

Micro-kleurapparaat voor contrastverhoging van preparaten bij elektronenmicroscopie

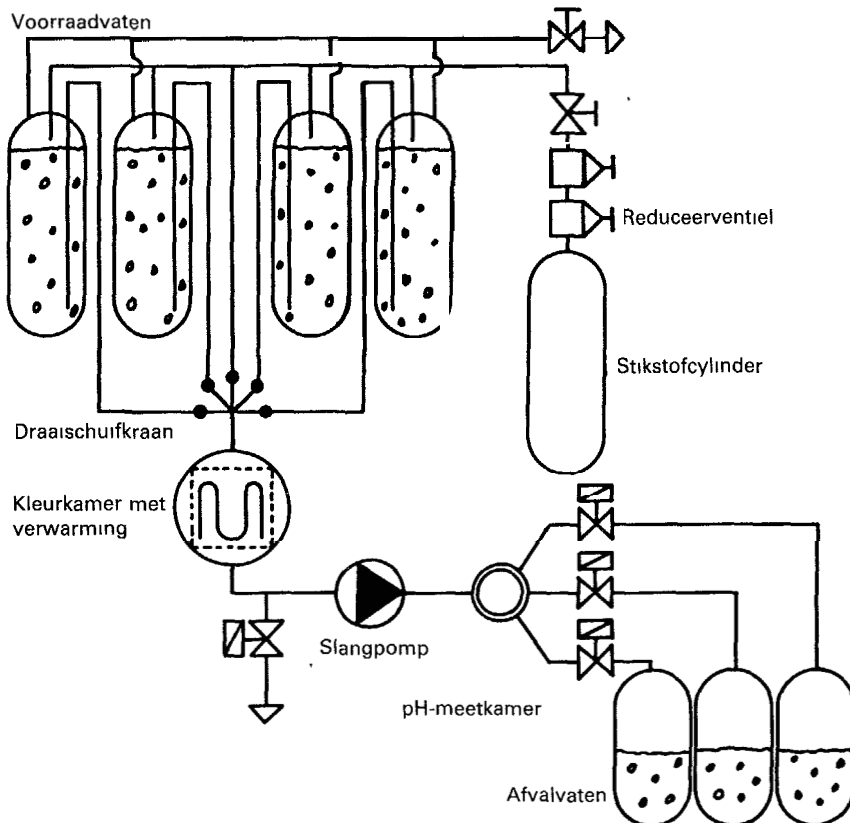
M. Heymans

F.J.S.W. Körner, Rijks Universiteit Leiden, Fijnmechanische afdeling Subfaculteit biologie
(Bewerkt stageverslag van A. van Buiten, Christiaan Huygensschool, Rotterdam)

Voor onderzoek aan biologisch weefsel wordt o.a. gebruik gemaakt van de elektronenmicroscopie. Hierbij worden coupes (uiterst dunne plakjes weefsel) door een elektronenbundel afgetast en zichtbaar gemaakt. Om het contrast in de coupes te verhogen kunnen zij behandeld worden met oplossingen van zwaarmetaalzouten; zie figuur 1. Het is hierdoor ook mogelijk aan bepaalde structuren binnen de cel extra contrast te verlenen. Omdat aan het werken met verbindingen van zware en licht radioactieve metalen potentiële risico's verbonden zijn en om de contrasteringsmethode te standaardiseren werd hiervoor een apparaat ontworpen, het micro-kleurapparaat.

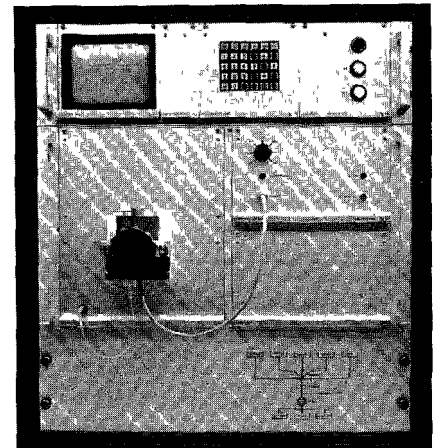


Figuur 1 Een indruk van het verkregen contrast is te zien op deze foto van een rattespier (vergroting ca. 40.000 x)



