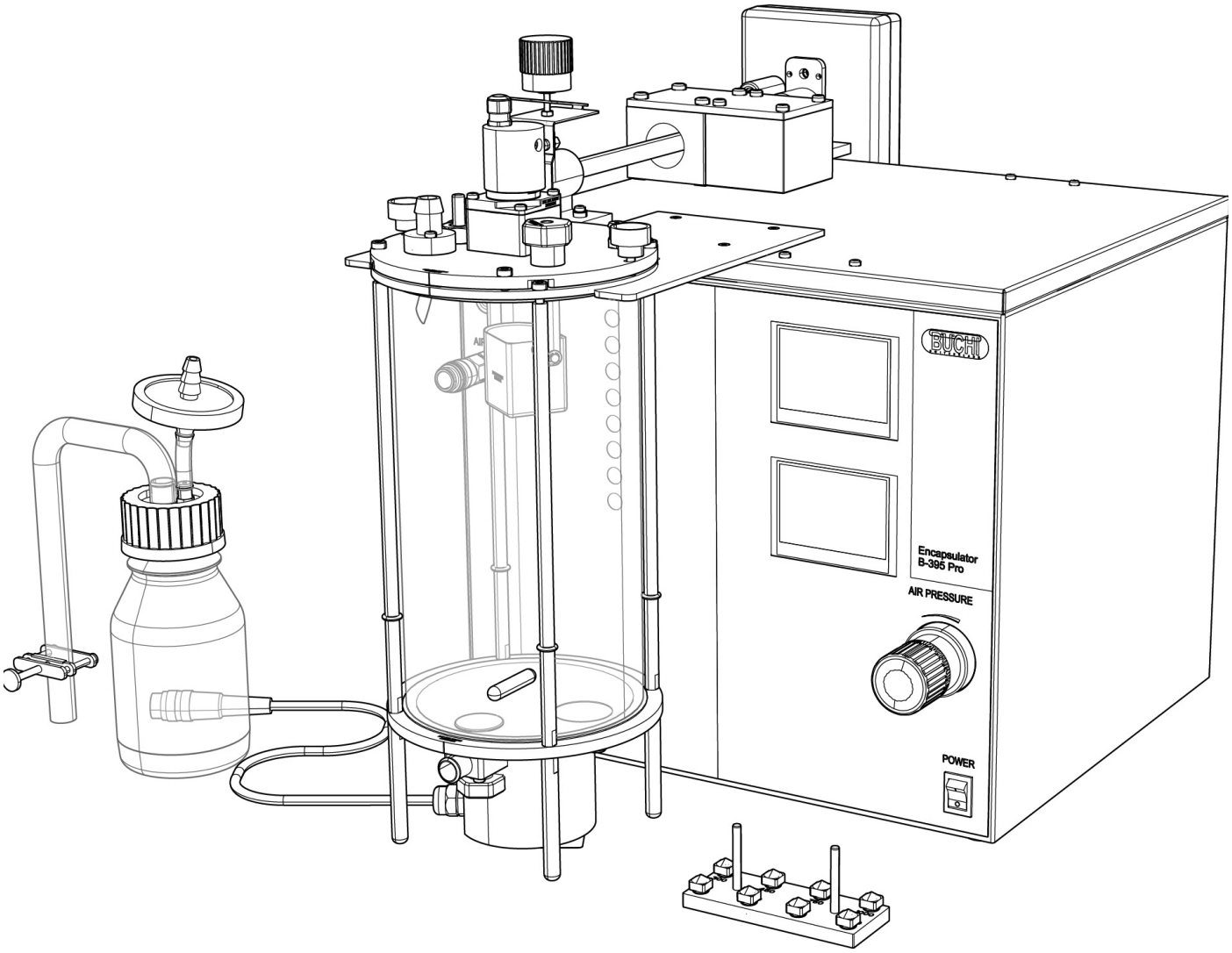
Encapsulator B-395 Pro
Manuel d'utilisation



11593486E fr

Mentions légales

Identification du produit :

Manuel d’utilisation (Original) Encapsulator B-395 Pro

11593486E fr

Date de publication : 05.2016

BÜCHI Labortechnik AG
Meierseggstrasse 40
Postfach
CH-9230 Flawil 1

EMail: quality@buchi.com

BUCHI se réserve le droit d’apporter les modifications qui seront jugées nécessaires à la lumière de l’expérience acquise, notamment en termes de structure, d’illustrations et de détails techniques.

