



UNIVERSIDAD DE BURGOS

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

PARQUE CIENTÍFICO TECNOLÓGICO

Fluorímetro de tiempo de vida media de estados excitados y estacionarios

DESCRIPCIÓN DE LOS EQUIPOS Y ACCESORIOS

El aparato de fluorimetría de tiempos de vida media de estados excitados y estado estacionario, microscopía de fluorescencia de tiempos de vida media y estado estacionario, y caracterización de nanomateriales, constituye un equipo modular integrado que permite la realización de estudios fotofísicos completos en muestras sólidas y líquidas. Incluye fluorescencia y microscopía de fluorescencia, tanto estacionarias como resueltas en el tiempo, y fosforescencia. El aparato se ha de diseñar de forma modular para que pueda dar acceso a la mayor parte de los experimentos de medida en fluorescencia que requieren todos los grupos de trabajo de la Universidad de Burgos que actualmente ya trabajan en diversas técnicas de fluorescencia, de forma que complemente lo que ya existe con técnicas que actualmente no son accesibles, sobre todo técnicas de fluorescencia resueltas en el tiempo en muestras en cualquier estado físico, con especial atención a nanomateriales.

El módulo de fluorescencia estacionaria debe permitir registrar espectros de emisión, excitación y sincrónicos incorporando un sistema de corrección automática de espectros tanto en muestras líquidas como sólidas. Debe trabajar a 90o y a 22,5o para el caso de muestras más opacas.

La incorporación de fibra óptica permite acoplar la fluorescencia como técnica de detección en otros equipos como valoradores o aplicarla a muestras líquidas sin necesidad de tener la muestra en el compartimento de muestra del equipo. Los polarizadores permiten realizar medidas de anisotropía y la esfera integradora permite determinar rendimientos cuánticos de fluorescencia en muestras sólidas o en polvo. El sistema de flujo retenido permite hacer un seguimiento por fluorescencia de cinéticas rápidas. Incluye sistemas de termostatación que cubre un amplio rango de temperaturas (peltier para temperaturas entre -10 °C y 100 °C y criostato de 77 a 300 K). Éste último es necesario para la realización de medidas de fluorescencia para lo que el



UNIVERSIDAD DE BURGOS

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

PARQUE CIENTÍFICO TECNOLÓGICO

equipo cuenta con la correspondiente lámpara continua/pulsada y la electrónica necesaria. La incorporación del sistema array permite un registro rápido de matrices de excitación emisión, muy útil para la determinación de radios de nanotubos de carbono.

El equipo debe incluir un módulo para medida de tiempos de vida de moléculas entre los 20 picosegundos y los 100 microsegundos basado en la tecnología de contador cuántico de fotones con dos fuentes de excitación: un Nanoled basado en diodo laser UV a 375 y otro a 440 nm. Ambos módulos han de estar acoplados a dos microscopios de fluorescencia, uno estacionario y otro de tiempos de vida.

Su descripción técnica detallada es la siguiente:

Fluorímetro modular con monocromadores dobles. Monocromadores dobles. Monocromadores dobles de excitación y emisión, caja de muestras en T y fotomultiplicador sensible al rojo y fotodiodo de referencia en excitación. Lámpara de Xenon a 450 W montada verticalmente, ajuste continuo computerizado de rendijas, contador de fotones, PMT de rango 200-900 nm, tarjeta HV y su correspondiente software con licencias de aquellos softwares necesarios para los tratamientos de datos. Ópticas reflectivas en todo el camino óptico para evitar aberraciones cromáticas y de borde de lente de 200 a 1600 nm

Espectrómetro para 3 redes rendija de entrada Motorizada. Distancia focal 0,32 m y $f/4.1$. Triple torreta cinemática con rotación en eje de red. Espejo de salida automatico con 2 salidas, una con rendija motorizada y otra con adaptador de Array. Incluye interfaces USB2 y comando de programación. Red de difracción 68x68 mm blazed a 500 nm. Red de difracción 68x68 mm blazed a 1 micra. Array de InGaAs 512 pixeles de 50 micras cada uno. Tamaño de pixel: 500x50 micras. Tamaño del sensor: 25,6x0,5 mm. Incluye controlador Symphony, dewar de 1 litro y shutter. Rango de 800 a 1600 nm. Conjunto de portafiltros. Set de filtros de corte para 2º órdenes de 2x2". Espejo abatible para ver fluorescencia a 90º y a 22,5º, recomendado para muestras sólidas o líquidos opacos. Portamuestras para muestras sólidas o líquidos opacos. Portamuestras para sólidos o polvos orientable. Accesorio control electrónico caja de muestras y accesorio de polarización en L con 2 prismas de calcita de Glan-Tompson totalmente automatizado. Esfera integradora de 6" adaptada a la cámara mediante fibra óptica, rango de 250 a 2500 nm, apta para cubetas de 4 mL, sólidos, polvos y láminas. Incluye filtros y programa de cálculo de rendimientos cuánticos de fluorescencia y cromaticidad. Haz de fibra óptica randomizada 1 metro, bifurcada en "Y", rango útil 250-900 nm. Accesorio de flujo retenido para cinéticas. Incluye cámara de mezcla termostatizable, pistón de inyección y



