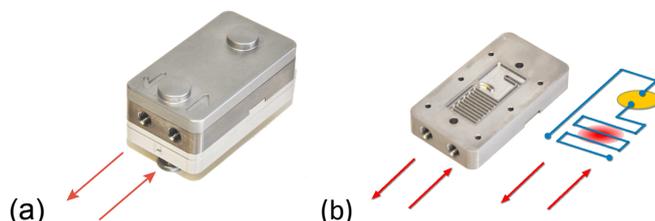
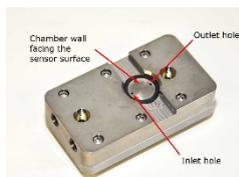


Figura 6. (a) Modulo di flusso chiuso. La direzione del flusso delle soluzioni è indicata dalle frecce: flusso in uscita sinistra, flusso in entrata destra. (b) Modulo di flusso aperto.

ATTENZIONE! La parte inferiore con le viti a testa zigrinata e i perni degli elettrodi non devono essere smontati, e/o messi a contatto con un liquido!

Specifications QFM 401	
Sensors	Compatible with all QSense 14 mm sensors
Internal volume Total	~140 µl
Flow channel	~100 µl, above sensor crystal ~40 µl
Type of measurements	Flow or stagnant liquid measurements
Materials exposed to liquid	Viton (O-ring and sealing), titanium
Cleaning	All parts may be disassembled for separate cleaning
Dimensions	Height: 37 mm; Width: 35 mm; Depth: 63 mm

Montaggio del sensore nel modulo di flusso. Posizionare il modulo di flusso sulla base dello strumento e svitare le due viti.



1) L'ingresso e l'uscita della camera saranno visibili all'interno dell'O-ring. **Assicurarsi che l'O-ring sia ben posizionato nella sua sede e che sia pulito.**



2) Posizionare il sensore con il lato attivo verso il basso, appoggiato sull'O-ring. L'elettrodo a forma di ancora deve essere montato come mostrato in figura. La corretta posizione del cristallo è indicata anche sul modulo. *Rif.: video montaggio cristallo su modulo.*



3) Un sensore montato correttamente ha il lato attivo rivolto verso il basso in direzione del flusso. Controllare che il sensore sia parallelo all'abbassamento dell'alloggiamento e che sia il più possibile centrato.



4) Poggiando il modulo sulla base dello strumento avvitare contemporaneamente le due viti della parte superiore del modulo. Deve essere ben chiuso per evitare l'entrata di aria ma, non eccessivamente, perché si potrebbe rompere il cristallo posizionato internamente. *Rif. video chiusura modulo.*

Collegamento dei tubi. I connettori per l'impostazione del percorso di flusso con i moduli sono costituiti da componenti standard HPLC.

Vengono montati come segue:



1) Per collegare il tubo al modulo di flusso, sono necessari un dado (nut) e una ghiera (ferrule). Per il collegamento alla pompa peristaltica, c'è il perfit.



2) Il dado deve essere inserito nel tubo di PTFE, con la filettatura rivolta verso l'estremità del tubo. Quindi, infilare la ghiera sul tubo, con il diametro maggiore verso l'estremità. *Rif.: video montaggio dado-ferula tubo rigido_1;*



3) Avvitare il dado sul modulo di flusso. La ghiera si comprime sul tubo e sigillerà il collegamento. **La ghiera non può essere riutilizzata per un altro tubo.** *Rif.: video montaggio dado-ferula tubo rigido_1; montaggio tubo rigido modulo_1.*



4) Il perifit collega il tubo in PTFE del modulo con il tubo flessibile della pompa. Per il collegamento al tubo standard forniti con la pompa, utilizzare il perifit insieme con il dado e la ghiera. *Rif.: video montaggio tubo pompa_1; video montaggio tubo pompa_2; video montaggio tubo pompa_3; video montaggio tubo pompa_4; video montaggio tubo pompa_5.*

Configurazione della piattaforma di misura. La piattaforma contiene 4 moduli a flusso, Figura 7. Il software eseguirà da una a quattro misurazioni indipendenti, indipendentemente dal loro ordine.



