

BALZERS

UNION



Critical Point Dryer

Operating instructions



BALZERS UNION Limited, Accessories for Electron Microscopy, P.O. Box 75
FL-9496 Balzers, Principality of Liechtenstein, Tel. 075/ 4 19 22, Telex 77 983

INHALTSVERZEICHNIS

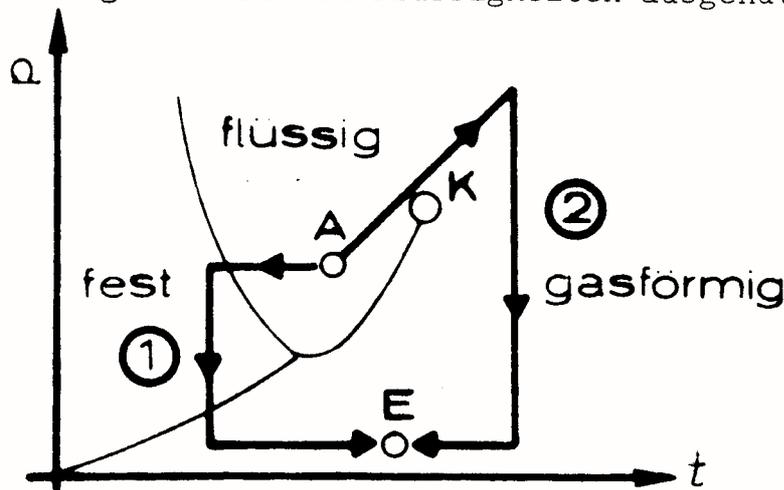
Seite

FUNKTIONSBESCHREIBUNG / METHODE	1
TECHNISCHE DATEN	2
WAHL DER TROCKNUNGSFLUESSIGKEIT	3
INSTALLATION	4
ANSCHLUESSE	4
PRAEPARATVORBEREITUNG	6
PROBELAUF / INBETRIEBNAHME	7
UEBERFUEHRUNG DER PRAEPARATE	10
KRITISCHE - PUNKT - TROCKNUNG	10
AUSWECHSELN DER BERSTMEMBRANE	13
ELEKTROSCHEMA	14

FUNKTIONSBESCHREIBUNG

Beim Trocknen wässriger biologischer Präparate wirken infolge der Oberflächenspannung grosse Kräfte auf die zu untersuchenden Oberflächenstrukturen. Sind die Objekte nicht stabil genug (z.B. Chitinskelett von Insekten), so müssen diese auf eine schonendere Art getrocknet werden. Dabei darf im Phasendiagramm die Dampflinie nicht überquert werden. Dies kann durch Gefrier-trocknung oder durch die KRITISCH-PUNKT-TROCKNUNG (KPT) (Critical Point Drying) geschehen.

Dabei wird bei der Gefriertrocknung im Phasendiagramm der Weg 1 und bei der KPT der Weg 2 beschriftet. Bei der KPT wird die Eigenschaft von Flüssigkeiten ausgenützt, dass bei bestimmten



Werten von Druck und Temperatur die Phasengrenze flüssig-gasförmig verschwindet. (Oberhalb des Kritischen Punktes ist die Dichte der Flüssigkeit und des Gases gleich, d.h. die Phasengrenze flüssig, gasförmig existiert nicht mehr). Die kritischen Werte für Wasser betragen z.B. $T_{kr} = 374^{\circ}\text{C}$ und $P_{kr} = 217,7$ Atm, d.h. Wasser kommt für

Phasendiagramm: K=Kritischer Punkt
A=Ausgangspunkt, E=Endpunkt

die Kritische-Punkt-Trocknung nicht mehr in Frage, da die hohe Temperatur die Objekte total zerstören würde. Wasser wird daher durch andere Flüssigkeiten ersetzt, z.B. durch CO_2 , N_2O oder Freon (Frigen) 13. Die Kritischen Werte dieser Flüssigkeiten sind in Kapitel Wahl der Trocknungsflüssigkeiten aufgeführt.

