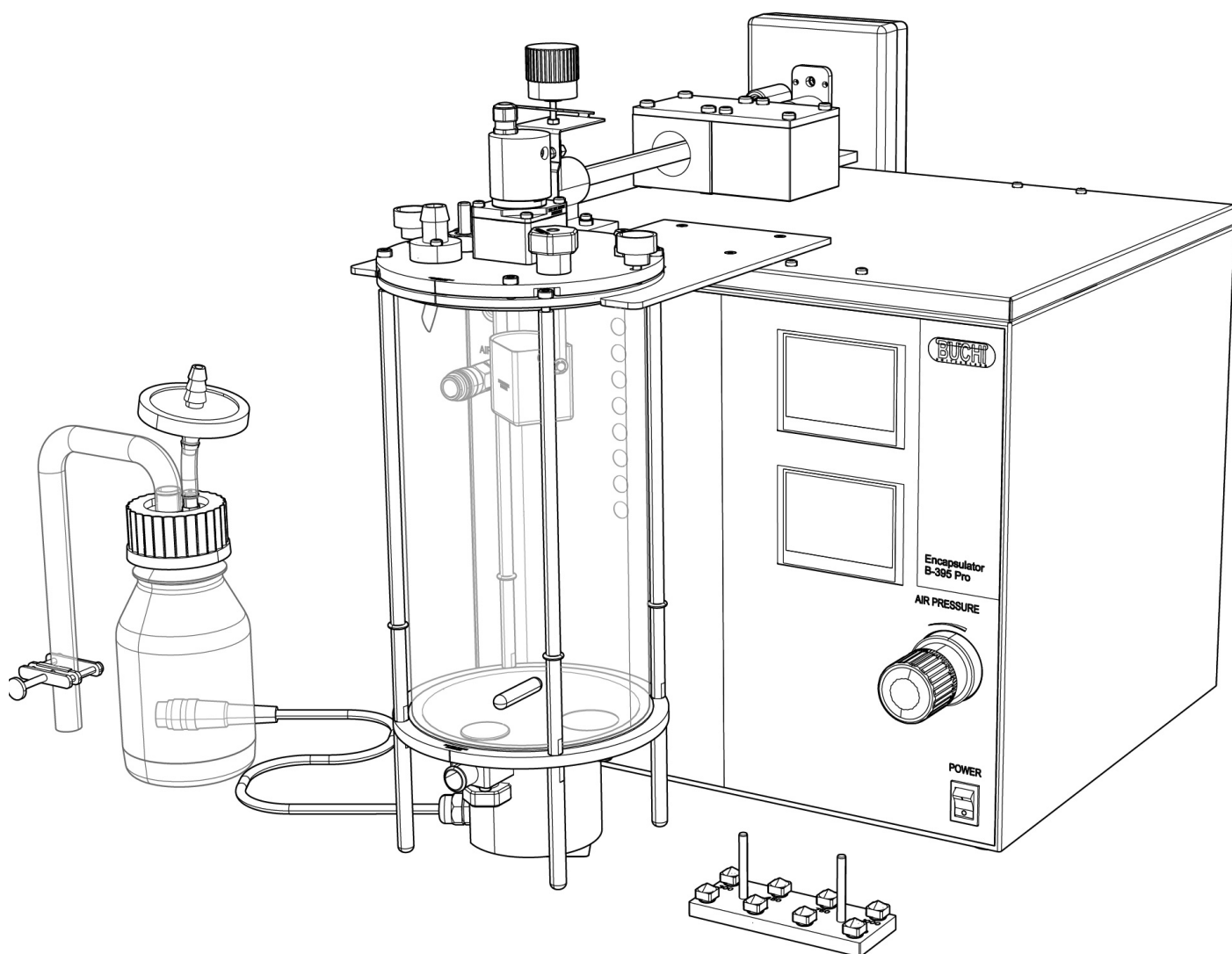




Encapsulator B-395 Pro

操作手册



11593490E zh

操作手册 () Encapsulator B-395 Pro
11593490E zh

05.2016
BÜCHI Labortechnik AG
Meierseggstrasse 40
Postfach
CH-9230 Flawil 1

电子邮件: quality@buchi.com

BÜCHI 保留按照今后所取得的经验对本手册按需进行更改的权利。这一点尤其适用于结构、插图和技术细节。

本操作手册受版权保护。不允许对其中所包含的信息进行复制、销售或用于竞争目的, 或向第三方提供。同样禁止在事先未获得书面许可的情况下, 利用本手册制造任何部件。

目录

1	关于本手册	5
2	安全	6
2.1	用户资质	6
2.2	正确使用	6
2.3	不当使用	6
2.4	本手册中使用的安全警告和安全信号	7
2.5	产品安全	9
2.5.1	一般危害	9
2.5.2	安全措施	10
2.5.3	内置安全元件和措施	10
2.6	常规安全规则	11
2.7	免责声明	11
3	技术参数	12
3.1	应用和交货范围	12
3.1.1	标准仪器	12
3.1.2	标准附件	13
3.1.3	选配件	14
3.1.4	推荐备件	14
3.2	技术参数	15
3.3	使用材料	15
4	功能描述	16
4.1	功能原理	16
4.2	微胶囊造粒仪 B-395 Pro 的连接	18
5	投入操作	19
5.1	安装场地	19
5.2	安装微胶囊造粒仪 B-395 Pro	20
5.3	电气连接	21
5.4	组装反应容器	22
5.4.1	盖板	23
5.4.2	底板	27
5.4.3	液珠收集瓶	29
5.5	泵送系统	30
5.5.1	注射泵	30
5.5.2	压力瓶	31

在安装和运行系统之前，请仔细阅读本手册，尤其要注意第 2 章中的安全预防措施。请将手册放在仪器附近，以便随时取阅。

未经 BUCHI 书面许可，不得对仪器进行技术改造。擅自改造可能会影响系统安全，破坏欧盟合规性或引发事故。

本手册受版权保护。不得复制、传播或使用本手册中的信息用于竞争目的，也不得提供给第三方。

未经事先书面许可，不得借助本手册制造任何部件。

手册原版是英语，以此为基础翻译成其他语言。

5.5.3	安装压力瓶	32
5.6	选配件：同心喷嘴系统	33
5.6.1	安装 CN 喷嘴	35
5.7	微胶囊造粒仪 B-395 Pro 的所有零件	36
5.8	最终安装检查	36
6	操作	37
6.1	开启仪器	37
6.2	主画面	37
6.3	控制单元的菜单结构	38
6.4	上触摸屏的菜单功能	39
6.5	下触摸屏的菜单功能	41
6.5.1	注射泵校准菜单	42
6.5.2	选择一个已校准的注射器	43
6.6	手动气压控制	44
6.7	注射泵使用	45
6.7.1	校准注射泵	45
6.7.2	选择一个预先校准的注射器	45
6.8	使用微胶囊造粒仪练习 (用水)	46
6.8.1	使用该注射泵	46
6.8.2	使用该压力瓶	49
6.9	使用微胶囊造粒仪练习 (用未灭菌藻酸盐溶液)	52
6.9.1	制备 1.5 % 海藻酸钠溶液	52
6.9.2	使用注射泵	53
6.9.3	使用压力瓶	56
6.10	使用微胶囊造粒仪练习 (使用成套反应容器)	58
6.11	反应容器加热灭菌	60
6.12	压力瓶灭菌	60
6.13	微生物包埋到藻酸钙液珠中的包埋过程	61
6.14	藻酸盐-PLL-藻酸盐膜微胶囊实验方法	63
6.15	理论背景	66
6.15.1	造粒能力和细胞密度	68
7	维护和维修	71
7.1	客户服务	71
7.2	外壳状况	71
7.3	密封件状况	71
7.4	清洁	72
7.4.1	在每次包埋之后清洁喷嘴	72
7.4.2	清洁堵塞的喷嘴	73
7.4.3	清洗反应容器及其他容器	73
8	故障检测	74
8.1	故障及解决措施	74
9	关机、存储、运输和处置	75
9.1	存储和运输	75
9.2	处置	76
10	声明和要求	77
10.1	FCC 要求 (适用于美国和加拿大)	77
10.2	健康与安全声明	78
10.3	一致性声明	79

1 关于本手册

本手册介绍微胶囊造粒仪 B-395 Pro。它提供了安全操作仪器，使其保持良好工作状态所需的所有必要信息。专供实验室人员使用。

如果未按本手册指定的方式使用仪器，可能会损坏仪器提供的保护功能。

缩写

<i>EPDM</i>	三元乙丙橡胶
<i>FEP</i>	氟橡胶
<i>PTFE</i>	聚四氟乙烯

2 安全

本章指出了仪器的安全须知，包括常规行为准则和有关产品使用的直接和间接危险警告。为了用户的安全，须严格遵守各章的所有安全指南和安全信息。因此，执行手册中所述任务的人员必须人手一本此手册。

2.1 用户资质

仪器仅供实验室人员以及接受过培训、具备专业知识并了解仪器操作中存在的各种危险的其他人员使用。

未经培训或正在接受培训的人员须在有资质人员的监管下操作。本操作手册可作为培训的基本资料。

2.2 正确使用

微胶囊造粒仪 B-395 Pro 按照实验室仪器标准设计和制造。

微胶囊造粒仪 B-395 Pro 是一种半自动仪器，用于在灭菌和非灭菌条件下使用聚合物包埋化学物质、生物分子、药品、香料和芳香剂、色素、提取物、细胞和微生物。液珠的形成原理是，在一个最佳振动频率下，将受控的层流液体射流分解成大小均匀的液珠。

微胶囊造粒仪 B-395 Pro 正是提供了这样的受控条件，可生成 0.15 至 2 mm 大小的液珠。该仪器尤其适用于包埋尺寸 $< 50\ \mu\text{m}$ 的颗粒。

如果仪器使用潜在有毒或有害物质，必须将仪器安装在密闭的通风橱或隔离箱中。在这些情况下，必须在通风的柜箱内执行整个过程和系统处理，以避免对用户和环境造成毒害或其他危险情况。

2.3 不当使用

第 2.2 节中未提及的应用均为不当使用。不符合技术参数 (参见本手册第 3 章) 的应用均为不当使用。

操作员须自行承担不当使用而导致的损失或危险！

明令禁止下列使用：

- 在需要防爆仪器的室内安装或使用本仪器。

2.4 本手册中使用的安全警告和安全信号

危险、警告、小心和注意是标准警示词语，用于标识可导致人身伤害和财产损失的风险等级。所有与人身伤害相关的警示词语都附有通用安全标志。

为了您的安全，请务必阅读并完全理解下表中各警示词语及其定义！

标志	警示词语	定义	风险等级
	危险	指示如若不避免将导致死亡或重伤的危险情况。	★★★★★
	警告	指示如若不避免可能导致死亡或重伤的危险情况。	★★★★☆
	小心	指示如若不避免可能导致轻度或中度受伤的危险情况。	★★☆☆☆
无	注意	指示可能导致财产损失，但实际情况中未曾出现人身伤害的情况。	★☆☆☆☆ (仅财产损失)

警示词语和补充文本左侧的矩形框中可能添有补充安全信息图标 (参见下例)。

补充安全信息图标的位置。	 警示词语
	补充文本，说明危害/风险严重性的种类和程度。 • 避免发生此处所述危险或危险情况的预防措施列表。 • ... • ...

补充安全信息图标表格

以下参考列表中包含本手册中使用的所有安全信息图标及其含义。

图标	含义
	一般警告
	电气危险

	爆炸性气体、爆炸性环境
	对生物有害
	设备损坏
	高压气体/空气
	穿戴实验室防护服
	佩戴护目镜
	佩戴防护手套

附加用户信息

以“提示”开头的段落提供设备/软件或其组件操作的帮助信息。“提示”内容与危险或损失无关 (参见下例)。

提示

快捷操作仪器/软件的有用技巧。

2.5 产品安全

本手册中的安全警告 (见第 2.4 节所述) 用于提醒用户, 并为用户提供相应的应对措施, 以避免因残余危险因素导致的危险情况。但仪器损坏、操作粗心或使用不当仍会使用户、财产和环境承受风险。

2.5.1 一般危害

以下安全消息显示的是在搬运仪器时可能出现的一般危害情况。用户应当遵守列出的所有应对措施, 以达到和保持最低危害水平。

当本手册中所述的操作和情况会导致危害处境时, 将提供附加警告信息。

 	 警告 在爆炸性环境中使用可导致死亡或重伤。 - 不要在爆炸性环境中操作仪器。 - 不要在仪器中使用爆炸性气体混合物。 - 在操作前, 检查所有气体连接是否安装正确。 - 充分通风, 直接抽走释放的气体 and 气态物质。
 	 警告 喷嘴堵塞会导致进气系统中的压力增大。 这会造成进气系统爆炸。 使用时接触或摄入有害物质可导致重度中毒或死亡。 使用后应立即清洁喷嘴, 参见第 7.4 节。
	 警告 接触高压电将导致重伤或死亡。 只有在关闭机器并拔下插头后才可打开产品外壳。
	注意 液体有导致仪器短路和损坏的风险。 - 不要将液体溅落在仪器或其零件上。 - 立即擦去任何液体。 - 确保安全放置样品容器。 - 当仪器装有液体时不要移动仪器。 - 保持外部振动源远离仪器。

	注意 电源错误有损坏仪器的风险。 • 外部电源必须符合铭牌上规定的电压。 • 检查是否充分接地。
	注意 移动注射泵单元有损坏实验室玻璃或器皿的风险。 • 不要在微胶囊造粒仪上放置任何实验室玻璃或其它器皿。

2.5.2 安全措施

操作仪器时应始终佩戴个人防护设备，例如护目镜、防护服和手套。

2.5.3 内置安全元件和措施

高压和静电荷

- 安全电流限制。
- 通过内部接地捕捉静电荷。

空气/气体

- 过压安全阀 (1.5 bar 时打开)。

2.6 常规安全规则

操作员的职责

实验室负责人应负责培训员工。

如果在仪器操作期间发生任何安全相关的事故，操作员应立即通知制造商。必须严格遵守仪器相关的法律法规，例如，联邦、州和当地法律。

维护和保养责任

操作员应负责确保仪器良好的工作状况，并定期仅由授权人员执行维护、检修和维修工作。

要使用的备件

维护只能使用原装消耗品和原装备件，以确保系统优良的性能和可靠性。只有在事先得到制造商书面许可之后，才允许改造所使用的备件。

改造

只有在事先咨询制造商并得到书面许可之后，才允许改造仪器。改造和升级只能由授权的 BUCHI 技术工程师执行。对于擅自改造所导致的索赔请求，制造商概不负责。

2.7 免责声明

操作员应自行负责微胶囊造粒仪所生产的任何材料的使用和销售。

3 技术参数

本章向读者介绍仪器及其技术规格，包括交货范围、技术参数、要求和性能数据。

3.1 应用和交货范围

微胶囊造粒仪 B-395 Pro

- 可在密闭反应容器 (集成有注射泵) 中的
- 无菌工作条件下使用。

交货范围仅可根据相应的提货单和所列的订货号进行核对。

提示

关于所列产品的更多信息，请参见 www.buchi.com 或联系当地的经销商。

3.1.1 标准仪器



表 3-1：标准仪器

产品	订货号
微胶囊造粒仪 B-395 Pro 50 – 60 Hz, 100 – 240 V	11058220
微胶囊造粒仪 B-395 Pro 50 – 60 Hz, 100 – 240 V 带有 GMP 文档	11058230

成套微胶囊造粒仪 B-395 Pro 系统配有集成注射泵、磁力搅拌器及密闭反应容器，适用于无菌过程。

3.1.2 标准附件

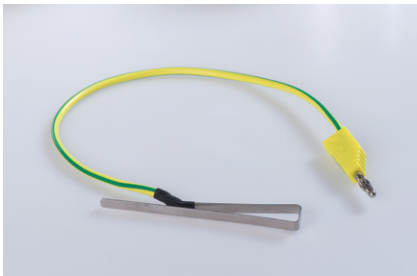


表 3-2: 标准附件

产品	订货号
反应容器	11057890
反应容器 带有 GMP 文档	11057879

整套可高温高压消毒的反应器由玻璃及不锈钢制成，用于无菌生产及微胶囊的收集，工作容量为 2 升。

单喷嘴 8 件套	11057918
单喷嘴 8 件套，分别有 0.08、0.12、0.15、0.20、0.30、0.45、0.75 和 1.00 mm 高精度开口，由 316L 不锈钢制成，包括喷嘴支架	

500 mL 压力瓶	11058190
1,000 mL 压力瓶	11058191

玻璃瓶，带接头、管线和空气过滤器，最大工作压力达 1.5 bar，可高温高压消毒

接地套件	11058189
------	----------

操作手册 (英文版)	11593484
------------	----------

3.1.3 选配件



表 3-3: 选配件

产品	订货号
同心喷嘴套件	11058051
外部喷嘴 7 件套, 分别有 0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7 和 0.9 mm 高精度开口, 由不锈钢制成, 包括 1,000 mL 压力瓶	

3.1.4 推荐备件

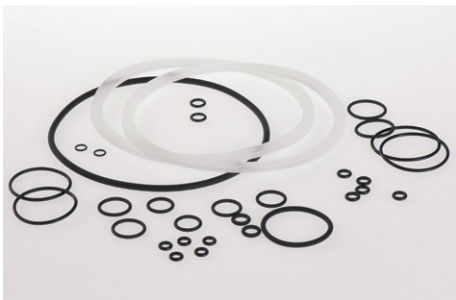
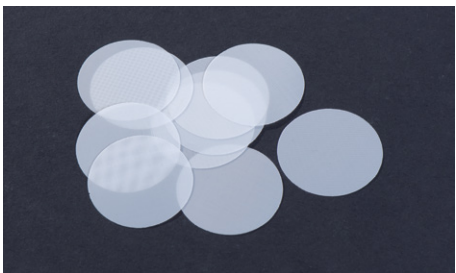


表 3-4: 推荐备件

产品	订货号
单喷嘴 O 形圈套件	11057954
同心喷嘴 O 形圈套件	11057955
反应容器 O 形圈套件	11057970



喷嘴预过滤片, 直径 7 mm (10 片)	11057957
反应容器排水过滤片, 直径 35 mm (10 片)	11057958

3.2 技术参数

表 3-5: 微胶囊造粒仪 B-395 Pro 技术参数

功率消耗	最高 150 W
连接电压	100 – 240 VAC
电源电压波动	最高为标称电压的 $\pm 10\%$
频率	50/60 Hz
保险丝	3.15 A
尺寸 (宽 × 高 × 深)	32×38×48 cm
重量	11 kg
单 (= 芯材) 喷嘴的喷嘴直径	0.08、0.12、0.15、0.20、0.30、0.45、0.75 和 1.00 mm
壁材喷嘴的喷嘴直径	0.20、0.30、0.40、0.50、0.60、0.70 和 0.90 mm
液滴粒径范围	0.15 至 2.00 mm
振动频率	40 至 6,000 Hz
电极张力	250 至 2,500 V
注射泵速率	0.01 至 50 mL/min
气压泵速	0.5 至 200 mL/min
系统中允许的最大气压	1.5 bar
反应器总体积	4.5 L
反应器工作体积	2 L
与介质接触的零件	可高温高压消毒
无菌工作条件	完全
过压类别	II
污染级	2
环境 条件:	
温度	5 – 40 °C 仅限室内使用
海拔高度	最高 2,000 m
最大相对湿度 (曲线参数)	31 °C 以下最高相对湿度 80 %, 40 °C 时相对湿度线性下降至 50 %

表 3-6: 材料和认证

与样品接触的材料	不锈钢、硅树脂、玻璃、FEP、PTFE
认证	CE、CSA

3.3 使用材料

表 3-7: 使用材料

部件	材料描述
反应器	不锈钢、3.3 硼硅玻璃、FEP、PTFE 密封件: 硅树脂、EPDM
喷嘴	不锈钢、密封件: EPDM
压力瓶	不锈钢、3.3 硼硅玻璃、FEP、PTFE 密封件: 硅树脂、EPDM

