

# 取扱説明書

## VFD-30形 t-ボタンール全自動凍結乾燥装置



### 株式会社 真空デバイス

〒311-4155 茨城県水戸市飯島町 1285-5

<TEL> 029-212-7600

<E-mail> device@shinkuu.co.jp

<URL> <https://www.shinkuu.co.jp>

## 操作手順

### 1. 装置の始動

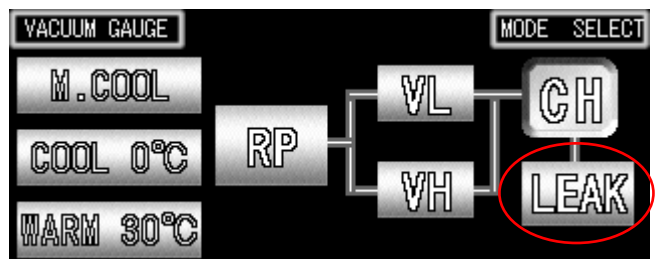
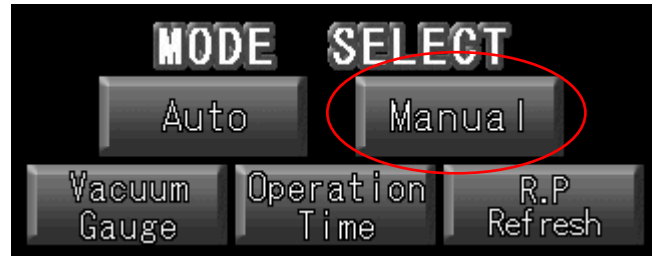
POWERスイッチ⑦をONしてください。MODE SELECT画面が立ち上がります。

### チャンバーリーク

MODE SELECT画面からManualをタッチしてください。

Manual画面に移動したらLEAKをタッチしてください。

約2分間をかけてチャンバー内が大気圧になります。

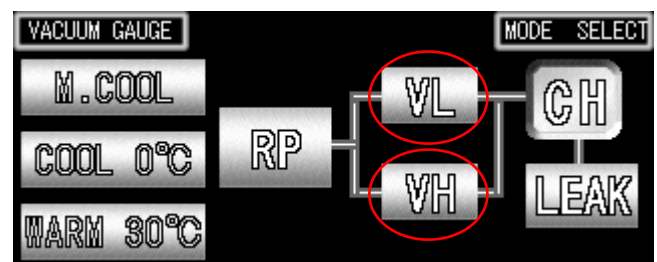
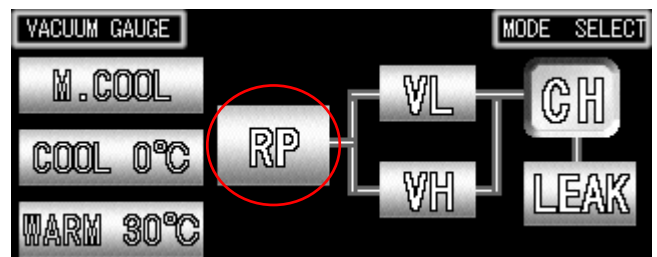