Figura 7. (a) Piattaforma di misura collegata alla pompa e ai campioni. (b) 4 moduli di flusso assemblati.

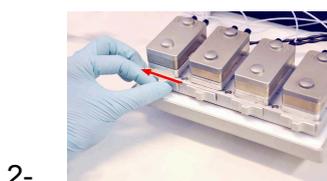
Assemblaggio piattaforma di misura.



1-



Posizionare il modulo di flusso con i perni degli elettrodi verso il basso in modo che vadano in contatto con le piastre sul blocco termico della piattaforma della camera.



2-

Chiudere il fermo



3-

Allineare il tubo nelle fessure in PTFE sui lati della camera.



4-

Chiudere il coperchio



□ **Esecuzione della misura**

Prima di iniziare un esperimento, assicurarsi che le soluzioni utilizzate per l'esperimento siano chimicamente compatibili con il modulo di flusso, (compresi gli O-ring e le guarnizioni), il tubo della pompa e il sensore. Tutte le parti di metallo a contatto con le soluzioni sono di Ti, grade 2.

Le parti standard esposte al campione sono;

- i) Tubi del modulo sono in PTFE;
- ii) Tubi della pompa sono di Tygon, R-3607;
- iii) Standard O-ring in A-type Viton®;
- iv) Le guarnizioni di tenuta standard in A-type Viton®.

Una breve tabella dei dati di compatibilità chimica è riportata nel manuale *Analyzer Operator Manual EdAP lowres*, capitolo "**Materials Guide**" pag. 94.

Procedura di accensione: i) accendere PC; ii) accendere lo Strumento; iii) doppio click sull'icona del software QSoft401.

Procedura di misura

- 1- Montare il cristallo nel modulo di flusso e posizionarlo sul blocco termico della piattaforma della camera (vedi sottocapitoli "**Montaggio del sensore**" e "**Montaggio del modulo di Flusso**").
- 2- Collegare la pompa e il tubo ai moduli di flusso.
- 3- Assicurarsi che la piattaforma della camera sia collegata all'unità elettronica, che l'unità elettronica sia correttamente collegata al computer e che il software QSoft401 sia avviato.
- 4- Attivare il controllo della temperatura. Regolare il setpoint della temperatura al valore desiderato e attendere 5-10 minuti per l'equilibrio (potrebbe essere necessario un tempo più lungo se la temperatura impostata è diversa dalla temperatura ambiente). Se la temperatura di lavoro desiderata è superiore a 50 °C, impostare la temperatura della piastra 20 gradi al di sotto della temperatura di lavoro.
- 5- Trovare le risonanze dei sensori in aria e a seguire in liquido. **Si deve sempre eseguire questa operazione prima di riempire i moduli di flusso con il liquido.** Se durante la ricerca delle risonanze si ottengono valori sballati, la ragione può essere facilmente indagata essendo i moduli asciutti. Sicuramente dipende da una mal posizionamento del sensore, oppure dal fatto che il modulo non è ben assemblato. Generalmente se i sensori sono ben posizionati, i valori trovati sono marcati in verde. In caso contrario sono marcati in rosso.
- 6- Avviare la pompa e riempire i moduli a flusso con acqua MilliQ e trovare le risonanze in liquido (vedi file **Quick Start Guide**).
- 7- Avviare l'acquisizione dei dati (vedere il sottocapitolo "**Impostazione della misura**" nel capitolo "**QSoft401 Acquisition Software**").
- 8- Dopo 10-20 minuti di stabilizzazione in particolare della temperatura, e del rilassamento delle sollecitazioni nell'O-ring, riavviare la misura per iniziare con una linea di base piatta. Questo tempo stimato si riferisce agli esperimenti a temperatura ambiente. Temperature di lavoro più elevate richiedono tempi più lunghi per ottenere una linea di base stabile.
- 9- Se si utilizza la modalità di flusso continuo, per cambiare soluzione **si deve sempre arrestare temporaneamente il flusso (fermare la pompa)**, mettere il tubo nella nuova soluzione e riavviare la pompa per riempire la camera, il tutto mentre l'acquisizione dei dati è in corso. **Assicurarsi che non vengano introdotte bolle d'aria nel sistema durante il cambio della soluzione. I tubi devono essere sempre cambiati a pompa spenta.**

