

# Granulomètre CPS à disque centrifuge, pour la mesure de distribution de taille de particules à haute résolution

## Manuel de mise en route et procédures de mesures

## Table des matières

<b>I Introduction au granulomètre CPS à disque centrifuge</b>	p. 3
1) Méthode de mesure :	p. 3
2) Plage de mesure :	p. 4
3) Temps d'analyse :	p. 5
4) Points forts de l'instrument :	p. 6
5) Applications :	p. 7
<b>II Marche à suivre pour l'utilisation du CPS</b>	p. 8
1) Mise en marche :	p. 8
2) Créer une nouvelle méthode (Procedure Definition) :	p. 8
3) Choisir une méthode (Choose Procedure) :	p. 9
4) Contrôle de la vitesse du disque (Motor Control) :	p. 9
5) Construction du gradient de densité :	p. 9
6) Préparation de la pompe et construction du gradient de densité avec le système automatisé (Automatic Density Gradient Builder):	p. 10
7) Analyse (Operate Analyzer) :	p. 10
8) Concentration optimale :	p. 11
9) Résultats (Retrive Distribution)	p. 11
10) STOP	p. 11
<b>III Remarques générales</b>	p. 12

## **I Introduction au granulomètre CPS à disque centrifuge**

### **1) Méthode de mesure :**

Le granulomètre centrifuge CPS est un système complet d'analyse dimensionnelle destiné à la mesure en haute résolution de particules dont la taille est située entre 0,005 et 75 microns.

L'appareil sépare les particules en fonction de leur taille par sédimentation centrifuge en milieu liquide, la sédimentation étant stabilisée par un léger gradient de densité au sein du liquide utilisé.

Les particules sédimentent à l'intérieur d'un disque tournant transparent, de qualité optique. Quand les particules atteignent le bord du disque, elles absorbent et diffusent partiellement un faisceau lumineux qui traverse le disque. La variation d'intensité lumineuse est enregistrée en continu et traduite par le logiciel d'analyse en une courbe de distribution dimensionnelle des particules.

Les photos ci-dessous montrent le disque tournant en gros plan, et l'on peut voir sur celle de droite trois bandes de particules ( trois pics séparés ) se déplaçant vers le bord extérieur du disque.

Détail du disque et de la source lumineuse

Trois bandes de particules en cours de sédimentation

## 2) Plage de mesure :

La plage effective de mesure pour une application donnée dépend de la densité des particules à mesurer :

- Pour des particules très denses ( six fois la densité de l'eau par exemple ), les dimensions maximale et minimale mesurables sont petites: de 10  $\mu\text{m}$  à moins de 0,01  $\mu\text{m}$ .
- Pour des particules à faible densité ( de 0,85 à 1,1  $\text{g/cm}^3$  par exemple ), les dimensions maximale et minimale mesurables sont plus grandes: de 40  $\mu\text{m}$  à 0,02  $\mu\text{m}$  environ.

La dynamique effective ( c'est à dire le rapport entre les plus grandes et les plus petites particules mesurables dans la même séquence) est d'environ 60 x à vitesse de rotation constante, tandis qu'elle est de plus de 500 x pour une vitesse de rotation progressant au cours de la mesure .

La dimension minimale des particules mesurables est liée à la vitesse de rotation du disque. La vitesse maximale disponible sur le granulomètre CPS dépend du modèle choisi :

- 18 000 t /m, pour des particules de taille importante, avec le modèle DC18000.
- 20 000 t /m, pour des particules de taille plus réduite, avec le modèle DC20000.
- 24 000 t /m, pour les particules les plus fines, avec le modèle DC24000.

### ***Diamètre des particules en microns***

#### **3) Temps d'analyse :**

Le temps d'analyse dépend de la gamme de dimensions des particules à mesurer ainsi que de leur densité :

- Dans la majorité des cas, les temps d'analyse se situent dans une fourchette de 3 à 15 minutes pour chaque échantillon.
- Dans le cas des particules les plus fines, le temps d'analyse peut atteindre 30 minutes.