### 真空排気操作

チャンバー内を真空排気のみ行う場合は、Manual画面内のRPをタッチしてください。RPが始動します。

次に、VL、VHをタッチしてください。

RPとチャンバーの間バルブが開き、チャンバー内が徐々に真空排気されます。



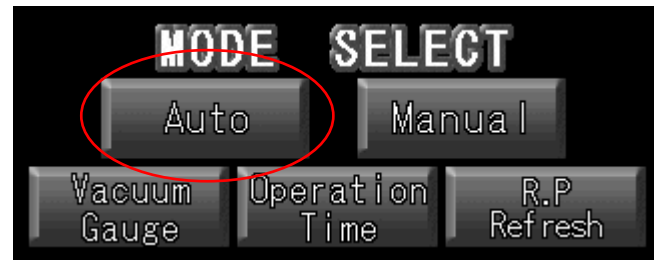
### 装置の停止

装置を停止させる際は、真空排気および真空保持を行う必要は特にございませぬ。

上蓋を閉じ、そのままPOWERスイッチ⑦をOFFにしてください。

## 凍結乾燥手順 (Auto)

1. 試料を入れ、上蓋を閉じてください。
2. MODE SELECT画面よりAutoをタッチします。



3. MODEを選択してください。

### NORMAL QUALITY:

乾燥スピード、試料の仕上がり具合共に標準的なMODEです。

### HIGH QUALITY:

乾燥の時間はかかりますが、試料の仕上がり具合が高精細なMODEです。

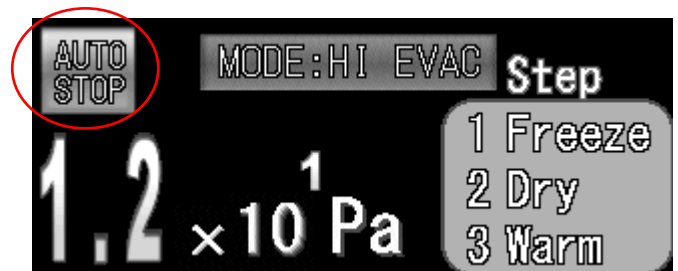


4. MODEを選択しましたらAUTO STARTをタッチしてください。

5. AUTO動作中の画面です。

進行状況と真空度の表示が現れます。

乾燥の終了まで全自動で行います。途中で動作を停止したい場合は、AUTO STOPを長押ししてください。



### I. (凍結過程)

装置は自動で試料ステージを冷却し始めます。

デフォルト設定値は0℃です。

真空度の表示は“————”、

Freeze文字が点滅し、凍結中であることを示します。

### II. (乾燥過程)

十分にサンプルが凍結されると、真空排気が自動的にスタートします。

Dry文字が点滅し、乾燥過程であることを示します。