Ce manuel tombe sous la législation du droit d’auteur. Toute reproduction, distribution ou utilisation à des fins commerciales, mise à disposition à des tiers des informations qu’il contient est strictement interdite. Il est également interdit de fabriquer des composants, quels qu'ils soient, à l'appui de ce manuel, sans l’autorisation écrite préalable de Buchi.

Table des matières

1 À propos de ce manuel . . . 5
2 Sécurité . . . 6
2.1 Qualification des utilisateurs . . . 6
2.2 Utilisation conforme . . . 6
2.3 Utilisation impropre . . . 6
2.4 Avertissements et symboles de sécurité utilisés dans le présent manuel. . . . 7
2.5 Sécurité du produit . . . 9
2.5.1 Dangers généraux . . . 9
2.5.2 Mesures de sécurité . . . 10
2.5.3 Mesures et éléments de sécurité intégrés . . . 10
2.6 Règles générales de sécurité . . . 11
2.7 Clause de non-responsabilité . . . 11
3 Données techniques . . . 12
3.1 Champ d'application et contenu de la livraison . . . 12
3.1.1 Instrument standard . . . 12
3.1.2 Accessoires standard . . . 13
3.1.3 Accessoires en option . . . 14
3.1.4 Pièces de rechange recommandées . . . 14
3.2 Données techniques . . . 15
3.3 Matériels utilisés . . . 15
4 Description fonctionnelle . . . 16
4.1 Principe de fonctionnement . . . 16
4.2 Connexions de l'Encapsulator B-395 Pro . . . 18
5 Mise en service . . . 19
5.1 Site d'installation . . . 19
5.2 Installation de l'Encapsulator B-395 Pro . . . 20
5.3 Connexions électriques . . . 21
5.4 Montage du réacteur . . . 22
5.4.1 Plaque de recouvrement . . . 23
5.4.2 Plaque de base . . . 27
5.4.3 Flacon collecteur de billes . . . 29
5.5 Systèmes de pompage . . . 30
5.5.1 Pompe-seringue . . . 30
5.5.2 Flacon à pression . . . 31

Prière de lire le présent manuel attentivement avant l'installation et la mise en service du système et de prendre note en particulier des mesures de sécurité consignées au Chapitre 2. Le manuel doit être conservé à proximité de l'instrument de façon à pouvoir être consulté à tout moment.
Aucune modification technique ne peut être apportée à l'instrument sans accord préalable écrit de BUCHI. Les modifications non autorisées risquent d'affecter la sécurité de l'instrument, la conformité UE ou d'entraîner des accidents.
Le présent manuel est protégé par les droits d'auteur. La reproduction et la distribution des informations contenues dans le manuel, leur utilisation au profit de la concurrence ou leur mise à disposition de tiers est interdite. La fabrication de tout composant à l'aide du présent manuel sans accord préalable écrit est également interdite.
Le manuel en langue anglaise est la version d'origine qui sert de base à toutes les traductions dans les autres langues.

