

SONIFICATEUR HAUTE INTENITÉ SÉRIE AUTOTUNE

Modèle 500 watts

Modèle 750 watts

Références 75041

GUIDE D'UTILISATION

Rev. 01 6/28/02

SOMMAIRE

CHAPITRE I – INSTALLATION

Inspection

Installation du sonificateur

CHAPITRE II – FONCTIONNEMENT

Principe de la désintégration ultrasonique

Fonction des touches, commandes, indicateurs et connecteurs

Préparation avant utilisation

Utilisation du sonificateur

CHAPITRE III – MAINTENANCE

Conditions de surcharge

Alimentation électrique

Retour de l'appareil

CHAPITRE IV - CONSEILS ET TECHNIQUES D'UTILISATION

Le sonificateur livré avec ce manuel d'instructions est fabriqué avec les meilleurs matériaux et la transformation répond aux normes de fabrication les plus élevées. Il a été soigneusement testé et inspecté avant de quitter l'usine et il assurera à l'utilisateur de nombreuses années de fonctionnement fiable et en toute sécurité s'il est utilisé en respectant les procédures décrites dans ce manuel.

MESURES DE SECURITE IMPORTANTES

LIRE ATENTIVEMENT AVANT D'INSTALLER OU D'UTILISER CET APPAREIL

Ce sonificateur a été conçu pour assurer un maximum de sécurité à l'utilisateur. Cependant, aucune conception ne peut assurer une protection totale en cas de mauvaise utilisation qui peut entraîner des blessures corporelles et/ou des dommages matériels. Pour la protection de l'utilisateur et de l'appareil, respecter les avertissements suivants à tout moment, lire attentivement les instructions de fonctionnement avant de tenter de faire fonctionner l'appareil, et conserver ce manuel d'instructions pour le consulter plus tard. Si le sonificateur est utilisé d'une manière contraire à celle précisée dans ce manuel d'instructions, les protections conçues dans l'appareil peuvent être altérées.

- Vérifier que le sonificateur est correctement relié à la terre avec une fiche à 3 broches.
- Une haute tension est présente au niveau de l'alimentation. Le capot ne peut être retiré que par une personne qualifiée.
- Pour éviter les chocs électriques, débrancher le cordon d'alimentation avant de retirer le capot pour effectuer une réparation.
- Ne jamais faire fonctionner le générateur s'il n'est pas connecté au convertisseur.
- Ne rien fixer sur la sonde.
- Ne jamais toucher une sonde vibrante.
- Ne jamais laisser une microsonde ou un prolongateur vibrer à l'air libre pendant plus de 10 secondes.
- En cas d'utilisation d'une microsonde, conserver toujours l'amplitude en dessous de 40.
- Ne jamais faire fonctionner une sonde à extrémité fileté sans pointe, prolongateur ou microsonde.
- Refroidir le convertisseur avec de l'air lorsque la température de l'échantillon dépasse 100°C, et pour utilisation à haute intensité pendant plus de 30 minutes.
- Nous conseillons l'utilisation d'une cabine anti-bruit ou d'une protection auriculaire pendant le fonctionnement du sonificateur.

LIQUIDES A FAIBLE TENSION DE SURFACE • SOLVANT ORGANIQUES

Toutes les sondes, y compris celles avec pointes remplaçables, sont ajustées pour résonner à une certaine fréquence. Si le bout de remplacement est retirée ou isolée du reste de la sonde, l'élément ne résonnera plus à cette fréquence, et le sonificateur sera défaillante. Les liquides à faible tension de surface pénètrent dans l'interface entre la sonde et le bout de remplacement, et amènent des particules dans la partie filetée, isolant le bout de remplacement de la sonde. TOUJOURS utiliser une sond solide pour traiter les liquides à faible tension de surface avec une sonde de 13 mm.

CHAPITRE I – INSTALLATION

INSPECTION

Avant d'installer le sonificateur, inspecter visuellement le colis et relever toute trace de dommage qui aurait pu survenir pendant le transport. Avant de jeter l'emballage, vérifier soigneusement qu'il ne contient pas de petites pièces.

En cas de dommage, contacter le transporteur dans les 48 heures à compter de la date de livraison. **NE PAS FAIRE FONCTIONNER UN APPAREIL ENDOMMAGE.**
Conserver tous les matériaux d'emballage pour une future expédition.

