



PCT

WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<p>(51) Internationale Patentklassifikation ⁵ : G01N 1/28, F25D 3/10 F17C 3/08</p>	<p>A1</p>	<p>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 94/05995 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 17. März 1994 (17.03.94)</p>
<p>(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP93/02408 (22) Internationales Anmeldedatum: 6. September 1993 (06.09.93) (30) Prioritätsdaten: A 1787/92 8. September 1992 (08.09.92) AT (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): LEICA AG [AT/AT]; Hernalser Hauptstraße 219, Postfach 95, A-1170 Wien (AT). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US) : SITTE, Hellmuth [AT/AT]; Reitherspitzstraße 166, A-6100 Seefeld in Tirol (AT). NEUMANN, Klaus [DE/DE]; Eichenstraße 8, D-66450 Bexbach-Saar (DE). EDELMANN, Ludwig [DE/DE]; Ehrlichstraße 14, D-66424 Homburg-Saar (DE). HÄSSIG, Helmut [DE/DE]; Am Gedünner 21, D-66424 Homburg-Saar (DE). LANG, Anton [AT/AT]; Zöchbauer Str. 4/41, A-1160 Wien (AT). KLEBER, Heinrich [AT/AT]; Roggegasse 50, A-1210 Wien/Strebersdorf (AT).</p>	<p>(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE). Veröffentlicht Mit internationalem Recherchenbericht.</p>	

(54) Title: DEVICE FOR DEHYDRATING AND/OR EMBEDDING SAMPLES

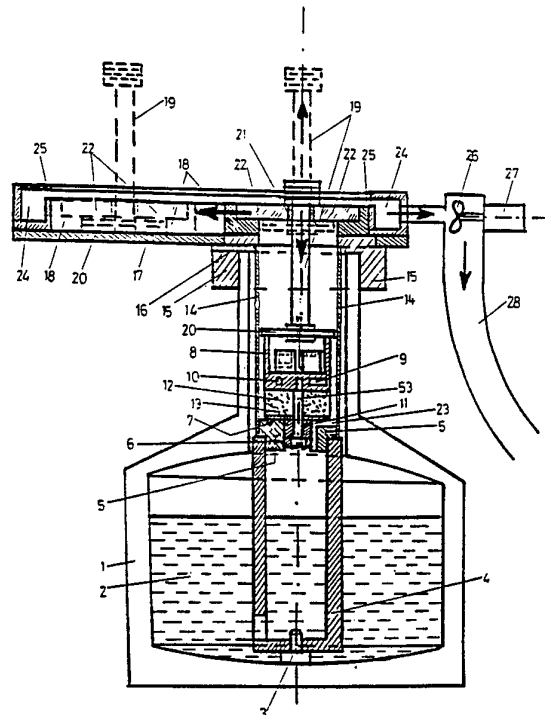
(54) Bezeichnung: VORRICHTUNG ZUR ENTWÄSSERUNG UND/ODER EINBETTUNG VON PROBEN

(57) Abstract

A device for dehydrating and/or embedding preferably frozen samples, consisting of a dewar vessel (1) filled with liquid nitrogen (2) and a metal component (4) of a good heat conducting material secured to the base, the upper end of which in the base region of the dewar vessel neck has a cover (5) with a metal cooling surface (6, 7) which corresponds to matching lower contact surfaces of the thermostatically heated (9, 10) substitution (PLT) container (8) or the lower part of a freeze-drying chamber in such a way as to ensure good heat transfer between the corresponding surfaces.

(57) Zusammenfassung

Vorrichtung zur Entwässerung und/oder Einbettung vorzugsweise gefrorener Proben, bestehend aus einem mit Flüssigstickstoff (2) gefüllten Dewargefäß (1) und einem am Boden verankerten (3) metallischen Element (4) aus gut wärmeleitendem Material, das an seinem oberen Ende im Ansatzbereich des Dewarhalses einen Deckel (5) mit einer metallischen Kühlfläche (6, 7) aufweist, die mit den komplementär ausgebildeten unteren Kontaktflächen der thermostatisch beheizten (9, 10) Substitutions-(PLT)-Behälter (8) bzw. des Unterteiles einer Gefriertrocknungskammer in einer Weise korrespondiert, die einen guten Wärmeübergang zwischen den korrespondierenden Flächen gewährleistet.



LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Code, die zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	FI	Finnland	MR	Mauritanien
AU	Australien	FR	Frankreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GA	Gabon	NE	Niger
BE	Belgien	GB	Vereinigtes Königreich	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GN	Guinea	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	GR	Griechenland	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	HU	Ungarn	PL	Polen
BR	Brasilien	IE	Irland	PT	Portugal
BY	Belarus	IT	Italien	RO	Rumänien
CA	Kanada	JP	Japan	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SD	Sudan
CG	Kongo	KR	Republik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KZ	Kasachstan	SI	Slowenien
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	SK	Slowakische Republik
CM	Kamerun	LK	Sri Lanka	SN	Senegal
CN	China	LU	Luxemburg	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LV	Lettland	TC	Togo
CZ	Tschechische Republik	MC	Monaco	UA	Ukraine
DE	Deutschland	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
DK	Dänemark	ML	Mali	UZ	Usbekistan
ES	Spanien	MN	Mongolei	VN	Vietnam

Vorrichtung zur Entwässerung und/oder Einbettung von Proben

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Entwässerung und/oder Einbettung von Proben, insbesondere bei Temperaturen zwischen +20°C und -120°C, in einem Probenbehälter mit thermostatisch geregelter Temperatur in einem Flüssigstickstoff enthaltenden Dewargefäß.