TECHNISCHE DATEN

Probenkammer:	Ausnützbarer Raum bei Verwendung des Magnetührers: 32 cm ³ Ohne Magnetührer: 36 cm ³
Beobachtungslampe:	Akkulampe aufladbar an 220V, 2,4 Watt
Heizung:	Widerstandsheizung, elektr. n. Regelung, Sollwertpotentiometer 0-50°C, analoge Istwertanzeige, Widerstandsfühler Pt 100 Ω
Kühlung:	Ueber 3-weg Ventil Teilentnahme der Trocknungsflüssigkeit mit separatem Auslass
Druckmanometer:	0-160 bar, glyzeringedämpft
Berstmembrane:	Berstdruck 150 Atm
Anschlussspannung:	220 V, 50 Hz
Leistungsaufnahme:	30 Watt
Abmessungen:	Breite 420mm x Tiefe 300mm x Höhe 260mm
Gewicht:	ca. 9 kg
<u>Anschlüsse:</u>	
Gas-Einlass:	Gewinde M12x1,5 mit 2m Verbindungsschlauch auf 21,8x14 und Uebergangsstück von 21,8x14 auf R ³ / ₄ "
Auslass Vorkühlung:	Schlauchwelle \emptyset 6 mm
Auslass Behälter:	Schlauchwelle \emptyset 6 mm

WAHL DER TROCKNUNGSFLUESSIGKEIT

Die am häufigsten verwendeten Trocknungsflüssigkeiten sind:

1) CO ₂	Kritischer Punkt bei	31,1°C	und	72,9 Atm
2) Freon(Frigen)13	" "	28,9°C	und	38,2 Atm
3) N ₂ O	" "	36,5°C	und	71,7 Atm

N₂O lässt sich direkt mit Wasser mischen und wurde daher für die direkte Kritisch-Punkt-Trocknung ohne Ueberführungsflüssigkeit von wässrigen Materialien verwendet. Das lange Durchtränken und häufige Austauschen der Flüssigkeit sowie der nach Erfahrungen unkomplette Austausch von Wasser durch N₂O haben den Gebrauch dieser Trocknungsflüssigkeit jedoch in Frage gestellt.

Die Wahl zwischen CO₂ und Freon 13 als Trocknungsmittel dürfte vor allem eine Frage² des Preises sein, da Freon 13 ca. 10-20mal teurer ist als CO₂ und in vielen Ländern schwer erhältlich.

Die Präparat-Ueberführungsflüssigkeiten, die am häufigsten verwendet werden, sind:

für CO₂ : Amylacetat
Für Freon(Frigen)13 : Freon(Frigen) 11

Unser Kritisch-Punkt-Apparat ist für alle gebräuchlichen Trocknungsflüssigkeiten verwendbar.

MITGELIEFERTE ZUBEHOER- UND ERSATZTEILE (Siehe Abbildung 1, S.4)

- 1) 1 Berstmembrane
- 2) 1 Netzkabel
- 3) 2 Sicherungen 160 mA
- 4) 1 Anschlussschlauch 2m
- 5) 1 Uebergangsstück
- 6) 2 O-Ringe
- 7) 1 Magnetührstäbchen
- 8) 1 Lochscheibe Ø 40 mm
- 9) 1 Lochscheibe Ø 30 mm
- 10) 3 Ersatzlämpchen zu Tasten



ANSCHLUESSE: Abb.1

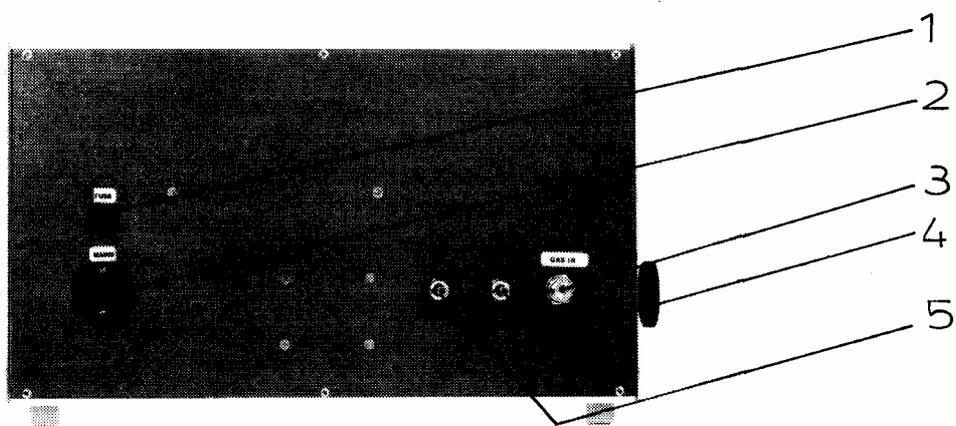


Abb.2

- 1) Sicherung 160 mA
- 2) Netzsteckdose
- 3) Gas-Einlass
- 4) Auslass Vorkühlung
- 5) Auslass Behälter

NETZANSCHLUSS

Da in verschiedenen Ländern unterschiedliche Steckdosen vorhanden sind, wird nur die Europa-Apparatedose mit eingezogenem 3-adrigem Apparatekabel mitgeliefert (Siehe Abb.1, Nr. 2). Dieses ist mit dem entsprechenden Netzstecker zu versehen. Die Apparatedose wird am Gerät in den Apparatestecker (Abb.2, Nr. 2) eingesteckt.