INSTALLATION DU SONIFICATEUR

Le sonificateur doit être installé dans un endroit à l'abri d'une poussière, de saleté, de vapeurs explosives et corrosives, et des conditions extrêmes de température et d'humidité.

CHAPITRE II – FONCTIONNEMENT

PRINCIPE DE DESINTEGRATION ULTRASONIQUE

Le générateur ultrasonique convertit la tension du secteur 50/60 Hz en énergie électrique de haute fréquence. Cette énergie électrique de haute fréquence est transmise à un transducteur piézo-électrique dans le convertisseur, où elle est changée en vibrations mécaniques. Les vibrations du convertisseur sont intensifiées par la sonde, créant de ondes de compression dans le liquide. Cette action génère des millions de bulles microscopiques qui se propagent pendant la phase de pression négative, et qui implosent violemment pendant la phase de pression positive. C'est ce phénomène, appelé cavitation, qui dissipe une énergie considérable au niveau du point d'implosion, permettant ainsi une agitation intense à la pointe de la sonde.

Plus la pointe de sonde est large, plus le volume pouvant être traité, mais à une intensité plus faible. Pour obtenir des informations concernant la capacité de traitement de chaque sonde, consulter les tableaux ci-dessous.

	MICROSONDES CONIQUES			MICROSONDES A ETAGES
DIAMETRE DE LA SONDE	3 mm	5 mm	6,5 mm	3 mm
INTENSITE	ultra haute	très haute	haute	très haute
VOLUME (échantillon)	1-10 ml	3-20 ml	5-50 ml	250 µl – 10 ml

	SONDES STANDARDS		
DIAMETRE DE LA SONDE	13 mm	19 mm	25 mm
INTENSITE	haute	moyenne	basse
VOLUME (échantillon)	10-250 ml	25-500 ml	500-1000 ml

SONDE HAUTE INTENSITE		
DIAMETRE DE LA SONDE	19 mm	25 mm
INTENSITE	haute	moyenne
VOLUME (échantillon)	25-500 ml	500-1000 ml

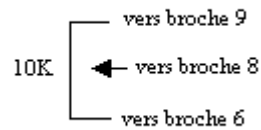
FONCTION DES TOUCHES, COMMANDES, INDICTEURS ET CONNECTEURS

PANNEAU FRONTAL	
Ecran LCD	<p>Affiche les messages et paramètres de contrôle suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> • amplitude sélectionnée • puissance de sortie délivrée à la sonde en watts, en joule, et en pourcentage de la puissance totale • durée de traitement sélectionnée • temps écoulé • temps de traitement effectif • durée de sonification/relaxation du cycle de pulsation
Touches 0-9	Saisie des chiffres.
Touche CLEAR	(effacer) Efface la saisie précédente.
Touche ENTER/REVIEW	(entrer/visualiser) Saisit les données dans le programme et sélectionne différents paramètres pour l'aichage sur l'écran LCD.
Touche TIMER	(minuterie) Utilisée avec les touches numériques pour régler la durée de l'application des ultrasons – de 1 seconde à 9 heures, 59 minutes, 59 secondes.
Touche TEMP	(température) Utilisée avec les touches numériques pour régler la limite supérieure de température – de 1°C à 99°C. L'indicateur rouge s'allume lorsque la limite de température a été atteinte.
Touche PULSER	(pulseur) Utilisée avec les touches numériques pour régler les paramètres de pulsation. Le cycle ON (sonification) et le cycle OFF (relaxation) peuvent être réglés indépendamment de 0.1 seconde à 9.9 secondes. L'indicateur rouge s'allume dans la partie OFF du cycle.
Touche START/STOP	(démarrer/arrêter) Démarre un cycle programmé ou arrête un cycle en cours d'exécution. En mode STOP , le programme est terminé et l'indicateur rouge s'éteint.
Touche PAUSE	Suspend le fonctionnement. L'indicateur rouge s'allume lorsque le cycle de traitement est interrompu.
Touche RECALL	(rappel) Utilisée avec les touches numériques pour rappeler n'importe lequel des 10 programmes en mémoire. L'indicateur rouge allumé signale à l'utilisateur qu'il doit saisir un numéro d'identification de programme.
Touche SAVE	(enregistrer) Utilisée avec les touches numérique pour attribuer un numéro à un programme et enregistrer ce programme dans la mémoire. Un maximum de 10 programmes (0-9) peuvent être enregistrés. L'indicateur rouge allumé signale à l'utilisateur qu'il doit saisir un numéro d'identification de programme.
Commutateur ON/OFF (situé sous le panneau de commande)	(marche/arrêt) Permet de mettre l'appareil sous tension (ON) ou hors tension (OFF).
Commande d'AMPLITUDE (située sous le panneau de commande)	<p>Contrôle l'amplitude des vibrations à la pointe de la sonde.</p> <p style="text-align: center;">ATTENTION</p> <p style="text-align: center;"><i>Pendant l'utilisation d'une microsonde, ne jamais laisser l'amplitude dépasser 40%.</i></p>