Zur raschen "Immobilisierung" werden Proben für mikroskopische oder elektronenmikroskopische Untersuchungen häufig extrem rasch eingefroren. Anschließend wird das in den Proben enthaltene Eis bei Temperaturen zwischen -80°C und -120°C entweder durch polare Lösungsmittel (z. B. Methanol: "*Kryosubstitution*", vgl. hierzu u.a. Patentschriften DE 29 44 484 C2 oder DE 34 25 744 C2 bzw. H.Sitte, ZEISS MEM 3, 25-31, 1984 oder H.Sitte et al, GIT Labor-Medizin, 10, 199-208, 1987, dortselbst weiterführende Literatur) oder im Vakuum bzw. durch Reduktion des Wasserdampf-Partialdruckes ("*Gefriertrocknung*": vgl. hierzu u.a. Patentschrift: DE 27 39 796 bzw. L.-Edelmann, Mikroskopie, Wien, 35, 31-36, 1979 sowie L. Edelmann, Scanning Electron Microscopy, IV, 1337-1356, 1986, dortselbst weiterführende Literatur) weitgehend entfernt, so daß anschließend die getrockneten Proben in Paraffin oder in einem geeigneten Kunststoff für eine nachfolgende Schnittpräparation eingebettet werden können. Eine Alternative zu diesem Verfahren bietet die "*PLT-Methode*" (PLT steht für "*Progressive Lowering of Temperature*"; vgl. hierzu u.a. E. Carlemalm et al, J. Microscopy, Oxford 126, 123-143, 1982; dortselbst weitere Literaturhinweise), bei der die Proben zunächst chemisch, beispielsweise in einer Aldehydlösung fixiert werden und anschließend während ihrer Entwässerung in polaren Medien (z. B. Azeton oder Methanol) jeweils in jenem Umfang abgekühlt werden, in welchem der Gefrierpunkt der Mischung abnimmt. Die Einbettung erfolgt auch in

diesem Fall durch UV-Polymerisation eines Monomer-Ansatzes bei Temperaturen zwischen -30°C und -70°C . Sowohl für die Kryosubstitution und für die PLT-Methode, als auch für die Gefriertrocknung wurden Systeme entwickelt, in denen zum Erreichen der benötigten tiefen Temperaturen sowie zum Erzeugen eines Kryosorptions-Vakuums Flüssigstickstoff (hinfert LN2) dient. In diesen Systemen (vgl. zitierte Literatur) werden nach dem Stand der Technik die zum Trocknen der Proben vorgesehenen Behälter entweder im Hals eines Dewargefäßes oder in dessen nach unten erweiterten Innenraum angeordnet, wobei die LN2-Kühlung im Dewarhals indirekt durch den laufend gebildeten gasförmigen Stickstoff (hinfert GN2) oder durch Wärmeableitung über zwischengeschaltete Festkörper bzw. im Innenraum des Dewargefäßes durch direkten Kontakt mit LN2 erfolgt.

Ein wesentlicher Nachteil derartiger Systeme besteht darin, daß jede dieser aufwendigen Anordnungen, welche neben dem Dewargefäß zur Aufnahme des LN2 über zumindest einen Regelkreis zur thermostatischen Regelung der Probertemperatur sowie über Kontrollsysteme zur Anzeige des LN2-Füllstandes und Warnsysteme zur Anzeige eines zu geringen LN2-Füllstandes verfügen müssen, lediglich für eine dieser Tieftemperatur-Methoden zur Trocknung gefrorener Objekte geeignet ist, welche zudem oftmals im Vergleich alternierend durchgeführt werden müssen. Man ist daher häufig gezwungen, neben einem System zur Kryosubstitution und/oder PLT-Inkubation eine ähnlich aufwendig ausgestattete Apparatur zur Gefriertrocknung zu erwerben, wenn man kompetente vergleichende Untersuchungen in diesem Bereich der Wissenschaft anstellen will.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, eine für mehrere Verfahren geeignete Anordnung zu schaffen.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe dadurch gelöst, daß im Dewargefäß eine fest mit diesem verbundene und durch Flüssigstickstoff gekühlte ortsfeste metallische Kühlfläche

angeordnet ist, und daß der in das Dewargefäß lösbar einsetzbare Probenbehälter eine zur Kühlfläche komplementäre Kontaktfläche aufweist, die bei eingesetztem Probenbehälter an der ortsfesten Kühlfläche anliegt und damit einen guten Wärmeaustausch zwischen