4 功能描述

本章介绍了微胶囊造粒仪 B-395 Pro 的基本工作原理。还展示了仪器的结构组成，并提供了各组件的常规功能描述。

4.1 功能原理

仪器主要提供下列功能：

密闭反应容器中的无菌工作条件

- 可高温高压消毒反应容器中的无菌容器。

根据不同产品制造不同大小的可再生液珠

- 通过可调参数 (喷嘴大小，液体流速和振动频率) 确定液珠的大小。

可再生液珠成形

- 范围为 0.15 mm 至 2.0 mm。

液珠大小高度均匀

- 采用集成静电分散单元 (EDU)；使用纯藻酸盐，液珠大小的相对标准偏差仅有约 5 %。

即时过程控制

- 通过频闪灯进行可视化监视。

高细胞活性

- 液珠成形技术使用极低的剪应力并在生理条件下完成，因而细胞活性极高。

批量大小

- 使用注射器时，批量大小为 2 mL 至 60 mL，系统死体积约为 0.5 mL。使用气压抽取时，批量大小为 5 mL 至 1,000 mL，系统死体积约为 2 mL。

单喷嘴 8 件套

- 8 个喷嘴尺寸分别为 0.08、0.12、0.15、0.20、0.30、0.45、0.75 和 1.0 mm，涵盖了大约 0.15 mm 至 2.0 mm 的液珠尺寸范围。

产出聚合物混合物

- 通过集成注射泵或气压将流速控制在 70 mL/h (0.08 mm 喷嘴) 至 2,500 mL/h (1.0 mm 喷嘴) 之间。

高造粒能力

- 根据包埋条件和聚合物混合物种类，每秒最多可制造 6,000 颗液珠。

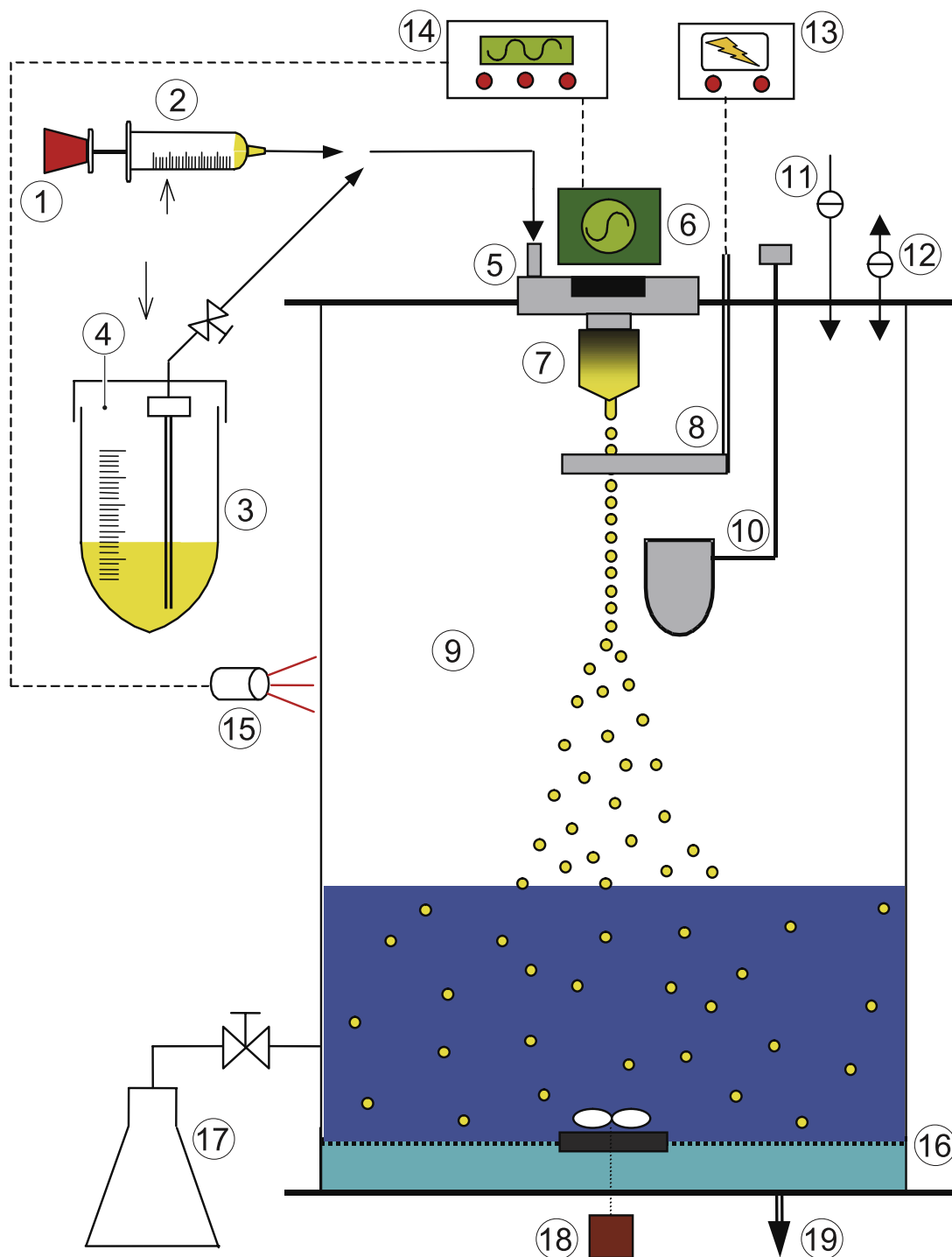


图 4-1：微胶囊造粒仪 B-395 Pro 示意图

- ① 注射泵
- ② 注射器
- ③ 压力瓶
- ④ 气压控制
- ⑤ 脉动腔体
- ⑥ 振动系统
- ⑦ 喷嘴
- ⑧ 电极
- ⑨ 反应容器
- ⑩ 旁通杯

- ⑪ 液体过滤器
- ⑫ 空气过滤器
- ⑬ 静电电荷发生器
- ⑭ 频率发生器
- ⑮ 频闪灯
- ⑯ 过滤网格
- ⑰ 液珠收集瓶
- ⑱ 磁力搅拌器
- ⑲ 废料口

微胶囊造粒仪 B-395 Pro 的主要零件为控制单元，包括注射泵、电气和气动系统以及反应容器。仪器中直接接触液珠的所有零件均可使用高压灭菌法消毒。

要包埋的产品 (细胞、微生物或其他生物制剂及化学品) 与包埋聚合物 (通常是藻酸盐) 进行混合，然后将混合物投入到注射器 ② 或压力瓶 ③ 中，参见 图 4-1。通过注射泵 ① 或气压 ④ 将聚合物产品混合物压入脉动腔体 ⑤。然后液体流经精确钻孔的喷嘴 ⑦，流出后分成等大的液滴。这些液滴流经喷嘴 ⑦ 和电极 ⑧ 之间的电场，致使其表面带电。随着它们滴落到固化溶液中，静电斥力将液珠分散开来。

液珠尺寸

液珠尺寸由多个参数进行控制，包括振动频率、振幅、喷嘴尺寸、流速和聚合物产品混合物的物理属性。海藻酸钙液珠尺寸通常为喷嘴直径的两倍。但根据射流速度和振动频率的不同，可在大约 $\pm 15\%$ 范围内调节。

液珠成形参数是否最佳可通过频闪灯 ⑮ 实时观察液珠成形结果进行监视。当达到最佳参数时，可清晰地看到一条竖直的液滴链。一旦确定最佳参数后，便可将其作为相同聚合物产品混合物后续造粒过程的预设值。生产过程开始及结束时所生成的质量较差的液珠驻留在旁通杯中 ⑩。

根据所设置各种变量，每秒产生 50 至 5,000 个液珠，并收集到反应容器的固化溶液中 ⑨。磁搅拌杆不断搅拌反应容器中的溶液 ⑯，以防液珠凝结。此外，反应容器和/或溶液必须电气接地。在生产过程结束时，排出固化溶液 (废料口 ⑰)，液珠会被滤网滤出 ⑱。通过无菌过滤器无菌添加冲洗溶液或其他反应溶液 ⑪。液珠可进一步加工成微胶囊，或转移到液珠收集瓶 ⑲。

4.2 微胶囊造粒仪 B-395 Pro 的连接

前侧连接 (参见图 5-2)

- 主开关
- 排气口
- 电压
- 地线

后侧连接 (参见图 5-1)

- 电源
- 进气口
- 磁力搅拌器
- 振动
- 选配插头

5 投入操作

本章介绍如何安装仪器。本章还提供了初次启动的指导说明。

提示

拆箱时检查仪器是否损坏。如有必要，立即编写状态报告，通知邮递公司、铁路公司或运输公司。妥善保管原始包装，以供将来运输使用。

5.1 安装场地

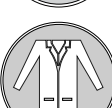
将仪器放置在稳固的水平表面上。需要考虑产品的最大尺寸和重量。安装仪器时，必须确保主开关和电源插头可随时方便地进行操作。
根据第 3.2 节“技术参数”所述确定环境条件。



警告

在爆炸性环境中使用可导致死亡或重伤。

- 不要在爆炸性环境中操作仪器。



警告

接触或摄入有害物质可导致重度中毒或死亡。

- 佩戴护目镜。
- 佩戴安全手套。
- 穿戴实验室防护服。
- 彻底清洁仪器和所有附件，清除可能有危险的物质。
- 不要使用压缩空气清洁脏污的零件。
- 仪器及其附件应保存在干燥的场所。

5.2 安装微胶囊造粒仪 B-395 Pro

将仪器放置在实验台上，使其能够方便地连接到交流电插座和压缩气体。放置仪器时确保可随时快速拔下电源插头。

安装磁力搅拌器、振动单元及接地导线

连接磁力搅拌器、振动单元及接地导线，如图 5-1 和 5-2 所示。

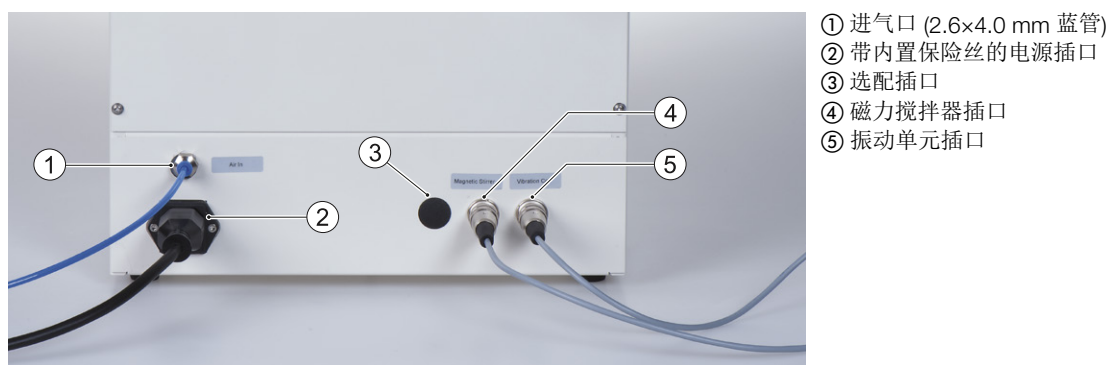


图 5-1: 控制单元后视图

造粒的所有控制系统都集成在控制单元中。振动频率、泵送速率、光强度、静电分散和磁力搅拌器都可在两个触摸屏上进行控制。气压使用压力调节阀进行调节。使用集成频闪灯可进行实时射流破碎控制。振动单元通过导线连接到后面板的控制单元上。反应容器通过两个螺丝连接到反应器固定架上。



图 5-2: 控制单元前视图

安装气体管线

每台微胶囊造粒仪包含一根 3 m 长的气管 (2.6×4.0 mm)，可使用它连接外部压缩气体或氮气。

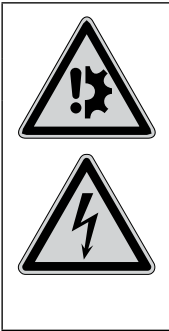
- 1. 将气管插入进气插头中。
- 2. 将气管另一端连接到外部气源。
- 3. 运行仪器时，以 1.5 至 2 bar (23 至 30 psi) 的压力向微胶囊造粒仪送气。

提示

集成气动系统 (阀和接头) 在进气口最高可耐受 7 bar (100 psi) 的压力。压力调节阀之后集成了一个过压安全阀，当压力达到 1.5 bar 时，过压安全阀将打开，因而出气口的最大气压为 1.5 bar。但其工作范围为 0 至 1 bar。

5.3 电气连接

确认控制单元铭牌上标明的电气要求与当地电网电压相符。将微胶囊造粒仪的电源插头连接到电源。

	 小心 电源错误有损坏仪器的风险。 • 外部电源必须符合铭牌上规定的电压。 • 检查是否充分接地。 • 为满足当地法律法规，可能必须采取附加电气安全措施 (例如漏电断路器)! 外部连接和延长线必须具有接地导线 (3 极耦合、电源线或插头设备)。使用的所有电源线都必须配有模制插头，以免疏忽不当的接线造成危险。
--	--

5.4

组装反应容器

反应容器形成了一个可高温高压消毒的密闭单元，液珠在无菌环境中生成，并可按需要进一步处理



图 5-3: 反应容器概览

反应容器主要零件:

1. 不锈钢盖板 (带电极)、旁通管、进液口及换气过滤器
2. 造粒单元
3. 喷嘴
4. 玻璃圆筒
5. 不锈钢底板，带液珠排放阀
6. 液珠收集瓶

5.4.1 盖板

盖板的所有零件在发货时已安装到位。使用前，请仔细清洗盖板。每次使用后，拆下造粒单元及喷嘴。用水、适当清洁剂或溶剂 (根据所使用的固化混合物的特性) 清洗，用水冲洗并晾干。搬运造粒单元时，请小心操作，以防损坏 PTFE 隔膜。

其他零件应根据需要拆卸。用清洁剂清洗，用水冲洗并晾干。

重新组装时，应检查扁平接头及 O 形圈密封圈的完整性，如必要应注意更换。

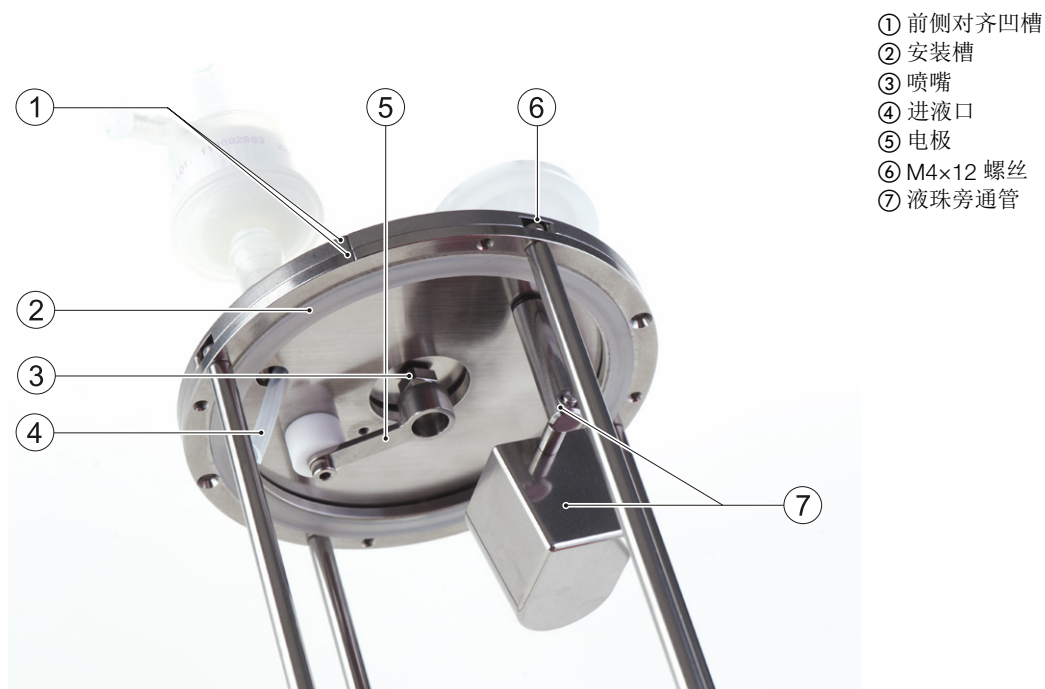


图 5-4: 安装好的盖板底部视图

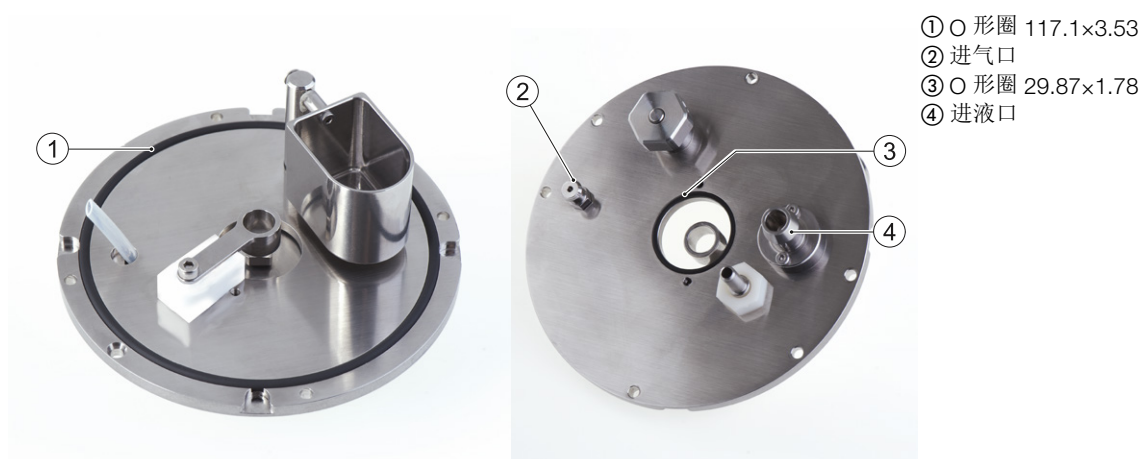
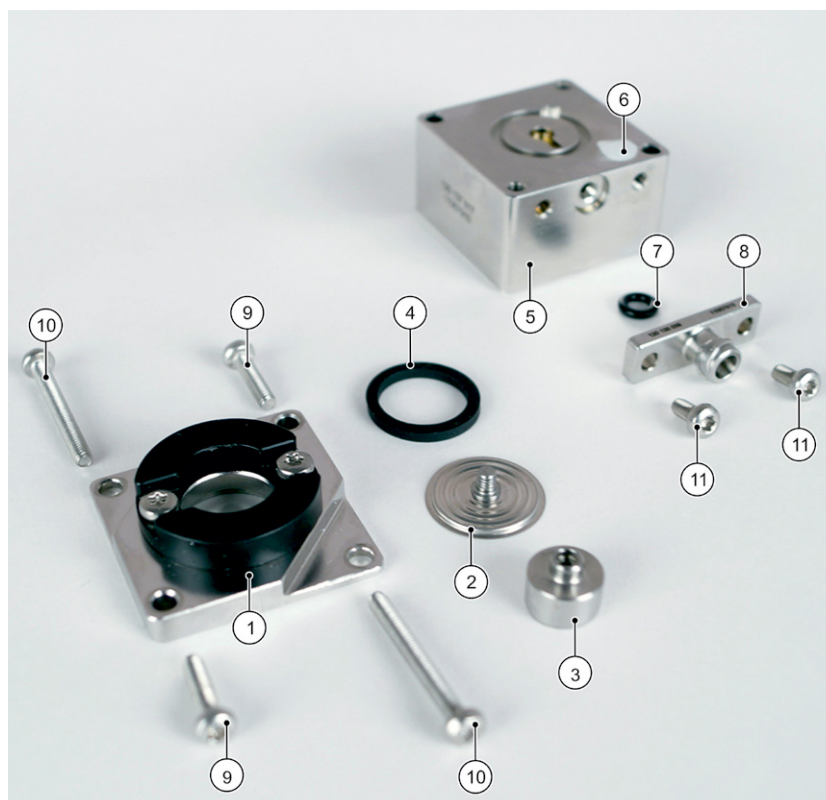