CPS a développé des techniques pour permettre l'analyse de la plupart des différents types de particules très fines en un temps raisonnable.

CPS peut déterminer avec précision le temps d'analyse correspondant à votre application en mesurant la distribution dimensionnelle des particules sur un ou plusieurs de vos échantillons.

#### 4) Points forts de l'instrument :

- *Très haute résolution:* en comparaison des méthodes basées sur la diffraction lumineuse ou le comptage de particules, une séparation nette de 2 pics étroits est obtenue même pour des particules dont la dimension ne diffère que de 2 %. La résolution est telle que la distribution dimensionnelle obtenue n'est pratiquement pas affectée par le facteur d'instrument.
- *Très haute sensibilité:* la limite de détection est inférieure à  $10^{-8}$  g. de substance active. L'analyse d'échantillons de quelques microgrammes de substance active est une mesure de routine.
- *Très haute répétabilité:* l'intervalle de confiance à 95 % pour une série d'analyses est de  $\pm 1$  % ou mieux.
- *Très grande rapidité d'analyse:* en comparaison des autres instruments basés sur la sédimentation, les séquences d'analyse durent de 3 à 6 fois moins longtemps. Le gain en rapidité vient de la plus grande vitesse de rotation du disque ainsi que du meilleur temps de réponse du détecteur. En vitesse progressive, le temps d'analyse peut être 20 fois moins long.
- *Précision absolue de la mesure:* limitée uniquement par la précision de calibration de l'étalon utilisé (une méthode de calibration interne ou externe peut être utilisée).
- *Possibilités de mesure:* particules de pratiquement toutes densités, notamment celles dont la densité est égale ou inférieure à celle du liquide dans lequel elles sont en suspension, grâce à une méthode unique d'analyse, développée et brevetée par CPS.
- *Fonctionnement centrifuge en continu:* il n'est pas nécessaire d'arrêter ni de nettoyer le disque entre les mesures de différents échantillons. Les analyses ne requièrent qu'un minimum d'intervention de l'opérateur.
- *Construction robuste et fiable.*
- *Pas de maintenance planifiée:* durée de vie du moteur supérieure à 20 000 heures.

## 5) Applications :

### Industries Chimiques:

- latex polymères et émulsions
- produits d'apport (  $\text{CaCO}_3$ , argile, barites etc. )
- poudres de silice
- abrasifs ( tous types )
- émulsions d'huile

### Industries pharmaceutiques et biologiques:

- virus et simili-virus
- cellules ( de culture ) et fragments de cellules
- agglomérats de protéines
- liposomes
- particules de diagnostic
- médicaments micronisés

### Industries des semi-conducteurs:

- micro-abrasifs
- composants CMP pour circuits intégrés

### Industries de l'imprimerie et des peintures:

- pigments ( à l'eau et à l'huile )
- modificateurs de viscosité pour peinture à microfibres
- poudres toner pour imprimantes et copieurs
- encres pour imprimantes à jet d'encre
- poudres de carbone
- oxydes de fer magnétiques

### Divers:

- micro-sphères
- agglomérats
- particules de farine et d'amidon

## II Marche à suivre pour l'utilisation du CPS

### 1) Mise en marche :

Allumer le CPS 1 heure avant d'effectuer les mesures. Allumer l'ordinateur et ouvrir le programme: CPS.

### 2) Créer une nouvelle méthode (Procedure Definition) :

Définir les paramètres de l'échantillon : (Sample Parameters)

- a. Diamètre maximum
- b. Diamètre minimum
- c. Densité des particules
- d. Indice de réfraction
- e. Absorption
- f. Facteur non-sphérique

Définir les paramètres standards de calibration

- g. Diamètre du Pic (0.46  $\mu\text{m}$ )
- h. Largeur max. à la moitié de la hauteur max (0.1  $\mu\text{m}$ )
- i. Densité des particules (0.385 g/ml)

Définir le paramètre du fluide (gradient)

Gradient : solutions standards de sucre : A = 8%, B = 24%

- j. Densité du fluide (1.045 g/ml)
- k. Indice de réfraction du fluide (1.344)
- l. Viscosité du fluide (1.2 cps)