SICHERUNGSWERTE

1 Feinsicherung 160 mA

GAS-ANSCHLUSS

Der Gas-Anschluss (Trocknungsflüssigkeit) erfolgt an dem mit GAS-IN bezeichneten Anschluss (Siehe Abb.2, Nr. 3) mit dem mitgelieferten Anschlusschlauch (Abb.1, Nr. 4). Bei Verwendung von CO₂ Flaschen passt das genormte Gewinde am Anschlusschlauch. Bei Verwendung von Freon muss das Zwischenstück (Abb.1, Nr.5) mitverwendet werden.

Beim Bestellen von CO₂ ist darauf zu achten, dass trockenes (wasserfreies) CO₂ bestellt wird. Nach Möglichkeit sollten Flaschen mit eingebautem Steigrohr verwendet werden. Sollte dies nicht möglich sein, so ist bei CO₂, wie auch bei Freon empfehlenswert, die Flaschen zu legen oder noch besser in einer Halterung auf den Kopf gestellt, zu montieren (beschleunigt das Austreten des flüssigen Gases). Für beide Arten von Gasflaschen ist die Flasche ohne zusätzliches Reduzierventil zu verwenden.

MAGNETRUEHRER

Das mitgelieferte Magnetrührstäbchen (Abb.1, Nr. 7) wird auf den Boden des Druckgefässes (Abb.3, Nr. 7) gelegt.

LOCHSCHEIBE

Je nach Grösse der verwendeten Präparate wird die eine der beiden mitgelieferten Lochscheiben (Abb.1, Nr. 8 und 9) auf den unteren oder oberen Absatz im Druckgefäss gelegt. Nach Einbringen der Lochscheibe soll die Haltestange weggenommen werden.

PRAEPARAT-VORBEREITUNG

Um eine einwandfreie Kritisch-Punkt-Trocknung der Präparate zu erhalten muss die Präparatvorbereitung sehr sorgfältig ausgeführt werden.

Die Präparatvorbereitung umfasst folgende Schritte:

- 1.) Reinigung der Präparate
- 2.) Fixierung
- 3.) Entwässerung
- 4.) Ueberführung in mit CO_2 oder Freon 13 mischbare Flüssigkeiten
(Für CO_2 : Amylacetat, für Freon 13: Freon 11)

REINIGUNG DER PRAEPARATE

Das Präparat soll von allen Verunreinigungen mit einem physiologisch einwandfreien Mittel befreit werden.

FIXIERUNG

Die Fixierung erfolgt im allgemeinen mit Osmiumsäure und - oder Glutaraldehyd. Ist das Präparat in Osmiumsäure vorfixiert, kann dies mit Glutaraldehyd nachfixiert werden. Ist Glutaraldehyd das erste und einzige Fixierungsmittel, muss das Präparat bis über Stunden oder Tage darin gelassen werden. Kurze Glutaraldehyd-Fixierungen reichen im allgemeinen nicht aus. Gute Resultate geben z.B. Glutaraldehyd-Fixierungen von 1% ca. 1 Stunde und nachfolgend in 3%iger Lösung.

ENTWAESSERUNG

Nach erfolgter Fixierung wird das Präparat mit destilliertem Wasser gereinigt. Anschliessend muss der Wassergehalt durch eine mit CO_2 oder Freon 13 mischbare Flüssigkeit ersetzt werden.

Entwässerung der Präparate bei CO_2 als Trocknungsmittel

Die Entwässerung der Präparate für die Kritisch-Punkt-Trocknung mit CO_2 erfolgt in aufsteigender Wasser-Alkoholreihe von 10% bis 100% Alkohol. Danach wird das Präparat in gleichen Stufen in Amylacetat bis 100% überführt.