图 5-5: 盖板的底部视图 (左图) 及顶部视图 (右图)

5.4.1.1 造粒单元及喷嘴



- ① 磁底座 *
- ② 膜
- ③ 磁铁
- ④ O 形圈 (14×1.78)
- ⑤ 脉动腔体
- ⑥ 预过滤片, 带 50 µm 筛孔
- ⑦ O 形圈 (3.68×1.78)
- ⑧ 鲁尔锁
- ⑨ M3×8 螺丝
- ⑩ M3×25 螺丝
- ⑪ M3×6 螺丝

* 已装上固定环和 M3×5 螺丝
您可在清洁时拆除固定环。

图 5-6: 造粒单元的零件

高质量喷嘴是造粒均匀一致的关键。微胶囊造粒仪喷嘴采用最新技术精确钻孔。每台微胶囊造粒仪 B-395 Pro 均附带喷嘴 8 件套；喷嘴孔径尺寸分别为 80、120、150、200、300、450、750 µm 和 1.0 mm。它们完全由不锈钢制成。



图 5-7: 喷嘴支架上的喷嘴 8 件套

喷嘴支架包含 8 个喷嘴 (80、120、150、200、300、450、750 µm 和 1.0 mm)。O 形圈的尺寸为 4.47×1.78。

5.4.1.2 电极



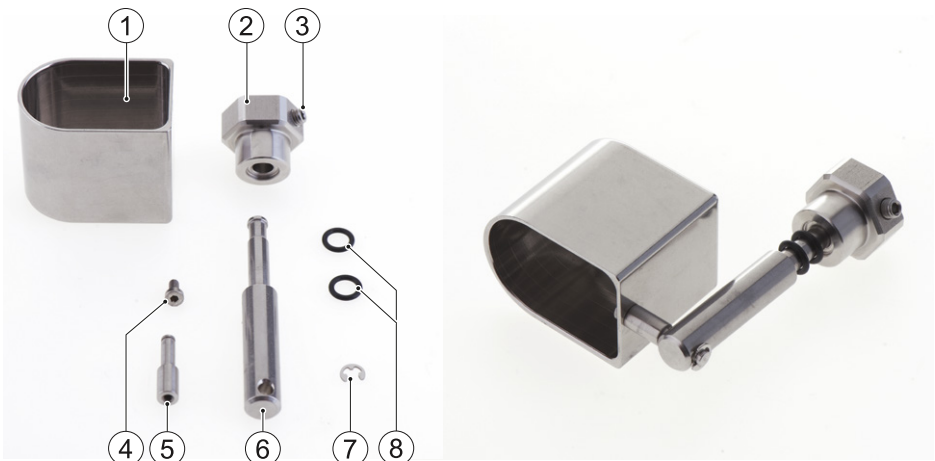
- ① 螺母 M10 (聚酰胺)
- ② O 形圈 (10.82×1.78)
- ③ 绝缘子
- ④ 电极
- ⑤ 连接件
- ⑥ M4×12 螺丝

图 5-8: 电极及连接元件

电极带有细长环可表示向下或向上，这样喷嘴与电极的间距不尽相同。在生产小液珠的过程中，如果所用溶液的粘度较低时，建议喷嘴与电极之间保留较小间距。在生产大液珠 (大约 > 800 μm) 过程中，建议保留较大间距。液珠从液体射流分离应在电极环内部静电场最强处或者在电极与喷嘴之间的空隙处进行，具体情况取决于材料属性。

5.4.1.3 液珠旁通管系统

液珠旁通管系统可用于在包埋开始及结束时剔除不稳定流所生成的液珠。



- ① 旁通杯
- ② 旋钮
- ③ 螺丝 M5×8
- ④ 螺丝 M3×6
- ⑤ 辅轴
- ⑥ 主轴
- ⑦ 夹子
- ⑧ O 形圈 (6.1×1.6)

图 5-9: 液珠旁通管系统 – 分解图 (左图), 组装后视图 (右图)

5.4.1.4 空气过滤器



图 5-10: 空气过滤器 – 分解图 (左图), 组装后视图 (右图)

5.4.1.5 液体过滤器



图 5-11: 液体过滤器 – 分解图 (左图), 组装后视图 (右图)

5.4.2 底板

带有两个排液口的底板可起到双重功能。其中一个可在更换包埋试剂时从反应容器中滤出液珠，另一个为排放阀，可用来收获液珠而不会破坏无菌性。

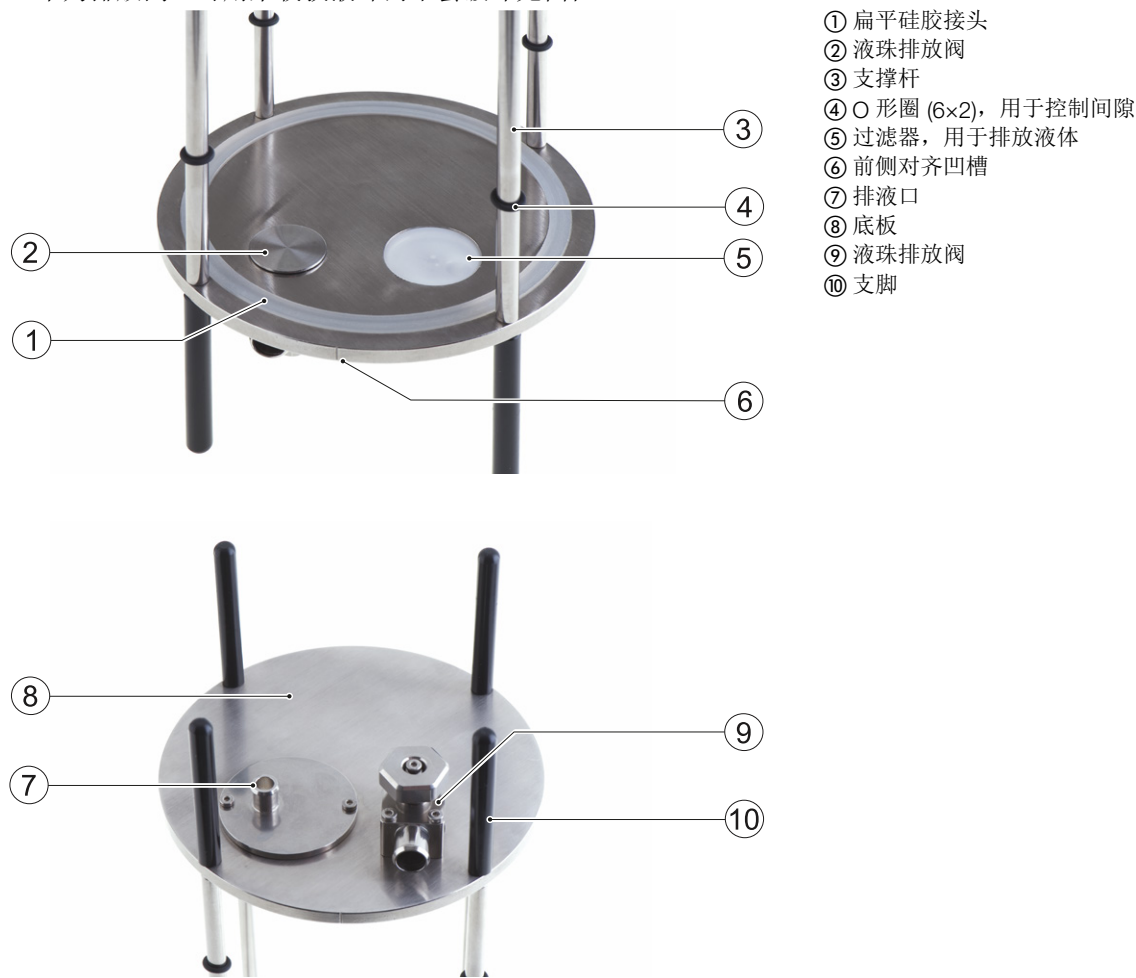
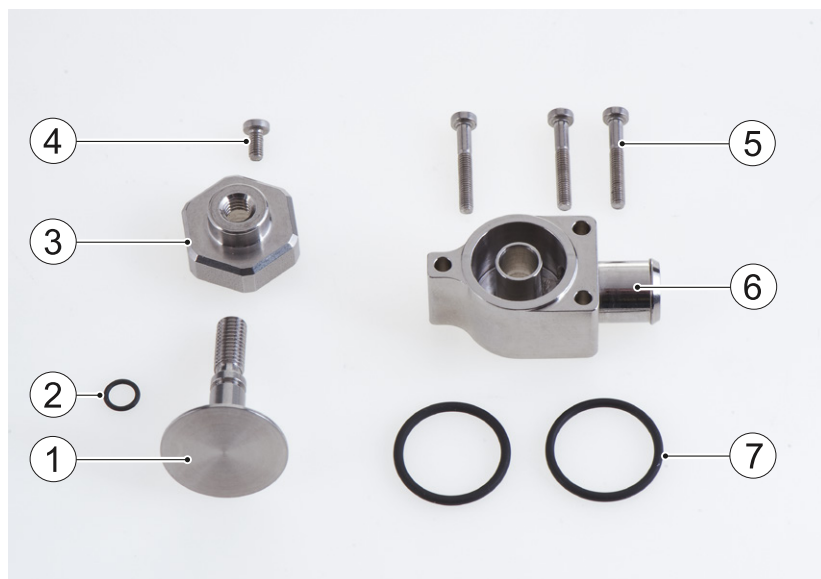


图 5-12: 底板顶部视图 (上图) 及底部视图 (下图)

5.4.2.1 液珠排放阀



- ① 活塞
- ② O 形圈 (5×1)
- ③ 阀门旋钮
- ④ 螺丝 M3×6
- ⑤ M3×20 螺丝
- ⑥ 收获阀 (BT 14)
- ⑦ O 形圈 (18.77×1.78)

图 5-13: 液珠排放阀零件

5.4.2.2 排水系统



- ① 排水板
- ② O 形圈 (34.65×1.78)
- ③ 螺丝 M3×6
- ④ 滤网, 直径 35 mm,
100 μm 筛孔

图 5-14: 排水系统零件

提示

首次高压灭菌时, 滤网会缩小 1 % 至 2 %。在此之后, 尺寸保持稳定。

5.4.3 液珠收集瓶

造粒完成及液珠处理完成后，液珠直接通过液珠收获阀传送到液珠收集瓶。液珠将会无菌传送到其他容器。图 5-15 显示了液珠收集瓶的拆卸和组装。



图 5-15: 液珠收集瓶，用于无菌收获以及液珠和胶囊的传送。液珠收集瓶连接到反应容器的阀门

- | | |
|------------------|---------------------|
| ① 250 mL 收集瓶 | ⑤ 收集瓶盖板 |
| ② 空气过滤器，参见图 5-10 | ⑥ O 形圈 (31.42×2.62) |
| ③ 导管夹 | ⑦ 有孔盖 |
| ④ 硅树脂管 10×14 | |

5.5 泵送系统

微胶囊造粒仪 B-395 Pro 提供了两套固化混合物泵送系统：

- 通过一定容量注射泵
- 通过压力瓶中的气压

注射泵主要用于：

1. 小容量 (< 60 mL)。
2. 每次运行时均需极为精确地控制液体流速的情形
3. 所需极小的系统死体积 (大约 0.5 mL)。

建议使用气压泵送系统：

1. 需要大容量 (> 60 mL) 时。
2. 使用高流速生产大液珠时，情况与使用喷嘴直径 > 300 μm 时相似。

两套系统可配合同心喷嘴系统使用。芯材液体通过注射泵抽出，壁材液体通过气压抽出。当然，也可通过“T”型或“Y”连接器将气体管线分成两股，这样即可使用两个气压瓶。

5.5.1 注射泵

注射泵可用于一定容量产出系统。可极为精确地输送固化混合物。可使用大多数品牌的塑料注射器。(不建议使用玻璃注射器！)每种注射器类型可使用集成注射器校准系统单独校准 (参考章节 6 “运行”)。使用预灭菌注射器可更加方便地进行无菌操作。
根据注射器尺寸，泵出速度范围为：0.01 mL/min 至 50 mL/min。

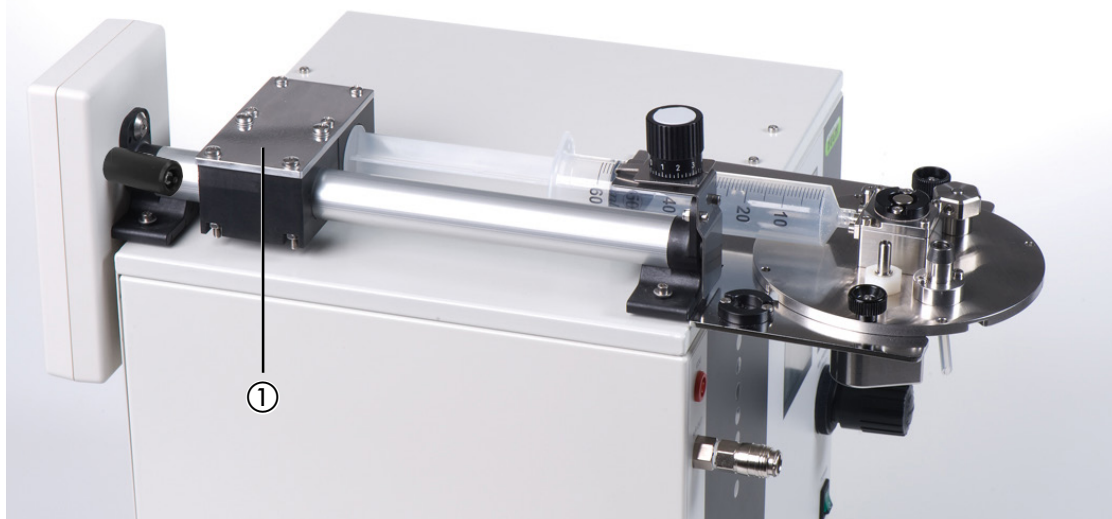


图 5-16: 注射泵

该注射器通过鲁尔锁接头连接到造粒单元。注射器活塞由注射泵的运动臂驱动 ①。

5.5.2 压力瓶

压力瓶为可高温高压消毒的容器，用于通过气压输送固化混合物。图 5-17 显示了压力瓶的不同零件。

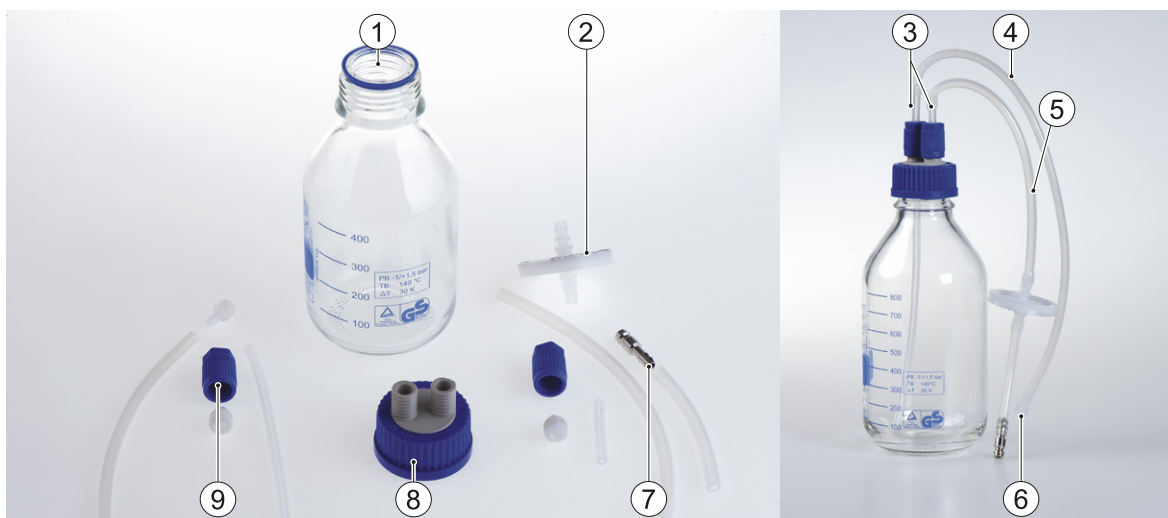


图 5-17: 带 HEPA 过滤器的压力瓶，用于通过气压无菌抽出固化混合物

- | | |
|--------------------------|-------------------------|
| ① 500 mL 或 1,000 mL 稳压烧瓶 | ⑥ 公鲁尔锁，内径 4.8 mm |
| ② HEPA 空气过滤器 | ⑦ 快速接头螺纹接套 |
| ③ PTFE 管 (4×6) | ⑧ 双端口盖 |
| ④ 用于输送液体的硅树脂管 (4×7) | ⑨ 带 PTFE 接头的盖，用于 6 mm 管 |
| ⑤ 用于输送空气的硅树脂管 (5×8) | |

空气流经内径 5 mm (5×8 mm) 的硅树脂管。高效微粒空气过滤器可防止无菌固化混合物受到污染，应根据制造商的说明或在通过的空气量明显减少时进行更换。

液体通过 PTFE 管 (3×6 mm) 从压力瓶内部流到压力瓶外部的硅树脂管 ④。该硅树脂管通过公鲁尔锁 ⑥ 连接到造粒单元。

5.5.3 安装压力瓶



图 5-18: 已安装好的压力瓶

1. 组装压力瓶并对其进行高温高压消毒 (如果需要的话)。
2. 使用固化混合物填充压力瓶。
3. 将压力瓶的硅树脂管连接到造粒单元的鲁尔锁进口。
4. 将硅树脂管伸入到液体流速调节阀中。用力挤压，使得流体无法流过。
5. 将气管的螺纹接套插入到控制单元出气口的快速接头中。

5.6 选配件：同心喷嘴系统

同心喷嘴系统 (CN 系统) 是单喷嘴单元的选配件。使用该选配件，只需一步便可生产胶囊。该系统包括 CN 造粒单元、壁材喷嘴 7 件套 (0.20、0.30、0.40、0.50、0.60、0.70 和 0.90 mm) 和一个 1,000 mL 压力瓶。壁材液体使用压力瓶通过气压输送。

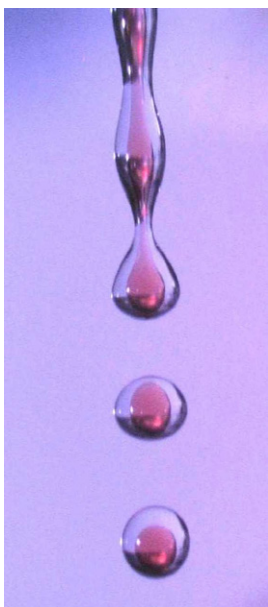


图 5-19: 胶囊成形

同心喷嘴单元的主要零件包括 (参见图 5-20):