5 ortsfester Kühlfläche und der zu ihr komplementären Kontaktfläche sicherstellt. Der Dewarbehälter weist zu diesem Zweck eine vorzugsweise plane und/oder zylindrische Kühlfläche auf, die mit dem LN2 direkt oder indirekt im Kontakt steht, wobei Wärme-

10 leitvermögen und Materialquerschnitt der Festkörperverbindung (z.B. Aluminium mit Querschnitt $> 10 \text{ cm}^2$) einen Wärmewiderstand bewirken, der auch bei minimalem LN2-Füllstand im Dewargefäß eine Temperatur der Kühlfläche gewährleistet, die nicht wesentlich ($< 20^\circ\text{C}$) vom LN2-Siedepunkt (-196°C) differiert. Wie erwähnt,

15 korrespondiert die ortsfeste Kühlfläche erfindungsgemäß mit den komplementär ausgebildeten Kontaktflächen des jeweils abnehmbaren als Substitutions- bzw. PLT- bzw. Gefriertrocknungsbehälters ausgebildeten Probenbehälters, die gegeneinander austauschbar sind und jeweils durch die komplementäre Ausbildung zur ortsfesten Kühlfläche im Dewargefäß einen guten Wärmeaustausch gewährleisten.

20 Besonders vorteilhaft ist es, wenn die Festkörperverbindung zwischen der ortsfesten Kühlfläche im Dewargefäß und dem LN2 im Dewarinnenraum eine Röhre darstellt und die Kühlfläche eine mit dieser Röhre kommunizierende Öffnung aufweist.

Im Hinblick auf die Gefrierpunkte der üblichen Entwässerungs- bzw.

25 Substitutionsmedien (-80°C bis -120°C) ist es vorteilhaft, den Wärmeaustausch zwischen der ortsfesten Kühlfläche im Dewargefäß und dem Substitutionsbehälter, der in der Regel bei entsprechender Temperatur-Zeit-Steuerung auch als PLT-Behälter eingesetzt werden kann, dadurch zu beschränken, daß der Kontakt und/oder der

30 Querschnitt der metallischen Verbindung zwischen den korrespondierenden Flächen auf jene Maße beschränkt werden, die eine Temperatur im gewünschten Bereich eben gewährleisten, da andernfalls die thermostatische Beheizung dieses Substitutions-(PLT)-Behälters zu einem unnötig hohen LN2-Verbrauch führt.

Zweckmäßig ist es daher, wenn die Unterseite des thermostatisch beheizten Substitutions-(PLT)-Behälters großteils, vorzugsweise zu mehr als 90 % durch eine vorzugsweise plane bzw. scheibenförmig ausgebildete thermisch isolierende Lage bedeckt ist, die

5 vorzugsweise aus einem geschäumten Kunststoff, beispielsweise Styrol- oder Polyurethan-Schaum, besteht. Eine weitere Ausgestaltung der Substitutions-(PLT)-Anordnung kann darin bestehen, daß der Behälter an seiner oberen Seite eine ringförmige Nut und in seinem Zentrum eine Nachfüllöffnung für LN₂ aufweist,

10 die mit der Nachfüllöffnung der ortsfest im Dewargefäß angeordneten Kühlfläche korrespondiert, so daß im Verein mit einer hülsenförmigen Ausbildung der Kontaktfläche des Behälters durch eine zentrale Öffnung während des üblichen Betriebes LN₂ in das Dewargefäß nachgefüllt werden kann. Die Vorrichtung kann dadurch

15 weiter ausgestaltet werden, daß der Dewarhals durch einen vorzugsweise durchsichtigen und UV-durchlässigen Deckel verschließbar ist, der aus zwei Platten besteht, von denen eine an einer vertikal verschieblichen Hülse befestigt ist und bis zur Oberkante des Substitutions-(PLT)-Behälters in den Dewarhals

20 abgesenkt werden kann, und wobei der Deckel nach Anheben dieser verschieblichen Platte horizontal zum Öffnen der Substitutionskammer verschoben werden kann. Schließlich kann zum Absaugen von giftigen Dämpfen (z.B. OSO₄-Zusatz zum

25 Substitutionsmedium bzw. flüchtige Komponenten der Acrylmonomere für die Tieftemperatur-Einbettung), die mit dem abdampfenden GN₂ aus dem Dewarhals bzw. Substitutionsraum entweichen, eine ringförmige Absaugung vorgesehen werden, welche diese Dämpfe mittels eines Exhaustors (z.B. Ventilators) über ein Rohr in einen Abzug oder ins Freie ableitet.