Entwässerung der Präparate bei Freon 13 als Trocknungsmittel

Für die Kritisch -Punkt-Trocknung mit Freon 13 werden die Präparate ebenfalls in einer Alkoholreihe von 10%iger Abstufung entwässert. Danach erfolgt der Austausch von Alkohol durch Freon 11, welches bei Zimmertemperatur gerade noch flüssig ist, ebenfalls in langsam steigender Konzentration bis 100% Freon 11.

WICHTIG

Während des Entwässerungsvorganges und beim Ueberführen in den Kritisch-Punkt-Apparat muss das Präparat dauernd mit Flüssigkeit bedeckt oder benetzt sein, um eine Lufttrocknung auszuschliessen.

PROBELAUF MIT DEM KRITISCH-PUNKT-APPARAT

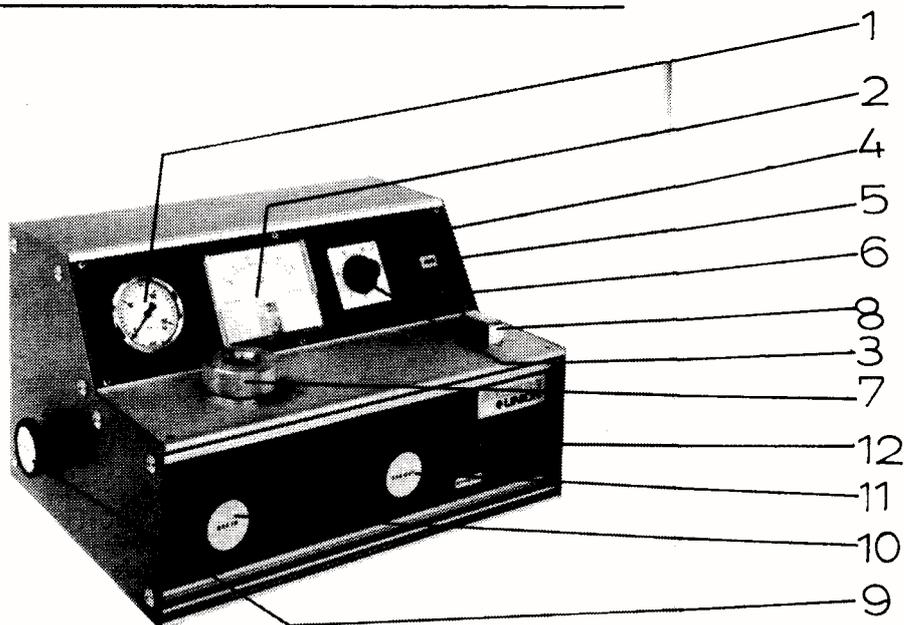


Abb. 3

Um mit der Bedienung des Gerätes vertraut zu werden, empfiehlt es sich einige Versuche ohne Präparate zu machen. Ferner können dadurch eventuell sich im Behälter befindliche Schmutzteile ausgespült werden.

Als erstes werden alle vier Ventile geschlossen. Der Deckel des Probenbehälters wird zugeschraubt (gut festziehen).

Nachdem alle Anschlüsse ausgeführt wurden (siehe Seite 5) kann das Ventil an der Gasflasche geöffnet werden.

Taste "Mains" (Abb. 3, Nr. 4) drücken. Das Temperaturanzeigeeinstrument zeigt jetzt die Temperatur des Druckbehälters an.

Vorkühlventil (Abb. 3, Nr. 9) öffnen und damit die Probenkammer (Druckbehälter) solange kühlen, bis das Temperaturanzeigeeinstrument ca. 5°C anzeigt.

Jetzt das Vorkühlventil wieder schliessen.

Das Einlassventil (Abb. 3, Nr. 10) langsam öffnen. Durch das Schauglas kann man beobachten, wie sich das Druckgefäß mit flüssigem CO₂ oder Freon füllt.

Wenn der Druckbehälter voll ist, Einlassventil wieder schliessen.

Jetzt kann die Flüssigkeit mit dem Auslassventil (Abb. 3, Nr. 11) bei geöffnetem Dosierventil (Abb. 3, Nr. 12) bis zur Hälfte abgelassen werden.

Der Flüssigkeitspegel kann mit der Akkulampe (Abb. 3, Nr. 8) gut beobachtet werden. Die Lampe soll nach jedem Gebrauch wieder in die Halterung gesteckt werden, wo sie automatisch aufgeladen wird.