t-ブタノールの昇華具合に従い、真空度が徐々に上昇します。

### III. (温め過程)

装置が乾燥過程の終了を検知すると、試料台を30℃に温めます。

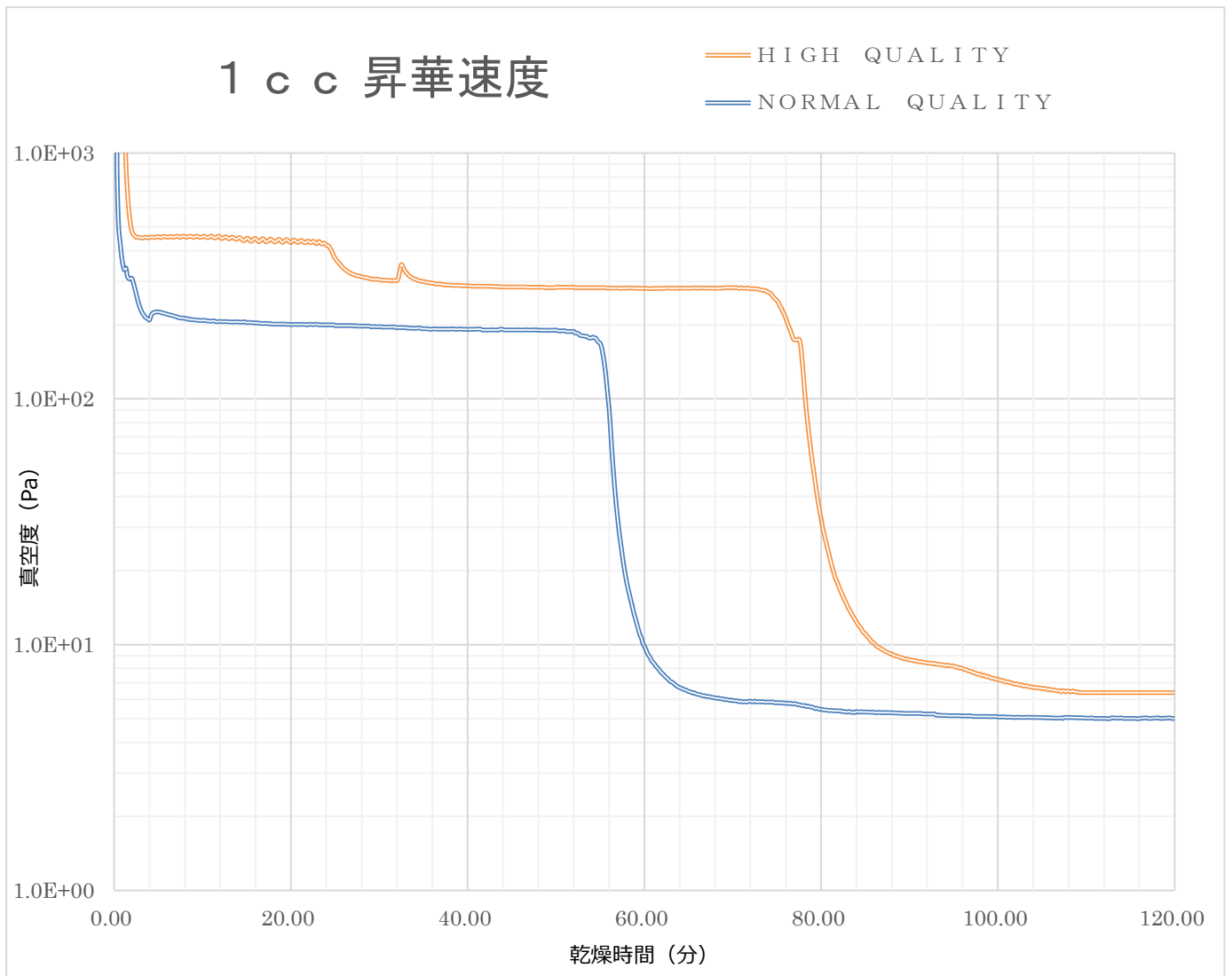
Warm文字が点滅し、温め過程であることを示します。

6. 完了画面

試料は真空状態で保持されます。試料を取り出す際はLeak STARTをタッチしてください。



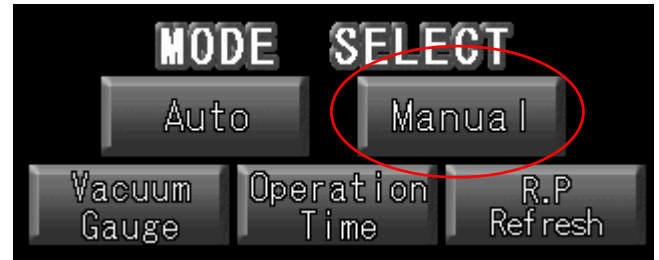
## 乾燥特性グラフについて



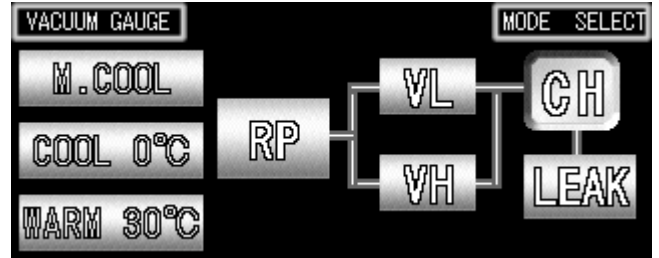
昇華にかかる時間は、サンプルの数、試料の表面積、t-ブタノールの総量にも左右されます。

## Manualモードについて

1. MODE SELECT画面よりManualをタッチしてください。



2. Manual画面では、「試料台の温調」、「真空排気」、「チャンバリーク」が個別に操作可能です。



### I. 試料台の温調

① M. COOL

温調器で任意に設定された温度に冷却を行います。

※装置裏面の温調器を操作する必要があります。通常は使用しません。

② COOL 0°C

試料ステージを0°Cに制御します。

③ WARM 30°C

試料ステージを30°Cに制御します。

温度設定中はボタンが点滅し、設定温度に到達するとボタンが点灯に変わります。

### II. 真空排気とチャンバリーク

①右側のボタンは排気系統図を表しています。

RP (ロータリーポンプ) とCH (チャンバー) の間には、VL とVH の2種類のバルブがあります。配管の太さが異なり、VLはスロー排気、VHは通常速度排気となり昇華にかかる速度が異なります。高精細な乾燥を行う際は、VLのバルブをタッチしてください。