- 由壁材 ① 和芯材 ② 喷嘴组成的喷嘴对。
- CN 造粒单元，带 CN 脉动体 ③ 和磁底座 ④。

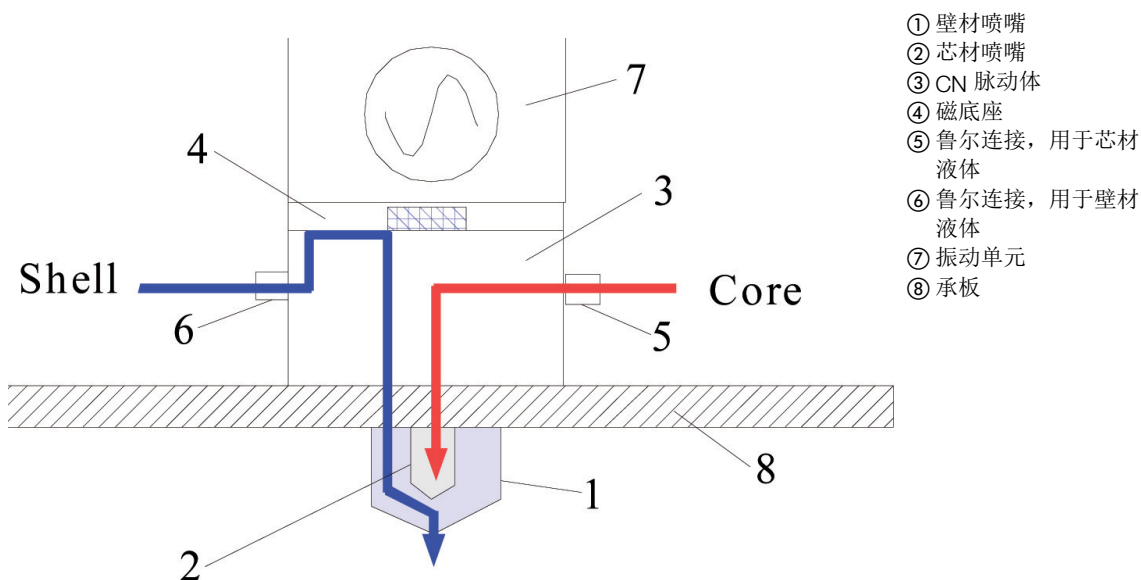


图 5-20: 同心喷嘴系统示意图

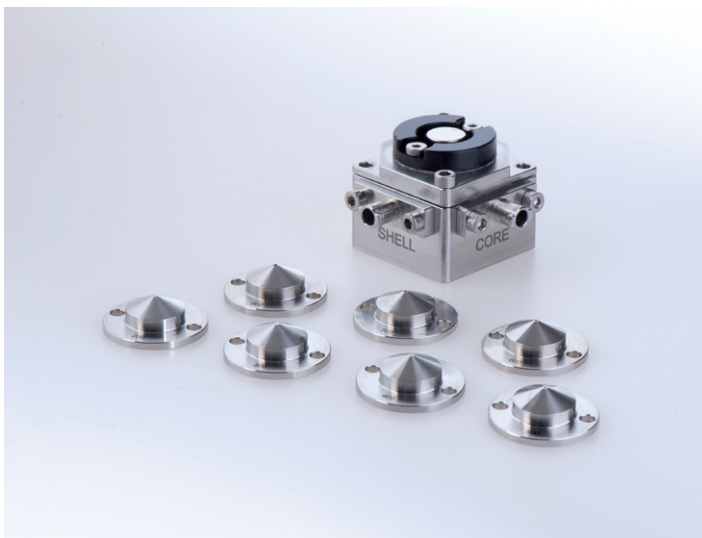


图 5-21: 带壁材喷嘴 7 件套的 CN 造粒单元。标准喷嘴孔径包括: 0.20、0.30、0.40、0.50、0.60、0.70 和 0.90 mm

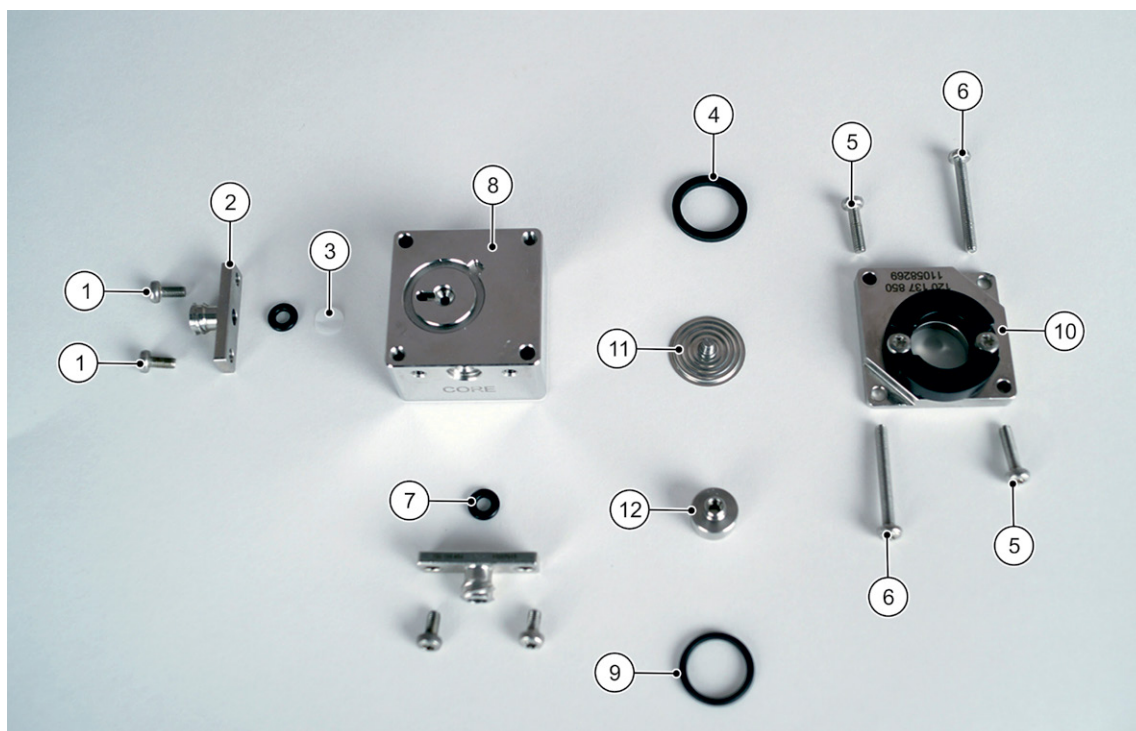
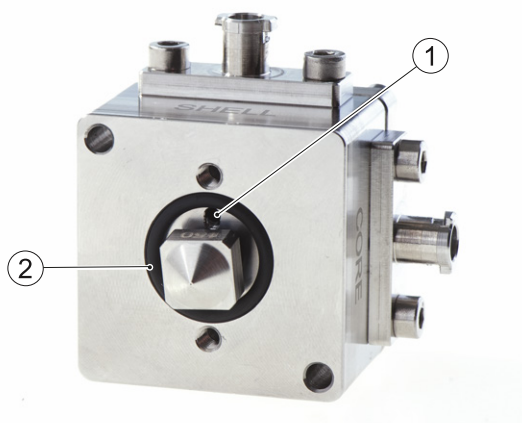


图 5-22: CN 造粒单元的单件零件

- | | |
|---------------------------------------|-------------------|
| ① M3×6 螺丝 | ⑦ 3.68×1.78 O 形圈 |
| ② 母鲁尔锁 | ⑧ CN 脉动体 |
| ③ 预过滤网, 50 μm 筛孔, D = 7 mm | ⑨ 12.42×1.78 O 形圈 |
| ④ 14.0×1.78 O 形圈 | ⑩ CN 薄膜底座 |
| ⑤ M3×8 螺丝 | ⑪ 膜 |
| ⑥ M3×25 螺丝 | ⑫ 磁铁 |

5.6.1 安装 CN 喷嘴



将 12.42×1.78 O 形圈放入 CN 造粒单元的凹槽中。将内部喷嘴 (已安装 O 形圈) 放入 CN 造粒单元的孔中。孔中无螺纹。内部喷嘴通过壁材喷嘴居中并固定。

① 壁材液体出口

② 12.42×1.78 O 形圈

图 5-23: 安装内部喷嘴



小心地将壁材喷嘴放在内部喷嘴上方。使用两颗螺丝 (M3×6) 固定壁材喷嘴。壁材喷嘴将使得内部喷嘴居中并将其固定。

图 5-24: 安装壁材喷嘴



图 5-25: CN 系统安装, 带有一个注射泵及一个压力瓶

5.7 微胶囊造粒仪 B-395 Pro 的所有零件



图 5-26: 微胶囊造粒仪 B-395 Pro 的所有零件图

5.8 最终安装检查

每次安装之后的首次包埋过程之前必须执行该项检查。所有连接的供应介质 (例如, 主电源电压和气体压力) 必须与所装系统的技术参数或系统设置相匹配。

- 检查所有玻璃部件是否有损坏。
- 检查所有其它电气连接是否正确, 例如, 选配件或外部组件, 如磁力搅拌器、振动单元及注射泵连接。

6 操作

本章给出了仪器的典型应用实例和如何安全、正确操作仪器的说明。关于一般警告信息，另请参见第 2.5 节“产品安全”。

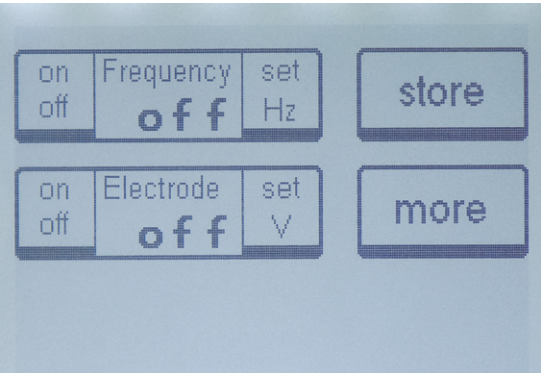
6.1 开启仪器

- 确保微胶囊造粒仪 B-395 Pro 正确连接到电源。
- 在每次液珠生产之前执行最终安装检查 (参见第 5.8 节)。
- 开启微胶囊造粒仪 B-395 Pro。系统运行内部检查。

6.2 主画面

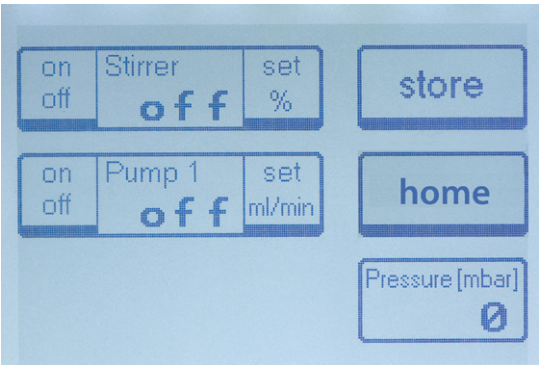
造粒的所有控制系统都集成在控制单元中。可通过两个触摸屏进行控制振动、泵送速率、光强度及静电分散。气压使用压力调节阀进行调节。使用集成频闪灯可进行实时射流破碎控制。

内部装置系统检查两个触摸屏后，显示下列主画面：



上触摸屏用于控制振动频率及电极张力。

画面 6-1：上触摸屏



下触摸屏用于控制注射泵及磁力搅拌器速率。

气压也同时显示在画面上，但是需要通过压力调节阀手动控制。

画面 6-2：下触摸屏

提示

底部带粗线的图标 (例如 ) 用于激活/停止过程或进入另一个画面。

6.3 控制单元的菜单结构

下图显示了微胶囊造粒仪 B-395 Pro 所有菜单的总览图，并给出了每个菜单的可用功能。

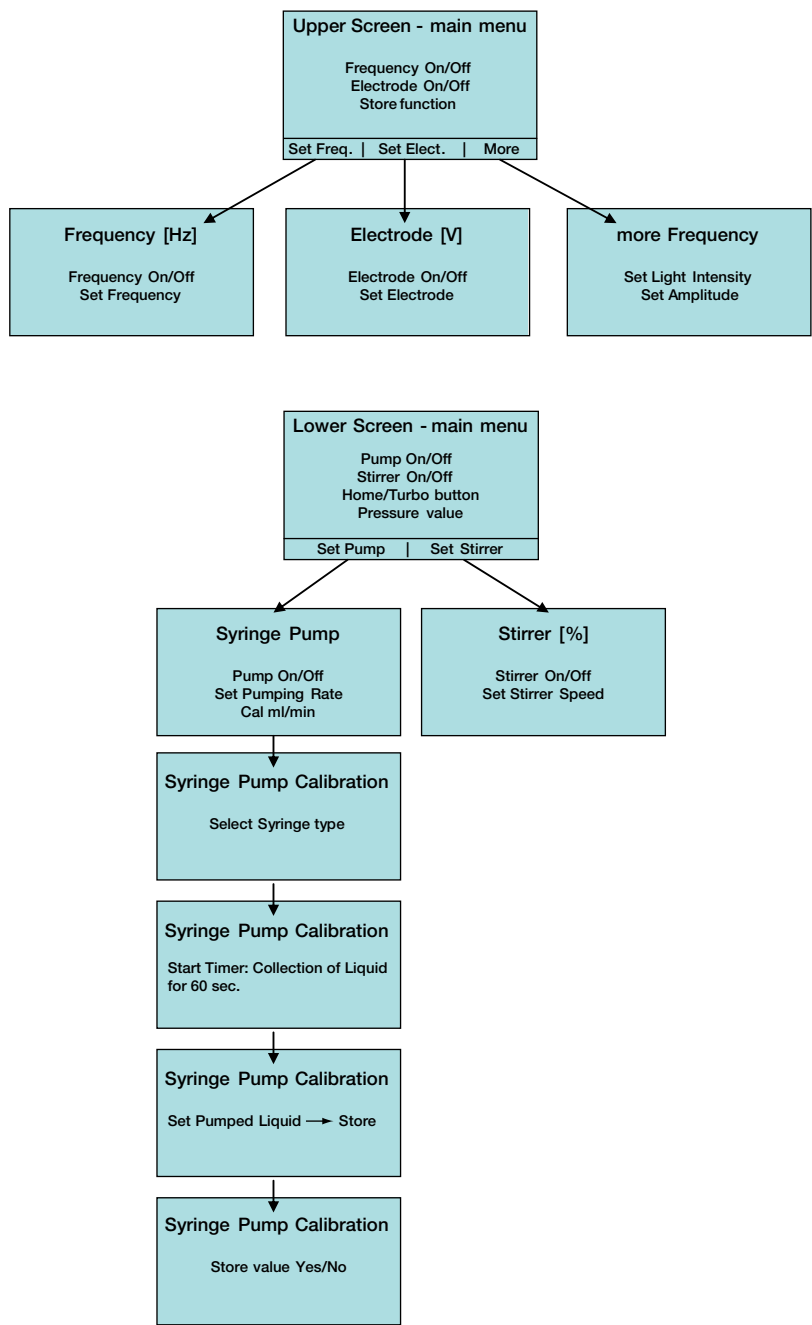
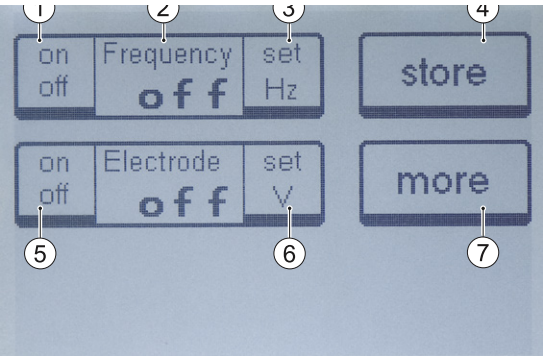


图 6-1: 控制单元的菜单结构

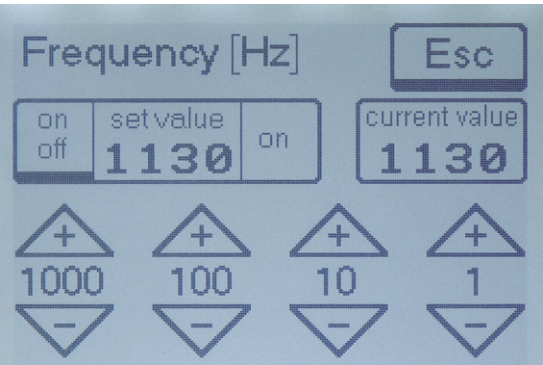
6.4 上触摸屏的菜单功能

振动 (频率、振幅)、频闪灯的光强度和静电分散 (电压) 都可在上触摸屏上进行控制。当微胶囊造粒仪开启后，触摸屏将运行初始化程序，持续时间为几秒钟。然后画面上显示开始菜单 (参见画面 6.3)，包括三个子部分 (参见画面 6-4 至 6-6)：Frequency (频率)、Electrode (电极) 及关于频率和光强度的更多选项。



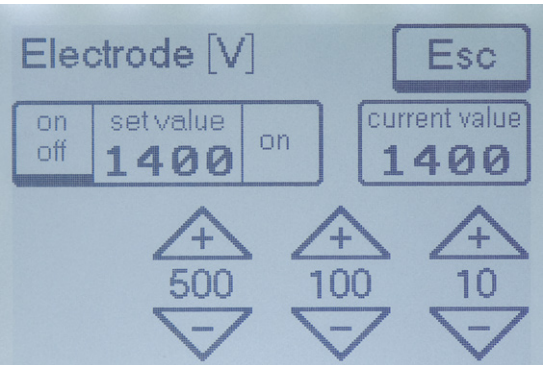
- ① 频率控制的“On/off” (开/关) 开关。
- ② 指示控制参数和控制状态 (值或 off)。
- ③ 用于进入画面 6-4，设置频率参数的按钮。
- ④ 用于保存设定值的按钮：在一秒钟内按下两次。保存成功后将发出声音予以指示。
- ⑤ 电极控制的“On/off” (开/关) 开关。
- ⑥ 用于进入画面 6-5，设置电极参数的按钮。
- ⑦ 用于进入画面 6-6，设置更多的频率参数的按钮。

画面 6-3：微胶囊造粒仪上触摸屏的开始菜单



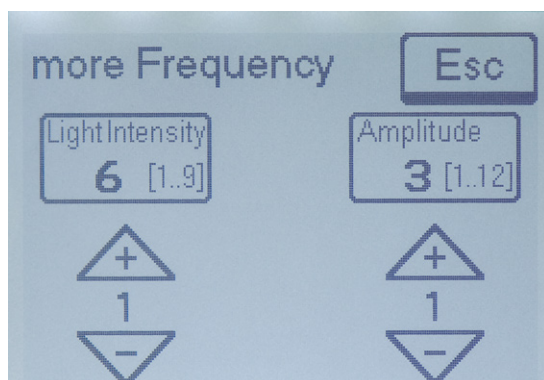
频率调节使得振动单元产生适当的电振荡。按下 (+) 和 (-) 按钮更改频率。按下“on/off” (开/关) 按钮激活或取消激活频率。按下“Esc”将返回到开始菜单并保留设定值。

画面 6-4：频率调节



静电分散单元用于对液珠表面进行充电。带同种电荷的表面相互之间将产生斥力，从而防止液珠在飞行过程中和进入固化溶液时相互碰撞。施加的电压通常介于 500 至 2,000 V 之间，主要取决于液珠尺寸和液体流速。这样，微胶囊造粒仪 B-395 Pro 通常可批量生成均匀度达 95 % 以上的液珠。按下 (+) 和 (-) 按钮更改静电分散参数。系统需要一小会才能达到设定值。按下“Esc”将返回到开始菜单并保留设定值。

画面 6-5：静电分散单元



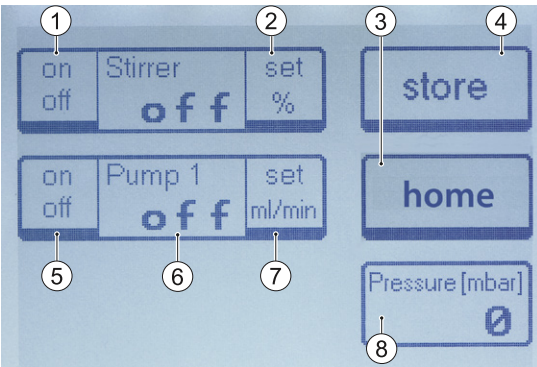
画面 6-6: 关于振动振幅和频闪灯光强度的 More (更多) 选项。

频闪灯的光强度和振动振幅 (= 强度) 可在 1 至 9 范围内设置。当频率超过 1,500 Hz 时, 振幅可在 1 至 12 范围内设置。振幅越大, 振动越强。超过 3 的值主要用于粘度 > 100 mPa s 的溶液。按下 (+) 和 (-) 按钮将立即更改参数。

