

## خشک کن انجمادی (Freeze Dryer / Lyophilizer)

خشک کن انجمادی یا لیوفیلیزر دستگاهی است که با استفاده از فرآیند تصعید - (Sublimation) یعنی تبدیل مستقیم آب از حالت جامد (یخ) به بخار بدون عبور از فاز مایع - رطوبت نمونه‌ها را حذف می‌کند. این روش در مقایسه با خشک کن‌های حرارتی، ساختار و مواد مؤثر نمونه را حفظ می‌کند و برای مواد حساس مانند پروتئین‌ها، آنزیم‌ها، داروها و نمونه‌های بیولوژیک ایده‌آل است.

### ۱. اصول عملکرد (Working Principle)

لیوفیلیزاسیون یک فرآیند سه مرحله‌ای است که در شرایط خلأ و دمای پایین انجام می‌شود:

مرحله	توضیح	شرایط عملیاتی
انجماد (Freezing)	نمونه تا زیر نقطه انجماد سرد می‌شود تا آب آن به یخ تبدیل شود	معمولاً ۲۰- تا ۸۰- درجه سانتی‌گراد
خشک کردن اولیه (Primary Drying)	با اعمال خلأ، یخ مستقیماً به بخار تبدیل می‌شود (تصعید)	فشار $< 20 \text{ Pa}$ ، دمای سردکننده $< 40 -$ درجه
خشک کردن ثانویه (Secondary Drying)	حذف مولکول‌های آب جذب شده روی سطح نمونه	دمای بالاتر (۳۰-۵۰ درجه)

### ۲. اجزای اصلی دستگاه (Components)

جزء	عملکرد
محفظه خلأ (Vacuum Chamber)	فضای اصلی که نمونه‌ها در آن قرار می‌گیرند؛ معمولاً از جنس استیل یا اکریلیک
( Cold Trap ) کندانسور / تله سرد	سطح بسیار سرد (معمولاً ۵۰- تا ۸۵- درجه) که بخار آب روی آن منجمد می‌شود و از ورود آن به پمپ خلأ جلوگیری می‌کند
پمپ خلأ (Vacuum Pump)	فشار داخل محفظه را به زیر ۲۰ پاسکال می‌رساند تا تصعید امکان‌پذیر شود
سیستم سردکننده (Refrigeration System)	Cold Trap و گاهی قفسه‌های نمونه را خنک می‌کند

محل قرارگیری ظروف حاوی نمونه؛ در مدل های پیشرفته دما را کنترل می کنند	قفسه های نمونه (Shelves)
تنظیم و پایش دما، فشار و زمان خشک شدن	سیستم کنترل (Control Panel)

## ۳. روش کار گام به گام (Step-by-Step Procedure)

این روش بر اساس SOP های استاندارد آزمایشگاهی معتبر تدوین شده است.

### مرحله ۰: آماده سازی ایمنی (PPE)

وسيله	دليل
دستکش عایق (عایق سرما)	محافظت در برابر دمای بسیار پایین Cold Trap و نمونه های منجمد
روپوش آزمایشگاهی	محافظت عمومی
عینک ایمنی	محافظت در برابر پاشش احتمالی هنگام تخلیه یا تمیزکاری
ماسک (اختیاری)	اگر نمونه حاوی مواد حساسیت زا یا پاتوژن است

### مرحله ۱: آماده سازی و پیش انجماد نمونه (Pre-Freezing)

مهم ترین مرحله برای موفقیت فرآیند: نمونه باید کاملاً منجمد باشد قبل از اعمال خلأ؛ در غیر این صورت، تحت خلأ به شدت می جوشد (Bumping) و ساختار آن تخریب می شود.

روش پیش انجماد	زمان مورد نیاز
فریزر معمولی (۲۰- درجه)	یک شب (over night) یا حداقل ۱۲ ساعت
فریزر فوق سرد (۸۰- درجه)	۳ تا ۴ ساعت
نیترژن مایع	چند دقیقه (برای نمونه های بسیار حساس)

### نکات آماده سازی نمونه:

- نمونه را در ظروف مناسب (ویال، لوله فالکون، پلیت) بریزید

- ضخامت نمونه حداکثر ۲ سانتی متر باشد
- هرچه سطح تماس نمونه بیشتر باشد، فرآیند خشک شدن سریع تر انجام می شود
- برای جلوگیری از پاشیده شدن، روی ظرف را با دستمال کیموپ + کش الاستیک یا پارافیلیم سوراخ دار بپوشانید
- نمونه های خیلی حجیم یا دارای املاح زیاد ممکن است اصلاً یخ نزنند و نیاز به نیتروژن مایع داشته باشند

---

## مرحله ۲: راه اندازی دستگاه (Startup)

۱. بررسی اولیه: از تمیز و خشک بودن محفظه و Cold Trap اطمینان حاصل کنید
۲. شیر تخلیه (Drain Valve) را محکم ببندید
۳. روغن پمپ خلأ را بررسی کنید: سطح روغن باید بین دو خط قرمز روی دیدباکس باشد
۴. دستگاه را روشن کنید (کلید پشت دستگاه)
۵. سیستم سردکننده (کندانسور) را روشن کنید: دکمه Condenser را بزنید

---

## مرحله ۳: انتظار برای رسیدن به دمای هدف (Cooling)

قانون طلایی: هرگز پمپ خلأ را قبل از رسیدن دمای Cold Trap به ۴۰- درجه سانتی گراد روشن نکنید.