Wenn die Flüssigkeit auf ca. die Hälfte abgesunken ist, das Auslassventil wieder schliessen.

Den Behälter erneut füllen, indem das Einlassventil wieder geöffnet wird. Die Füllrate hängt von der Form, in welcher das jeweilige Trocknungsmittel dem Gerät zugeführt wird, ab. Bei Verwendung von Gasflaschen ohne Steigrohr erfolgt der Eintritt in den Druckbehälter meist gasförmig. Die darauf folgende Kondensation an der Druckbehälterwand ist wiederum abhängig von

a) der Temperatur des Druckbehälters

b) der Temperatur der Gasflasche

(Achtung: bei langem und starkem Gasdurchfluss durch Absperrventil der Gasflasche wird diese unterkühlt!)

Dieser Vorgang von Füllen und Entleeren soll nun einige Male wiederholt werden, bis die Bedienungselemente vertraut sind.

Anschliessend, wenn der Druckbehälter zum letzten Mal gefüllt ist, alle Ventile schliessen.

Das Sollwertpotentiometer (Abb.3, Nr.3) wird jetzt auf 40°C eingestellt und die Taste "HEAT" (Abb.3, Nr. 6) gedrückt.

Der Druckbehälter wird jetzt automatisch aufgeheizt und erreicht in ca. 10-15 Minuten die eingestellte Temperatur. (Ein schnelleres Aufheizen würde starke Turbulenzen verursachen welche das Präparat beschädigen könnten).

Sobald am Druckanzeigeeinstrument (Abb.3, Nr. 1) der kritische Druck (für CO_2 72,9Atm, für Freon 13 38,2 Atm) und am Temperaturanzeigeeinstrument (Abb.3, Nr. 2) die kritische Temperatur (für CO_2 $31,1^{\circ}\text{C}$, für Freon 13 $28,9^{\circ}\text{C}$) erreicht sind, erfolgt der Wechsel im Aggregatzustand des Trocknungsmittels und es sind nur noch Interferenzschlieren sichtbar.

Um sicher zu sein, werden in der Praxis die kritischen Werte etwas höher angesetzt, d.H. für CO_2 Druck ca. 85 Atm, Temp. ca. 40°C , und für Freon 13 Druck ca. 50 Atm, Temp. ca. 40° .

Jetzt kann mit dem Ablassen des Druckes begonnen werden. Dies erfordert besondere Sorgfalt, da die Gefahr der Rekondensation durch die auftretende Abkühlung bei der Dekompression gross ist. Um dieser Gefahr etwas vorzubeugen, wird die Temperatur am Sollwertpotentiometer (Abb.3, Nr. 3) auf ca. 45°C erhöht.

Jetzt wird das Dosierventil (Abb.3, Nr. 12) bei geöffnetem Auslassventil (Abb.3, Nr. 12) vorsichtig geöffnet und das Ablassen sehr fein reguliert.

Der Druck im Behälter soll in einem Zeitraum von ca. 10 Minuten auf Normaldruck (Druckanzeige am Druckinstrument Abb.3, Nr. 1 gleich 0) abgelassen werden.

Um den Auslass genauer kontrollieren zu können, kann am Auslass (Abb.2, Nr. 5) eine Waschflasche angeschlossen werden.

Wenn der Druck auf 0 abgesunken ist, kann die Druckkammer geöffnet werden.

Alle Ventile am Apparat und Ventil an der Druckflasche schliessen, und alle Tasten ausrasten.

UEBERFUEHREN DER PRAEPARATE IN DEN KRITISCH-PUNKT-APPARAT

Normale Präparate

Die Präparate werden in der letzten Flüssigkeit (Amylacetat oder Freon 11) in die verschraubbaren Körbchen Art. Nr. 17037 oder 17 038 gegeben. Dabei müssen die Präparate dauernd mit Flüssigkeit bedeckt bleiben. Dann wird in den Druckbehälter je nach Grösse und Menge der Körbchen eine Lochscheibe (Abb. 1, Nr. 8 und 9) gelegt. Jetzt wird in das Druckgefäss soviel der Ueberführungsflüssigkeit (Amylacetat oder Freon 11) gegeben, dass die anschliessend eingebrachten Körbchen gerade noch damit bedeckt werden.

Nun können die ausserhalb des Druckbehälters in Flüssigkeit befindlichen Körbchen so schnell wie möglich in das Druckgefäss übertragen werden. Dies muss schnell geschehen, um eine Austrocknung der Präparate zu vermeiden.