按下“Esc”按钮将返回到开始菜单并保留设定值。

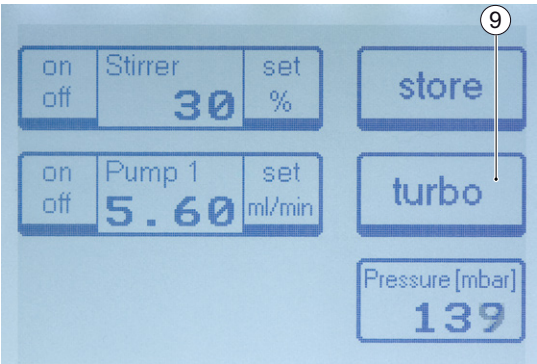
6.5 下触摸屏的菜单功能

注射泵 (泵出速度及校准) 及磁力搅拌器可通过下触摸屏控制。当微胶囊造粒仪开启后, 触摸屏将运行初始化程序, 持续时间为几秒钟。然后画面显示开始菜单, 包括两个子部分 (参见图 6-7 至 6-10)。



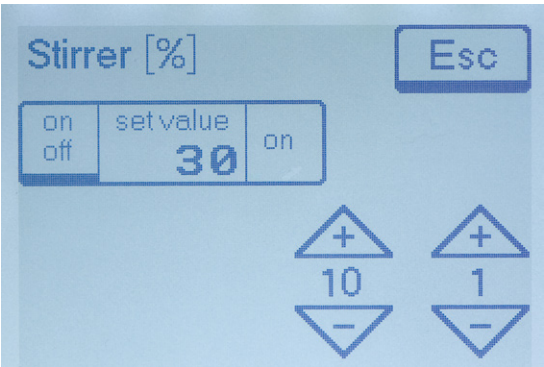
画面 6-7: 微胶囊造粒仪下触摸屏的开始菜单

- ① 磁力搅拌器控制的“On/off” (开/关) 开关。
- ② 用于进入画面 6-9, 设置磁力搅拌器速率的按钮。
- ③ 发送回注射泵运动臂的按钮。
仅当注射泵运动臂尚未处于“起始位置”时, 该按钮可见。注射泵前进时, 该按钮变为“Turbo” (涡轮) 按钮, 参考画面 6-8。
- ④ 用于保存设定值的按钮: 在一秒钟内按下两次。保存成功后将发出声音予以指示。
- ⑤ 注射泵控制的“On/off” (开/关) 开关。
- ⑥ 指示控制参数和控制状态 (值或 off)。
- ⑦ 用于进入画面 6-10, 设置注射泵参数的按钮。
- ⑧ 出气口压力值指示, 0 至 1,000 mbar。



画面 6-8: 下触摸屏, 带有“Turbo” (涡轮) 按钮

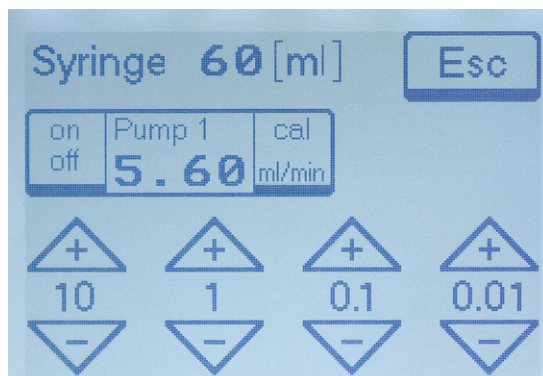
- ⑨ 按下“turbo” (涡轮) 按钮, 当前泵出速度将增大一倍。



画面 6-9: 磁力搅拌器的速度调节

按下 (+) 和 (-) 按钮更改搅拌速度。按下“Esc”将返回到开始菜单并保留设定值。

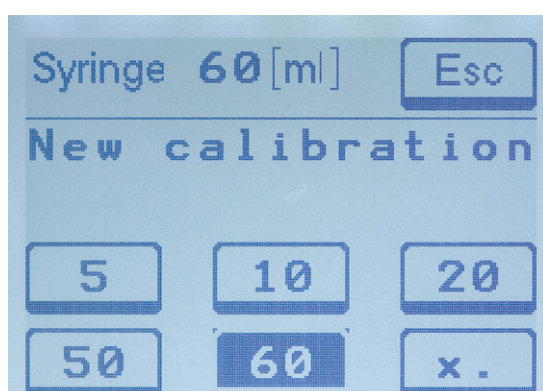
提示
数值为任意值, 可重复设置, 不对应于转速。



画面 6-10: 注射泵速度调节

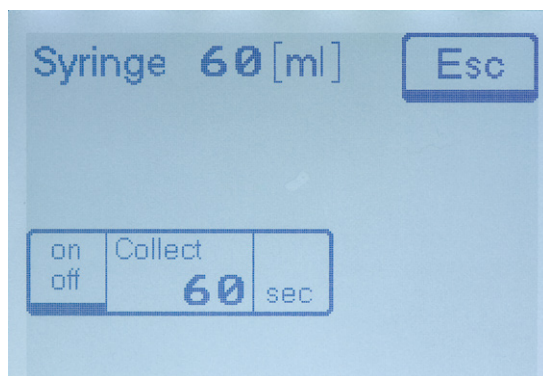
按下 (+) 和 (-) 按钮更改泵出速度。按下“Esc”将返回到开始菜单并保留设定值。注射泵运行时，按下“cal mL/min” (校准毫升/分)按钮，将会打开画面 6-11 并可校准当前注射器。如果注射泵已停止，画面将会要求您选择一个已校准的注射器。

6.5.1 注射泵校准菜单



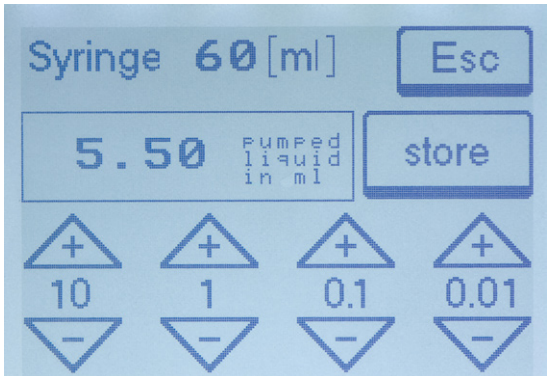
画面 6-11: 注射泵校准 – 选择注射器类型

按下相应的按钮，选择适当的注射器容量。转到画面 6-12 (如注射泵正在运行中) 或主画面 (如注射泵已停止)。



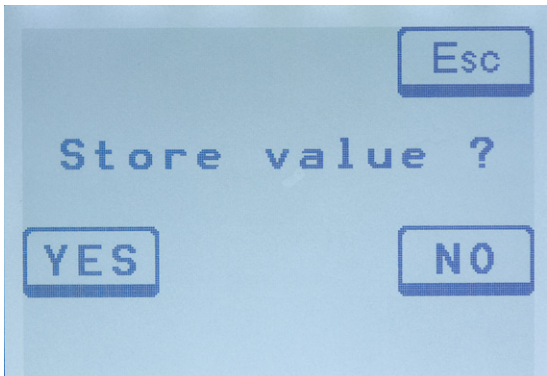
画面 6-12: 注射泵校准 – 定时器

按下按钮“on” (开)，启动定时器。定时器开始 1 分钟倒计时 (从 60 秒至 0 秒)。在此期间，射流液体被收集到一个预先称重的容器中。最后三秒有短促声音提示。一秒钟后注射泵停止，转到画面 6-13。



画面 6-13: 注射泵校准 – 设置抽取的液体

按下 (+) 和 (-) 按钮，输入 1 分钟内抽取的液体。然后按下 “store” (保存) 按钮。转到画面 6-14。

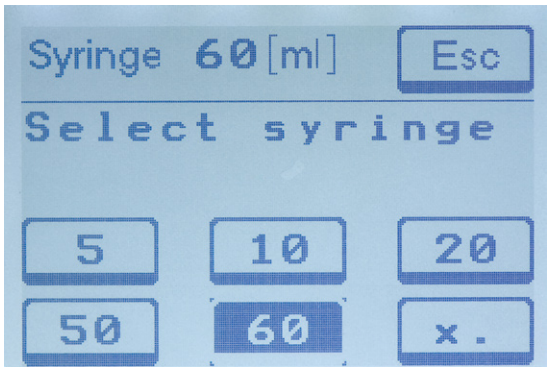


画面 6-14: 注射泵校准 – 保存数值

按下 “Yes” (是) 保存数值。转到开始菜单。按下注射泵控制上的 “on” (开) 按钮，注射泵将按照新校准数据运行。

6.5.2 选择一个已校准的注射器

注射泵停止。按下画面 6-10 上的 “cal mL/min” (校准毫升/分) 按钮。转到画面 6-15。



画面 6-15: 选择注射器尺寸

按下相应的选项，选择适当的注射器。注射器已保存，并转到开始菜单。

提示
如果注射泵已停止，则只能通过开始菜单访问本画面。

6.6 手动气压控制

在控制单元中，压力通过集成在控制单元前面板上的压力调节阀 (参见图 6-2) 手动控制。将气压设定为比胶囊制作过程中所需的最大压力高 0.2 至 0.3 bar 的压力值；但不要超过 1 bar。顺时针转动压力调节阀的旋钮增大压力，逆时针转动减小压力。压力调节阀的旋钮有两档位置。如果将其按入，则被锁定；如果将其拉出，则将其解锁。逆时针转动旋钮通过阀中的自通风系统减小压力。压力显示在触摸屏上 (参见画面 6-7)。

提示

- 进入微胶囊造粒仪后面板控制单元的~~空气或氮气~~的压力低于 7 bar (100 psi)。首选范围为 1.5 至 2 bar (20 至 30 psi)。
- 要注意的是，由于空气需要通过压缩阀流入或流出，压力调节系统的反应相对较慢。
- 当微胶囊造粒仪不用时，不要开着供气管线。阀中的自通风系统将排空气罐。
- 出气口的最大压力为 1.5 bar (20 psi)。该值通过集成过压安全阀 (在 1.5 bar 时打开) 进行控制。但其工作范围为 0 至 1 bar。



图 6-2: 用于手动气压控制的气压调节系统 – 顺时针转动压力调节阀增加压力。

6.7 注射泵使用

首次使用注射泵时，控制单元开启后，按下触摸屏上的“起始位置”按钮，注射泵运动臂归位。注射泵运动臂完全归位，触碰到末端旋钮微动开关时 (参见图 6-3)，注射泵运动臂会自动停止运动。这样，控制单元的计算机识别出注射泵运动臂的精确位置。将已注满的注射器 (建议使用带有鲁尔锁系统的塑料注射器) 连接造粒单元。

启动注射泵，注射泵运动臂向前移动 (参见画面 6-10)。按下“turbo” (涡轮) 按钮，注射泵运动臂运动速度加倍。可暂时设置更高的泵出速度，加快前向运动速度。当注射泵运动臂接近注射器活塞时速度减小。当注射泵运动臂触及注射器活塞时，注射泵停止运动。设置所需要的液体流速 (参见画面 6-10)。按下“on/off” (开/关) 按钮，启动注射泵。如需进行系统冲洗，按下“turbo” (涡轮) 按钮 – 注射泵移动速度加倍 – 直至喷嘴处形成连续的液体射流，然后再次按下“turbo” (涡轮) 按钮，恢复到预置数值。如有需要，可调整泵出速度以获取频闪灯光下明显分离的液珠。

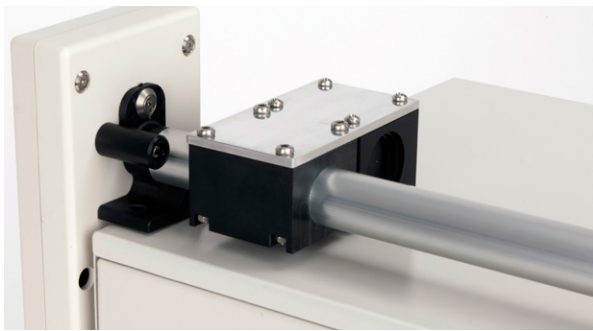


图 6-3: 注射泵末端旋钮

6.7.1 校准注射泵

注射器注入水或固化混合物，并连接到造粒单元。测量收集 1 分钟抽取液体的容器的重量，并启动注射泵。设置泵出速度以获取良好的液珠成形。按下“cal mL/min” (校准毫升/分) 按钮，启动校准程序 (参见画面 6-10)。选择合适的注射器尺寸 (参见画面 6-11)。

按下“on/off” (开/关) 按钮 (参见画面 6-12)，并将 60 秒内从喷嘴喷出的液体收集到预先称重的容器中。最后三秒有声音提示。声音停止后一秒钟，注射泵自动停止。抽取出的液体称重。输入数值 (参见画面 6-13) 并保存该数值。该类型注射器现已校准。

6.7.2 选择一个预先校准的注射器

需要时可重新调用已校准的注射器类型。停止注射泵，按下“cal mL/min” (校准毫升/分) 按钮 (参见画面 6-10)，转到画面 6-15。选择适当的注射器，并转到开始菜单。选择已完成。

6.8 使用微胶囊造粒仪练习 (用水)

在处理包埋聚合物之前，使用微胶囊造粒仪用水进行练习，以熟悉各种控件的效果。打开反应容器的盖板，将造粒单元连接到 200 μm 或 300 μm 喷嘴。将组装好的盖板放置在控制单元上。并用两个拇指螺丝连接。将振动单元放置在造粒单元上。在喷嘴下放置一个大烧杯 (大约 600 mL)。用红色导线将电极连接到静电分散单元 (EDU)。

6.8.1 使用注射泵

1. 将 60 mL 注射器注满蒸馏水，并按照 章节 5.5 所述进行安装。注射泵速度设置为 4 mL/min。激活振动控制系统，并将振动频率设置为 1,500 Hz。激活该注射泵。蒸馏水会从喷嘴大量流出。增大泵出速度直至形成连续的液体射流。更改泵出速度，并在频闪灯光下观察液珠链。当液珠链从喷嘴下方 3 至 5 mm 处开始清楚地分开数厘米，此时即为合适的工作环境。在停止注射泵之前，注意振动、电压及注射泵设置。

提示

如果无法看到液珠链，减小微胶囊造粒仪周围的灯光强度，并从 20 至 30 cm (8" 至 12") 的距离观测液体射流，这样频闪灯的黑色边框正好位于射流的后侧。

2. 再次启动注射泵，按下“turbo” (涡轮) 按钮 – 注射泵将会以两倍的速度移动，并形成连续的液体射流。释放“turbo” (涡轮) 按钮，液体射流在预置流速下将会很快稳定。在使用粘性聚合物溶液装填系统，或排出阻碍液体流动的微小阻塞物时，“turbo” (涡轮) 按钮极为有用。
3. 增加振动频率直至液珠链变得不稳定，然后增大泵出速度直至重新恢复良好的液珠链。通过减小泵出速度然后再减小振动频率，在相反方向上重复该过程。多次练习后，您将会熟悉这两个参数间的关系。在表 6-1 中输入你所确定的最优液珠链的各项数值。

提示

在一定工作范围内，泵出速度和振动频率相互影响。工作范围本身主要取决于喷嘴直径和聚合物混合物的粘度。

一般规则：

- 频率越高，生成的液珠尺寸越小。
- 液体流速越低，生成的液珠尺寸越小。
- 液珠越小，液珠流分离所需的静电电压就越低。
- 喷嘴越小，生成的液珠尺寸越小。最终的液珠直径大约为喷嘴尺寸的 2 倍。

表 6-1: 确定工作现场 (带注射泵)

喷嘴尺寸:

注射器尺寸:

[illegible]

喷嘴尺寸:

注射器尺寸:

[illegible]

4. 设置泵出速度及振动频率，直至产生优质清晰的液珠链。在 300 V 时激活静电分散单元，以 100 V 的步级逐步增大电压，直到一维液珠链转变成漏斗状的多行细流。静电电荷越高，液珠链分离的越早。此时液珠就像带电颗粒一样互相排斥，这可防止其在飞行过程中以及进入固化溶液后相互撞击。由于该排斥特性，微胶囊造粒仪通常可批量生成均匀度达 95 % 以上的凝胶珠。
5. 更改振动频率和泵出速度，观察它们对液珠流分离所需的静电电压的影响。使用静电分散单元可增大工作范围。

经过一段时间之后，可能会出现液珠不再进入烧杯，或实际上跳出烧杯的情况。这是由于电气隔离的烧杯中积聚了大量的静电电荷。为避免出现这种现象，将提供的接地线的不锈钢夹夹在烧杯边缘，使其伸入到接收液体中，并将黄绿电线另一端连接到控制单元前面板的接地插头上(参见图 6-4)。如果您使用的是成套的反应容器，那么静电电荷将会自动消除，无需使用接地导线。



图 6-4: 开放聚合缸接地

6. 改变振动的振幅，您将可以观察到液珠链仅有微小的变化。通常情况下，对于低粘度溶液，通常 1 和 3 之间的值最佳。如果使用高粘度 ($> 150 \text{ mPa s}$) 的固化混合物，则使用大于 3 的值可能会比较适当。
7. 使用不同的喷嘴尺寸重复本实验。

6.8.2 使用压力瓶

1. 组装造粒单元，使用螺丝 (M3×25) 将 0.30 mm 单喷嘴拧到造粒单元上，并将它们安装到盖板上。将振动单元放置在造粒单元上。用红色导线将电极连接到静电分散单元 (EDU)。
2. 使用 200 至 300 mL 蒸馏水填充压力瓶，拧上组装瓶盖。将硅树脂管 (4×7 mm) 插入到流速调节阀的叶片之间，将硅树脂管的公鲁尔锁接头连接到造粒单元的母鲁尔锁接头。顺时针转动旋钮，挤压阀门，使硅树脂管关闭。
3. 打开外部加压供气源。进气口最佳压力为 1.5 至 2 bar (20 至 30 psi)。但系统最高可承受 7 bar (100 psi) 的进气口压力。
4. 使用压力调节阀将出气口压力设为 0.2 bar。定期检查气压读数，确保其符合设定值。激活振动控制系统，将频率设为 800 Hz。
5. 逆时针转动旋钮，打开流速调节阀，直到水流流经硅树脂管和造粒单元并流到喷嘴，在此形成连续的液体射流。调整液体流速和/或频率，使得通过频闪灯观察得到清晰的液珠链。当液珠链从喷嘴下方 3 至 5 mm 处开始清楚地分开数厘米，此时即为期望的设置。记录该期望设置对应的流量调节阀的位置。
6. 增大振动频率，直到液珠链开始变得不稳定。然后通过慢慢增大气压来增大液体流速，直到恢复均匀的液珠链。在相反方向上重复上述操作，即减小流速，并通过减小振动频率进行补偿。当您熟悉这两种设置之间的关系后，便可结束操作。在表 6-2 中记录各个值。

提示

- 在一定工作范围内，液体流速和振动频率相互影响。工作范围本身主要取决于喷嘴直径和聚合物混合物的粘度。
- 0.05 至 0.15 bar 之间的气压设置已足以泵出蒸馏水。更大的工作压力指示存在问题，例如喷嘴堵塞。

一般规则：

- 频率越高，生成的液珠尺寸越小。
- 液体流速越低，生成的液珠尺寸越小。

表 6-2：确定工作现场 (带压力瓶)