②LEAKはチャンバリークを行うためのボタンとなります。

※真空排気中はLEAKが出来ないように、LEAK中は真空排気が出来ないように、それぞれインターロックがかかっております。

③VACUUM GAUGE

真空度の確認を画面上で行うことが可能です。

MANUALをタッチすると元の画面へ戻ります。



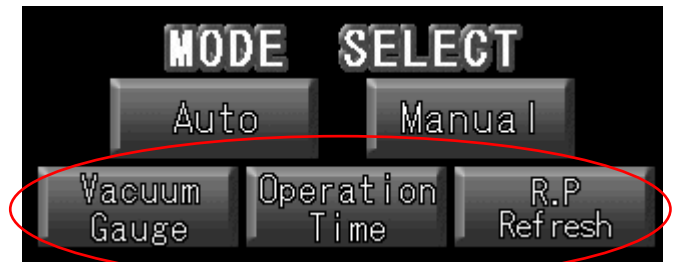
## その他の機能について

### Vacuum Gauge

真空度の確認が可能です。

### Operation Time

装置の稼働時間とロータリーポンプの稼働時間が確認可能です。



### R. P Refresh

ロータリーポンプに溜まったt-ブタノールの排出を促す機能です。

凍結乾燥に使用するt-ブタノールの処理量が多い場合、ロータリーポンプ内部にt-ブタノールが溜まり、排気性能が低下したり、気温が低いとロータリーポンプ内部でt-ブタノールが凍結し、ポンプが回らなくなる場合もございます。

R. P Refreshでは、数時間の暖機運転を行い、オイルの熱でt-ブタノールの蒸発を促します。R. P Refresh動作は2時間で自動的に停止します。足りないと思われる場合は再度行ってください。

## 装置の保守・メンテナンス

### 1. チャンバーのクリーニング

チャンバー内部が汚れてきたら、溶剤を湿らせたウェス類などで拭きとってください。

### 2. ガラス筒パッキンの交換

ガラス筒パッキンは数年経過すると徐々に劣化し硬化してきます。表面に縦の亀裂が入り始めたら早めに新しいパッキンと交換してください。

### 3. ロータリーポンプオイル交換

ご使用頻度に応じて、ロータリーポンプのオイルの交換を行ってください。

本装置に使用されるロータリーポンプオイルは**デムナムS-65**です。

異なる種類のオイルは混入しないようにしてください。

製品情報：

**ダイキン工業社製高性能フッ素オイルデムナム**

**デムナムS-65をご指定下さい。**

(弊社からの販売も可能です。)

## 凍結乾燥装置予備知識

### t-ブタノール凍結乾燥法（t-BuOH FD）とは

生物試料など水分を多量に含む試料はそのまま乾燥すると収縮や変形を起こします。特に軟組織では十分固定した試料でも水の表面張力で微細構造が大きく変形します。この変形を防止するため試料を固定、脱水した後 t-ブタノールに置換し、冷却して凍結し、固体状態にした後真空中で t-ブタノールを昇華させることにより試料の原形を保ったまま乾燥させるのが t-ブタノール凍結乾燥法です。

### 臨界点乾燥法（CPD）とは

CPD は液体炭酸を利用します。液体炭酸は室温で 60 気圧以上の圧力を持ち、さらに液体と気体の共存する臨界温度では 100 気圧以上になります。この高い圧力の中で試料の溶媒を液体炭酸の中に溶け出させた後、溶媒を含む炭酸ガスを大気中に放出して試料を乾燥させます。即ち、CPD は極めて高い圧力の中で乾燥する方法です。

