

Mode opératoire Ultramicrotome

ULTROTOME V KLB 2088



Figure 1 : Vue d'ensemble de l'ultramicrotome

1) Placement de l'échantillon et préparation de la coupe

- Le bouton ON/OFF est situé derrière l'appareil
- Positionner la lumière sur « diffuse » (côté gauche de l'appareil)
- Mettre le bras sur locked (côté gauche de l'appareil) (Figure 2)



Figure 2 : Vue du bras de verrouillage

- Déverrouiller le porte-échantillon en tournant la manette de 45° antihoraire et monter le porte-échantillon. En haut, porte-échantillon ouvert : montage et démontage du chuck possible. En bas, porte-échantillon en position fermée pour la coupe. (Figure 3)

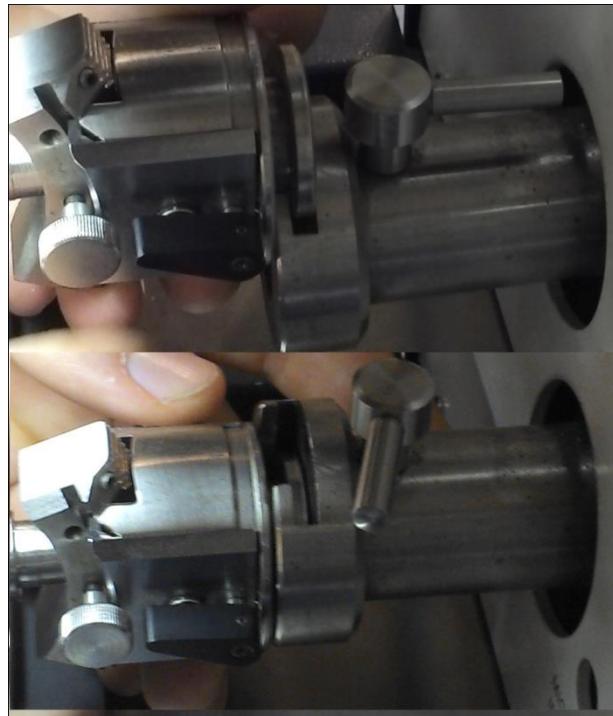


Figure 3 : Porte-échantillon déverrouillé (haut) ; porte-échantillon verrouillé (bas)

- Positionner l'échantillon dans le mors. S'assurer que l'échantillon est bien serré au bout (Figure 4)



Figure 4 : Vue de l'échantillon positionné dans le mors

- Mettre le mors dans le chuck (Figure 5)



Figure 5 : Vue du mors positionné dans le porte-échantillon. Levier de verrouillage rotation (1) ; molette de serrage du mors (2) ; molette de rotation (pas montré car à l'arrière, 3)

- Remettre le porte-échantillon sur le bras s'assurer que la barre graduée est bien verticale. Serrer la molette de 45 ° dans le sens horaire.
- Tourner la molette Macrofeed (à droite de l'appareil) pour bouger le tiroir porte couteau vers l'avant (évite d'abîmer l'échantillon quand on place le couteau). (Figure 6) Macrofeed fait bouger la position du couteau alors que microfeed fait bouger l'échantillon par rapport au couteau (mouvement/molette rarement utilisé(e)).



Figure 6 : Vue des molettes Macrofeed et microfeed

- Placer le couteau. 2 épaisseurs de plastique sont présentes sous le couteau comme 'réglage' de la hauteur. Le couteau doit être positionné en butée sur la paroi verticale du fond. Visser (Figure 7, 1) pour maintenir la position.

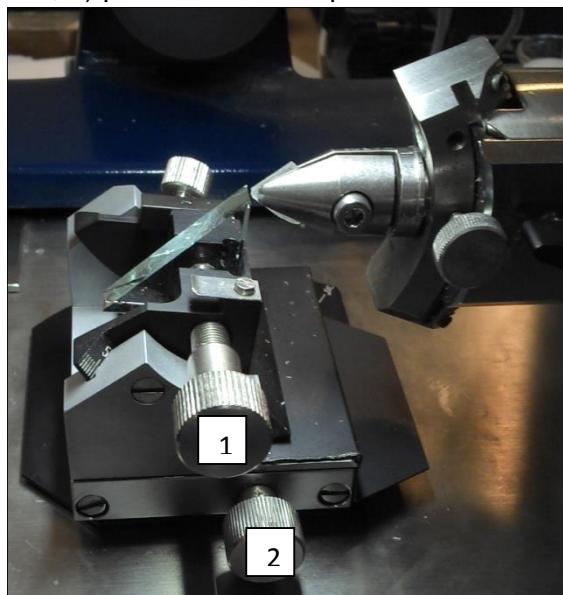


Figure 7 : Vue du bloc couteau (1), des vis de maintien du couteau (2) et de réglage de position latérale (3).