Figuur 2 Schematische voorstelling van de opbouw van het micro-kleurapparaat

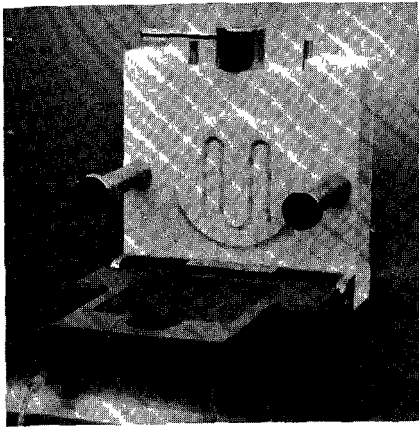
het micro-kleurapparaat, zie figuur 2, bestaat uit de kleurkamer met verwarming, vier voorraadvaten voor de benodigde vloeistoffen, een cilinder met stikstof die gebruikt wordt bij het vullen van de vaten en voor doorblazen van het systeem, een draaischuifkraan voor de selectie van de media, een slangpomp voor het transport en de dosering van de vloeistoffen, en afvalvaten voor de afgewerkte vloeistoffen. Een microprocessor regelt het gehele kleurproces, dat volgens kleurprogramma's wordt bepaald. Figuur 3 toont de voorzijde van het apparaat, waarvan de opbouw en de werkwijze in het volgende kort worden behandeld.



Figuur 3 Voorzijde van het micro-kleurapparaat, links in het midden is de kleurkamer zichtbaar

Opbouw en werkwijze

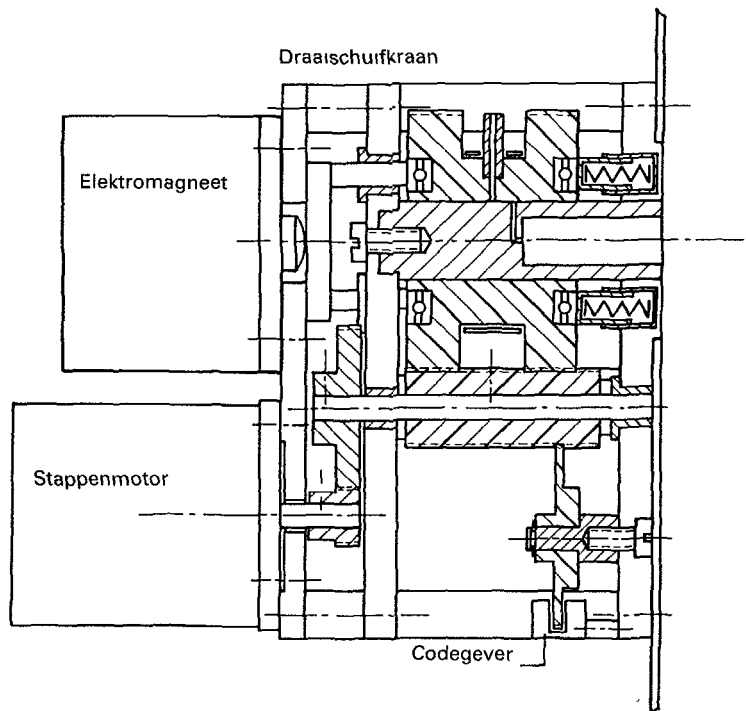
Het hart van het apparaat is de **kleurkamer** met een kanaal in de vorm van een labyrint, zie figuur 4, waarin de zogenaamde grids worden geplaatst; dit zijn uit gas gevormde dragers, diameter 3 mm met een dikte van 0,2 mm, voor de coupes. De grids zijn aangebracht op een matje, vier rijen van vijf grids, waarvan elke rij past in een corresponderende gang van het labyrint. Het matje wordt geplaatst in een uitsparing in het deksel van de kleurkamer. De kleurstof die in het labyrint aanwezig is kan worden verwarmd om het kleurproces te versnellen.