PANNEAU ARRIERE	
Sub connecteur D 9 broches	Se connecte au dispositif de commande externe, et permet l'activation et le contrôle de la fréquence.
Jack pour pédale	Se connecte au câble de la pédale.
Connecteur coaxial	Se connecte au convertisseur.
Module d'alimentation	Se connecte au cordon d'alimentation électrique et abrite le(s) fusible(s).

SUB CONNECTEUR D 9 BROCHES

Broche N°	Description
1	Protection contre surcharge externe.
2	Restauration de surcharge externe.
3	Non connectée.
4	Permet une connexion à un compteur de fréquences.
5	Permet une connexion à un contrôleur de puissance externe (5 mV = 1 watt).
6	Terre.
7	Active les ultrasons quand connecté à la terre.
8 et 9	Permet de régler l'intensité à distance à l'aide d'un potentiomètre 10K externe.



REMARQUE

Pour modifier l'intensité à distance à l'aide de (0-5V) à la place d'un potentiomètre 10K, connecter le positif sur la broche 8 et le négatif sur la broche 6.

PREPARATION AVANT UTILISATION

ATTENTION

Si le sonificateur a été laissé dans un environnement très froid ou très chaud pendant une période prolongée, ne pas le faire fonctionner avant qu'il ait atteint la température de la pièce.

1. S'assurer que le commutateur d'alimentation ON/OFF (marche/arrêt) est réglé sur OFF (arrêt).
2. Brancher le cordon d'alimentation électrique dans la prise de courant.
3. Si la pédale optionnelle est utilisée, insérer la fiche de la pédale dans la prise jack sur le panneau arrière. S'assurer que la fiche est entièrement et fermement insérée.
4. Si le montage convertisseur/ sonde n'est pas déjà assemblé, voir et suivre les étapes 5, 6 et 7.

ATTENTION

Ne jamais monter ou démonter une sonde en maintenant le convertisseur dans un étau.

Ne jamais mettre de rondelle entre la sonde et le convertisseur.

Ne jamais appliquer de graisse sur les surfaces de jonction ou les filetages du convertisseur, de la sonde, des bouts de Remplacement ou des microsondes.

5. Vérifier la propreté des surfaces de jonction du convertisseur et de la sonde ou des microsondes à étages, ainsi que du coupleur et du trou filetés.
6. Monter la sonde ou la microsonde à étages (constituée d'un coupleur et d'une sonde à étage) à la main sur le convertisseur. Utiliser les clés fournies et serrer correctement.
7. Pour fixer un bouts de Remplacement, un prolongateur ou une microsonde conique sur une sonde, utiliser une clé à ergots et une clé ouverte.

REMARQUE

S'il devient nécessaire de retirer une sonde, utiliser les clés à ergots fournies. Si la sonde est fixée sur le convertisseur depuis longtemps, il peut être nécessaire d'utiliser un étau. S'assurer que l'étau est équipé de mâchoires tendres ou d'un autre système pour éviter les raures. Fixer la partie de la sonde présentant le plus grand diamètre dans les mâchoires de l'étau. Ne jamais serrer le convertisseur pour le séparer de la sonde. Il est possible d'utiliser un marteau sur l'extrémité de la clé à ergots. Ne jamais essayer de retirer la sonde du convertisseur en tournant le logement du convertisseur, car cela peut endommager les connexions électriques à l'intérieur du logement.