5.5.3 Installation du flacon à pression . . . 32
5.6 Option : système de buses concentriques. . . . 33
5.6.1 Montage des buses concentriques . . . 35
5.7 Composants de l'Encapsulator B-395 Pro . . . 36
5.8 Contrôle final de montage . . . 36
6 Fonctionnement . . . 37
6.1 Démarrage de l'instrument . . . 37
6.2 Écrans principaux . . . 37
6.3 Structure du menu de l'unité de commande. . . . 38
6.4 Fonctions du menu de l'écran tactile supérieur . . . 39
6.5 Fonctions du menu de l'écran tactile inférieur . . . 41
6.5.1 Menu d'étalonnage de la pompe-seringue . . . 42
6.5.2 Sélection d'une seringue étalonnée . . . 43
6.6 Contrôle manuel de la pression d'air . . . 44
6.7 Manipulation de la pompe-seringue . . . 45
6.7.1 Étalonnage de la pompe-seringue. . . . 45
6.7.2 Sélection d'une seringue préétalonnée . . . 45
6.8 Apprentissage de l'Encapsulator, utilisation d'eau . . . 46
6.8.1 Utilisation de la pompe-seringue . . . 46
6.8.2 Utilisation du flacon à pression . . . 49
6.9 Apprentissage de l'Encapsulator, utilisation d'une solution d'alginate non stérile. . . . 52
6.9.1 Préparation d'une solution d'alginate de sodium à 1,5 % . . . 52
6.9.2 Utilisation de la pompe-seringue . . . 53
6.9.3 Emploi du flacon à pression . . . 56
6.10 Apprentissage de l'Encapsulator, emploi du réacteur complet. . . . 58
6.11 Stérilisation par la chaleur du réacteur. . . . 60
6.12 Stérilisation du flacon à pression . . . 60
6.13 Procédure d'encapsulation pour l'immobilisation de micro-organismes dans des billes de Ca-alginate . . . 61
6.14 Protocole d'encapsulation dans des membranes d'alginate-PLL-alginate . . . 63
6.15 Contexte théorique . . . 66
6.15.1 Productivité des billes et densité cellulaire . . . 68
7 Maintenance et réparations . . . 71
7.1 Service client . . . 71
7.2 État du boîtier . . . 71
7.3 Étanchéité. . . . 71
7.4 Nettoyage . . . 72
7.4.1 Nettoyage de la buse après chaque séquence d'immobilisation. . . . 72
7.4.2 Nettoyage d'une buse engorgée . . . 73
7.4.3 Nettoyage du réacteur et d'autres cuves . . . 73
8 Dépannage. . . . 74
8.1 Dysfonctionnements et remèdes . . . 74
9 Arrêt, entreposage, transport et mise au rebut . . . 75
9.1 Entreposage et transport . . . 75
9.2 Mise au rebut . . . 76
10 Déclarations et exigences . . . 77
10.1 Exigences de la FCC (pour les États-Unis et le Canada) . . . 77
10.2 Déclaration de sécurité . . . 78

1 À propos de ce manuel

Le présent manuel décrit l'Encapsulator B-395 Pro. Il contient toutes les informations nécessaires à la sécurité d'utilisation et à son bon fonctionnement. Il est destiné en particulier au personnel de laboratoire.

Toute utilisation non conforme aux instructions consignées dans le présent manuel risque d'affecter la protection fournie par l'instrument.

Abréviations

EPDM	Terpolymère éthylène-propylène-diène
FEP	Éthylène-propylène fluoré
PTFE	Polytétrafluoroéthylène

2 Sécurité

Ce chapitre souligne le concept de sécurité de l'instrument et contient des règles générales de comportement ainsi que des avertissements de dangers directs et indirects associés à l'utilisation du produit.
Tous les messages et consignes de sécurité mentionnés dans les différents chapitres doivent être strictement observés et suivis pour garantir la sécurité d'utilisation. En conséquence, le manuel doit être en permanence à la disposition de toutes les personnes qui exécutent les tâches décrites dans le manuel.

2.1 Qualification des utilisateurs

L'utilisation de l'instrument est réservée aux laborantins et personnes ayant la formation et l'expérience professionnelle nécessaires au discernement des dangers potentiels liés au fonctionnement.
Les personnes non formées ou en formation doivent être supervisées par une personne qualifiée. Le présent manuel d'utilisation sert de base à la formation.

2.2 Utilisation conforme

L'Encapsulator B-395 Pro a été conçu et construit pour être un instrument de laboratoire.

L'Encapsulator B-395 Pro instrument semi-automatique utilisé pour l'encapsulation de substances chimiques, de biomolécules, de médicaments, d'arômes et de parfums, de pigments, d'extraits, de cellules et de micro-organismes dans des polymères et dans des conditions de travail stériles et non stériles. La formation des billes est assurée par un jet de liquide à écoulement laminaire qui se dissocie en gouttelettes de taille homogène grâce à une vibration à une fréquence optimale.