喷嘴尺寸：

气压	清晰的液珠链，无静电张力		清晰的液珠链，有静电张力		
	最低频率	最高频率	静电电压	最低频率	最高频率

喷嘴尺寸：

气压	清晰的液珠链，无静电张力		清晰的液珠链，有静电张力		
	最低频率	最高频率	静电电压	最低频率	最高频率

7. 将液体流速和振动频率设为得到清晰液珠链的值。在 300 V 时激活静电分散单元，以 100 V 的步级逐步增大张力，直到一维液体射流转变成漏斗状的多行细流。静电电荷越高，液珠链分离的越早。这可防止液珠在飞行过程中以及进入固化溶液后相互撞击。这样，微胶囊造粒仪通常可批量生成均匀度达 95 % 以上的液珠。如果未发生任何变化，检查电极是否已连接到控制单元。
8. 更改振动频率和流速，观察它们对射流分离所需的静电张力的影响。使用静电张力可增大工作范围。经过一段时间之后，可能会出现液珠不再进入，或实际上跳出烧杯的情况。这是由于电气隔离的烧杯中积聚了大量的静电电荷。为避免出现这种现象，将提供的接地线的不锈钢夹夹在烧杯边缘，使其伸入到接收液体中，并将黄绿电线连接到控制单元前面板的接地插头上。如果您使用的是成套的反应容器，那么静电电荷将会自动消除，无需使用接地导线。

一般原则：

液珠越大，分离射流所需的静电电压越高。

9. 更改振动振幅。您将可以观察到液珠链仅有微小的变化。对于低粘度溶液，通常 1 和 3 之间的值最佳。如果使用高粘度 (> 150 mPa s) 的固化混合物，则使用大于 3 的值可能会比较适当。
10. 使用不同的喷嘴尺寸重复本过程。

一般原则：

- **喷嘴越小，生成的液珠尺寸越小。**
- **最终的液珠直径大约为喷嘴尺寸的 2 倍。**

6.9 使用微胶囊造粒仪练习 (用未灭菌藻酸盐溶液)

在获取适宜的液珠成形控制之后，使用未灭菌藻酸盐溶液执行测试运行。海藻酸钠是最常用的聚合物，但具有不同属性的其它聚合物也有使用。我们建议使用低粘度的藻酸盐。藻酸盐浓度对粘度有很大的影响，从而影响到喷嘴压降。因此，藻酸盐溶液浓度为喷嘴直径的函数 (参见下表)。

表 6-3：不同喷嘴直径建议使用的藻酸盐浓度 (基于干重)		
喷嘴直径	低粘度藻酸盐浓度	
	工作范围	建议浓度
80 至 120 μm	0.75 至 1.4 %	1.1 至 1.2 %
120 至 200 μm	1.0 至 1.6 %	1.3 至 1.4 %
200 至 300 μm	1.2 至 1.8 %	1.5 至 1.6 %
300 至 500 μm	1.5 至 2.5 %	1.8 至 2.0 %

提示
在一般储存条件下，藻酸盐粉末包含 10 – 12 % 水。因而，我们所指的藻酸盐浓度以干重为准。

6.9.1 制备 1.5 % 海藻酸钠溶液

1. 取一只 400 mL 烧杯，称入 3.3 g 低粘度海藻酸钠粉末。
2. 添加 200 mL 去离子水，使用实验室均质仪充分混合大约 1 至 2 分钟。
3. 藻酸盐容易结块。使用抹刀去除烧杯中和均质仪叶片上的藻酸盐结块，然后再混合 1 至 2 分钟。如果液体中仍留有结块，重复进行混合。
4. 然后静置混合物，让液体中捕获的气泡散逸出来。
5. 如果需要的话，在低压环境中去除混合物中的气体。
6. 使用磁力搅拌器溶解藻酸盐耗时较长，应当在前一夜进行。

提示
藻酸盐溶液可为微生物的生长提供营养支持，放在冰箱中大约 2 周内可保持性状稳定。当微生物受到污染，混合物粘度降低时，可以此为指示。如果经过灭菌处理或添加防腐剂 (如 0.05 % NaN₃)，即使在室温条件下，藻酸盐溶液也可长时间保存。

6.9.2 使用注射泵

1. 将 200 μm 或 300 μm 喷嘴连接到造粒单元上。将组装好的盖板放置在控制单元上。并用两个拇指螺丝连接。将振动单元放置在造粒单元上。用红色导线将电极连接到静电分散单元 (EDU)。在喷嘴下方放一个磁力搅拌器，在搅拌器上放一个大烧杯。在烧杯中注入 100 mM CaCl_2 ，使得烧杯中聚合液体至少 2 cm (大约 $\frac{3}{4}$ ") 深。在烧杯中放入磁搅拌杆，调整搅拌器，使得可以看到一个小漩涡。液体中漩涡所形成的剪切力，可能会造成液珠变形。最好使用不带旋转环 (已提供) 的搅拌杆，因为旋转环将会抬高搅拌杆，并可能挤压到下面的液珠。另外，将接地夹放在烧杯边缘并浸入液体。此时，使用盖板 (培养皿) 盖住烧杯，或将它和搅拌器移出，在喷嘴下方位置上另外再放一个烧杯 (和接地夹)。
2. 在 60 mL 的注射器中注满浓度大于 1.5 % 的藻酸盐溶液，并将其安装到微胶囊造粒仪上。
3. 激活振动控制系统，将振动频率设为 1,200 Hz (对于 200 μm 喷嘴)，或 900 Hz (对于 300 μm 喷嘴)。激活注射泵，并将泵送速率设置为 5 mL/min (200 μm 喷嘴) 或 8 mL/min (300 μm 喷嘴)。按下“turbo” (涡轮) 按钮直至形成连续的液体射流。释放“turbo” (涡轮) 按钮，液体射流在预置流速下将会很快稳定。调整泵出速度和/或频率，在电极下获取清晰的液珠链。
4. 以 500 V 的电压激活静电分散单元。以 100 V 的步级增大电压，使得液珠流在电极之后 3 至 10 cm (1" 至 4") 呈环形散布。最佳距离为电极下方约 5 cm (2")。如果未发生任何变化，检查电极是否已连接到控制单元。

提示

液珠流的环形散布越强烈，液珠均匀度越好。这不仅取决于静电张力，还受到液体流速和振动频率等因素的影响。这些因素将会影响液珠在喷嘴和电极末端之间的静电场内与液体射流分离的方式。与较大的液珠相比，较小的液珠通常会从更接近于喷嘴的液体射流分离。

5. 对称稳定的分散模式形成后，将烧杯换成盛有聚合物溶液的烧杯。收集液珠约 1 分钟。当收集液珠时，在表 6-4 中记录工艺参数。盖上烧杯 (或换成先前装有废料的烧杯)，并关闭注射泵、振动控件及静电电压，以停止液珠生产。

提示

在每次运行之后应立即使用蒸馏水彻底清洁喷嘴，以免聚合物混合物干燥而导致喷嘴堵塞或部分闭塞。

表 6-4：微胶囊造粒仪试验测试工作表 (注射泵)

注射器尺寸 [mL]:					
喷嘴尺寸 [μm]					
藻酸盐浓度 [%]					
泵出速度 [mL/min]					
振动频率 [Hz]					
振幅					
液珠大致尺寸 [μm]					
均匀度 [%]					
注释					

- 使用带微米目镜的显微镜下检查液珠，然后在表 6-4 中记录观测到的直径、均匀度和形状。
- 每次工艺参数更改时，重复该过程。

提示

当生产直径 $< 500\ \mu\text{m}$ 的小液珠时，可能会出现形状不是球形而是有些像卵形的情况。这主要是由于聚合溶液的表面张力导致的。液珠非常关键的一点是其进入聚合溶液的过程。如果表面张力太高，则液珠的表面将会有一些回缩，在液珠重新恢复圆形之前聚合过程便已开始。要解决这个问题，可在聚合混合物中添加少量表面活性剂，例如，吐温 20。

- 在相同振动频率和泵出速度下，开启和关闭静电功能，分别收集液珠，比较静电分散单元的影响。
- 将输液速度从液体最小流速 (刚好产生连续液体射流) 逐渐改变到在任何振动频率下均无法看到清晰的液珠链的流速，通过此方法确定工作现场。注意表 6-5 中所示的相关最低及最高频率。

表 6-5：确定工作现场

喷嘴尺寸： 藻酸盐浓度： 注射器尺寸：

泵出速度 [mL/min]	清晰的液珠链，无静电张力		清晰的液珠链，有静电张力		
	最低频率	最高频率	静电张力	最低频率	最高频率

喷嘴尺寸： 藻酸盐浓度： 注射器尺寸：

泵出速度 [mL/min]	清晰的液珠链，无静电张力		清晰的液珠链，有静电张力		
	最低频率	最高频率	静电张力	最低频率	最高频率

6.9.3 使用压力瓶

1. 将 200 μm 或 300 μm 喷嘴连接到造粒单元上。将组装好的盖板放置在控制单元上。并用两个拇指螺丝连接。将振动单元放置在造粒单元上。用红色导线将电极连接到静电分散单元 (EDU)。在喷嘴下方放一个磁力搅拌器，在搅拌器上放一个大烧杯。在烧杯中注入 100 mM CaCl_2 ，使得烧杯中聚合液体至少 2 cm (大约 $\frac{3}{4}$ ") 深。在烧杯中放入磁搅拌杆，调整搅拌器，使得可以看到一个小漩涡。另外，将接地夹放在烧杯边缘并浸入液体。此时，使用盖板 (培养皿) 盖住烧杯，或将它和搅拌器移出，在喷嘴下方所在位置另外再放一个烧杯 (和接地夹)。
2. 使用上述 1.5 % 藻酸盐溶液加入压力瓶，并使用组装好的瓶盖拧紧。将硅树脂管 (4x7 mm) 插入到液体流速调节阀的叶片之间，将硅树脂管的公鲁尔锁接头连接到造粒单元的母鲁尔锁接头。顺时针转动旋钮，挤压阀门，使硅树脂管关闭。
3. 打开外部加压供气源。进气口最佳压力为 1.5 至 2 bar (20 至 30 psi)。但系统最高可承受 7 bar (100 psi) 的进气口压力。
4. 在压力调节系统中将气压设为 0.4 bar。定期检查气压读数，确保其符合设定值。激活振动控制系统，将振动频率设为 1,100 Hz (对于 200 μm 喷嘴)，或 800 Hz (对于 300 μm 喷嘴)。
5. 逆时针转动旋钮，打开流速调节阀，直到液体流经硅树脂管和造粒单元并流到喷嘴，在此形成连续的液体射流。调整液体流速和/或频率，使得通过频闪灯观察得到清晰的液珠链。当液珠链从喷嘴下方 3 至 5 mm 处开始清楚地分开数厘米，此时即为期望的设置。记录该期望设置对应的流量调节阀的位置。
6. 增大振动频率，直到液珠链开始变得不稳定。然后通过慢慢增大气压或慢慢打开流速调节阀来增大液体流速，直到恢复均匀的液珠链。在相反方向上重复上述操作，即减小流速，并通过减小振动频率进行补偿。当您熟悉这两种设置之间的关系后，便可结束操作。在表 6-5 中记录各个值。

提示

0.1 至 0.8 bar 之间的气压设置已足以泵出聚合物混合物。应避免使用 1.0 bar 以上的工作压力，否则可能出现诸如以下问题：

- 喷嘴堵塞。
 - 聚合物混合物粘度过高。
 - 对于所使用的聚合物混合物而言，喷嘴尺寸过小。
7. 以 500 V 的电压激活静电分散单元。以 100 V 的步级增大电压，使得液珠流在电极之后 3 至 10 cm (1" 至 4") 呈环形散布。最佳距离为电极下方约 5 cm (2")。

提示

液珠流的环形散布越强烈，液珠均匀度越好。这不仅取决于静电张力，还受到液体流速和振动频率这些因素的影响。理想状况下，液珠应在喷嘴和电极末端之间的静电场内与液体射流分离。

- 8. 一旦形成稳定对称的散布，移去注有聚合溶液的烧杯的盖板，或使用装有聚合溶液和搅拌板(和接地夹)的烧杯换掉装水的烧杯，收集液珠，持续时间大约 1 分钟。当收集液珠时，在表 6-5 中记录工艺参数。盖上或切换烧杯，并关闭静电电压、气压控制及振动控件，以停止凝胶珠生产。

提示

在每次运行之后应立即使用蒸馏水彻底清洁喷嘴，以免聚合物混合物干燥而导致喷嘴堵塞或部分闭塞。

- 9. 使用带微米目镜的显微镜下检查液珠，然后在表 6-6 中记录观测到的直径、均匀度和形状。
- 10. 每次工艺参数更改时，重复该过程。

表 6-6：微胶囊造粒仪试验测试工作表 (压力瓶)					
喷嘴尺寸 [μm]					
藻酸盐浓度 [%]					
流速调节阀的位置					
振动频率 [Hz]					
振幅					
液珠大致尺寸 [μm]					
均匀度 [%]					
注释					

提示

当生产直径 < 500 μm 的小液珠时，可能会出现形状不是球形而是有些像卵形的情况。这主要是由于聚合溶液的表面张力导致的。液珠非常关键的一点是其进入聚合溶液的过程。如果表面张力太高，则液珠的表面将会有一些回缩，在液珠重新恢复圆形之前聚合过程便已开始。要解决这个问题，可在聚合混合物中添加少量表面活性剂，例如，吐温 20。

- 11. 在相同振动频率和泵出速度下，开启和关闭静电张力功能，分别收集液珠，比较静电张力的影响。

6.10 使用微胶囊造粒仪练习 (使用成套反应容器)

待获得合适的海藻酸钙液珠后，在无菌工作条件下对全套反应容器模拟进行测试，所使用的藻酸盐溶液为未灭菌溶液。

无菌工作条件将会额外增加难度，通常在可高温高压消毒的反应容器中无法做到更改设置而不影响无菌性，比如遗漏某个零件或组装方法错误。因此，在无菌操作前反应容器的准备非常关键。参见章节 5 中反应容器的组装及灭菌处理的相关内容。如果您更改了某些设置，在其他过程中应注意。

1. 制备所有用于包埋的样品 (例如动物细胞包埋，参见章节 6.14)。

对于该操作：

60 mL	1.5 % 藻酸盐溶液
500 mL	100 mM CaCl ₂ 聚合物溶液
600 mL	0.9 % NaCl + 10 mM CaCl ₂ 清洗溶液

组装压力瓶

2. 取出高温高压消毒的反应容器，连接到控制单元。
确认反应器底盘上排液口的硅树脂管已用夹子夹紧。确保反应容器的液珠收集阀已关闭，磁力搅拌器位于反应器下方，搅拌杆位于磁力搅拌器上方。
 - 用红色导线将静电分散单元连接到反应容器。
 - 移动液珠旁路收集杯到喷嘴下方。
3. 在压力瓶中放入 500 mL 聚合物溶液。将硅树脂管连接到液体隔膜过滤器。
将压力瓶连接到控制单元的出气口。打开控制单元。气压设置为 0.3 至 0.7 bar (4 至 10 psi)。输送出所需数量的液体后，释放气压。

提示

固化溶液的量应为聚合物混合物的 8 至 10 倍。反应容器中的聚合物溶液高度应至少为 2 cm (大约 ¾") (最小 200 mL)。

4. 振动频率、静电张力及 (如使用注射泵) 输液速度设置为先前确定的适当数值。设置磁力搅拌器速度，使得涡流刚好可见。
5. 在 60 mL 的注射器中注入的藻酸盐/样品溶液，并将其连接到微胶囊造粒仪上。激活振动控制系统，将振动频率设置为章节 6-9 中预定的数值。激活注射泵，将输液速度设置为先前确定的数值。按下“turbo” (涡轮) 按钮直至形成连续的液体射流。激活静电分散系统。调整泵出速度和/或频率，以获取清晰的液珠链向下流入收集杯。

6. 液珠链稳定后，将收集杯移开液体射流，正式启动液珠生产过程。液珠流应在电极分离 3 至 10 cm (大约 1" 至 4")。最佳距离为电极下方约 5 cm (2")。为达到此目标，需要调整静电张力，同时还可能需要微调振动频率及进样速度。
7. 注意并记录精确的工艺参数。在频闪灯光下查看实际的液珠生产，确认设置。
8. 注射器活塞完全按下之前，将旁通收集杯移回液珠流中。这样可防止在生产过程结束时形成大液滴，污染收集到的同质溶液。注射泵停止。关闭静电分散单元及振动控制系统。或者按下“起始位置”，注射泵运动臂归位。这样还会取消激活静电分散单元及振动。
9. 液珠固化 5 分钟。
10. 如需从反应容器排出固化溶液，可慢慢打开排液夹，1 至 2 分钟即可排出 500 mL 溶液。排出约 $\frac{3}{4}$ 液体后，关闭磁力搅拌器。液面到达设定的液珠后，关闭排液夹。

提示

始终保持溶液液面刚好盖过液珠，以防凝结。

11. 在液体传送调整瓶内装入 400 mL 冲洗溶液，并泵入到反应容器中。磁搅拌杆被液体覆盖后，重新启动磁力搅拌器，这样不会损坏液珠。清洗液珠 5 分钟，然后按照如上所述排净清洗液 (条目 10)。
12. 将剩下的 200 mL 清洗溶液泵入反应容器。打开磁力搅拌器重新悬浮液珠。
13. 打开液珠收集阀，使液珠流入液珠收集瓶。如果反应容器中仍留有液珠，抬高液珠收集瓶，使其高于反应容器排液管，液体即可从液珠收集瓶流回到反应容器。重新悬浮剩余的液珠液体，降低收集瓶的位置，使其低于反应容器，液体即可传送回液珠收集瓶。
14. 使用夹子关闭反应容器与液珠收集瓶之间的硅树脂管。断开液珠收集瓶与反应容器的连接，并在显微镜下检查液珠质量。
15. 液珠生产过程结束后，立即将注满蒸馏水的注射器连接到造粒单元，冲洗喷嘴，以避免聚合物风干后阻塞系统，引起维护问题。彻底清洁反应容器，包括各个进出端口。

6.11 反应容器加热灭菌

1. 根据章节 5.4 准备反应容器。
2. 在反应容器中加入 2 至 5 mL 水。
3. 确认下列各项已正确连接或准备。
 - 适当尺寸喷嘴
 - 电极位于喷嘴下的正中位置
 - 鲁尔锁插头是否已关闭造粒单元？
 - 是否已连接空气和液体过滤器？
 - 磁力搅拌器杆是否在反应容器中？
 - 液珠收集瓶是否已连接？
 - 反应容器与液珠收集瓶间是否已连通 (打开液珠排放阀)？
 - 排水管是否已使用夹子关闭？
 - 造粒单元的鲁尔锁是否已使用鲁尔锁档块关闭？
4. 将已组装好的反应容器放入高压灭菌炉，在 121 °C 下蒸汽灭菌 20 分钟，或者根据您的方案进行灭菌。
5. 使用高压灭菌法消毒后，尽快从高压灭菌炉上拆下灼热的反应容器，以防空气过滤器内出现水冷凝。因为完全潮湿的空气过滤器将阻止空气通过，反应容器呈负压导致反应容器中的液体很难排出。为测试空气过滤器的条件，将反应容器中的液体连接一个 60 mL 注射器。来回推动注射器活塞，仅感觉稍有阻力。
6. 仅在反应容器冷却至室温后，关闭液珠收集阀。

6.12 压力瓶灭菌

1. 组装压力瓶，关闭带鲁尔锁档块的鲁尔锁接头。
2. 在压力瓶中加入 1 至 2 mL 水。将组装好的压力瓶放入高压灭菌炉，在 121 °C 下蒸汽灭菌 20 分钟，或者也可根据您的方案进行灭菌。

6.13 微生物包埋到藻酸钙液珠中的包埋过程

本部分提供了一个将微生物包埋到藻酸钙液珠中的简单完善的方法。这些液珠的稳定性不仅取决于所使用的藻酸盐类型，还取决于以后的培养基条件。固化溶液中的钙离子置换液滴中的钠离子，这导致藻酸盐液珠固化 (该反应可逆)。如需性质更加稳定的液珠，因为某些培养基中的成分可以缓慢溶解液珠，钙离子可能会被钡离子置换 (钡离子与藻酸盐结合力比钙离子更强)，生成的藻酸钡液珠将会更加稳定。