Per misure ottimali:

- La temperatura del liquido campione deve essere entro ± 2 °C rispetto alla temperatura impostata nella camera. Per ridurre il rischio di formazione di bolle, la temperatura della camera deve essere leggermente inferiore rispetto alla temperatura esterna del campione.
- La velocità di lavaggio (la soluzione in cui è contenuto il campione) deve essere uguale alla velocità di acquisizione del campione.

□ Verifica delle prestazioni del sistema

Quando il sensore è montato correttamente, con modulo di flusso privo di bolle d'aria e la temperatura all'interno stabile, il sistema con un sensore nuovo e pulito deve mostrare le seguenti prestazioni:

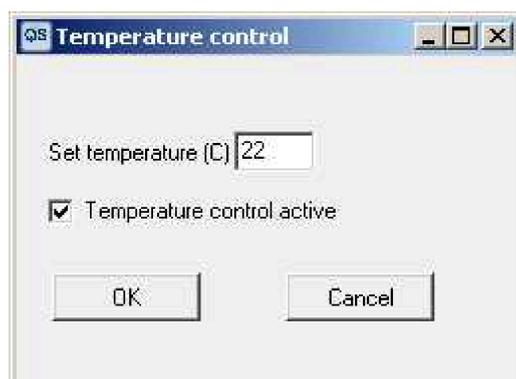
- La linea di base per ΔF e D deve essere stabile. Ad esempio, per un sensore standard pulito e non rivestito di Au in acqua non deve subire una deriva superiore a **2 Hz/h e $0,2 \times 10^{-6}$ per ΔF e D rispettivamente**. In aria, la deriva è di solito maggiore, a causa delle variazioni più lente, ad esempio, dell'umidità e del fatto che l'aria è un conduttore termico molto più scarso del liquido.
- I livelli di rumore, se misurati in un periodo di 2 minuti, devono essere inferiori a 0,6 Hz (picco-picco) e $0,15 \times 10^{-6}$ (picco-picco) per ΔF e D rispettivamente.

Se si verificano deviazioni dai valori sopra indicati, consultare il manuale “**Analyzer Operator Manual EdAP lowres**” capitolo “**Troubleshooting**”, pag. 87.

□ QSoft401 Acquisition Software



Per aprire il software fare doppio click sull'icona **QSoft401** presente sul desktop. Quando l'unità elettronica è accesa, è possibile accedere al Temperature control. Si consiglia di accenderlo all'inizio, in modo che la piattaforma della camera e i moduli di flusso possano stabilizzarsi. **Se il termoregolatore rimane acceso prima di spegnere lo strumento, si accenderà automaticamente alla sessione successiva. Dopo ogni misura riportare sempre la T della camera a 20°C.**



Fare clic sul pannello di controllo della temperatura nella finestra principale per aprire la finestra delle impostazioni di temperatura, come illustrato nell'immagine a sinistra. Nella finestra Temperature Control, inserire il valore desiderato e fare clic su "OK".

Set-Up Measurements

	Setup Measurement	Ctrl+F
	Start Measurement	Ctrl+R
	Restart Measurement	Shift+Ctrl+R
	Stop	Ctrl+Q
	Show QAutoController	Ctrl+L

Prima di avviare la misura si devono trovare le frequenze di risonanza dei cristalli del sensore in aria e in acqua. È possibile trovare manualmente le risonanze facendo click su **Setup Measurement** nel menu Acquisition.