Les conditions de contrôle de l'Encapsulator B-395 Pro permettent de générer des billes de taille comprise entre 0,15 et 2 mm. L'instrument convient parfaitement à l'encapsulation de particules inférieures à 50 µm.

Si l'instrument est utilisé avec des substances potentiellement toxiques ou dangereuses, il doit être installé dans une hotte de laboratoire fermée ou dans une boîte à gants. Dans de tels cas, toute l'exécution et la manipulation du système doivent s'effectuer dans la boîte ventilée pour éviter l'intoxication et d'autres situations dangereuses pour l'utilisateur et l'environnement.

2.3 Utilisation impropre

Les applications non mentionnées dans la section 2.2 sont considérées comme impropres. Les applications non conformes aux données techniques (voir section 3 du présent manuel) sont considérées comme impropres.

L'opérateur est le seul à supporter le risque de dommages ou dangers dus à une utilisation impropre.

Utilisations formellement interdites :

- Installation ou utilisation de l'instrument dans des pièces qui nécessitent l'exoprotection des instruments.

2.4 Avertissements et symboles de sécurité utilisés dans le présent manuel

Les termes d'avertissement standardisés DANGER, AVERTISSEMENT, MISE EN GARDE et AVIS identifient les niveaux de risques relatifs aux dommages corporels et matériels. Tous les termes d'avertissement associés aux dommages corporels sont accompagnés d'un symbole de sécurité.

Pour votre sécurité, il est important de lire et de comprendre le tableau ci-dessous regroupant les différents termes d'avertissement et leur définition.

Symbole	Terme d'avertissement	Définition	Niveau de risque
⚠	**DANGER**	Indique une situation dangereuse entraînant la mort ou des blessures graves si les précautions ne sont pas prises pour l'éviter.	★★★★
⚠	**AVERTISSEMENT**	Indique une situation dangereuse pouvant entraîner la mort ou des blessures graves si les précautions ne sont pas prises pour l'éviter.	★★★☆
⚠	**MISE EN GARDE**	Indique une situation dangereuse pouvant entraîner des blessures légères ou modérées si les précautions ne sont pas prises pour l'éviter.	★★☆☆
Aucun	**AVIS**	Indique un dommage matériel possible mais aucune pratique associée à un dommage corporel.	★☆☆☆ (dommage matériel uniquement)

Des symboles de sécurité complémentaires peuvent être insérés dans un panneau rectangulaire à gauche du terme d'avertissement et du texte complémentaire (voir exemple ci-dessous).

Espace réservé aux symboles de sécurité complémentaires.	⚠ **TERME D'AVERTISSEMENT**
	Texte supplémentaire décrivant le type et le niveau de gravité du danger/risque. • Liste de mesures à prendre pour éviter le danger ou la situation dangereuse décrit(e) ici. • ... • ...

Tableau des symboles de sécurité complémentaires

La liste de référence ci-dessous mentionne tous les symboles de sécurité utilisés dans le présent manuel et leur signification.

Symbole	Signification
	Avertissement général

	Danger électrique
	Gaz explosifs, environnement explosif
	Nuisible aux organismes vivants
	Dommage de l'appareil
	Gaz/air sous pression
	Porter une blouse de laboratoire
	Porter des lunettes de protection
	Porter des gants de protection

Complément d'information sur l'utilisation

Les paragraphes débutant par le mot NOTE véhiculent des informations utiles sur l'utilisation de l'appareil, du logiciel ou des accessoires. Les NOTES ne sont associées à aucune sorte de danger ou dommage (voir exemple ci-dessous).

NOTE

Conseils utiles d'utilisation de l'appareil ou du logiciel.

2.5 Sécurité du produit

Les avertissements de sécurité mentionnés dans le présent manuel (et décrits dans la *section 2.4*) alertent l'utilisateur et évitent des situations dangereuses résiduelles en donnant les contre-mesures appropriées. Néanmoins, des risques pour les utilisateurs, le matériel et l'environnement peuvent survenir en cas d'endommagement ou d'utilisation négligente ou impropre de l'instrument.