Donner le nom de la nouvelle méthode. (New Name)

Définir les paramètres de présentation : (Presentation Parameters)

- m. Display Mode (poids, nombre, surface, absorption)
- n. Echelle de l'axe Y (hauteur, aire, fixe)
- o. Sensibilité de détection du pic (hauteur, fenêtre)
- p. Table de distribution
- q. Présentation des courbes
- r. Quadrillage
- s. Données des fonctions
- t. Echelle de l'axe X (logarithmique ou linéaire)

Fin → Save and Exit



### 3) Choisir une méthode (Choose Procedure) :

Charger la méthode (Change to Selected Procedure)

### 4) Contrôle de la vitesse du disque (Motor Control) :

- a. Sélectionner manuel (Set Point Control)
- b. Glisser le curseur avec la souris dans (Manual Speed Selection) jusqu'à la vitesse voulue. (En rouge)
- c. START

### 5) Construction du gradient de densité :

Il est fortement recommandé de construire un gradient de sucrose d'un volume maximum de 16ml au total (notamment lorsque l'on utilise le granulomètre à sa vitesse maximum (par exemple 10 injections de 1,6 ml soit un volume total de 16 ml).

La valeur elle-même du gradient doit être adaptée à la densité des particules de l'échantillon à contrôler. Les valeurs préconisées en fonction des fourchettes de densité sont les suivantes:

- densité de 1,03 à 1,15      gradient de 2 % à 8 % ;
- densité de 1,15 à 1,40      gradient de 4 % à 12 % ;
- densité > 1,40              gradient de 8 % à 24 % .

Pour la construction du gradient, le plus pratique est d'utiliser deux flacons contenant, l'un la concentration la plus faible (8%), l'autre la concentration la plus forte (24%), puis d'y prélever pour chaque injection des quantités complémentaires de liquide, l'une croissante et l'autre décroissante ( à volume total égal ).

Exemple pour un gradient de 24 % à 8 % :

Injection ( 1,6 ml )	Solution à 24 % ( ml )	Solution à 8 % ( ml )
n°1	1,6	0
n°2	1,4	0,2
n°3	1,2	0,4
n°4	1	0,6
n°5	0,8	0,8
n°6	0,6	1,0
n°7	0,4	1,2
n°8	0,2	1,4
n°9	0	1,6

Il est recommandé de terminer la construction du gradient de densité par l'injection de 1 ml environ de Dodécane, pour prolonger la durée de vie du gradient de succrose en limitant l'évaporation.  
Enfin, il faut attendre 10 à 15 minutes pour obtenir une linéarité et une stabilité du gradient satisfaisantes.

## 6) Préparation de la pompe et construction du gradient de densité avec le système automatisé (Automatic Density Gradient Builder):

- a. Fermer les brides derrière la pompe.
- b. Placer les 2 bouteilles de solution de sucre. A droite : la moins concentrée, A gauche : la plus concentrée. Ces solutions sont à refaire chaque semaine !
- c. Insérer les tubes dans les bouteilles.
- d. Placer l'extrémité du tube dans un bécher « déchet ».
- e. Pour purger les tuyaux. Tourner le bouton sur 40 ml/min, allumer sur ON puis RUN.
- f. Quand le flux est stable tourner le bouton sur RESET.
- g. Pour faire le gradient : diminuer le flux à 16 ml/min, insérer la seringue et tourner le bouton sur Run attendre que le bouton rouge s'allume, (FINISHED) et arrêter en tournant le bouton sur RESET.
- h. Sortir la seringue.
- i. Important : A l'aide de la seringue de 1ml, insérer le « couvercle » 0.5 ml de dodécane (Cap fluid).
- j. Le gradient est prêt !!! (pour environ 8h)

## 7) Analyse (Operate Analyzer) :

Suivre les indications de l'ordinateur!