Jetzt kann der Deckel des Druckbehälters zugeschraubt werden. (Fest anziehen).

Suspensionen

Suspensionen für die KP-Trocknung werden am besten auf, mit Kohle befilmte Trägernetzchen aufgebracht. Diese können in unserem Netzchenhalter für 6 Trägernetzchen, Art.Nr. 11 122A und 11 123A sicher gehalten und überführt werden.

Kulturen auf Deckgläsern

Für Kulturen auf Deckgläsern verwendet man am besten den Spezialhalter Art. Nr. 11 124A.

ANDERE SPEZIALHALTER SIND AUF ANFRAGE LIEFERBAR

KRITISCHE-PUNKT-TROCKNUNG

Der Deckel des Druckbehälters ist verschlossen und alle vier Ventile zu. Das Ventil an der Gasflasche kann geöffnet werden.

Taste "Mains" (Abb.3, Nr. 4) einschalten. Das Temperaturanzeigeelement (Abb.3, Nr.2) zeigt jetzt die Temperatur des Druckbehälters an.

Vorkühlventil (Abb.3, Nr. 9) öffnen und damit Druckbehälter solange kühlen, bis das Temperaturanzeigeeinstrument ca. 5°C anzeigt.

Vorkühlventil schliessen.

Einlassventil (Abb.3, Nr. 10) langsam öffnen. Durch das Schauglas beobachten, wie sich die Kammer mit Flüssigkeit füllt. Wenn die Druckkammer voll ist, Einlassventil schliessen.

Der Druck am Anzeigeeinstrument (Abb.3, Nr.1) steigt nun auf ca. 50 Atm bei CO₂ und ca. 30 Atm bei Freon.

Jetzt wird die Taste "Stirrer" (Abb.3, Nr. 5) gedrückt und damit der Magnetrührer eingeschaltet. Dies ergibt eine bessere Durchmischung von CO₂ mit Amylacetat oder Freon 13 mit Freon 11.

Nach ca. 5minütigem Rühren kann der Austausch der Flüssigkeiten erfolgen.

Auslassventil (Abb. 3, Nr. 11) bei geöffnetem Dosierventil (Abb. 3, Nr. 12) vorsichtig öffnen und Flüssigkeit ablassen, so dass die Präparate gerade noch bedeckt bleiben. Auslassventil sofort wieder schliessen.

(Der Flüssigkeitspegel kann mit Hilfe der Akkulampe (Abb. 3, Nr.8) gut beobachtet werden. Achtung: Lampe nach Gebrauch wieder in die Halterung stecken, wo sie automatisch aufgeladen wird).

Jetzt Einlassventil (Abb. 3, Nr. 10) wieder öffnen und Flüssigkeit nachfüllen bis der Druckbehälter wieder voll ist. Siehe Seite 8.

Dieser Vorgang von Entleeren und Füllen muss nun je nach Grösse der Präparate und nach Menge der Ueberführungsflüssigkeit mehrmals wiederholt werden.

Ein kompletter Austausch der Ueberführungsflüssigkeit mit der Trocknungsflüssigkeit ist für die Kritisch-Punkt-Trocknung unumgänglich, da bei Restbeständen eine Kritisch-Punkt-Trocknung nicht möglich ist (viel höhere kritische Werte dieser Flüssigkeiten als CO₂ oder Freon 13).

Bei Verwendung von Amylacetat als Ueberführungsflüssigkeit kann der Austausch kontrolliert werden, indem man an den Auslass (Abb.2, Nr. 5) ein Tüchlein hält, welches man an einem neutralen Ort auf den Geruch von Amylacetat kontrolliert.

Nachdem die Ueberführungsflüssigkeit vollständig mit CO_2 oder Freon 13 ausgetauscht wurde, wird der Apparat noch einmal gefüllt und alle Ventile geschlossen.

Nun erfolgt die eigentliche Trocknung.

Das Sollwertpotentiometer (Abb.3, Nr. 3) wird auf 40°C eingestellt und die Taste "HEAT" (Abb.3, Nr.6) gedrückt.

Der Druckbehälter wird jetzt automatisch auf die eingestellte Temperatur aufgeheizt und erreicht diese in ca. 10-15 Minuten. (Ein schnelleres Aufheizen würde starke Turbulenzen verursachen, welche das Präparat beschädigen könnten).