2.5.1 Dangers généraux

Les messages de sécurité suivants indiquent des dangers d'ordre général pouvant survenir en manipulant l'instrument. L'utilisateur doit observer toutes les contre-mesures répertoriées en vue d'atteindre et de maintenir le niveau le plus faible possible de danger.

D'autres messages d'avertissement signalent tout danger découlant des actions et situations décrites dans le présent manuel.

Avertissement

Danger de mort ou de blessures graves en cas d'utilisation dans des environnements explosifs.

- Ne pas utiliser l'instrument dans des environnements explosifs.
- Ne pas utiliser de mélanges de gaz explosifs sur l'instrument.
- Avant l'utilisation, vérifier la bonne installation des arrivées de gaz.
- Assurer une ventilation suffisante nécessaire à l'évacuation directe des émanations de gaz et de substances gazeuses.

Avertissement

Élévation de pression dans le système d'admission en raison de buses engorgées.

Rupture du système d'admission.

Danger de mort ou d'intoxication grave par contact ou incorporation de substances nocives utilisées.

- Nettoyer la buse immédiatement après utilisation, voir la *section 7.4*.

Avertissement

Danger de mort ou de blessures graves par contact électrique à haute tension.

- N'ouvrir le boîtier du produit que lorsque la machine est arrêtée et débranchée.

Avis

Risque de court-circuit et d'endommagement de l'instrument par écoulement accidentel.

- Ne pas pas renverser de liquide sur l'instrument ou ses composants.
- Essuyer immédiatement tout écoulement de liquide.
- Assurer le bon positionnement de la cuve d'échantillons.
- Ne pas déplacer l'instrument rempli de liquide.
- Éloigner de l'instrument toute source de vibrations externes.

Avis

Danger d'endommagement de l'instrument par une mauvaise alimentation secteur.

- L'alimentation secteur externe doit être conforme à la tension indiquée sur la plaque du modèle.
- Vérifier la présence d'une mise à la terre suffisante.

Avis

Risque d'endommager la verrerie ou les ustensiles de laboratoire en déplaçant la pompe-seringue.

- Ne placer aucune verrerie ou aucun autre ustensile de laboratoire sur l'Encapsulator.

2.5.2 Mesures de sécurité

Porter toujours un équipement de protection individuelle comme des lunettes de protection, une blouse et des gants pour travailler sur l'instrument.

2.5.3 Mesures et éléments de sécurité intégrés

Haute tension et charges électrostatiques

- Limitation du courant de sécurité
- Mise à la terre interne pour l'arrêt des charges électrostatiques

Air/Gaz

- Soupape de sécurité de surpression (ouverture à 1,5 bar)

2.6 Règles générales de sécurité

Responsabilité de l'opérateur

Le directeur du laboratoire est responsable de la formation de son personnel.
L'opérateur est tenu d'informer le fabricant sans délai de tout incident éventuel relatif à la sécurité pendant le fonctionnement de l'instrument. Les réglementations juridiques locales, fédérales et étatiques applicables à l'instrument doivent être rigoureusement respectées.

Obligation de maintenance et d'entretien

L'opérateur est responsable du bon état d'utilisation de l'instrument. Les travaux de maintenance, d'entretien et les réparations sont effectués exclusivement par un personnel autorisé aux dates prévues et minutieusement.

Pièces de rechange

Utiliser uniquement des consommables et des pièces de rechange d'origine pour garantir une bonne performance du système et sa fiabilité. Toute modification apportée aux pièces de rechange nécessite l'autorisation écrite préalable du fabricant.

Modifications

Les modifications apportées à l'instrument ne sont autorisées qu'après consultation préalable et accord écrit du fabricant. Les modifications et mises à niveau doivent être effectuées exclusivement par un ingénieur technicien BUCHI accrédité. Le fabricant décline toute responsabilité en cas de modifications non autorisées.

2.7 Clause de non-responsabilité

L'utilisation et la commercialisation de toute matière produite avec l'Encapsulator sont de la seule responsabilité de l'opérateur.

3 Données techniques

Ce chapitre présente l'instrument et ses caractéristiques techniques. Il précise le contenu de la livraison, les données techniques, les exigences ainsi que les caractéristiques complètes.