8. Connecter le câble du convertisseur sur l'alimentation électrique.
9. Installer le montage convertisseur/sonde sur un statif. Fixer la pince uniquement sur la carrosserie du convertisseur de 63 mm de diamètre. Ne pas fixer la pince sur une autre partie du montage convertisseur/sonde.



ENLEVEMENT



SERRAGE



ENLEVEMENT DE LA SONDE



SERRAGE DE LA SONDE

UTILISATION DU SONIFICATEUR

Un régulateur de vitesse sur une automobile peut, dans une certaine mesure, être comparé à un sonificateur. Ce dispositif est conçu pour maintenir le véhicule à une vitesse constante. Lorsque le terrain change, les nécessités de puissance changent également. Le régulateur de vitesse détecte ces nécessités, et ajuste automatiquement la quantité de puissance délivrée par le moteur, pour compenser ces conditions sans cesse changeantes. Plus l'inclinaison est importante, plus la résistance du véhicule au mouvement augmente, et plus importante sera la puissance délivrée par le moteur pour compenser cette résistance.

Le sonificateur est conçu pour délivrer une amplitude constante. Lorsque la résistance au mouvement de la sonde augmente, les exigences de puissance augmentent également. L'alimentation en puissance détecte ces nécessités, et augmente automatiquement la puissance délivrée afin de maintenir constante le déplacement de la sonde. Dans des conditions de charge identiques, la quantité de watts délivrée par deux sonificateur avec des puissances différentes sera identique (à condition que les deux disposent d'une capacité de puissance suffisante).

La commande d'AMPLITUDE permet de régler les vibrations ultrasoniques à la pointe de la sonde sur le niveau désiré. Bien que le degré de cavitation nécessaire pour traiter l'échantillon puisse aisément être déterminé à l'oeil nu, la puissance nécessaire ne peut pas être prédéterminée. Un réseau sensible contrôle en continu les exigences de sortie, et ajuste automatiquement la puissance pour maintenir l'amplitude sur le niveau présélectionné. Plus la résistance au mouvement de la sonde due à une forte viscosité, plus la sonde est immergée profondément dans l'échantillon, plus le diamètre de la sonde est élevé, ou plus la pression est élevée, plus de puissance délivré à la sonde sera importante. Le réglage de la commande d'AMPLITUDE entièrement dans le sens horaire n'entraînera pas la distribution de la puissance maximale à l'échantillon. La puissance maximale que le sonificateur est capable de délivrer sera uniquement délivrée lorsque la résistance au mouvement de la sonde est suffisamment élevée pour soutirer la quantité de watt maximale.

Ce phénomène peut être démontré de la façon suivante. Appuyer la sonde contre un morceau de bois. Plus la pression exercée vers le bas est importante, et par conséquent plus la résistance au mouvement de la sonde est élevée, plus la quantité de délivrée.

ATTENTION

- Ne pas faire fonctionner le générateur sans l'avoir branché sur le convertisseur.
- Ne jamais laisser de liquide couler dans le convertisseur. Ne pas utiliser la chambre Cup-Horn sans protection contre le liquid.
- Ne jamais laisser une microsonde ou un prolongateur vibrer à l'air libre pendant plus de 10 seconds. Pendant l'utilisation d'une microsonde, ou un prolongateur **ne jamais** régler la commande **d'AMPLITUDE** au-dessus de la limite de 40%.
- Ne pas laisser une sonde vibrante entrer en contact avec autre chose que l'échantillon.

REMARQUE

Pour des conseils de fonctionnement général et des techniques de traitement ultrasonique, se reporter aux pages 18-20.

1. Régler le commutateur d'alimentation ON/OFF (marche/arrêt) sur ON (marche). Le commutateur s'allume et l'écran LCD affiche la puissance nominale du sonificateur, les message d'avertissement et les paramètres de contrôle suivants.

TIME __:__:__	TEMP __ °C
PULSE __:__:__	AMPL __ %

REMARQUE

Si le message "OVERLOAD" (surcharge) apparaît sur l'écran LCD, se reporter à la page 17.

2. Immerger la sonde d'environ 5 cm dans l'échantillon. En cas d'utilisation d'une microsonde, immerger la microsonde d'environ 1 cm dans l'échantillon.

REMARQUE

La sonde doit être immergée suffisamment profondément pour empêcher l'injection d'air dans l'échantillon, et pour inhiber la formation d'aérosols ou de mousse.