### 臨界点乾燥法と凍結乾燥法の注意点の違い

CPD も t-ブタノール凍結乾燥も固定から脱水までの行程は全く同じです。CPD の場合は脱水を完全に行う必要があり、脱水の最終工程は 100%のエタノール、あるいは酢酸イソアミルに置換しますが、水分が僅かでも残っていると炭酸ガスは水分を残したまま排出され、残された水分が試料を変形させます。高圧下では水が蒸発しないためです。

t-ブタノール凍結乾燥の脱水の最終工程はそれほど厳密では有りません。それは t-ブタノール自身が極めて吸湿し易く 100%で存在しにくいからです。市販の特級品でも 0.5%程度の水分を含んでいます。従って脱水は 95%エタノールの程度まで行い、最終工程は 100%（実際は 99.5%程度）の t-ブタノールで 2 回程置換すれば十分です。しかし t-ブタノールは浸透力が弱いので最終工程では 35~45℃の温度に 30~60 分間保持し、試料内に十分 t-ブタノールを浸透させることが良い結果を得る秘訣になります。僅かに含まれる程度の水分は真空排気により t-ブタノールと共に昇華してしまいます。

乾燥後、大気に戻すための注意はどちらも同じです。乾燥終了時の圧力は、CPD の場合 100 気圧以上、凍結乾燥法の場合で数 Pa です。急激に大気に戻すと CPD では試料が膨張して破れ、凍結乾燥法では圧縮されて変形します。そのため CPD では 1 時間ほどの時間をかけてゆっくり大気圧に戻します。凍結乾燥法の場合は圧力差が小さいので 2~5 分かけて空気を注入し、大気圧に戻します。



## t-ブチルアルコールの取り扱い注意点

Tertiary Butyl Alcohol

分子式：(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>COH

融点・凝固点：約 2.5℃

沸点：約 83℃

t-ブタノールは引火性ですので火気には注意が必要です。吸引による毒性はありませんが、昇華した蒸気により眼や呼吸器への刺激を感じることもございます。

t-ブタノールは吸湿しやすく、t-ブタノールに含まれる水分が多くなってしまうと、試料の凍結乾燥がうまく出来ないことにもつながります。

容器の口を開けっ放しにするなど、空気に触れる時間が長ならないようにしてください。必要量を小瓶に移し、t-ブタノール容器の蓋はパラフィルム等で密閉したうえでキャップを締めるなど、湿気が入らないように取り扱ってください。

冬場の寒い時期などはt-ブタノールは凍結し固体となってしまうことがあります。その場合、湯煎を行う、ドライヤーで温めるなどをして液体に戻します。湯煎の場合も、湯気などの湿気がt-ブタノールに触れないよう、容器に付着した水分を拭きとるなどをして取り扱ってください。

室温が20度以下でも液体状態にある場合、吸湿している可能性があります。この場合は乾燥用シリカゲルを沈めるなどをして、水分を脱水してお使いください。

## 試料容器やスポイト類の取り扱い注意点

置換工程に使用される容器やスポイト類は、アルコールなどでよくすすぐなど内部まで良く洗浄してお使いください。プラスチック製のスポイトなどは成形剤が溶出して異物の原因になることがあります。容器やスポイトは**ガラス製の物**を推奨いたします。

## 観察用試料作成の基本的な流れ

1. 試料の準備
2. 固定
3. 脱水
4. **乾燥**
5. 載台
6. コーティング
7. 観察

上記の前処理の流れがあり、観察によってはじめて結果が得られます。特に、2～3の工程は重要です。サンプルに合った最適な処理条件を選択していくことが重要です。

※本装置は**この中で（4. 乾燥）の工程を装置化したものになります。**

※試料によって最適な条件や手法も様々です。専門の文献などをご参照ください。



## 固定

生物試料の固定処理は、死後変性等を防ぎ、生体に近い状態で生体構成成分を安定させるために行います。化学固定はたんぱく質を固定するアルデヒド系試薬と脂質を固定する重金属系試薬があります。一般的には、グルタルアルデヒドとオスミウム酸による二重固定が広く用いられております。固定の際は特に、サンプルの本来生息する環境に合わせた浸透圧に調整を行ったり、pHの調整を行ったりといった工夫が必要となります。