3.1 Champ d'application et contenu de la livraison

L'Encapsulator B-395 Pro propose l'encapsulation

- dans des conditions de travail stériles dans un réacteur fermé
- avec une pompe-seringue intégrée.

Le contenu de la livraison doit être vérifié uniquement au vu du bon de livraison et des numéros de commande répertoriés.

NOTE
Pour toute information supplémentaire au sujet des produits répertoriés, voir www.buchi.com ou contacter le concessionnaire local.

3.1.1 Instrument standard

Tableau 3-1 : Instrument standard

Produit	N° de commande
Encapsulator B-395 Pro 50 – 60 Hz, 100 – 240 V	11058220
Encapsulator B-395 Pro 50 – 60 Hz, 100 – 240 V avec documentation BPF	11058230
Système Encapsulator B-395 Pro complet pour procédures stériles avec pompe-seringue intégrée, agitateur magnétique et réacteur fermé.	

3.1.2 Accessoires standard

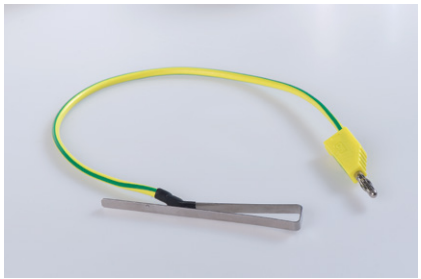


Tableau 3-2 : Accessoires standard

Produit	N° de commande
Réacteur	11057890
Réacteur avec documentation BPF	11057879
Réacteur entièrement autoclavable en verre et acier inoxydable pour la production et la collecte stériles de microcapsules, volume de travail 2 litres	
Kit de 8 buses simples	11057918
Kit de 8 buses simples avec ouverture de haute précision de 0,08, 0,12, 0,15, 0,20, 0,30, 0,45, 0,75 et 1,00 mm, en acier inoxydable 316 l, comprend un porte-buse	
Flacon à pression 500 mL	11058190
Flacon à pression 1 000 mL	11058191
Flacons en verre avec raccords, tubes et filtre à air, pression de service jusqu'à 1,5 bar, autoclavable	
Kit de mise à la terre	11058189
Manuel d'utilisation Version française	11593484

3.1.3 Accessoires en option

Tableau 3-3 : Accessoires en option

Produit	N° de commande
Kit de buse concentrique	11058051
Kit de 7 buses externes avec ouverture de haute précision de 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7 et 0,9 mm en acier inoxydable, avec flacon à pression de 1 000 mL compris	

3.1.4 Pièces de rechange recommandées

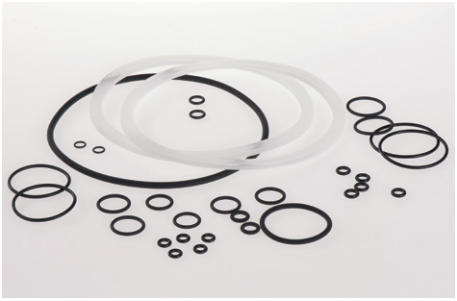
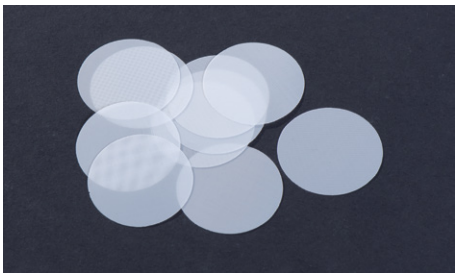


Tableau 3-4 : Pièces de rechange recommandées

Produit	N° de commande
Kit de joints toriques pour buse simple	11057954
Kit de joints toriques pour buse concentrique	11057955
Kit de joints toriques pour réacteur	11057970



Préfiltres pour buse, diamètre 7 mm (10 pièces)	11057957
Filtres de drainage pour réacteur, diamètre 35 mm (10 pièces)	11057958