30 Gemäß einer speziellen Ausführungsform der Erfindung kann anstelle des Substitutions-(PLT)-Behälters ein evakuierbarer Einsatz zur Gefriertrocknung (hinfort GT) in den Dewarhals eingebracht werden, dessen vorzugsweise plane Bodenfläche in gleicher Weise mit der komplementären Kontaktfläche der ortsfesten Kühlfläche im

- Dewargefäß korrespondiert und durch diesen Kontakt auf eine Temperatur $< -176^{\circ}\text{C}$ abgekühlt wird. Hierdurch entstehen bei einer Ausbildung aus gut wärmeleitendem Metall im Inneren des Vakuumbehälters große Kondensationsflächen, die bei Bedarf noch durch (eine) zusätzliche Kondensationsfläche(n) verstärkt werden können. Wie der Substitutionsbehälter, so weist auch diese GT-Kammer einen thermostatisch beheizten Probenteller auf, die nach einem bevorzugten Merkmal der Erfindung von der gleichen elektrischen Regeleinrichtung versorgt wird.
- 5
- 10 Weitere Vorteile und Merkmale der Erfindung ergeben sich aus der nachfolgenden Beschreibung bevorzugter Ausführungsbeispiele anhand der Zeichnungen.
- Fig. 1 zeigt einen schematischen Schnitt durch ein Dewargefäß, das eine bevorzugte Installation zur Aufnahme des Substitutions-(PLT)-Behälters oder einer GT-Kammer aufweist und mit einem Substitutions-(PLT)-Behälter beispielhaft bestückt ist.
- 15 Ebenfalls in einem schematischen Querschnitt zeigt Fig. 2 einen Substitutionsbehälter ähnlich Fig. 1 mit Einsätzen zur Substitution bzw. zur PLT-Inkubation und Flacheinbettung von Proben.
- 20 Fig. 3 zeigt einen modifizierten Substitutions-(PLT)-Behälter mit einer Ringnute zur Aufnahme von Eppendorf-Röhrchen zur Substitution, PLT-Inkubation und/oder Tieftemperatur-Einbettung von Proben.
- 25 Fig. 4 zeigt beispielhaft eine einfache Gefriertrocknungskammer mit einem Rohranschluß zum Evakuieren, einen Probenteller und einer zusätzlichen Kondensationsfläche.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung nach Fig. 1 besteht aus einem Dewargefäß 1 mit LN₂-Füllung 2, an dessen Bodenelement 3 eine Röhre 4 aus gut wärmeleitendem Metall (z.B. Aluminium) verankert ist, welche nach oben durch einen Deckel 5 mit einer zylindrischen Ausnehmung 6 abgeschlossen wird. Röhre 4 und Deckel 5 befinden sich in einem guten Wärmekontakt zueinander. Die Zylinderfläche 6 sowie die plane Oberseite 7 des Deckels bilden die ortsfesten Kühlflächen, an denen die komplementären Kontaktflächen der Substitutionskammer 8, welche aus gut wärmeleitendem Metall besteht, und eine Heizpatrone 9 sowie einen Temperatursensor 10 (z.B. Pt100) zur thermostatischen Regelung ihrer Temperatur enthält. Im Hinblick auf die für eine Kryosubstitution bzw. PLT-Inkubation und/oder Tieftemperatur-Einbettung erforderliche Temperatur des Behälters 8 (+20°C bis minimal -120°C) ist der metallische Wärmekontakt auf den Querschnitt des Stehbolzens 53 (rund 1 cm²) beschränkt, der beispielsweise über das Element 11 und seine Zylinderfläche 11 mit der korrespondierenden Zylinderfläche 6 des Deckels 5 in gutem Wärmekontakt steht und mit der Bodenfläche des Behälters 8 ebenfalls wärmeleitend (Verschraubung) verbunden ist. Die restliche Bodenfläche des Behälters 8 ist durch eine Wärmeisolation 12 (z.B. Polyurethan-Schaum) bedeckt, deren freie Unterseite durch eine Blechplatte 13 geschützt ist. Die Röhre 4 ist über eine zylindrische Hülse 14 aus dünnwandigem Edelstahlblech (Wandstärke etwa 0,5 mm, Höhe etwa 15 cm) geringen Wärmeleitvermögens gegen den am Hals des Dewargefäßes befestigten ringförmigen Anschluß 15 abgestützt, der eine Austrittsöffnung 16 für entweichendes GN₂ enthält. Am Abschlußring 15 ist eine Platte 17 befestigt, die als Gleitfläche für die Deckelfassung 18 dient: Das Verschieben erfolgt in Pfeilrichtung nach links nach Anheben der Hülse 19 mit der an ihr befestigten Platte 20, welche ihrerseits den Substitutions- bzw. Inkubationsraum des Behälters 8 während der Substitution, PLT-Inkubation und/oder Tieftemperatureinbettung verschließt. Die Hülse 19 gleitet ihrerseits in einer Hülse 21, die in der Deckelplatte 22 befestigt ist. Die Platten 20 und 22 sind vorzugsweise aus durchsichtigem

und UV-durchlässigem Material ausgebildet, so daß die UV-Polymerisation von Acryl-Monomeren bei geschlossener Abdeckung gewährleistet ist. Zum Öffnen der durch die Hülse 14 im Verein mit dem Behälter 8 bzw. dem Deckel 5 gebildeten "Kammer" im Dewarhals wird die Hülse 19 mit der Platte 20 in Pfeilrichtung vertikal angehoben und anschließend der Deckel 18, 20, 22 horizontal nach links auf die Platte 17 verschoben (strichlierte Umrisse). Da die "Kammer" 5, 8, 14, 15 durch die Ausnehmung 23 im Deckel 5 stetig aus dem Rohr 4 mit GN2 gespült wird, tritt aus dem geöffneten Dewarhals Gas, das oftmals giftige Bestandteile (OSO_4 als Substitutionsmedium, monomere Acryl-Komponenten bei Tieftemperatur-Einbettung in Acrylharz) enthält und erfindungsgemäß durch einen umlaufenden Absaugkanal 24 mit einer spaltförmigen Öffnung 25 mittels eines Exhaustors (z.B. Ventilator 26 an Welle des Motors 27) in das Entsorgungsrohr 28 gefördert wird.