## 脱水

試料内部の水分を、徐々に有機溶媒に置換する工程です。エタノールの上昇系列を使用する場合が多く、通常は50%、70%、80%、90%、95%、100%×2、と徐々に濃度を変え、試料に応じて浸漬時間も調整します。100%エタノール置換後、t-ブタノールへと同様に置換を行っていきます。このように、試料内部の水分を、100% t-ブタノールへと脱水置換いたします。

## 乾燥

100% t-ブタノール置換の済んだサンプルを専用のアルミカップなどに移し、試料が浸る程度にt-ブタノールを入れてください。

本装置の試料台に載せ、乾燥モードを選択してSTARTを押します。試料台が冷却されてt-ブタノールが凍結を始めます。完全にt-ブタノールが凍結されたところで真空排気がSTARTします。凍結されたt-ブタノールは真空中では気体に昇華し、昇華ガスとして外に排出されます。

乾燥状態は自動で判別され、処理完了後は真空下に保持されます。リークを行い、サンプルを取り出してください。

乾燥工程においては、試料に急激な圧力差を与えないこと。乾燥後はサンプルを温め、リークした際の結露を防止することが重要となります。本装置はスロー排気、スローリークを備え、乾燥終了後は自動で30℃まで加温、試料を安全に取り出せる状態に、すべて自動で制御を行います。

## 載台

乾燥されたサンプルを観察用の試料台に載台します。

導電性テープや導電性ペーストを適宜使用し、導電コーティングした際に試料台との導通が取れるように載台してください。

## コーティング

SEM観察のためにメタルコーティングを行います。目的の観察倍率に応じてコーティング金属種類を使い分けます。試料ダメージがほとんどなく、粒子が細かく回り込み性に優れ、アモルファスで均一にコーティングが可能なオスミウムコーティングもお勧めです。

## トラブルシューティング

症状	主な要因	対応について
真空度が上がらない。 (圧力が下がらない)	シール面等に異物が挟まっている。	シール面の汚れ及び異物を除去してください。
	スロー排気によりチャンバー蓋が吸い付かない。	本装置はスロー排気のため、稀にチャンバー上蓋が吸い付かないことがございます。その際は上蓋を少し押し下げて、真空に引かれていることをご確認ください。
	チャンバー内が著しく汚れている。	クリーニングを行って下さい。
	R. P オイルが劣化している。	R. P オイルが変色していたり、1年以上オイル交換を行っていない場合は、オイル交換を行って下さい。
	ガラス筒の破損	ガラス筒を交換してください。
	ガラス筒パッキンが最適でない。	パッキンに亀裂が目立つようになったら新しい物に交換してください。
	リークバルブ、真空計センサー、R. P の故障。	メーカーへの返送修理が必要です。
R. P が動かない。又はヒューズが切れる。	周囲温度が低い。	25℃程度の室温が安定した部屋でご使用下さい。
	オイルに t-ブタノールが多く混入されている。	<b>R. P Refresh</b> 動作を行うか、オイル交換をお試しください。
	R. P 内部で t-ブタノールが凍結している。	ドライヤー等でポンプを温めてみてください。室温が20度以上の安定した環境でご使用ください。
	R. P の故障。	メーカーへの返送修理が必要です。
	R. P 電源を本体から取っていない。	R. P 電源は必ず本体背面 R. P 電源用コンセント④からお取りください。
	R. P の ON/OFF スイッチが OFF になっている。	ON/OFF スイッチを ON にしてください。

その他、装置の動作に異常を感じた場合は、販売代理店、又は弊社営業担当へご相談下さい。

## サポート情報

### 主な消耗品に関するご案内

●ガラス筒パッキン 3年経過後、経年劣化あり **2本1組** **12,000円**

### 試料作成コンテンツページ

<https://www.shinkuu.co.jp/sample-preparation-protocol-collection/>

### 装置に関するお問い合わせ

<https://www.shinkuu.co.jp/info-contact/>