UNIVERSIDAD DE BURGOS

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

PARQUE CIENTÍFICO TECNOLÓGICO

Trigger para sincronizar inyección y espectros. Puerto de inyección de pequeños volúmenes con jeringa o pipeta sin mover la tapa de muestras. Portacubetas termostatzado por Peltier de -10 °C y 100 °C. Incluye conexión para purga de Nitrógeno, y agitador magnético. Criostato Oxford Optistat DN de 77 a 300 K. Incluye 3 ventanas de cuarzo y portamuestras rotatorio. Grupo Turbomolecular mod. Hicube Eco 80, integrado por unidad de control y display DCU 002. Fuente alimentación y control TPS 110. Bomba Turbomolecular Hipace 80. Bomba seca de diagrama MVP 015-2, capacidad de vacío experimental 10⁻⁷ bar.

Fosforescencia del micro a 10 segundos. Doble contenedor lámpara continua/pulsada y óptica de enfoque común para ambas lámparas. Incluye electrónica de medida de fosforescencia con decaimientos multiexponenciales.

Tiempos de vida TCSPC de 20 picosegundos a 100 microsegundos. Ampliación para tiempos de vida de fluorescencia por Controlador HUB con controlador de Nanoleds, adaptador detector TBX-04 software DAS de tratamiento de datos y con monitor. Tarjeta de expansión para 0,7 picosegundos de resolución por canal. Detector de picosegundos con fotomultiplicador y electrónica integrada capaz de discriminar fotones individuales con resolución de picosegundos. Rango de 300-850 nm. Incluye fotocátodo refrigerado termoeléctricamente, ruido de fondo inferior a 20 cuentas/s y jitter inferior a 250 ps, incluye también fuente de alimentación. Nanoled basado en diodo laser UV a 375 nm con duración de pulso 100 picosegundos (70 ps típico). Nanoled con Diodo láser a 440 nm y pulso ultra corto duración de pulso inferior a 100 picosegundos (70 ps típico).

Interfaz óptica para adaptar los Nanoleds a la cámara de muestras del Fluorolog 3, incluye conjunto de lentes UV manual y porta filtros de 2".

Microscopio de fluorescencia estacionario. Software actualizado. Microscopio confocal de epi-fluorescencia. Incluye: 10 posiciones de cursor para la selección del área de observación. Revolver porta objetivos para 6 unidades (se incluyen objetivos x50 y x10). Torreta con 6 cubos epifluorescentes incluyendo uno para observaciones de campo claro. Pletina motorizada XY controlable desde el PC y desde Joystic para muestras sólidas y una resolución espacial XY de 1 μm. Cabezal trinocular con visor binocular. Video cámara para la visualización de muestras. Software y electrónica instalada en el ordenador. Lámpara halógena de 100 W. Adaptación optomecánica al fluorímetro incluyendo una plataforma para 2 cubos dicróicos (incluye uno).

Microscopio de tiempos de vida (TCSPC). Sistema FLIMS de microscopía resuelta en el tiempo. Incluye: Microscopio para iluminación transmitida/reflejada. Cabeza trinocular.



UNIVERSIDAD DE BURGOS

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

PARQUE CIENTÍFICO TECNOLÓGICO

Lámpara halógena para observaciones de campo brillante. Revolver de 6 posiciones incluye 2 Objetivos x10 y x50. Cubos epifluorescentes de transmisión y de campo brillante. Pínoles de excitación manuales de 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mm. Torreta con 6 pínoles de emisión de 0,1 a 1000 nm. Peltina XYZ motorizada con controlador externo (incluye pletina XY y motor Z), videocámara para selección de muestra.

OBJETIVOS CIENTÍFICOS

Este equipo se situará en el Parque Científico Tecnológico (PCT) de la UBU con el fin de que pueda ser utilizado por todos los grupos de investigación de la UBU que lo soliciten, las empresas del entorno e incluso, si se posibilita la adquisición de las últimas tecnologías en CHNS, por investigadores de otras Universidades o Centros de Investigación de Castilla y León donde no se disponga de dichas tecnologías.

Aplicaciones:

- Seguridad alimentaria y medioambiental, mediante la detección de distintos contaminantes de gran importancia en distintos ámbitos.
- Estudio a través de medidas de fluorescencia, de las velocidades y mecanismos de reacción que tienen en escalas más rápidas que el microsegundo, así como el estudio de los tiempos de vida de los reactivos.
- Medición de fluorescencia de materiales poliméricos.
- Caracterización precisa de nanomateriales y medidas relacionadas con la fluorescencia resuelta en el tiempo.
- detección de intermedios de reacción con vidas medias cortas en los correspondientes ciclos catalíticos.