Die Fig. 2 zeigt den in der Vorrichtung nach Fig. 1 eingesetzten Substitutionsbehälter 8 im Detail. Am Substitutionsbehälter 8 ist die korrespondierende wärmeleitende Kontaktfläche mit 43 bezeichnet. Man erkennt ferner im Behälterraum einen Topf 29 mit einem Netz 30 zum Auflegen der gefrorenen Proben 31. Der Topf ist mit dem Substitutionsmedium 32 (z.B. Methanol/ OSO_4) gefüllt. Zur Flacheinbettung bei tiefer Temperatur dient ein Einsatz 32', 33, dessen Abdeckplatte 33 aus antiadhäsivem Kunststoff (z.B. Azetalharz) besteht und Mulden zur Aufnahme der wasserfreien Proben 31' sowie des Kunstharzmonomers 34 aufweist (vgl. hierzu zitierte Patentschriften sowie Fachliteratur). Ein unreproduzierbares Verdampfen und Entweichen einzelner Komponenten aus den Medien 32, 34 wird durch den Verschuß mit der Platte 20 in der bereits beschriebenen erfindungsgemäßen Weise verhindert.

Die Fig. 3 zeigt eine alternative Ausgestaltung des Substitutions-(PLT)-Behälters. Der Behälter 8' weist einen Zentralkanal 35 zum Nachfüllen von LN2 auf. Die Aufnahme der Proben 31 erfolgt in einer Ringnute 36 des Behälters 8', beispielsweise in Eppendorf-

Röhrchen 37, welche durch ein perforiertes Blech 38 in Position gehalten werden und ihrerseits zur Aufnahme der Proben 31,31' sowie der Medien 32,34 dienen. Der Wärmekontakt zwischen der Wandung der Ringnute 36 und den Oberflächen der Eppendorf-Röhrchen 37 wird in diesem Fall in bekannter Weise durch eine Flüssigkeit 52 (z.B. Alkohol) gewährleistet. Der Wärmekontakt zur zylindrischen Oberfläche 6 in der Deckelplatte 5 erfolgt über den hülsenförmigen Fortsatz 39 des Substitutionsbehälters 8', und zwar über die Kontaktfläche 43'.

Die Fig. 4 zeigt eine GT-Kammer, deren Unterteil 40 mit dem zylindrischen Fortsatz 41 über die plane Bodenfläche 42 sowie die Zylinderfläche 43" mit den komplementären Flächen 7 und 6 des Deckels 5 auf der Röhre 4 im Dewargefäß 1 (Fig. 1) korrespondiert und daher eine Temperatur im Bereich $< - 176^{\circ}\text{C}$ erreicht. Im Kammerunterteil 40 befindet sich der Probenteller 44 auf einer Halterung (z.B. Spitzenauflagen 45), welche den Wärmeübergang 40 - 44 minimiert. Der Probenteller 44 ist durch eine Heizpatrone 9 und einen Temperatursensor 10 thermostatisch beheizt und weist an seiner Oberseite Mulden 46 zur Aufnahme der gefrorenen Proben 31 auf. Die Kühlfläche kann im Bedarfsfall durch die Kondensations-(Kryosorptions-)Platte 47 erhöht werden, welche an dem Unterteil 40 mit den Schrauben 48 befestigt und gut wärmeleitend verbunden ist. Der Unterteil 40 ist mit dem Oberteil 49 der Kammer über einen Dichtungsring 50 vakuumdicht verbunden. Die Kammer kann über den Absaugstutzen 51 am Oberteil 49 evakuiert werden (Pfeil).

Die anhand der Fig. 1 bis 4 beschriebenen Anordnung kann im Rahmen der Erfindung in verschiedenen Variationen und Kombinationen verwirklicht werden. Es ist unerheblich, welche Einsätze in den Substitutions-(PLT)-Behältern 8, 8', 36 bzw. 36 zur Aufnahme der Proben 31, 31' und Medien 32, 34 vorgesehen werden sowie in welcher Weise die Temperatur thermostatisch geregelt wird. Unerheblich ist ferner die Realisierung des erforderlichen Wärmewiderstandes zwischen dem Substitutionsbehälter 8, 8' und der

- ortsfesten Kühlfläche 6 bzw. 7 am Deckel 5. Ebenso ist es unerheblich, auf welche Art das Vakuum für die Gefriertrocknung (z.B. rotierende Pumpe, Membranpumpe oder Kryosorption mittels Molekularsieb) hergestellt wird und wie die GT-Kammer abgedichtet wird, solange vor allem das Merkmal der wechselweisen
- 5 Austauschbarkeit eines Substitutions-(PLT)-Behälters gegen einen anderen bzw. gegen eine GT-Kammer und umgekehrt aufgrund korrespondierender komplementärer Wärmeaustauschflächen in der beschriebenen und dargestellten Weise verwirklicht wird.