- A la binoculaire, on peut positionner l'échantillon sur la gauche du couteau à l'aide de la vis (2). (Zone de meilleure coupe)
- Déverrouiller le levier à gauche de la machine (Position Free, figure 2)

- Le bouton de gauche (manual) sur la console permet de monter et descendre l'échantillon.

2) Découpe de l'échantillon

a. Taillage de l'échantillon

Il est nécessaire de diminuer la surface de contact entre la lame de couteau et l'échantillon afin d'optimiser la qualité de coupe. Pour ceci, il faut tailler l'échantillon en pyramide « maya ».

- On remarque que le bloc maintenant le couteau peut être tourné à + et - 45 ° pour réduire la taille de la surface préparée. Tourner le bloc à + 45 ° et couper jusqu'à rogner l'échantillon sur un côté. Tourner le bloc à -45 ° pour obtenir la forme pyramidale désirée (Figure 8)

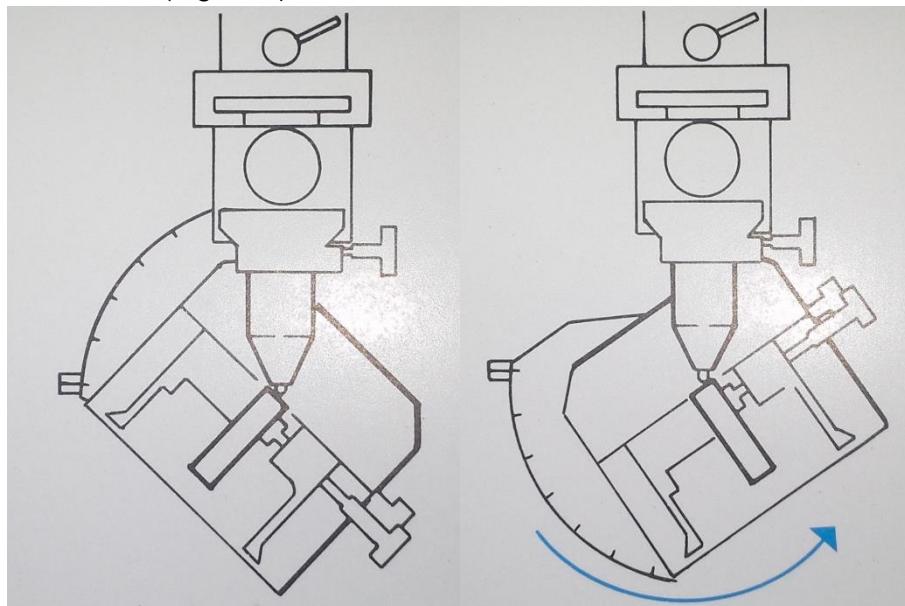


Figure 8 : Positions -45 ° et + 45 ° pour le taillage de l'échantillon

- Une fois la surface réduite, il est nécessaire d'aligner l'échantillon vis-à-vis du couteau. Pour ce faire, rapprocher le couteau de l'échantillon de sorte que la réflexion de la lame puisse être observée sur la surface de l'échantillon (figure 9). La base du trapèze doit être parallèle à la lame du couteau. Si ce n'est pas le cas, tourner l'échantillon dans le porte-échantillon (vis (2), figure 5).

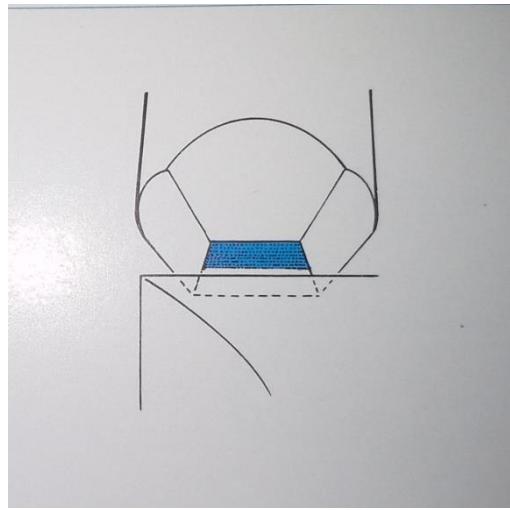


Figure 9 : Observation de la réflexion du couteau sur la surface de l'échantillon

- Faire ensuite un mouvement haut-bas avec le curseur de gauche up-down et observer l'espace entre l'échantillon et le couteau. (figure 10)