- نمایشگر دما را کنترل کنید تا به کمتر از ۴۰- درجه سانتی گراد (ترجیحاً ۵۰- یا ۸۵- درجه) برسد
- این فرآیند معمولاً ۲۰ تا ۴۰ دقیقه طول می کشد
- در این مدت، نوع اتصال نمونه ها را انتخاب کنید:
  - درام (Drum): قفسه های فلزی داخل محفظه استوانه ای – مناسب برای ظروف مختلف
  - درخت (Tree): یک پایه عمودی با چندین اتصال شیشه ای – مناسب برای فلاسک های کروی

---

## مرحله ۴: بارگذاری نمونه و شروع خلأ (Loading & Vacuum)

۱. نمونه‌های پیش‌منجمد شده را از فریزر خارج کنید
۲. به سرعت (برای جلوگیری از ذوب شدن) ظروف را روی قفسه‌ها یا درخت قرار دهید
۳. درپوش اکریلیک (**Drum**) را محکم روی محفظه قرار دهید
۴. پمپ خلأ را روشن کنید: دکمه **Vacuum** را فشار دهید
۵. فشار را کنترل کنید:
  - در چند دقیقه اول، فشار باید به سرعت به زیر ۱۰۰ Torr برسد
  - پس از حدود ۱۵ دقیقه، فشار باید به کمتر از ۱۰۰ mTorr (حدود ۱۳ Pa) برسد
  - محدوده عملکرد ایده‌آل: ۰,۱ تا ۰,۳ میلی‌بار (۱۰ تا ۳۰ Pa)

## مرحله ۵: نظارت بر فرآیند خشک شدن (Monitoring)

- فرآیند لیوفیلیزاسیون معمولاً یک شب کامل (۱۲ تا ۲۴ ساعت) یا بیشتر طول می‌کشد
- به طور دوره‌ای بررسی کنید:
  - دما و فشار در محدوده مطلوب هستند
  - یخ تشکیل شده روی Cold Trap طبیعی است)
- برای نمونه‌های حجیم یا مرطوب، ممکن است نیاز به زمان بیشتری باشد
- اگر در میانه فرآیند نمونه‌ها ذوب شدند، فرآیند ناموفق بوده است

## مرحله ۶: پایان کار و خارج کردن نمونه (Shutdown)

ترتیب خاموش کردن دستگاه بسیار حیاتی است و اشتباه در آن می‌تواند به پمپ خلأ آسیب جدی وارد کند.

مرحله	اقدام	جزئیات
۱	شیرهای اتصال نمونه را ببندید (در مدل درختی)	برای جلوگیری از برگشت هوا به داخل نمونه‌ها
۲	شیر هوا ( <b>Vent Valve</b> ) را به آرامی باز کنید تا هوا وارد محفظه شود	بسیار آرام انجام دهید تا نمونه خشک شده پراکنده نشود
۳	پس از رسیدن فشار به اتمسفر، پمپ خلأ را خاموش کنید	هرگز پمپ را تحت خلأ خاموش نکنید (خطر برگشت روغن)
۴	سیستم سردکننده ( <b>Condenser</b> ) را خاموش کنید	دکمه Condenser را فشار دهید
۵	نمونه‌ها را خارج کنید	درپوش را به آرامی بردارید (از الوها به عنوان دستگیره استفاده نکنید)
۶	دستگاه را خاموش کنید (کلید پشت) و از برق بکشید	

## مرحله ۷: تمیزکاری و یخزدایی (Clean-up & Defrosting)

۱. Cold Trap را یخزدایی کنید:

- شیر تخلیه (Drain Hose) را بیرون بیاورید و داخل سطل قرار دهید
  - درپوش تخلیه را بردارید
  - آب ولرم (نه داغ) را به آرامی روی کویل‌ها بریزید تا یخ آب شود
  - تمام آب تخلیه شده را جمع‌آوری و در سینک مخصوص تخلیه کنید
۲. محفظه و قفسه‌ها را با دستمال کاغذی یا کیموپ خشک کنید
۳. شیر تخلیه را ببندید و شلنگ را در جای خود قرار دهید
۴. درپوش اکریلیک را بگذارید تا از ورود گرد و غبار جلوگیری شود