AMPLITUDE L'amplitude est le seul paramètre devant être réglé pour rendre le sonificateur opérationnel. Les autres paramètres de contrôle – Time (temps) et Pulse (impulsion) – n'ont pas besoin d'être réglés pour un fonctionnement en continu.

AMPL. affiche le pourcentage du maximum d'amplitude, par exemple 40%, réglé avec la commande AMPLITUDE.

Tourner le bouton d'AMPLITUDE pour obtenir un affichage de 40% sur l'écran LCD – Ampl. 40%.

L'écran LCD affiche :

TIME __:__:__	TEMP __ °C
PULSE __:__:__	AMPL 40 %

Le sonificateur est à présent prêt à fonctionner en continu. Pour activer le ultrasons, appuyer sur la touche **START** ou sur la pédale. Pour désactiver les ultrason, appuyer sur la touche **STOP** ou relâcher la pédale. Pour utiliser les fonctions de temps, de température, d'impulsion, d'enregistrement, de rappel ou d'enejie, se reporter aus paragraphes correspondants cedessous.

REMARQUE

Il est possible de combiner n'importe quelles fonctions dans n'importe quel ordre. Pour effacer une mauvaise saisie, appuyer sur la touche **CLEAR**.

REMARQUE

Si l'utilisateur appuie sur la touche **START** et qu'aucune limite de temps n'a été réglée, le traitement continuera jusqu'a ce que la touche **STOP** soit actionnée.

Si l'utilisateur appuie sur la touche **START** et que la limite de temps a été réglée, le traitement continuera jusqu'a expiration du temps réglé, ou si la touche **STOP** est pressée – quelque soit le premier événement survenu.

En cas d'utilisation d'une pédale, et si aucune limite de temps n'a été réglée, le traitement continuera tant quw l'utilisateur appuie sur la pédale.

En cas d'utilisation d'une pédale, et si aucune limite de temps n'a été réglée, le traitement continuera jusqu'à l'expiration de la limite de temps, ou si la pédale est relâchée – quelque soit le premier événement survenu.

La touche **START** et la pédale sont mutuellement exclusives. Si le traitement est démarré avec la touche **START**, la pédale devient inopérante. Si la sonification est démarrée à l'aide de la pédale, la touche **STOP** devient inopérante.

REMARQUE

La sonde est syntonisée pour vibrer à une fréquence spécifique. Si la fréquence de résonance de la sonde a changé, du fait de l'érosion par cavitation ou d'une rupture, une lecture minimum ne pourra pas être obtenue. En cas de condition de surcharge, ou si une lecture minimum ne peut pas être obtenue (moins de 20%) avec la sonde hors de l'échantillon, vérifier l'appareil sans sonde pour déterminer le composant pouvant être défectueux. Si une lecture minimum est obtenue avec le convertisseur sans sonde, la sonde est défectueuse et doit être remplacée.

Une sonde mal fixée engendre généralement un bruit de perceuse intense

En cas de condition de surcharge, se reporter à la page 18.

Immerger la sonde d'environ 5 cm dans l'échantillon. En cas d'utilisation d'une microsonde, immerger la microsonde d'environ 1 cm dans l'échantillon. L'amplitude nécessaire étant dépendante de l'application et fonction du volume et de la composition de l'échantillon, nous conseillons d'optimiser l'amplitude pendant le traitement de l'échantillon.

MINUTERIE : En mode pulsé, la durée du traitement est différente du temps écoulé car la fonction de temps de traitement et contrôle uniquement les portions de sonification du cycle. Par exemple, pour 1 heure de traitement, le temps écoulé sera de 2 heures si les cycles de sonification et de relaxation sont tous les deux réglés sur 1 seconde. Pour régler le temps de traitement, appuyer sur la touche **TIMER**.