Sobald am Druckanzeigeelement (Abb.3, Nr. 1) der kritische Druck und am Temperaturanzeigeelement die kritische Temperatur erreicht sind, erfolgt der Wechsel im Aggregatzustand der Trocknungsflüssigkeit und es sind nur noch Interferenzschlieren sichtbar.

Um sicher zu sein sollte man abwarten, bis an beiden Anzeigeelementen die Werte deutlich überschritten werden (für CO_2 Druck ca. 85Atm, Temp. ca. 40°C , für Freon Druck ca. 50 Atm, Temp. ca. 40°C).

Jetzt kann mit dem Ablassen des Druckes begonnen werden. Wegen der Gefahr der Rekondensation durch die auftretende Abkühlung bei der Dekompression soll die Temperatur am Sollwertpotentiometer (Abb.3, Nr.3) auf ca. 45°C erhöht werden.

Bei geöffnetem Auslassventil (Abb.3, Nr. 12) kann nun der Druckablass mit dem Dosierventil fein dosiert werden. Dieser muss sich über einen Zeitraum von 5-15 Minuten erstrecken, um eine Rekondensation zu vermeiden.

Der Druckablass kann am besten kontrolliert werden, indem am Auslass (Abb.2, Nr. 5) eine Waschflasche angeschlossen wird.

Wenn der Druck am Anzeigeelement (Abb.3, Nr. 1) auf 0 gesunken ist, können der Deckel abgeschraubt und die Präparate entnommen werden.

ACHTUNG:

Kritisch-Punkt-getrocknete Präparate sind sehr hygroskopisch und müssen daher gegen Wasseraufnahme geschützt werden.

Die Präparate sollten sofort auf Probenteller aufgeklebt werden und mit einer leitfähigen Schicht versehen werden (z.B. Goldschicht mit unserer Sputteranlage Nr. 07 120).

Werden die Präparate nicht sofort ins Mikroskop überführt, empfiehlt es sich eine Aufbewahrung in einem Exikkator mit geeignetem Trocknungsmittel zu wählen.