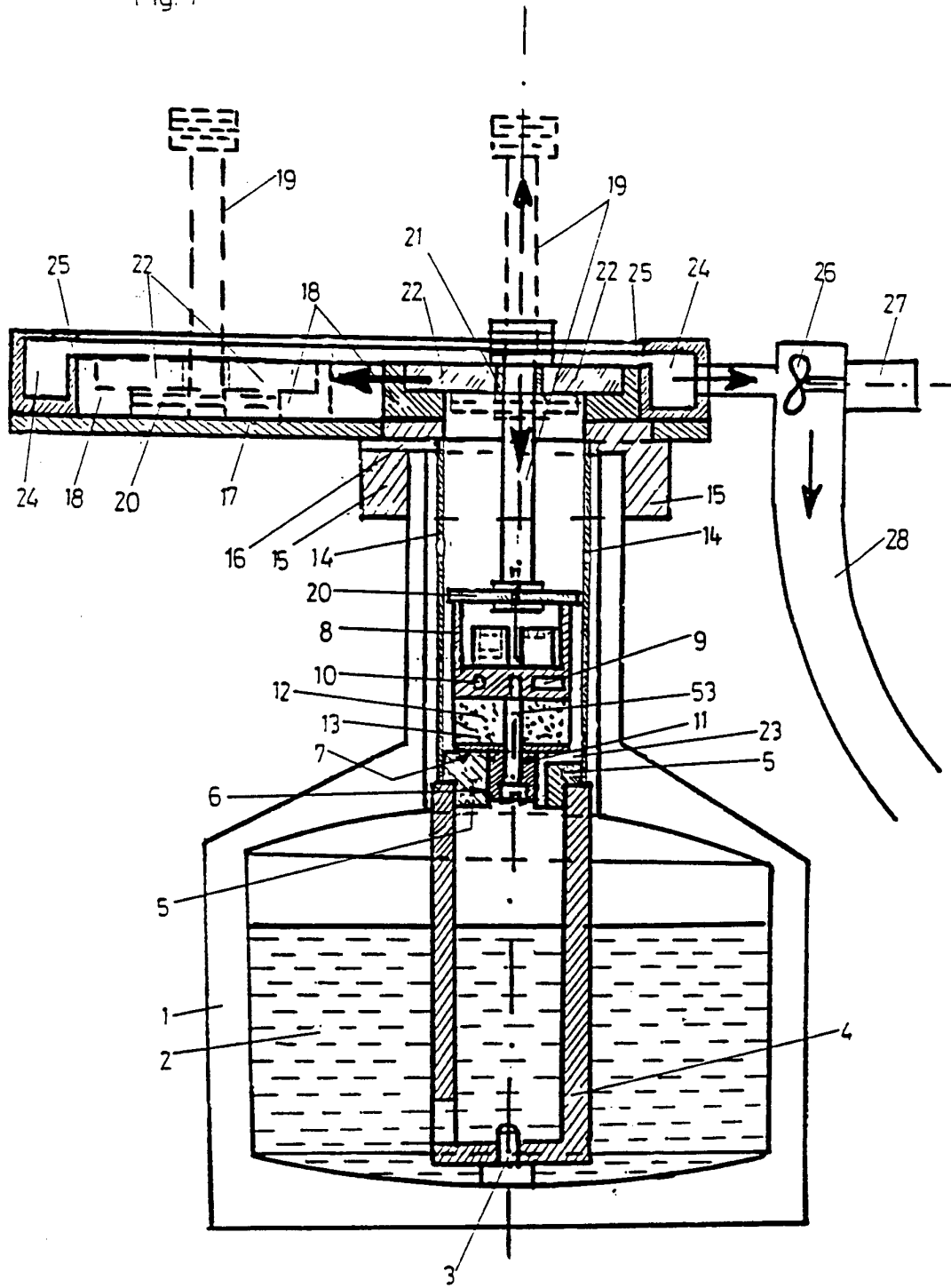
P a t e n t a n s p r ü c h e :