最好使用灭菌隔膜过滤 (0.2 μm) 进行藻酸盐溶液灭菌处理。加热灭菌容易导致藻酸盐部分降解，甚至还可能改变粘度和聚合能力。

对于动物细胞的包埋，建议使用其他方法。因为细胞分裂过程中，藻酸钙的三维结构会妨碍新细胞隔膜的形成。对于正在分裂的细胞，胶囊更为合适。藻酸盐-PLL 胶囊的生产过程请参见章节 6-14。

- 按照章节 6-10 的说明准备所需的全部材料；反应容器、压力瓶、60 mL 注射器、烧杯、量筒等。对反应容器进行高温高压消毒。
- 准备所需的全部包埋试剂。
 对于该操作：

50 mL	1.5 % 藻酸盐溶液，低粘度，已经灭菌过滤
500 mL	100 mM CaCl_2 聚合物溶液 (未灭菌)
600 mL	0.9 % NaCl + 10 mM CaCl_2 清洗溶液 (未灭菌)
- 打开控制单元。振动频率、静电张力及泵出速度设置为先前确定的适当数值。
- 在压力瓶中加入 500 mL 聚合物溶液并关闭。将硅树脂管连接到液体隔膜过滤器。将聚合物溶液泵入反应容器。
- 拔掉隔膜过滤器的硅树脂管，并将反应容器放入无菌生物罩。
- 制备 10 mL 浓缩微生物悬浮液。为避免聚合物与藻酸盐反应，悬浮液中应不含二价或三价阳离子 (如钙、镁、铝、铁) 或浓度极低。选择所需的微生物浓度，最终聚合物混合物 < 10¹⁰ 细胞/mL (对于动物细胞应 < 10⁷ 细胞/mL)。慢慢地将 10 mL 微生物悬浮液与 50 mL 1.5 % 无菌藻酸盐溶液混合，尽量不要产生气泡。
- 通过无菌操作将 60 mL 注射器注入聚合物产品混合物。连接注射器与造粒单元。连接反应容器 (连同已连接的注射器) 与控制单元。注射泵运动臂向前运动直至接触到活塞。启动磁力搅拌器，可见少量涡流。激活振动单元及注射泵。按下“turbo” (涡轮) 按钮直至形成连续的液体射流。激活静电分散单元。调整泵出速度或/和频率，以获取清晰的液珠链向下流入收集杯。

8. 液珠链稳定后，将收集杯移开液体射流，正式启动液珠生产过程。确认液珠流在电极下 3 至 10 cm (大约 1" 至 4") 处分散。最佳距离为电极下方约 5 cm (2")。调整静电电压以达到此目的。
9. 监控液珠生产时，记录精确的工艺参数。
10. 注射器活塞完全按下前，将收集杯移回液珠流中。停止注射泵。
关闭静电分散单元及振动控制系统。
11. 液珠固化 5 分钟。
12. 如需从反应容器排出固化溶液，可慢慢打开排液夹，1 至 2 分钟即可排出 500 mL 溶液。排出约 $\frac{3}{4}$ 液体后，关闭磁力搅拌器。液面到达设定的液珠后，关闭排液夹。

提示

始终保持溶液液面刚好盖过液珠，以防凝结。

13. 向压力瓶中注入 400 mL 清洁溶液，并泵入反应容器。磁搅拌杆被液体覆盖后，重新启动磁力搅拌器，这样不会损坏液珠。液珠清洗 5 分钟，然后按照如上所述排净清洗液 (条目 12)。
14. 将剩下的 200 mL 清洗溶液抽入反应容器。打开磁力搅拌器重新悬浮液珠。
15. 打开液珠收集阀，使液珠流入液珠收集瓶。
16. 使用夹子关闭反应容器与液珠收集瓶之间的硅树脂管。断开液珠收集瓶与反应容器的连接，并在显微镜下检查液珠质量。
17. 液珠生产过程结束后，立即将注满蒸馏水的注射器连接到造粒单元，冲洗喷嘴，以避免聚合物风干后阻塞系统，引起维护问题。清洁反应容器。

6.14 藻酸盐-PLL-藻酸盐膜微胶囊实验方法

藻酸盐-PLL-藻酸盐-膜 (Alginate-Polylysine-Alginate-membrane) 是一套完善的包埋系统，可用于动物细胞。该系统由 Lim 和 Sun¹首次提出。下面是经过多次试验证明的实验方法。

所需溶液

- | | | |
|----|---------------|--|
| 1. | 1.5 % 藻酸盐溶液: | 1.5 % 低粘度藻酸盐 MOPS 清洗缓冲液
25 °C 时，pH 调整到 7.0
通过 0.2 μm 过滤进行无菌过滤 |
| 2. | 聚合物溶液: | 10 mM MOPS (Morpholinopropanesulfonic 酸)
100 mM CaCl ₂
25 °C 时，PH = 7.2 |
| 3. | PLL 溶液: | 0.05 % PLL MG 15'000-30'000 MOPS 清洗缓冲液 |
| 4. | MOPS 清洗缓冲液: | 10 mM MOPS (Morpholinopropanesulfonic 酸)
0.85 % NaCl
25 °C 时，PH = 7.2 |
| 5. | 0.03 % 藻酸盐溶液: | 1.5 % 藻酸盐溶液，2 mL。
+ 98 mL MOPS 清洗缓冲液。 |
| 6. | 解聚合溶液: | 50 mM Na ₃ -Citrate
0.45 % NaCl
10 mM MOPS
25 °C 时，PH = 7.2 |

对于 12 mL 聚合物产品混合物的包埋，应按照以下步骤进行：

- 12 mL 1.5 % 藻酸盐溶液 (已灭菌过滤)
- 100 mL 0.03 % 藻酸盐溶液 (未灭菌)
- 225 mL 聚合物溶液 (未灭菌)
- 75 mL PLL 溶液 (未灭菌)
- 900 mL MOPS 清洗缓冲液 (未灭菌)
- 200 mL 解聚合溶液 (未灭菌)

¹Lim F. 和 Sun A.M, 1980 发表。Microencapsulated Islets as Bioartificial Pancreas。《科学》杂志，第 210 期：
页码：908-910。

过程

1. 按照章节 6.10 和 6.11 中所述准备反应容器，并进行高温高压灭菌。
2. 准备所有溶液及实验室器具。
3. 在已经高温高压消毒的反应容器中注入 225 mL 聚合物溶液。
4. 对具有大约 6×10^6 个细胞 (根据个人需要) 的细胞培养基进行离心分离，小颗粒在 2 mL 无菌 MOPS 清洗缓冲液中重新悬浮，并与 10 mL 1.5 % 的藻酸钠溶液混合。操作时应小心谨慎，混合时尽量不要混入气泡。
5. 在 20 mL 注射器中注入细胞-藻酸盐悬浮液，并将注射器连接到层流空气罩中的反应容器。
6. 将反应容器固定到工作台上的微胶囊造粒仪控制单元。
7. 使用先设定的参数开始液珠成形。
8. 待液珠固化 5 分钟后，停止搅拌并排净聚合物溶液。

提示

液珠和随后形成的胶囊应使用少量的液体覆盖以防凝结，否则液珠及胶囊的重新悬浮将会变得十分困难并可能损坏隔膜。

9. 加入 75 mL 0.05 % PLL 溶液，PLL 藻酸盐隔膜 10 分钟。
10. 排净 0.05 % PLL 溶液。
11. 加入 150 mL MOPS 清洗缓冲液，搅拌 1 分钟后排净。
12. 再次加入 150 mL MOPS 清洗缓冲液，搅拌 5 分钟后排净。
13. 加入 100 mL 0.03 % 藻酸盐溶液，可搅拌 5 分钟形成外部藻酸盐隔膜，然后排净藻酸盐溶液。
14. 加入 150 mL MOPS 清洗缓冲液，搅拌 1 分钟后排净。
15. 加入 150 mL 解聚合溶液，搅拌约 10 分钟使液珠芯材的藻酸盐溶解。合适的溶解时间取决于分子重量、藻酸盐纯度以及包埋产品对解聚合溶液的敏感性。
16. 排净解聚合溶液。
17. 加入 150 mL MOPS 清洗缓冲液，重新悬浮胶囊并传送到液珠收集瓶。
18. 胶囊传送到培养基中进行培养。

提示

已溶解的藻酸盐缓慢扩散。根据所使用的藻酸盐及胶囊隔膜厚度，需要 2 小时方可大部分脱离胶囊。最大限度去除芯材：

- 延长在 MOPS 中或不含二价离子的培养基中的萃取时间。
- 在钙离子浓度 $< 50 \text{ mg/l}$ 的培养基中培养细胞。
- 在一价离子 (Na^+ 、 K^+) 与二价离子 (Ca^{2+} 、 Mg^{2+}) 的比率介于 20:1 到 50:1

对于细胞微胶囊研究的特别建议

对于正在分裂的细胞 – 溶解芯材藻酸盐，保持培养基中 Na/Ca 比率 > 20:1，这样芯材部分不会再次固化。

对于静止的细胞 – 您可以保持藻酸盐芯材结构呈凝胶状态，甚至可以使用 Ba²⁺ 离子 (比 Ca²⁺ 离子更强的凝胶离子)。藻酸钡极其稳定，可在 50 mM 柠檬酸盐溶液中保持数日不溶解。

另见: Gröhn P. et al. 1994。 Large-scale production of Ba²⁺ + alginate-coated islets of Langerhans for immunoisolation。 Exp. Clin. Endocrinol. 102: 页码: 380-387。

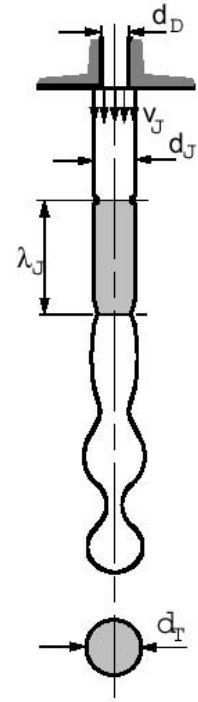
6.15 理论背景

公式 1:
$$f = \frac{v}{\lambda} [Hz]$$

当层流射流受到频率为 f 的机械扰动时, 将形成大小均匀的液珠¹。根据 Weber², 最佳分离波长 λ_{opt} 通过以下公式得出:

公式 2:
$$\lambda_{opt} = \pi \sqrt{2} D \cdot \sqrt{1 + \frac{3\eta}{\sqrt{\rho\sigma D}}} [m]$$

其中: D = 喷嘴直径
 η = 动态粘度 [Pa s]
 ρ = 密度 [kg/m³]
 (对于藻酸盐溶液, 约 1,000 kg/m³)
 σ = 表面张力 [N/m]
 (对于藻酸盐溶液, 约 55×10^{-3} N/m)



对于给定喷嘴直径和包埋混合物粘度, λ_{opt} 是获得液珠最优成形的最佳波长。 λ_{opt} 值可更改 30 %, 仍可实现良好的液珠成形。

液珠直径 ($= d$ [m]) 可通过流速 ($= V'$ [m³/s]) 和脉动频率 (f) 根据下列公式计算得到:

公式 3:
$$d = \sqrt[3]{\frac{6V'}{\pi f}} [m]$$

射流速度 ($= v$ [m/s]) 和喷嘴直径 ($= D$ [m]) 根据下列公式与流速 (V') 相关:

公式 4:
$$V' = \frac{\pi v D^2}{4} [m^3/s]$$

图 6-5 显示了根据公式 4 计算结果, 流速与射流速度及喷嘴直径的相关性。由于液体必须呈层状流动, 射流速度的工作范围通常在 1.5 至 2.5 m/s 之间, 具体取决于液体粘度和喷嘴直径。

¹Lord Rayleigh 1878. Proc. London Math. Soc. 10:4

²Weber C. 1936. Zeitschrift für angewandte Mathematik und Mechanik. 11:136.

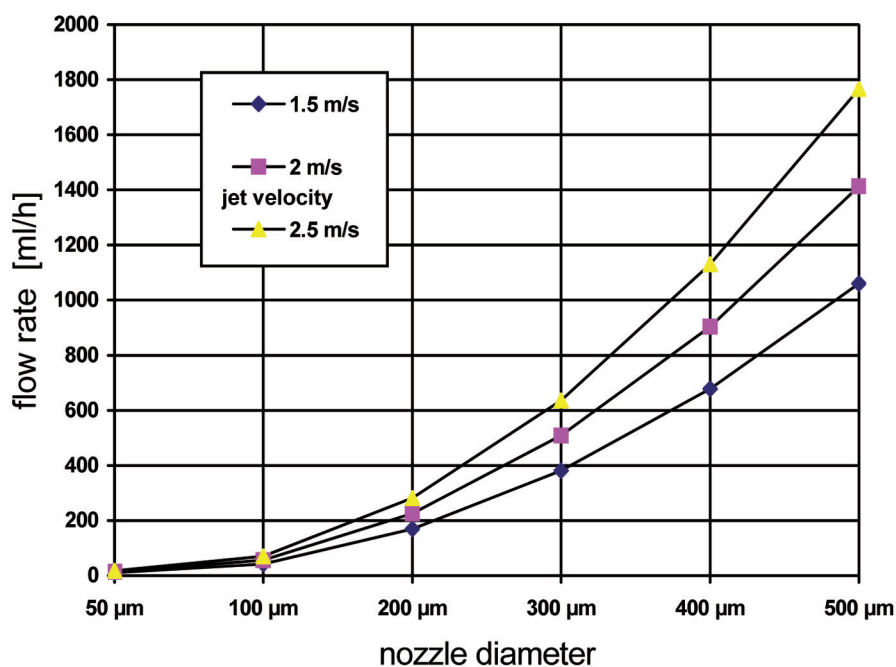


图 6-5: 根据公式 4 的计算结果, 液体射流速度和喷嘴直径对流速的影响。

图 6-6 显示了根据公式 4 的计算结果, 五种不同流速下振动频率和液珠直径之间的相关性。流速越低 (对应于较低的泵出速度), 产生的液珠越小。振动频率越高, 产生的液珠同样越小。

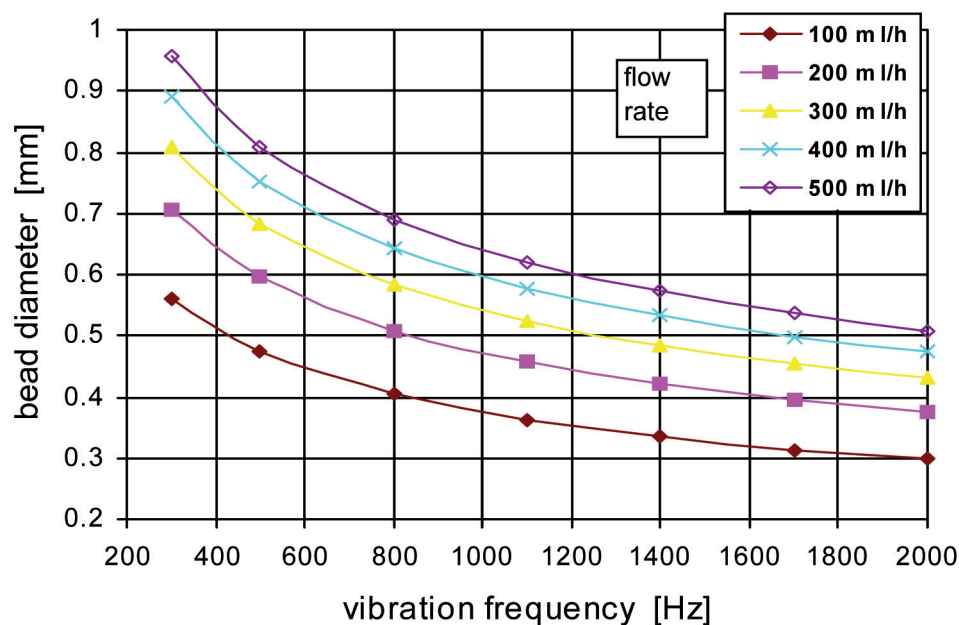


图 6-6: 根据公式 4 的计算结果, 振动频率和流速对液珠直径的影响。

表 6-7：由藻酸盐溶液确定的微胶囊造粒仪最佳工作条件

喷嘴直径 [μm]	流速 * [mL/min]	频率间隔 **	振幅	气压 [bar]
1.0 mm	30 至 40	40 至 220 Hz	2 至 6	0.3 至 0.6
750 μm	19 至 25	40 至 300 Hz	2 至 5	0.3 至 0.5
450 μm	9 至 14	150 至 450 Hz	2 至 5	0.3 至 0.5
300 μm	5.5 至 7	400 至 800 Hz	1 至 3	0.3 至 0.5
200 μm	3.5 至 4.5	600 至 1,200 Hz	1 至 3	0.4 至 0.6
150 μm	2.3 至 2.8	800 至 1,800 Hz	1 至 3	0.4 至 0.6
120 μm	1.5 至 1.8	1,000 至 2,500 Hz	1 至 4	0.5 至 0.7
80 μm	1.1 至 1.3	1,300 至 3,000 Hz	1 至 4	0.5 至 0.7

* 使用 2 % 低粘度藻酸盐溶液采用 750 μm 和 1.0 mm 喷嘴进行测试，使用 1.5 % 藻酸盐溶液采用 150 至 500 μm 喷嘴进行测试，使用 1.2 % 藻酸盐溶液采用 80 和 120 μm 喷嘴进行测试。

** 应用高压上限值。

提示

对于与测试所用粘度不同的溶液，有以下结论：

- 粘度越高，最小射流速度越大
- 粘度越高，工作流速越大
- 粘度越高，最优频率越低
- 粘度越高，液珠越大

6.15.1 造粒能力和细胞密度

图 6-7 和 6-8 指示从 1 mL 液体形成的液珠数量。直径为 0.4 mm 的液珠，大约可形成 30,000 颗，直径为 1 mm，则只能形成 2,000 颗。

图 6-9 和 6-10 指示对于给定细胞密度和液珠直径，一个液珠中所包埋的细胞数量。这些数字可帮助您选择固化混合物中适当的细胞密度。例如，如果固化混合物每 mL 包含 1×10^6 个细胞，则每个 0.4 mm 液珠中平均有大约 33 个细胞，但在每个 1 mm 液珠中，有大约 520 个细胞。