AUSWECHSELN DER BERSTMEMBRANE

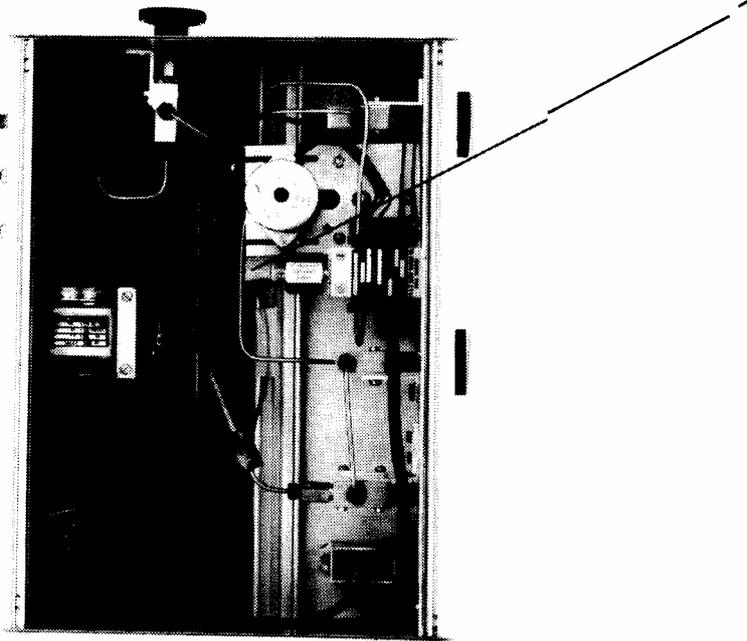


Abb. 4

Abb. 5

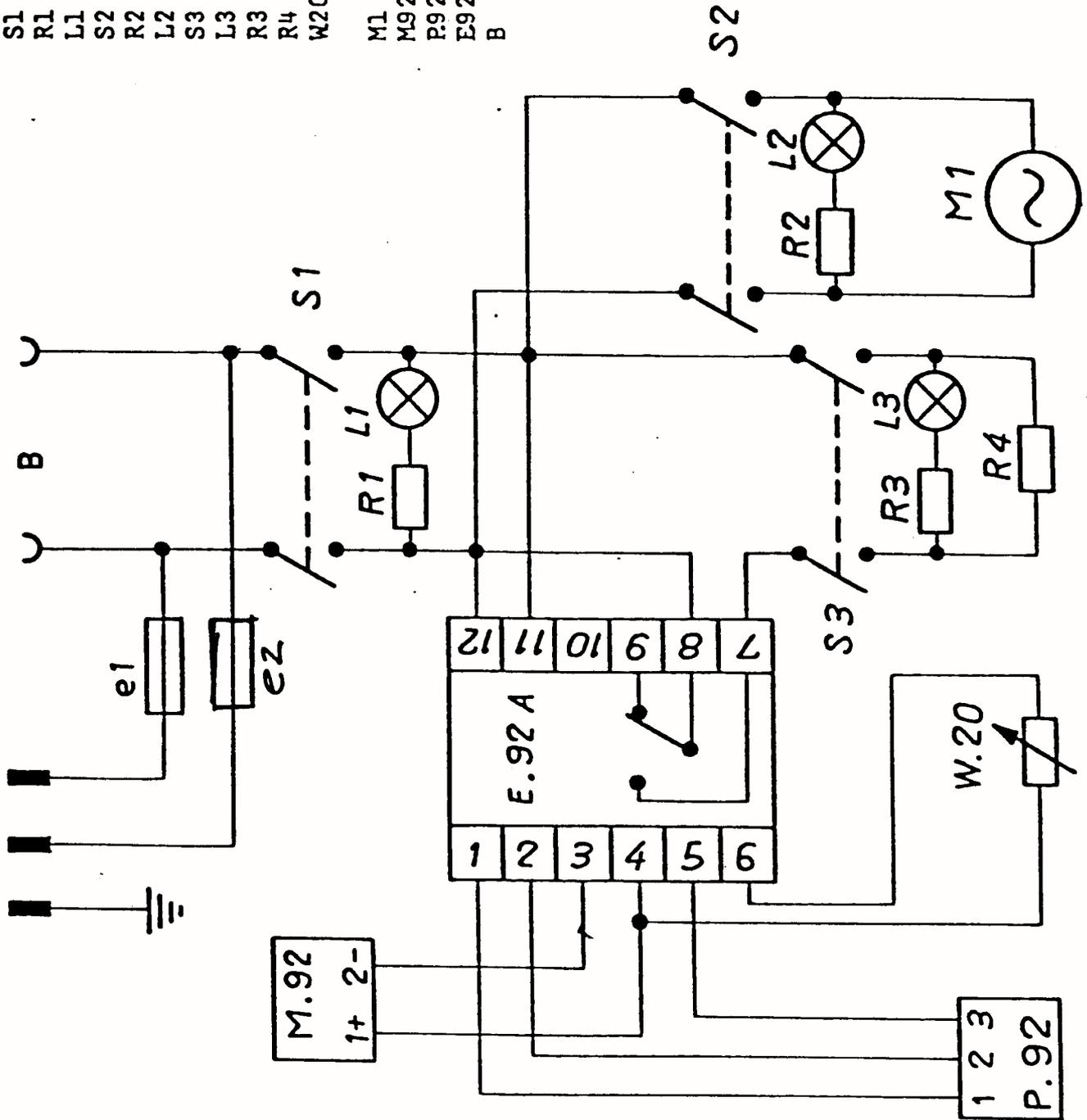
Ist die eingebaute Berstmembrane auf Grund eines unzulässigen Druckanstieges geplatzt (Berstdruck bei 150 Atm) kann diese einfach ausgewechselt werden (Ersatzmembrane im Zubehör). Dazu wird der Boden des Gehäuses weggeschraubt und die Ersatzmembrane gemäss Abb.5 eingesetzt.

Die Lage des Berstmembranhalters zeigt Abb.4, Nr. 1

Betriebsanleitung

eleZSicherung 250 mA T

- S1 "Mains"
- R1 Vorwiderstand 8,2kOhm
- L1 Glühlampe 60V/20mA
- S2 "Stirrer"
- R2 Vorwiderstand 8,2kOhm
- L2 Glühlampe 60V/20mA
- S3 "Heating"
- R3 Glühlampe 60V/20mA
- R4 Vorwiderstand 8,2kOhm
- R4 Heizung
- W20 Widerstandsfühler
- Pt 100 Ohm
- M1 Motor 220V
- M92 Anzeigeinstrument
- P.92 Sollwertpot.
- E92AElektron. Regler
- B Buchsenpaar für Akkulampe



251

Gültig ab Fabr. Nr. 151