## ۴. عیب‌یابی مشکلات رایج (Troubleshooting)

مشکل	علت احتمالی	راه حل
نمونه ذوب/جوش می‌زند (Melt-back/Bumping) خلأ گرفته نمی‌شود	نمونه به طور کامل منجمد نشده بود	پیش‌انجماد کافی انجام دهید (یک شب در ۲۰- درجه)
فشار به مقدار مطلوب نمی‌رسد	روغن پمپ خلأ کهنه یا کم است	واشر درپوش یا اتصالات، واشرفرسوده واشر درپوش را بررسی کنید؛ از روش آب صابون برای یافتن نشستی استفاده کنید
زمان خشک شدن طولانی است	حجم نمونه زیاد، دمای Cold Trap بالا، فشار بالا	سطح روغن را بررسی کنید (بین دو خط قرمز)؛ در صورت نیاز تعویض کنید
روغن پمپ شیری/امولسیون شده	رطوبت وارد پمپ شده است	ضخامت نمونه را کاهش دهید؛ دما و فشار را بررسی کنید
یخ در Cold Trap بیش از حد ضخیم شده	ظرفیت Cold Trap پر شده	روغن را تعویض کنید؛ مطمئن شوید Cold Trap به درستی کار می‌کند
نمونه خشک شده از ظرف بیرون می‌پرد	شیر هوا (Vent Valve) خیلی سریع باز شده	فرآیند را زودتر متوقف کنید؛ در صورت نیاز یخزدایی میانی انجام دهید

## ۵. نگهداری روزانه و دوره‌ای (Maintenance)

دفعات	اقدام	جزئیات فنی
قبل از هر استفاده	بررسی سطح روغن پمپ خلأ	باید بین دو خط قرمز روی دیدباکس باشد
	بررسی واشر درپوش	سال، تمیز و عاری از ترک یا آلودگی
	بررسی شیر تخلیه	باید محکم بسته باشد
پس از هر استفاده	یخ‌زدایی Cold Trap	با آب ولرم؛ هرگز از جسم تیز برای خراشیدن یخ استفاده نکنید
	خشک کردن محفظه	با دستمال کیموپ یا پارچه بدون پرز
هفتگی	بررسی روغن پمپ از نظر رنگ و غلظت	روغن شیری = رطوبت؛ روغن سیاه = فرسودگی
	تمیز کردن درپوش و قفسه‌ها	با اتانول ۷۰٪ یا مواد شوینده ملایم
ماهانه	تست نشتی سیستم (Leak Detection)	با روش آب صابون یا تست فشار
	تمیز کردن کندانسور (مدل‌های هوا-خنک)	با هوای فشرده از داخل به خارج
هر ۵۰۰ ساعت کارکرد	تعویض روغن پمپ خلأ	روغن کهنه را تخلیه و مسیر روغن را بشوید
هر ۱-۲ سال	تعویض روغن انتقال حرارت (در مدل‌های پیشرفته)	تخلیه کامل و شستشوی مدار

## ۶. نکات ایمنی بسیار مهم

خطر	نکته ایمنی
سوختگی با سرما (Cold Burn)	هرگز پوست لخت با Cold Trap یا نمونه‌های منجمد تماس پیدا نکنند؛ از دستکش عایق استفاده کنید
Implosion (افروریختگی شیشه)	از ظروف بدون ترک و مناسب خلأ استفاده کنید؛ هرگز از ظروف با دیواره نازک استفاده نکنید
خطر بیولوژیکی (Biohazard)	اگر نمونه حاوی میکروارگانیزم یا ویروس است، قبل از لیوفیلیزاسیون غیرفعال کنید (با اتوکلاو یا مواد شیمیایی)
برگشت روغن پمپ (Backstreaming)	همیشه قبل از خاموش کردن پمپ، خلأ را خنثی کنید (Vent کنید)
فشار و کیوم بالا	محفظه تحت خلأ است - هرگز در حین کار درپوش را باز نکنید
تمیزکاری شیمیایی	از حلال‌های قابل اشتعال در مجاورت پمپ خلأ استفاده نکنید

## ❖ جمع‌بندی نهایی

خشک‌کن انجمادی یک ابزار قدرتمند و در عین حال حساس است که با حذف آب از طریق تصعید، ساختار و مواد مؤثر نمونه را حفظ می‌کند. با رعایت اصول زیر می‌توانید نتایج با کیفیت و عمر طولانی دستگاه را تضمین کنید:

- ❖ **پیش‌انجماد کامل** - مهم‌ترین عامل موفقیت؛ نمونه باید کاملاً یخ زده باشد
- ❖ **Cold Trap** سرد - هرگز پمپ را قبل از رسیدن به  $-40^{\circ}\text{C}$  درجه روشن نکنید
- ❖ **ترتیب خاموش کردن** - همیشه اول Vent کنید، بعد پمپ را خاموش کنید تا روغن برگشت نکند
- ❖ **ضخامت نمونه کم** - حداکثر ۲ سانتی‌متر برای خشک شدن یکنواخت
- ❖ **نگهداری پمپ خلأ** - سطح روغن را چک کنید و هر ۵۰۰ ساعت تعویض کنید
- ❖ **ثبت اطلاعات** - تاریخ، کاربر، نمونه و مدت زمان را در لاگ‌بوک ثبت کنید