L'écran LCD affiche :

Time Setting Hrs: __ Min: __ Sec: __	(réglage du temps)
---	--------------------

A l'aide des touches numériques, régler le temps de traitement sur la valeur désirée :

par exemple :

Time Setting Hrs: 5 Min: 30 Sec: 25
--

Appuyer sur la touche **ENTER/REVIEW**

L'écran LCD affiche :

TIME 5:30:25	TEMP ____°C
PULSE __:__:__	AMPL 40 %

PULSER : En inhibant l'accumulation de chaleur dans l'échantillon, la fonction de pulsation permet un traitement en toute sécurité des échantillons thermosensibles à haute intensité. De plus, les pulsations améliorent le traitement en permettant au matériaux de revenir sous la sonde après chaque décharge. Les durées des sonifications (ON) et relaxation (OFF) peuvent être réglées indépendamment de 0,1 seconde à 9,9 secondes. Pendant la phase de relaxation du cycle, l'indicateur rouge sur la touche **PULSER** s'allume. Si la phase de relaxation du cycle dépasse deux secondes, un message d'avertissement – **CAUTION – PROBE ON STANDBY** – (attention –sonde en attente) apparaît sur l'écran pour avertir l'utilisateur qu'il ne doit pas toucher la sonde ultrasonique. Pour régler le pulser, appuyer sur la touche **PULSER**.

L'écran LCD affiche :

Pulse on __. __sec	(sonificaion __. __sec)
Pulse off __. __sec	(relaxation __. __sec)

A l'aide de touches numérique, régler la phase de sonicication (ON) du cycle et appuyer la touche **ENTER/REVIEW**.

L'écran LCD affiche :

par exemple :

Pulse on 2.5 sec	(sonification 2,5 sec)
Pulse off __. __sec	(relaxation __. __sec)

A l'aide des touches numériques, régler la phase de relaxation (OFF) du cycle.

L'écran LCD affiche :

par exemple :

Pulse on 2.5 sec Pulse off 1.0 sec

(sonification 2,5 sec)
(relaxation 1,0 sec)

Appuyer sur la touche **ENTER/REVIEW**.

L'écran LCD affiche :

TIME 5:30:25	TEMP <u> </u> °C
PULSE 2.5 : 1.0	AMPL <u>40</u> %

TEMPERATURE

CHAPITRE III – MAINTENANCE

CONDITIONS DE SURCHARGE

Le fusible et la protection anti-surcharge protègent le sonificateur contre une mauvaise utilisation, ou un mauvais fonctionnement. Si un fusible saute, ou si le circuit de surcharge électronique s'active, procéder de la façon suivante :

ALIMENTATION ELECTRIQUE

Pour les exigences électriques, se référer à l'étiquette à l'arrière de l'appareil.

S'il est nécessaire de remplacer le (s) fusible (s), procéder de la façon suivante :

1. Déconnecter le cordon d'alimentation
2. Ouvrir le support de fusibles en utilisant un petit tournevis plat.
3. Retirer le support de fusibles rouge de son logement.
4. Pour les appareils 110/115 volts, remplacer les deux fusibles à action lente de type MDL de 15 A 6 mm x 6 mm. Pour les appareils 220/240 volts, remplacer les deux fusibles à action lente de type GDC de 7,5 A de 5 x 20 mm.
5. Rebrancher le cordon d'alimentation.
6. S'assurer que la sonde et/ou la pointe sont correctement fixées.
7. Vérifier les fusibles et les remplacer si nécessaire
8. Régler la commande d'AMPLITUDE sur 50 et le commutateur d'alimentation sur ON (marche). Avec la sonde à l'air (hors de l'échantillons), le wattmètre doit indiquer une valeur inférieure à 20 watts. Si la lecture dépasse 20 watts, régler le commutateur d'alimentation sur OFF (arrêt) et débrancher la sonde du convertisseur.
9. Remettre le commutateur d'alimentation sur ON (marche). Si le wattmètre indique une valeur inférieure à 20 watts, la sonde est défectueuse ou n'est plus ajustée du fait d'une érosion excessive, et doit être remplacée.

RETOUR DE L'APPAREIL

Nous conseillons de retourner un appareil nécessitant une réparation à l'usine. Afin de bénéficier d'une réparation rapide, contacter toujours l'usine avant de retourner un appareil. Préciser la date d'achat, le numéro du modèle et le numéro de série. Faire attention à emballer soigneusement l'appareil pour éviter tout dommage éventuel pendant le transport.

Les sonificateurs doivent toujours être renvoyés accompagnés de leur convertisseur et de leur sonde.

IMPORTANT

JE CERTIFIE QUE LE(S) SONIFICATEUR(S) ET OU LES ACCESSOIRES
RETOURNES POUR REPARATION SONT EXEMPTS DE MATIERES
RADIOACTIVES OU SUSCEPTIBLES DE PRESENTER UN DANGER
BIOLOGIQUE ET QU'ILS PEUVENT ETRE MANIPULES EN TOUTE
SECURITE.