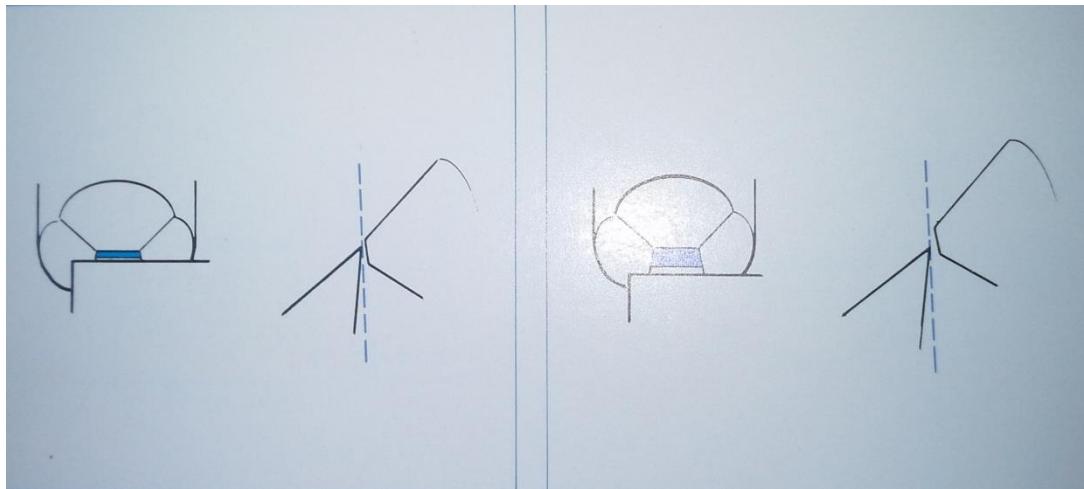


Figure 10 : Représentation d'un mouvement haut-bas d'un échantillon mal aligné verticalement

- Si vous voyez que cet espace varie avec la position de l'échantillon, cela montre que la surface de coupe n'est pas verticale (Figure 10). Il faut modifier la position de votre échantillon (Figure 11) en déverrouillant le levier (1) et en tournant la molette (3) du porte-échantillon (Figure 5).

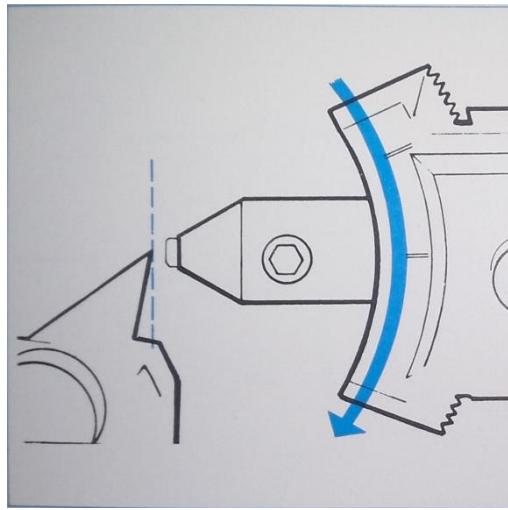


Figure 11 : Alignement vertical de la surface de coupe

b. Coupes ultrafines

Une fois l'échantillon aligné par rapport au couteau, vous pouvez passer en mode coupe ultrafine.

- Le curseur speed définit la vitesse de coupe (pour un matériau polymère, il faut se situer aux alentours de 1-2 mm/min afin de réaliser une coupe sans trop de stries de compression).
- Le curseur feed définit l'épaisseur des coupes. Il faut se situer entre le premier et le deuxième trait noir en partant du haut pour réaliser une coupe d'épaisseur environ 70-80 nm (couleur dorée lorsque la coupe flotte sur l'eau).



Figure 12 : Vue du tableau de commande de l'ultramicrotome

- On peut utiliser un premier couteau pour une coupe grossière (taillage) sans eau avec une vitesse de coupe de 20 mm/min. Pour nettoyer le couteau, utiliser un cil ou un cheveu monté sur un porte-cil.
- Dans un deuxième temps, on peut monter un bateau sur le second couteau à l'aide de cire fondue sur la plaque chauffante à 100 °C. La cire sert de colle et de joint



Figure 13 : plaque chauffante et cire (gauche) ; bateau monté sur un couteau de verre (centre) ; porte-cil artisanal (droite)

- Positionner le couteau et remplir le bateau d'eau jusqu'à mouiller correctement la lame du couteau. Retirer à l'aide d'une seringue l'excédent d'eau de sorte que le ménisque que forme l'eau sur le couteau soit convexe. L'eau doit affleurer pour récupérer les coupes ultrafines. Lors cette étape, on réalisera un minimum de coupes à une vitesse de 1 – 2 mm/min pour s'assurer de la qualité du couteau.

NB : Les couteaux de verre sont suffisants pour réaliser des coupes de certains échantillons. Malheureusement, leur pouvoir de coupe s'épuise très rapidement. Il est nécessaire dans certains cas d'utiliser des couteaux de diamant qui ont une durabilité bien plus élevée mais qui nécessite des précautions d'utilisation bien plus importantes du fait de leur fragilité et de leur coût. Néanmoins, il est possible de les utiliser, une fois formé, de la même façon que les couteaux de verre.