The screenshot shows the 'Measurement setup' window with several callouts:

- Choose sensors included in the measurement:** Points to the 'Included sensors' table where users can select which of the four sensors to include.
- Search all resonances or a specific one:** Points to the 'Find all resonances' and 'Find specific resonance' sections.
- Choose included resonances for each sensor:** Points to the 'Included resonances' table where users can select which harmonics (1st, 2nd, 3rd, 5th) to include for each sensor.
- Check this box for default settings:** Points to the 'Automatic optimization' checkbox.

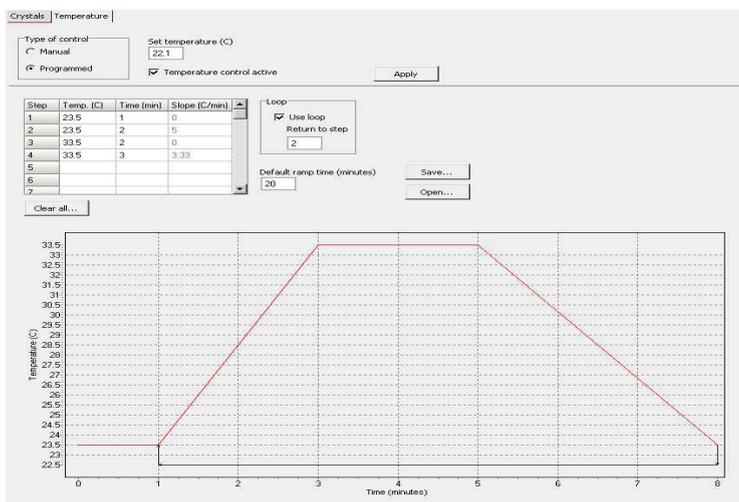
The interface also displays a 'Sweep' plot showing a sharp resonance peak at approximately 64,300,000 Hz, and a 'Decay' plot showing the amplitude of the resonance over time.

I cristalli da includere nella misurazione vengono scelti nel pannello **Included sensors**. Il numero di armoniche da registrare da ciascun cristallo si sceglie nella finestra **Included resonances**. Per trovare le risonanze di un cristallo (cioè per trovare la linea di base e gli overtones), fare clic su **Find** per trovare tutte le risonanze (da 1 a 13) o **Find specific resonance**. QSoft avvierà una ricerca per trovare le frequenze di risonanza. Verrà visualizzato un grafico di sweep. Se il cristallo del sensore presenta una risonanza nell'intervallo specificato, la curva di sweep conterrà un picco.

La tabella delle risonanze a sinistra mostra i valori assoluti di Δf e D . Le risonanze trovate sono riportate in verde, mentre le risonanze cercate ma non trovate, o con valori fuori scala sono contrassegnate in rosso. In quest'ultimo caso, verificare che il sensore sia montato correttamente e che il modulo sia inserito nella giusta posizione. Per le risonanze in acqua, se ci sono valori non

trovati o riportati in rosso può dipendere anche dalla presenza di bolle o eventualmente dai cristalli non perfettamente puliti.

Misure in temperatura Variabile



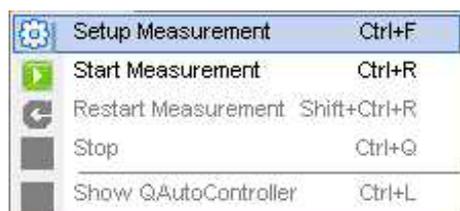
È possibile fare misure a Temperatura variabile, cliccando

Acquisition Setup Measurements

Temperature.