3.2 Données techniques

Tableau 3-5 : Données techniques Encapsulator B-395 Pro		
Consommation électrique	150 W max.	
Tension d'alimentation	100 – 240 VAC	
Fluctuations de tension de l'alimentation secteur	jusqu'à ±10 % de la tension nominale	
Fréquence	50/60 Hz	
Fusible	3,15 A	
Dimensions (l×H×P)	32×38×48 cm	
Poids	11 kg	
Diamètre des buses simples (= noyau)	0,08, 0,12, 0,15, 0,20, 0,30, 0,45, 0,75 et 1,00 mm	
Diamètre des buses d'enveloppe	0,20, 0,30, 0,40, 0,50, 0,60, 0,70 et 0,90 mm	
Plage de taille des gouttelettes	0,15 à 2,00 mm	
Fréquence de vibration	40 à 6 000 Hz	
Tension de l'électrode	250 à 2 500 V	
Débit de la pompe-seringue	0,01 à 50 mL/min	
Débit de la pompe à pression d'air	0,5 à 200 mL/min	
Pression d'air maximale admise dans le système	1,5 bar	
Volume brut du réacteur	4,5 l	
Volume de service du réacteur	2 l	
Éléments en contact avec le milieu	autoclavable	
Conditions de travail stériles	complètes	
Catégorie de surtension	II	
Degré de pollution	2	
Conditions ambiantes :		
Température	5 – 40 °C	Pour une utilisation en intérieur uniquement
Altitude	jusqu'à 2 000 m	
Humidité relative max. (paramètre de courbe)	Humidité relative max. 80 % jusqu'à 31 °C, puis diminution linéaire jusqu'à 50 % de l'humidité relative à 40 °C	

Tableau 3-6 : Matériaux et certifications	
Matériaux en contact avec l'échantillon	acier inoxydable, silicone, verre, FEP, PTFE
Certifications	CE, CSA

3.3 Matériels utilisés

Tableau 3-7 : Matériels utilisés	
Composant	Description du matériel
Réacteur	Acier inoxydable, verre au boro-silicate 3.3, FEP, PTFE joints : silicone, EPDM
Buses	Acier inoxydable, joints : EPDM
Flacon à pression	Acier inoxydable, verre au boro-silicate 3.3, FEP, PTFE joints : silicone, EPDM

4 Description fonctionnelle

Ce chapitre explique le principe de fonctionnement de base de l'Encapsulator B-395 Pro. Il précise également la structure de l'instrument et fournit une description fonctionnelle générale de ses composants.

4.1 Principe de fonctionnement

Principales fonctions de l'instrument :

Conditions de travail stériles dans un réacteur fermé

- Confinement stérile dans un réacteur autoclavable.

Reproductibilité de la taille des billes d'une production à l'autre

- Le réglage des paramètres (taille de buse, débit liquide et fréquence de vibration) détermine la taille des billes.

Reproductibilité de la formation des billes

- Dans une plage comprise entre 0,15 et 2,0 mm.

Grande uniformité des tailles de billes

- Grâce à l'unité de dispersion électrostatique *(EDU)* ; environ 5 % de l'écart type relatif de taille des billes avec de l'alginate pur.

Contrôle immédiat du processus

- Contrôle visuel à la lumière d'une lampe de stroboscope.

Survie cellule élevée

- La technique de formation des billes à force de cisaillement réduite et dans des conditions physiologiques permet une survie cellule élevée.

Taille de lot

- Quand on utiliser des seringues, la taille des lots est comprise entre 2 et 60 mL et le volume mort est approximativement de 0,5 mL. Quand on utilise le pompage par pression d'air, la taille des lots est comprise entre 5 et 1 000 mL et le volume mort est approximativement de 2 mL.

Kit de 8 buses simples

- Les 8 tailles de buse de 0,08, 0,12, 0,15, 0,20, 0,30, 0,45, 0,75 et 1,0 mm couvrent la plage de taille des gouttelettes d'environ 0,15 à 2,0 mm.

Constitution de la matrice polymérique

- Par la pompe-seringue intégrée ou par pression d'air à des débits compris entre 70 mL/h (buse 0,08 mm) et 2 500 mL/h (buse 1,0 mm).

Production élevée de billes

- La quantité de gouttelettes produites varie en fonction des conditions d'encapsulation et de la matrice polymérique et peut atteindre jusqu'à 6 000 gouttelettes par seconde.