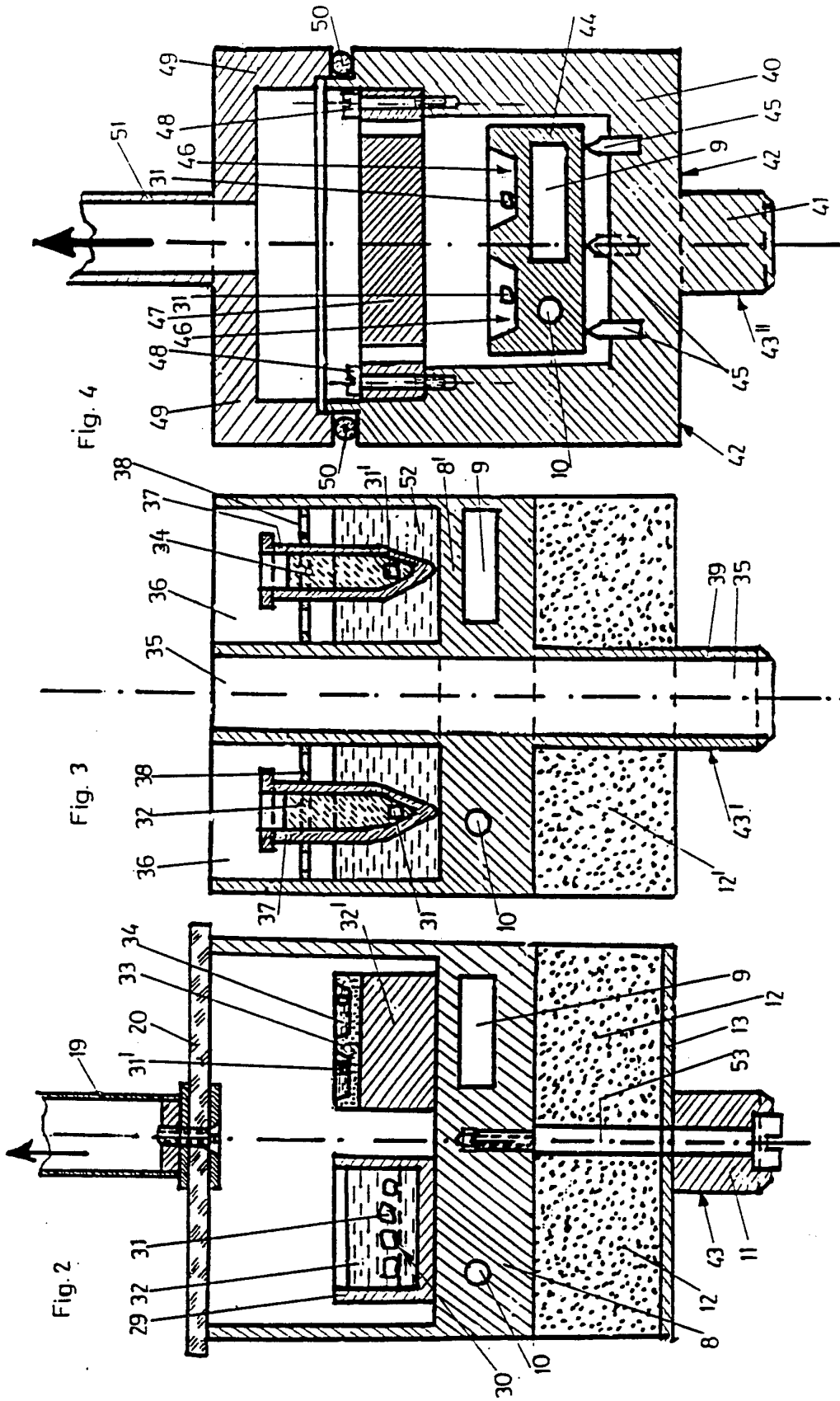
1. Vorrichtung zur Entwässerung und/oder Einbettung von Proben (31,31'), insbesondere bei Temperaturen zwischen +20°C und -120°C, in einem Probenbehälter (8,8',40) mit thermostatisch geregelter
5 Temperatur (9,10) in einem Flüssigstickstoff (2) enthaltenden Dewargefäß (1), dadurch gekennzeichnet, daß im Dewargefäß (1) eine fest mit diesem verbundene und durch Flüssigstickstoff (2) gekühlte ortsfeste metallische Kühlfläche (6,7) angeordnet ist, und daß der in das Dewargefäß (1) lösbar einsetzbare
10 Probenbehälter (8,8',40) eine zur Kühlfläche (6,7) komplementäre Kontaktfläche (42,43,43',43'') aufweist, die bei eingesetztem Probenbehälter (8,8',40) an der Kühlfläche (6,7) anliegt und damit einen guten Wärmeaustausch zwischen der ortsfesten Kühlfläche (6,7) und der zu ihr komplementären Kontaktfläche (42,43,43',43'')
15 sicherstellt.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß zumindest zwei verschiedene Probenbehälter (8,8',40) vorgesehen sind, die wahlweise in das Dewargefäß (1) einsetzbar sind.
3. Vorrichtung nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß ein
20 erster Probenbehälter ein Behälter (8,8') zur Aufnahme von flüssigen Substitutions- oder Entwässerungsmedien bzw. Monomeren ist und daß ein zweiter Probenbehälter ein evakuierbarer Behälter (40) mit einer Gefriertrocknungskammer ist.
4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch
25 gekennzeichnet, daß im Dewargefäß (1) eine Röhre (4) aus gut wärmeleitendem Metall (3) befestigt ist, deren oberes Ende als Deckel (5) mit einer Nachfüllöffnung (6) für Flüssigstickstoff (2) versehen ist, wobei die vorzugsweise plane waagrechte Oberseite (7) des Deckels (5) und/oder die zylindrische Nachfüllöffnung (6)
30 die Kühlflächen zum Abkühlen der Probenbehälter (8,8',40) darstellen.

5. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß der im wesentlichen zylindrische, als Substitutions-(PLT)-Behälter (8,8') ausgebildete Probenbehälter aus einem thermostatisch beheizbaren Gefäß besteht, dessen Unterseite großteils, vorzugsweise zu mehr als 90% durch eine plane thermisch isolierende Lage (12,12') bedeckt ist.
6. Vorrichtung nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, daß die thermisch isolierende Lage (12,12') aus einem geschäumten Kunststoff, beispielsweise Styrol- oder Polyurethan-Schaum, besteht.
7. Vorrichtung nach Anspruch 5 oder 6, dadurch gekennzeichnet, daß die plane Unterseite der thermisch isolierenden Lage (12) mit einer Metallscheibe (13) bedeckt ist.
8. Vorrichtung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß sich zwischen dem Probenbehälter (8,8') und dem Deckel (5) ein zylindrischer Stab (53) oder eine zylindrische Hülse (39) befindet, der bzw. die mit beiden Elementen (8,8',5,11) einen guten Wärmekontakt aufweist.
9. Vorrichtung nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß der Probenbehälter (8') zur Aufnahme der Behälter (37) mit den Proben (31,31') an seiner oberen Seite eine ringförmige Nut (36) und in seinem Zentrum eine Nachfüllöffnung (35) für Flüssigstickstoff (2) aufweist, die mit der Nachfüllöffnung (6) im Deckel (5) korrespondiert.
10. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß der Hals des Dewargefäßes (1) durch einen Deckel (18,20,22) verschlossen werden kann, der horizontal bewegbar ist und seinerseits zwei Platten (22,20) aufweist, von denen die untere (20) einen Durchmesser aufweist, der es zuläßt, daß sie vertikal im Dewarhals auf und abbewegbar ist.

11. Vorrichtung nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die beiden Platten (20,22) aus einem durchsichtigen Material bestehen, das vorzugsweise UV-durchlässig ist.
- 5 12. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß am oberen Ende des Dewarhalses eine ringförmige Absaugung (24,25) angeordnet ist, welche das aus dem Dewarinneren entweichende Gas aufnimmt und mittels eines Exhaustors (26,27) durch ein Rohr (28) ableitet.
- 10 13. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß in den Hals des Dewargefäßes (1) als Probenbehälter ein im wesentlichen zylindrischer Behälter (40, 49-51) mit einer Gefriertrocknungskammer einsetzbar ist, dessen Bodenfläche (42,43") mit dem Deckel (5) in einer Weise korrespondiert, daß durch eine komplementäre Ausbildung der Flächen (7/42 und 6/43")
15 ein guter Wärmeaustausch zwischen den beiden korrespondierenden Flächen gewährleistet ist.
- 20 14. Vorrichtung nach Anspruch 13, dadurch gekennzeichnet, daß sowohl die thermostatisch beheizte Probenhalterung (9,10,44), als auch die Kondensationsflächen (40,47) ausschließlich mittels Flüssigstickstoff (2) über metallische Zwischenglieder (4,5) auf die jeweils erforderlichen Temperaturen abgekühlt werden.

Fig. 1





INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No.
PCT/EP 93/02408

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 5 G01N1/28 F25D3/10 F17C3/08

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 5 G01N F25D F17C

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DE, A, 36 10 748 (REICHERT AG) 1 October 1987 * Abstract * see claims; figures ---	1
A	GIT LABOR-MEDIZIN no. 5, 1987, DARMSTADT pages 199 - 208 H. SITTE ET AL. 'EIN INSTRUMENT ZU KRYOSUBSTITUTION UND TIEFTEMPERATUR-EINBETTUNG' cited in the application see figures 2,3 -----	1

Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
E earlier document but published on or after the international filing date
I document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
& document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

23 November 1993

Date of mailing of the international search report

01.12.93

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+ 31-70) 340-3016

Authorized officer

LIPP, G

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 93/02408

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE-A-3610748	01-10-87	NONE	

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen
PCT/EP 93/02408

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 5 G01N1/28 F25D3/10 F17C3/08

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 5 G01N F25D F17C

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DE,A,36 10 748 (REICHERT AG) 1. Oktober 1987 * Zusammenfassung * siehe Ansprüche; Abbildungen ---	1
A	GIT LABOR-MEDIZIN Nr. 5 , 1987 , DARMSTADT Seiten 199 - 208 H. SITTE ET AL. 'EIN INSTRUMENT ZU KRYOSUBSTITUTION UND TIEFTEMPERATUR-EINBETTUNG' in der Anmeldung erwähnt siehe Abbildungen 2,3 -----	1

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

& Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

23. November 1993

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

01.12.93

Name und Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+ 31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

LIPP, G

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 93/02408

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE-A-3610748	01-10-87	KEINE	