Figuur 4 Geopende kleurkamer met zijn labyrint. In de uitsparing van de naar beneden geklapte deksel wordt het matje met grids geplaatst

Zoals reeds gezegd stuurt een **micro-processor** het gehele kleurproces, dat naast het kleuren met loodcitraat en/of uranylacetaat tevens spoelen met water, reinigen met reinigingsvloeistof en doorblazen met stikstof inhoudt. Gebruikmakend van beeldscherm en toetsenbord wordt een kleurprogramma ingevoerd. Het programmeren gebeurt zeer gebruikersvriendelijk volgens het vraag/antwoordspel. In het kleurprogramma wordt het aantal grids en de volgorde van spoelen en kleuren gegeven. Bij het spoelen met water tussen en na kleurprocessen worden spoeltijd en spoelsnelheid naar believen opgegeven. Bij het kleuren wordt alleen de kleurtijd ingesteld. De hoeveelheid kleurstof is afhankelijk van het aantal grids. Een programma kan maximaal uit tien regels bestaan. In het RAM geheugen kunnen maximaal 100 programma's worden opgeslagen. Indien na het reinigen een programma niet eindigt op de functie "doorblazen met stikstof" kan het programma niet worden gestart. Dit moet voorkomen dat de kleurkamer wordt geopend terwijl er nog vloeistof in aanwezig is.

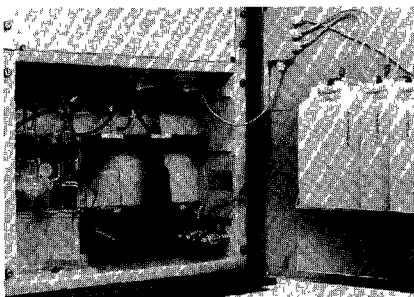
De toevoer van vloeistoffen/gas geschiedt via de zogenaamde **draaischuifkraan**, zie figuur 5, die bediend wordt door een stappenmotor en een elektromagneet. Deze worden op hun beurt gestuurd door de microprocessor. Nadat het apparaat is gestart geeft de codegever een signaal af aan de stappenmotor wanneer deze in zijn beginstand is aangekomen. Deze draait vervolgens, door de microprocessor gestuurd, de draaischuifkraan naar de plaats die hij moet innemen. Daarna stelt de processor de elektromagneet in werking die de kraan open schuift en de gewenste vloeistof/gas doorlaat naar de kleurkamer.



Figuur 5 Samenstelling van de draaischuifkraan

De vloeistofhoeveelheden voor het kleuren, spoelen en reinigen worden door de **slangpomp** bepaald, daartoe aangedreven door een stappenmotor die gestuurd wordt door de microprocessor.

Vier **voorraadvaten** met respectievelijk reinigingsvloeistof, water, loodcitraat en uranylacetaat zijn in het apparaat bevestigd, zie figuur 6. Ernaast is een stikstofcilinder opgesteld.



Figuur 6 Achterzijde van het micro-kleurapparaat met de voorraad- en afvalvaten

Uranylacetaat oxideert onder invloed van licht, daarom moeten het voorraadvat en de slangen lichtdicht zijn. Loodcitraat oxideert onder invloed van lucht (zuurstof), daarom moeten het voorraadvat en de slangen gasdicht zijn. De vloeistoffen in de voorraadvaten worden via slangen naar de kleurkamer

getransporteerd. Hiervoor is VITON slang gekozen, omdat deze licht- en gasdicht is. Achter de kleurkamer is doorzichtige slang gebruikt, omdat het dan niets meer uitmaakt als de vloeistof oxideert.

De voorraadvaten zijn zo geconstrueerd dat er een stikstofingang en een lucht- en vloeistofuitgang zijn. Indien een voorraadvat is gemonteerd, wordt de lucht die daarbij onvermijdelijk in het circuit wordt ingebracht als volgt verdrongen door stikstof. Door de kraan van de luchtuitgang en de kraan van de stikstofingang te openen, stroomt de lucht weg door een aanwezige constante overdruk van de stikstof. Indien de lucht is verdrongen wordt de kraan van de luchtuitgang gesloten, waarna een overdruk van 0,05 bar in de voorraadvaten wordt opgebouwd. De overdruk van 0,05 bar wordt gerealiseerd door twee reduceerventielen. Eén, op de stikstofcilinder, dat de druk tot 17 bar terugbrengt en één, een precisiereduceerventiel, dat de druk op 0,05 bar overdruk houdt.