**NE RETOURNER AUCUN APPAREIL SI CETTE CERTIFICATION NE PEUT
PAS ETRE APPORTEE**

CHAPITRE IV

CONSEILS ET TECHNIQUES D'UTILISATION

DESINTEGRATION DES CELLULES

Les organismes unicellulaires (micro-organismes) sont constitués d'une paroi cellulaire externe semi-perméable, solide et rigide entourant la membrane protoplasmique (cytoplasmique) et le cytoplasme. Le cytoplasme est constitué d'acides nucléiques, de

protéines, de glucides, de lipides, d'enzymes, d'ions inorganiques, de vitamines, de pigments, d'inclusions et d'environ 80% d'eau. Pour isoler et extraire n'importe quelle de ces substances de l'intérieur de la cellule, il est nécessaire de briser la paroi cellulaire et la membrane protoplasmique. Dans certains cas, les cellules peuvent sécréter la substance désirée, mais dans la plupart des cas la paroi cellulaire doit être désintégrée par ultrasons pour libérer ces substances.

Les micro-organismes sont très différents dans leur sensibilité à la désintégration ultrasonique. Par exemple, les plus facilement désintégrés sont ceux en forme de bâtonnet (bacilles), alors que les organismes sphériques (coques) sont beaucoup plus résistants. Le groupe des mycobactères, auquel appartient le micro-organisme responsable de la tuberculose est particulièrement difficile à désintégrer. Généralement, les cellules animales sont plus facilement désintégrées que les cellules végétales, et les globules rouges sont plus facilement désintégrés que les cellules musculaires car ces cellules ne possèdent pas de paroi cellulaire.

Avec le traitement par ultrasons, l'agitation moléculaire dans l'échantillon provoque généralement une élévation de température – surtout avec de petits volumes. Les températures élevées réduisant la cavitation, la température de l'échantillon doit être conservée aussi basse que possible – de préférence juste au-dessus de son point de congélation. Ceci peut être réalisé en immergeant le récipient contenant l'échantillon dans un bain de glace et d'eau salée. L'élévation de température peut également être réduite en utilisant le pulseur ou en soumettant l'échantillon à plusieurs séries de courtes sonications.

La désintégration des cellules peut être améliorée en augmentant la pression hydrostatique habituellement 1 à 4 bar et la viscosité. Pour les micro-organismes, l'addition de billes de verre d'une taille comprise entre 0.05 et 0.5 mm favorise la désintégration des cellules en concentrant l'énergie relâchée par la cavitation, et par écrasement physique. Les billes sont pratiquement indispensables pour la désintégration de spores ou de levures. Le bon dosage est de un volume de billes pour deux volumes de liquide.

Pour le traitement de cellules difficiles, un prétraitement par une enzyme comme le lysozyme ou la hyaluronidase peut être bénéfique. La glycosidase est efficace sur la levure, la lysostaphine sur les Staphylocoques, la collagénase sur la peau et le cartilage, et la trypsine hyaluronidase avec des tissus de foie et de reins.

Si l'utilisation d'enzyme n'est pas possible, les procédures suivantes peuvent être essayées : congélation de l'échantillon à -70°C pendant la nuit, puis décongélation dans un mélange eau glace immédiatement avant la sonication.

Chaque fois que cela est possible, les tissus doivent être coupés en tout petits morceaux pour permettre leur mouvement dans le liquide. Les tissus résistants comme la peau et les muscles doivent d'abord être liquéfiés dans un mixer ou un équivalent pendant environ 10 secondes, et transvasés dans un petit récipient pendant le traitement ultrasonique. La

congélation suivie d'une réduction en poudre peut également être utilisée si cette procédure ne perturbe pas l'expérience. Si des particules subcellulaires inactives sont désirées, la commande d'amplitude doit être réglée assez basse et le temps de traitement augmenté.

Insérer la sonde suffisamment profondément en-dessous de la surface de l'échantillon pour éviter la formation d'aérosol ou de mousse. La mousse diminue considérablement la cavitation et peut entraîner une dénaturation des protéines. Un traitement à une puissance plus faible sans mousse est beaucoup plus efficace qu'un traitement à une puissance plus élevée avec sans mousse. La diminution de la puissance, l'augmentation de la température du liquide empêchent généralement l'apparition d'aérosol et de mousse. Ne pas utiliser d'agent anti-moussant ou de surfactant.