Per attivare il controllo della temperatura programmata, selezionare l'opzione **Programmed**. Il controllo della temperatura si attiverà automaticamente (se non lo era già) il controllo programmato della temperatura. Il setting della temperatura è costituito da un certo numero di step (almeno due). Per ogni step c'è una temperatura di partenza e un tempo. Il tempo indica quanto tempo deve trascorrere prima di raggiungere la temperatura dello step successivo. La pendenza della temperatura viene calcolata automaticamente in base alla differenza di temperatura tra la temperatura iniziale e la successiva e al tempo specificato. Il programma di temperatura, se attivato, si avvia non appena inizia l'acquisizione. È consigliabile che il primo e il secondo step abbiano la stessa temperatura per stabilizzare il sistema. Quando il programma giunge al termine, si ferma oppure, se è selezionata l'opzione "**Use loop**", ritorna alla temperatura selezionata.

Start Misura



Per iniziare la misura dei campioni Acquisition Start Measurement

Quando si apre la finestra **start measurements** il sistema inizia ad acquisire e si seguono i valori di ΔF e D in real time. È possibile avviare una misurazione se è già in corso un'acquisizione. La misura in corso verrà terminata e ne partirà subito una nuova. **Non verrà chiesto di salvare la misura fino a quando non si tenta di chiudere la finestra di misura. Tuttavia, se si desidera salvarla, basta premere il tasto save as.** All'avvio dell'acquisizione, apparirà un grafico ΔF e D vs Tempo per ogni cristallo incluso. Questi grafici sono contrassegnati dal numero 1 a 4. Oltre a questi grafici, si potranno visualizzare un pannello di note (con un semplice editor di testo, in alto a destra), un grafico della temperatura e una tabella con i valori assoluti di ΔF e D. La visibilità di questi pannelli

può essere controllata con i pulsanti della barra degli strumenti. Nella Figura 8, i sensori 1, 2 e 3 sono stati nascosti, mentre tutte le altre finestre sono visibili.