Afvalstoffen worden gescheiden door middel van een pH-meting. De pH-meter onderscheidt drie pH-waarden, nl. hoog (loodcitraat), neutraal (reinigingsmiddel en water), en laag (uranylacetaat). De pH-meter meet een pH-waarde en opent de klep naar het bijbehorend afvalvat. Wordt daarna een andere pH-

waarde gemeten, dan sluit die klep en wordt de klep naar het daarbij behorend afvalvat geopend.

Er zijn verschillende **beveiligingen** op het apparaat aangebracht. Zo is er een beveiliging op de vaten voor afgewerkte vloeistoffen. Daarin is een vlotter aangebracht die de hoogte van de vloeistof meet. Op het kritieke punt waar schuwen een zoemer en een knippend licht. Mochten ondanks dat de vaten toch overstromen, of mocht er in het circuit een lek ontstaan, dan wordt de ontsnapte vloeistof naar een laag punt geleid. Op dat punt is een vloeistofsensor aangebracht, die het apparaat onmiddellijk geheel uitschakelt indien daar vloeistof wordt gedetecteerd. Om te voorkomen dat niet deskundig personeel het apparaat zou kunnen opstarten, is een codeslot ingebouwd. Voorts is er een voorziening waardoor wordt voorkomen dat de ene gebruiker het programma van een andere gebruiker wist.

Technische specificatie

Aantal grids	:	instelbaar 1-20 stuks
Doorstroomsnelheid	:	instelbaar 3-30 mm/sec
Temperatuur	:	instelbaar 20°-50° Celsius
Kleurtijd	:	instelbaar 1-99 minuten
Programmeregels	:	max. 10
Verbruikkleurstoffen	:	automatische dosering afhankelijk van het aantal grids
Reinigen	:	apart doorspoelprogramma
Beveiliging	:	geen contact van gebruiker met vloeistoffen; automatische controle op ingevoerde programma's; onbruikbaar voor onbevoegden door een gebruikerscode
Milieu-eisen	:	gescheiden opvang van schadelijke stoffen
Aantal gebruikerscodes	:	10 stuks
Programma-opslag	:	max. 100 stuks

Symposium vonkerosie

MIKROCENTRUM NEDERLAND organiseert in samenwerking met DE CONTACTGROEP VONKEROSIE VAN DE VERENIGING VOOR PRODUKTIETECHNIEK VVW een twee-daags symposium over VONKEROSIE

DATUM	:	dinsdag 19 en woensdag 20 mei 1987
PLAATS	:	MIKROCENTRUM NEDERLAND Kruisstraat 74 5612CJ EINDHOVEN
KOSTEN	:	f 295,- p.p. per dag Deelnemers MCNL f 195,- p.p. per dag
EXPOSITIE	:	Diverse bedrijven zullen tijdens deze dagen hun systemen/producten tentoonstellen.

NADERE INFO : Uitvoerige info en brochure zijn verkrijgbaar bij:
MIKROCENTRUM NEDERLAND
Kruisstraat 74
5612 CJ EINDHOVEN
Contactpersoon: de heer H.M. Houdijk
telefoon: 040 - 432503

Programma dinsdag 19 mei 1987, met als thema draadvonken

Toelichting op het thema prof ir C.J. Heuvelman, Universiteit Twente
Automatiseren bij het draadvonken F.M.G. van Tuijl, AMP Holland B.V.
Vonkboren ing. J. Wijers, Nederlandse Philips Bedrijven B.V.
Opvangereedschappen (draadvonken) P. Sonderegger, Büchler AG, Zwitserland
Draadmateriaal Hermanni, Berkenhoff GmbH, BRD

Toekomstvisie dr G. Levy, Agie AG Zwitserland

dagvoorzitter: prof ir C.J. Heuvelman

Programma woensdag 20 mei 1987, met als thema zinkvonken

Toelichting op het thema ir W. de Keijzer, KU Leuven

Planetair vonken J. van Nieuwenhof, Nederlandse Philips Bedrijven B.V.

Opvangereedschappen (zinkvonken) P. Bilic, System 3R, BRD

Materiaalbeïnvloeding De heer Zernickel, Charmilles Duitsland

Elektrode-fabricage, Hochleistungsfrasen von Graphit W. Stief, WWs, BRD

Toekomstvisie D. Dauw, Charmilles
dagvoorzitter: ir W. de Keijzer, KU Leuven