- a. entrer le nom de l'échantillon et cliquer sur start ou entrée.
- b. Injecter 100µl de la solution de calibration (*PVC calibration standard 0.46 micron in DI water*) en appuyant simultanément sur la barre espace.
- c. Une fois que la courbe étalon est terminée, injecter 100µl de l'échantillon en appuyant simultanément sur la barre espace.
- d. Une fois les mesures terminées, EXIT

## 8) Concentration optimale :

Le pic bleu arrive au milieu du graphique. Si le pic rouge sort du graphique, la solution est trop concentrée. S'il n'y a pas de pic vert, la solution n'est pas assez concentrée.

Pour l'analyse des particules inertes, les concentrations préconisées afin d'obtenir des mesures fiables se situent entre 0,1 % et 1 % de matière solide dans le liquide de suspension.

Pour l'analyse des particules biologiques, les concentrations préconisées afin d'obtenir des mesures fiables se situent plutôt autour de 5 % de matière dispersée dans le liquide de suspension.

## 9) Résultats (Retrive Distribution)

- a. Choisir la bonne méthode (choose procedure)
- b. Sélectionner l'échantillon et cliquer sur view.
- c. Pour tout imprimer sur 1 page : cliquer sur Print puis : Half page, Print graph, Half Data Page.
- d. Changer aussi, Show Data on Graph → Apply Changes.
- e. EXIT

## 10) STOP

*(dès que le disque s'arrête, le gradient de densité disparaît)*

### Nettoyage de la pompe :

Dès que le gradient a disparu, nettoyer la pompe pour que le sucre ne cristallise pas dans les tuyaux. Laver avec de l'eau et faire tourner la pompe à 40 ml/min. Puis laisser tourner à sec quelques secondes ne pas oublier de détacher les brides à l'arrière pour libérer les tuyaux. Eteindre la pompe sur OFF.

### Nettoyage du disque :

Le vider avec une seringue équipée d'un tube souple.

Oter le capuchon avec la vis à capuchon. Rincer le disque 3x avec de l'eau chaude et le faire tourner. Essuyer le disque avec un papier doux (ne pas utiliser le papier à rouleau il est trop abrasif). Puis le rincer une dernière fois avec de l'isopropanol et bien sécher à nouveau avec des kleenex. Nettoyer l'extérieur du disque avec l'isopropanol pour effacer les marques des doigts (**attention : ne jamais utiliser d'acétone**).

Remettre le capuchon marque sur marque (**aligner le point du capuchon avec le point du disque**) et pousser avec 2 doigts puis dévisser la vis à capuchon. Fermer la porte et éteindre à machine.

### III Remarques générales :

1) Les inserts (*speed ramping*) montés dans le disque tournant pour l'utilisation en vitesse progressive doivent rester montés à demeure, même pour un fonctionnement en vitesse fixe, car l'équilibrage du disque (à 24 000 tours/min) a été réalisé dans ces conditions : il n'apparaîtra alors aucune vibration ni résonance.

2) Ne pas utiliser de solvant halogénés, ni d'acétone avec le CPS. (Les solvants chlorés sont des solvants halogénés). Ne pas utiliser de solvant avec la pompe, uniquement des solutions aqueuses.

3) Le fonctionnement normal du dispositif d'injection automatique prévoit bien que le disque porte-seringues fasse un tour complet entre deux injections successives, car cela permet de garantir que le liquide ne présente pas de dépôts au moment de l'injection.

4) Pour la gestion des fichiers (de mesures ou autres), il ne faut pas utiliser directement Windows, mais utiliser exclusivement le « file manager » du logiciel CPS, car sinon la synchronisation des données pourrait être perdue du fait que le logiciel CPS compte les fichiers dans sa séquence de mesure.

Il faut donc utiliser le « file manager » du logiciel CPS pour toutes les opérations d'import, d'export, de copie ou d'annulation des fichiers CPS.

5) Lors du fonctionnement de routine de l'appareil, il est préférable de ne jamais le mettre hors circuit : simplement arrêter le disque, le nettoyer, et fermer le logiciel.

Si une mise hors circuit prolongée s'avérait nécessaire, il faut garder présent à l'esprit qu'une période de « chauffe » d'une heure (disque arrêté cependant) sera utile lors de la remise en route, pour retrouver les performances optimales.