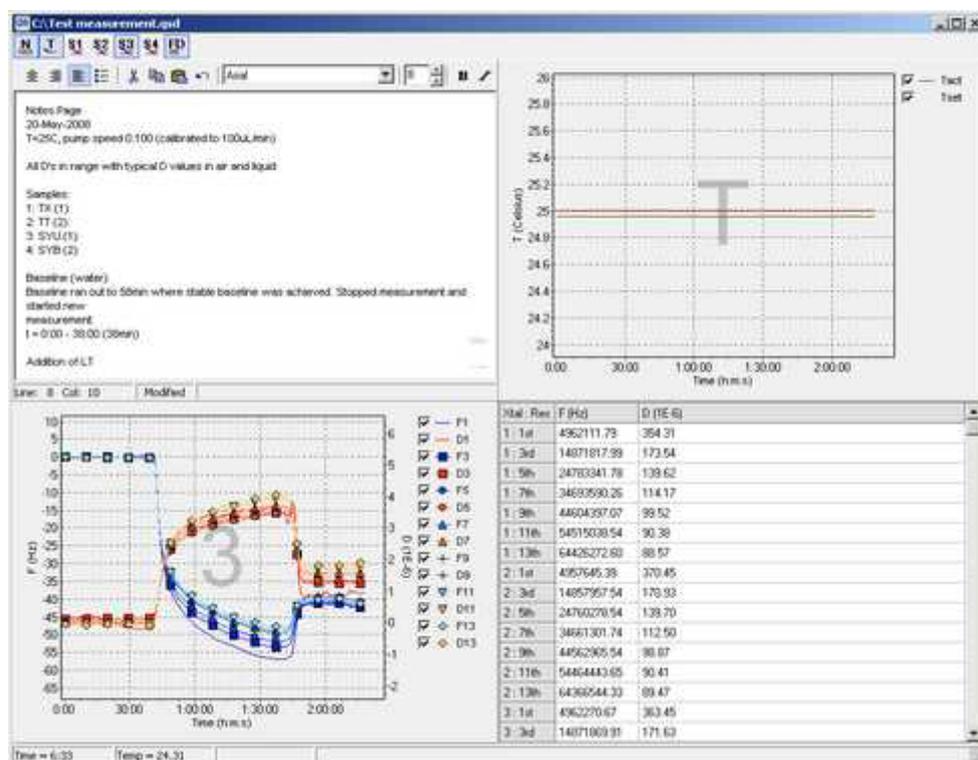


Figura 8. Finestra di misura QSoft 401

Fine Misure e Save dati

	Setup Measurement	Ctrl+F
	Start Measurement	Ctrl+R
	Restart Measurement	Shift+Ctrl+R
	Stop	Ctrl+Q
	Show QAutoController	Ctrl+L

Selezionare **Acquisition** **Stop** dal menu. Viene visualizzata la finestra di dialogo **Save file**. Inserire il nome di file e fare clic su Save per salvare i dati. Se per qualche motivo la misurazione è stata interrotta da un guasto del computer, dell'alimentazione o del programma, i dati vengono salvati in un file temporaneo che può essere recuperato al successivo avvio di QSoft401. Per i dettagli, consultare il manuale dello strumento a pag. 68. I dati possono essere esportati in (ASCII) formato Microsoft Excel.

Le misure devono essere salvate nella cartella **USERS** presente sul desktop, dove sono presenti sottocartelle coi nomi dei RADR. Una volta individuato il proprio **RADR**, creare una sottocartella con il nome dell'utente che ha eseguito la misura e salvare i dati. Copiare i dati su una chiavetta (il PC non è connesso a Internet). Il backup del PC sarà effettuato a cadenza annuale, pertanto, si consiglia di salvare i propri dati su una USB dopo ogni sessione di misura. Informazioni dettagliate sono riportate nel "**Analyzer Operator Manual EdAP lowres**", capitolo "**Qsoft401 Acquisition software**", pag. 68.

Fine misura

Per ottenere misure stabili e riproducibili, sono necessarie adeguate procedure di pulizia dei moduli di flusso e dei cristalli. Si raccomanda di pulire il modulo di flusso immediatamente dopo ogni misurazione. A seconda delle esigenze, scegliere la pulizia minima o quella più estesa. Di



solito, la pulizia approfondita è necessaria solo tra diverse configurazioni dell'esperimento. Per ulteriori protocolli di pulizia, consultare il manuale "**Instrument care and sensor pre-cleaning Biolin Scientific**". **Prima di toccare il modulo, accertarsi che la temperatura sia bassa. La pulizia dello strumento deve essere fatta con i sensori di mantenimento! NON FLUSSARE MAI Liquidi nei vari moduli di flusso senza sensori.**

Procedura standard di pulizia dello strumento:

- 1- Con il sensore di mantenimento montato nei vari moduli, flussare per 15 minuti alla velocità max di 0.5 mL/min H₂O;
- 2- Successivamente flussare per 15 minuti alla velocità di 0.5 mL/min SDS 2%;
- 3- Flussare per 15 minuti alla velocità di 0.5 mL/min H₂O;
- 4- Flussare per 15 minuti alla velocità di 0.5 mL/min aria per asciugare (mettere i tubi all'aria).

Si consiglia vivamente, per una buona tenuta dell'apparecchiatura, di informare il referente tecnico della tipologia di esperimento per poter settare la procedura di pulizia più appropriata per lo strumento e i cristalli di quarzo.

Procedura di spegnimento: i) chiudere il programma; ii) spegnere il PC; iii) spegnere lo Strumento.

Specifiche Tecniche

<https://www.biolinscientific.com/instrumentor-qcmd#/configure/qsense-analyzer/specs?question=%2Fattributes%2F9iiUzi5RsR8nm2aAXgEr%2F2-1-0-0-0-2-0&last=3sqUc7dzc45df35QWFeD&attrs=dq-h.t-m>

Versione 1.0 Aprile 2024