Des radicaux libres se forment pendant la cavitation. Si on laisse ces radicaux libres s'accumuler, ceux-ci peuvent affecter de façon importante l'intégrité biologique de l'échantillon en réagissant avec les protéines, les polysaccharides ou les acides nucléiques. La formation de radicaux libres au cours de traitements de courte durée n'est normalement pas considérée comme un problème. Pour des traitements prolongés, il peut être bénéfique d'ajouter des fixateurs de radicaux libres comme le N_2O , la cystéine, la glutathione réduite, le dithiothréitol ou d'autres composés SH. La saturation de l'échantillon par une atmosphère protectrice d'hélium ou d'hydrogène gazeux, ou l'ajout d'un petit bout de glace carbonique dans l'échantillon diminue souvent la formation de radicaux libres.

La plus grande concentration d'énergie étant à proximité immédiate de la sonde, il est impératif de garder l'échantillon aussi près que possible de la pointe. Les liquides sont facilement traités car les cellules libres circulent sans cesse sous la sonde. Les matériaux solides, cependant, ont tendance à être repoussés par les ultrasons, et doivent être traités dans des récipients suffisamment larges pour contenir la sonde, mais également suffisamment petits pour restreindre le mouvement de l'échantillon. Pour les petits échantillons, nous conseillons d'utiliser des tubes à essai de forme conique. Bien que les tubes plastiques fonctionnent bien, les tubes en verre et en acier inoxydable sont un peu plus efficaces que ceux en plastique car ils n'absorbent pas les vibrations.

Le contact de la sonde avec le récipient diminue la puissance délivrée, et entraîne la migration de toutes petites particules de verre dans le liquide. Même si ces particules de verre n'affectent pas la composition chimique de l'échantillon, elles formeront une fine couche grise lors de la centrifugation. Si la sonde doit entrer en contact avec un échantillon solide, utiliser un tube de centrifugation en acier inoxydable standard de 20 mm ($\frac{3}{4}$ " de diamètre coupé à une longueur de 70 mm (3"). Les micropointes ne doivent jamais entrer en contact avec autre chose que le liquide, car la friction résultante au point de contact avec le récipient briserait la micropointe. Même si les sondes plus grandes ne se brisent pas si elles entrent en contact avec le récipient de traitement, elles peuvent cependant briser le récipient.

Avant chaque expérience, placer la pointe de la sonde dans l'eau ou l'alcool et mettre l'alimentation sous tension pendant quelques secondes pour retirer tout résidu.

Pour éviter la perte d'échantillon pouvant s'accrocher à la paroi du tube à essai, enduire le tube de silicone de la façon suivante : laver et sécher soigneusement le tube à essai, enduire de silicone puis sécher à l'air.

Les sondes peuvent être autoclavées ou stérilisées en les immergeant soit dans l'eau bouillante soit dans un détergent bactéricide et un désinfectant.

Une viscosité et une concentration élevées sont problématiques. 5000 cp et une concentration de 15% en poids constituent les limites maximales. Si l'échantillon est trop épais pour être versé ou circuler facilement, il est trop épais et ne peut pas être traité par ultrasons.

Utiliser la chambre à atmosphère étanche pour le traitement d'échantillons pathogènes ou présentant un danger biologique.

Utiliser une cellule à flux continu pour le traitement de grands volumes. Pour le traitement d'échantillons thermosensibles, faire circuler l'échantillon dans un tube torsadé immergé dans un bain de glace salé pour minimiser l'élévation de la température.

Utiliser une chambre Cup Horn pour le traitement d'échantillons pathogènes, radioactifs et présentant un risque biologique, en isolement complet sans introduction de sonde. Les tubes plastiques ayant tendance à absorber les vibrations, il est préférable d'utiliser des tubes en acier inoxydable ou en verre pour travailler avec une chambre Cup Horn. Pour activer le traitement, ajouter des billes de verre à l'échantillon. Si l'utilisateur le désire, il peut ajouter de la glace pilée dans l'eau à l'intérieur de la chambre Cup Horn pour optimiser le refroidissement.