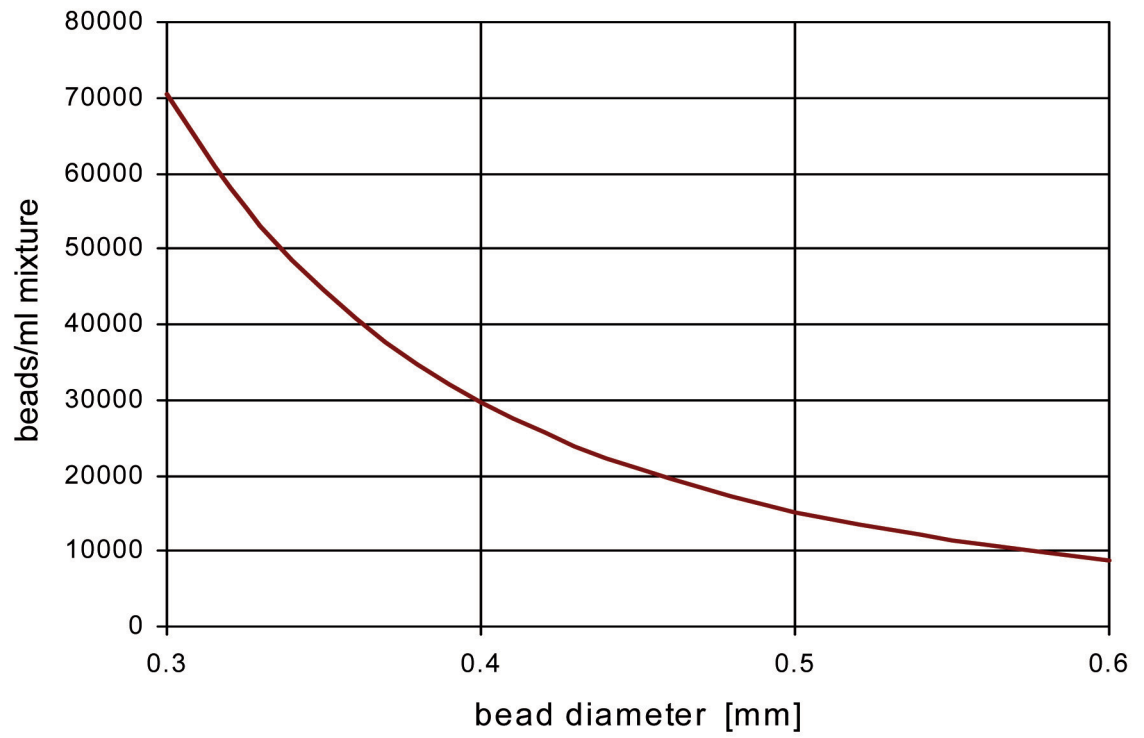


图 6-7: 1 mL 固化混合物可形成的直径 0.3 至 0.6 mm 液珠数量。

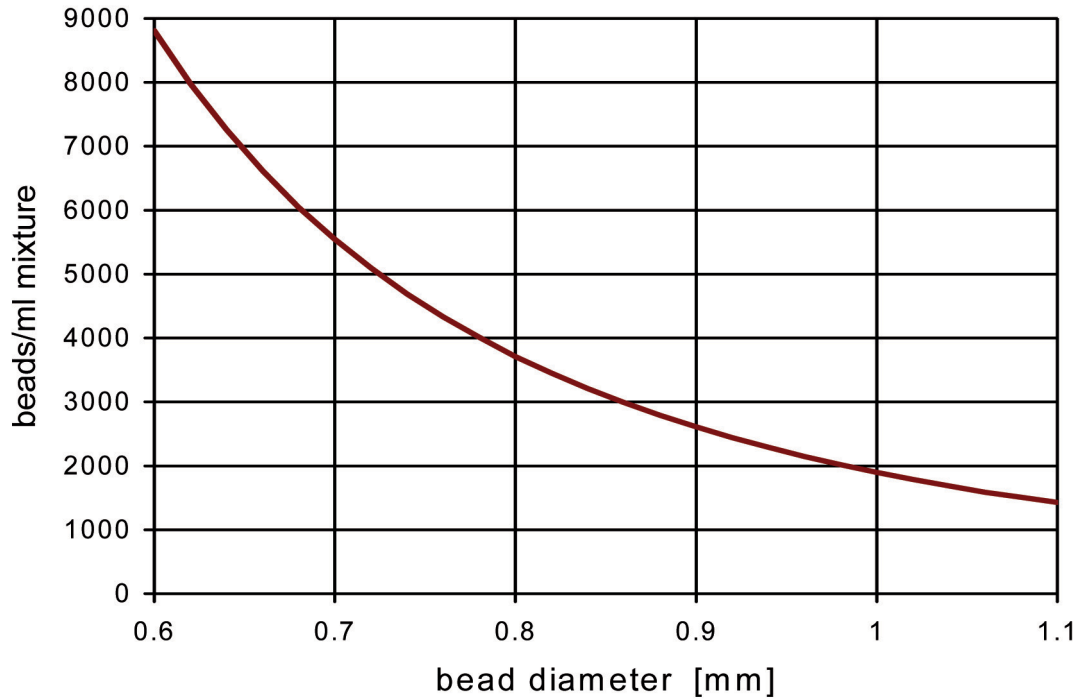


图 6-8: 1 mL 固化混合物可形成的直径 0.6 至 1.1 mm 液珠数量。

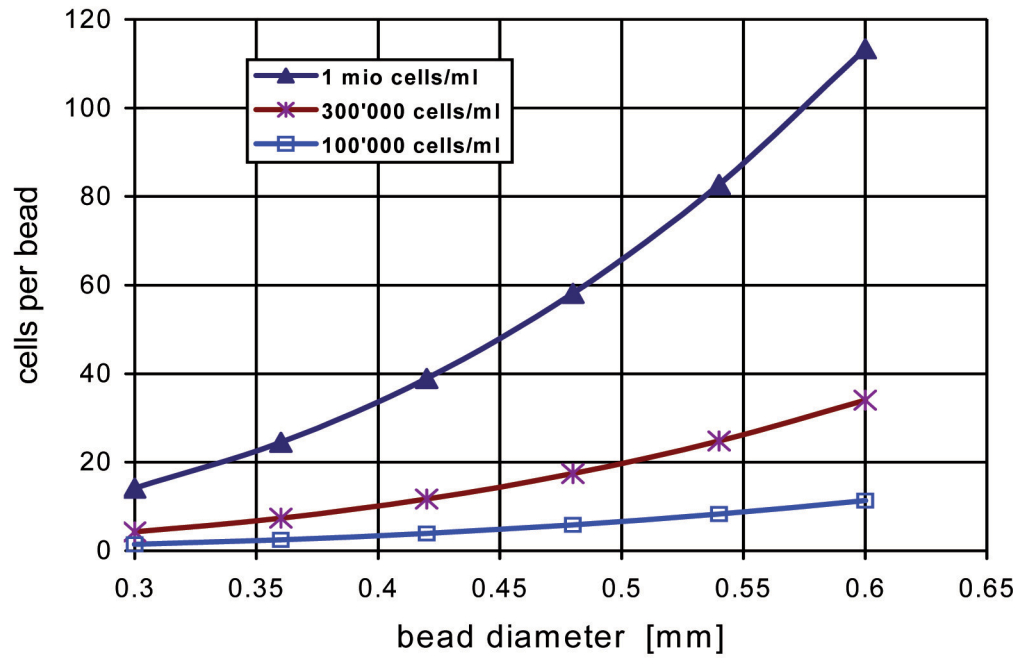


图 6-9: 对于直径 0.3 至 0.6 mm 的液珠，由不同细胞浓度制成的液珠每个所包含的细胞数量。

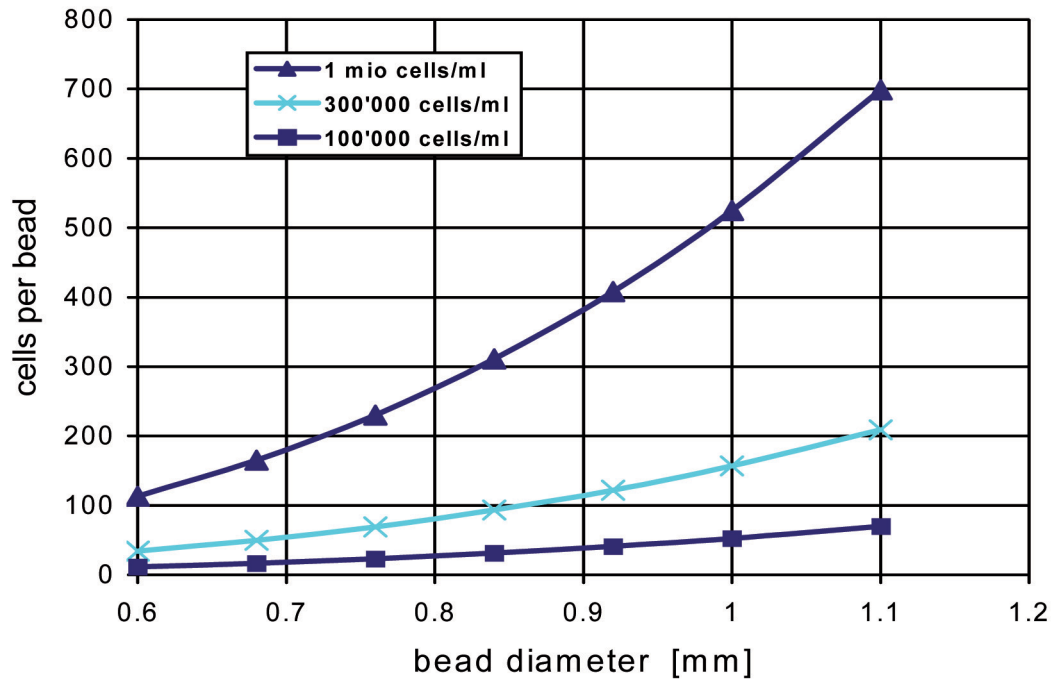


图 6-10: 对于直径 0.6 至 1.1 mm 的液珠，由不同细胞浓度制成的液珠每个所包含的细胞数量。

7 维护和维修

本章介绍如何执行维护工作，以便保持仪器良好、安全的工作状态。所有需要打开或拆除仪器外壳的维护和维修工作都必须由经过培训的人员使用专用工具执行。

提示

维护只能使用原装消耗品和原装备件，以保证保修资格和持续可靠的系统性能。对微胶囊造粒仪 B-395 Pro 或其零件的任何改造都必须事先得到制造商的书面许可。

7.1 客户服务

只允许由授权的服务人员执行仪器维修工作。授权人员需要经过全面的技术培训，了解对仪器开展工作可能出现的危险。这些培训和知识只能由 BUCHI 提供。

BUCHI 客户服务办事处地址请查阅 BUCHI 网站：www.buchi.com。如果仪器出现故障，或者您有技术问题或应用问题，可与这些办事处联系。

客户服务中心提供以下服务：

- 备件交付
- 维修
- 技术咨询

7.2 外壳状况

检查外壳是否有可见的缺陷 (开关、插头、裂纹)，定期使用湿布进行清洁。

微胶囊造粒仪控制单元的使用方式应等同于其他电气设备。前面板贴有一层聚酰胺薄膜，因而可使用温和的清洁剂溶液或酒精进行清洁。

7.3 密封件状况

建议定期检查密封件是否完好无损。垫圈、O 形圈和硅树脂管应定期更换 (大约每年更换一次)。使用前检查所有零件，必要时进行更换。

7.4 清洁

	警告 喷嘴堵塞会导致进气系统中的压力增大。 这会造成进气系统爆炸。 使用时接触或摄入有害物质可导致重度中毒或死亡。 使用后应立即清洁喷嘴，参见下一节。
---	--

	穿戴实验室防护服
	佩戴护目镜
	佩戴防护手套

7.4.1 在每次包埋之后清洁喷嘴

使用后应立即清洁喷嘴，这一点很重要，可防止包埋介质 (藻酸盐等) 变干堵塞系统。

1. 将喷嘴留在造粒单元的原位。
2. 将 20 mL 或 60 mL 注射器连接到造粒单元，注入 20 至 60 mL 蒸馏水或用于包埋聚合物的溶剂。
3. 如果需要的话，从造粒单元上拧下喷嘴，使用去离子水或适当的溶剂进行冲洗 (参见图 7-1)，然后使用空气吹干喷嘴。

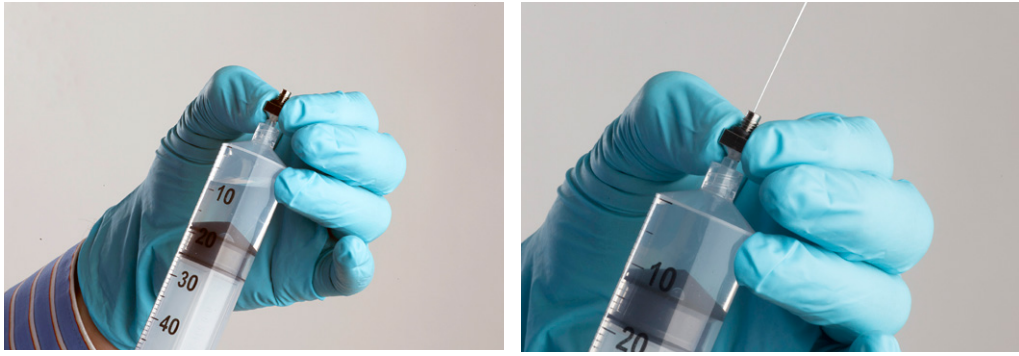


图 7-1: 喷嘴清洁步骤

- 取一支顶部含空气、底部含水的注射器。
- 将空气注入喷嘴 (左图)。
- 然后立即将水推入喷嘴 (右图)。
- 在立体显微镜下仔细检查喷嘴尖头，确保通路清晰清洁。

提示

如果使用亲脂性固化溶液，则需要使用适当的溶剂进行清洁。对于藻酸盐，不得使用酸性溶液，它们会形成沉淀物。

7.4.2 清洁堵塞的喷嘴

拧下喷嘴。让空气或水流经喷嘴，如图 7-1 所示。

如果喷嘴尖头不干净，根据包埋混合物类型，在室温下将喷嘴浸入水、适当溶剂、1N NaOH 或 1N 硫酸 (切勿使用 HCl) 中 1 小时，并定期搅动。对整个不锈钢喷嘴进行超声处理也很有效。佩戴适当的防护用品。使用蒸馏水冲洗，用空气吹净，晾干。

在立体显微镜下仔细检查喷嘴尖头，确保通路清晰清洁。

提示

如果使用亲脂性固化溶液，则需要使用适当的溶剂进行清洁。对于藻酸盐，不得使用酸性溶液，它们会形成沉淀物。

7.4.3 清洗反应容器及其他容器

拆卸反应容器。不得拆除磁底座！

拆卸液体传送系统。

根据需要，使用温和的清洁剂溶液、0.01N NaOH 或 0.01N 硫酸 (切勿使用 HCl) 清洗所有零件 (空气过滤器除外)。

使用热水彻底冲洗，然后使用蒸馏水冲洗并晾干。

8 故障检测

8.1 故障及解决措施

下表列出了可能的操作错误及其原因。可反向逐步设置参数或安装缺失的零件来进行修复。

表 8-1：可能的原因	
问题	可能的原因
液流不稳定	液体流速过低。
	喷嘴不干净 (常见原因)。
	频率过高。
	振幅过高。
液珠链不稳定	频率过高或过低。
	液体流速过高或过低。
	喷嘴不够干净。
	振幅过低或过高。
液珠尺寸分布不均匀	液体流速过高。
	频率过高。
	静电张力过低。
	固化混合物为非牛顿液体，难以挤出或变为颗粒状。
液珠链不分离	电极未连接到控制单元。
	电气张力过低。
	电极未打开。
在频闪灯下液珠不可见	振动单元未激活。
	振动单元未安装到造粒单元上。
	振动频率过低或过高。
	固化混合物的粘度过高。

9 关机、存储、运输和处置

本章介绍了如何关机和包装仪器进行存储或运输，还列出了存储和装运条件的技术规范。

9.1 存储和运输

关闭仪器，拆下电源线。如要拆卸微胶囊造粒仪 B-395 Pro，请按照与第 5 章中安装说明相反的顺序操作。在包装仪器前，应清除所有液体和灰尘残留物。

     	警告 接触或摄入有害物质可导致重度中毒或死亡。 • 佩戴护目镜 • 佩戴安全手套 • 穿戴实验室防护服 • 彻底清洁仪器和所有附件，清除可能有危险的物质 • 不要使用压缩空气清洁脏污的零件 • 将仪器及其附件装入原始包装中存放在干燥场所
---	--

9.2 处置

有关环保的仪器处置方式，请参见第 3.3 节提供的材料列表。该表可确保正确分离和回收组件。请务必遵守地区和当地关于处置的现行法律。要获取帮助，请联系您当地的相关机构！

提示

在将仪器退回制造商进行维修工作时，请复印并填写健康与安全审核表 (第 10.2 节)，并随仪器附上。

10 声明和要求

10.1 FCC 要求 (适用于美国和加拿大)

English:

This equipment has been tested and found to comply with the limits for a Class A digital device, pursuant to both Part 15 of the FCC Rules and the radio interference regulations of the Canadian Department of Communications. These limits are designed to provide reasonable protection against harmful interference when the equipment is operated in a commercial environment.

This equipment generates, uses and can radiate radio frequency energy and, if not installed and used in accordance with the instruction manual, may cause harmful interference to radio communications. Operation of this equipment in a residential area is likely to cause harmful interference in which case the user will be required to correct the interference at his own expense.

Français:

Cet appareil a été testé et s'est avéré conforme aux limites prévues pour les appareils numériques de classe A et à la partie 15 des réglementations FCC ainsi qu'à la réglementation des interférences radio du Canadian Department of Communications. Ces limites sont destinées à fournir une protection adéquate contre les interférences néfastes lorsque l'appareil est utilisé dans un environnement commercial.

Cet appareil génère, utilise et peut irradier une énergie à fréquence radioélectrique, il est en outre susceptible d'engendrer des interférences avec les communications radio, s'il n'est pas installé et utilisé conformément aux instructions du mode d'emploi. L'utilisation de cet appareil dans les zones résidentielles peut causer des interférences néfastes, auquel cas l'exploitant sera amené à prendre les dispositions utiles pour palier aux interférences à ses propres frais.

Health and Safety Clearance

Declaration concerning safety, potential hazards and safe disposal of waste.

For the safety and health of our staff, laws and regulations regarding the handling of dangerous goods, occupational health and safety regulations, safety at work laws and regulations regarding safe disposal of waste, e.g. chemical waste, chemical residue or solvent, require that this form must be duly completed and signed when equipment or defective parts were delivered to our premises.

Instruments or parts will not be accepted if this declaration is not present.

Equipment

Model:

Part/Instrument no.:

1.A Declaration for non dangerous goods

We assure that the returned equipment

- ☐ has not been used in the laboratory and is new
- ☐ was not in contact with toxic, corrosive, biologically active, explosive, radioactive or other dangerous matters.
- ☐ is free of contamination. The solvents or residues of pumped media have been drained.



1.B Declaration for dangerous goods

List of dangerous substances in contact with the equipment:

Chemical, substance	Danger classification

We assure for the returned equipment that

- ☐ all substances, toxic, corrosive, biologically active, explosive, radioactive or dangerous in any way which have pumped or been in contact with the equipment are listed above.
- ☐ the equipment has been cleaned, decontaminated, sterilized inside and outside and all inlet and outlet ports of the equipment have been sealed.

2. Final Declaration

We hereby declare that

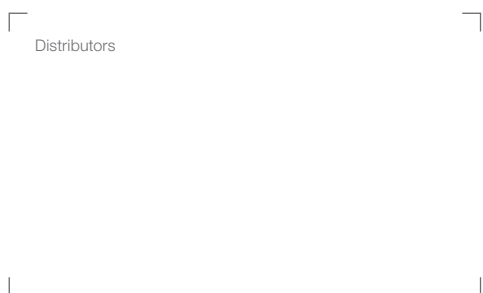
- we know all about the substances which have been in contact with the equipment and all questions have been answered correctly
- we have taken all measures to prevent any potential risks with the delivered equipment.

Company name or stamp: _____

Place, date: _____

Name (print), job title (print): _____

Signature: _____



Distributors

Quality in your hands

BUCHI联系信息:

上海办事处

上海市长宁区淮海西路570
号C7-104, 202单元
中国 上海 200052
电话: +86 21 6280 3366
传真: +86 21 5230 8821

香港办事处

香港中环云咸街1-3号南华
大厦14楼
中国 香港
电话: +852 2389 2772
传真: +852 2389 2774

北京办事处

北京市海淀区中关村南大
街12号南317室
中国 北京 100081
电话: +86 10 8225 5567
传真: +86 10 8225 5587

广州办事处

广州市天河区天河北路桥
林路47号中旅商务大厦东
塔1404室
中国 广州 510610
电话: +86 20 3885 4045
传真: +86 20 3884 8947

昆明办事处

昆明市国防路129号恒安写
字楼1016室
中国 昆明 650000
电话: +86 871 6363 2993
传真: +86 871 6362 8264

全国免费服务热线 400 820 0982 | china@buchi.com | www.buchi.com

我们在全球拥有 100 多家销售合作伙伴
查看您当地的销售代表, 请访问: www.buchi.com