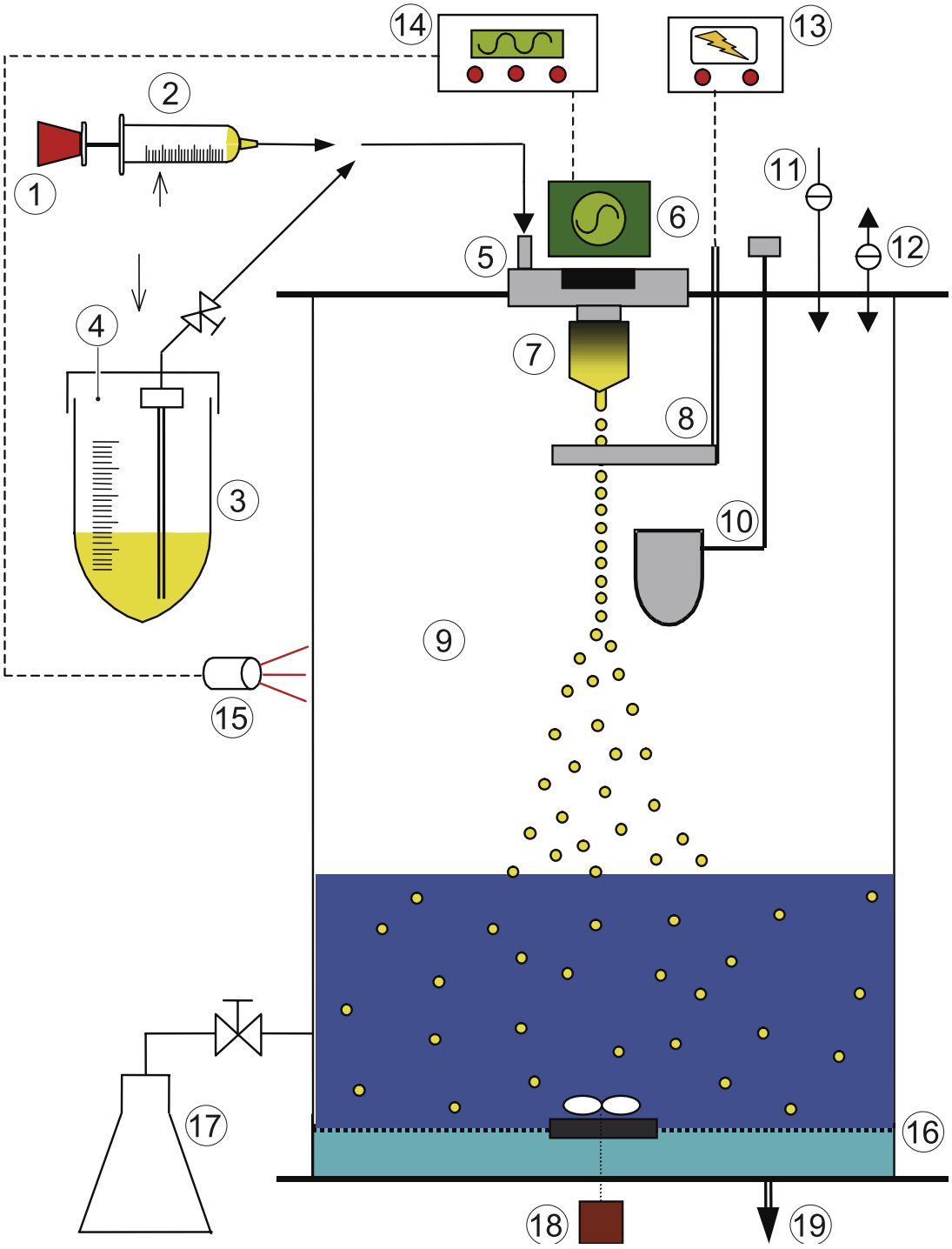


Figure 4-1 : Représentation schématique de l'Encapsulator B-395 Pro

① Pompe-seringue
② Seringue
③ Flacon à pression
④ Contrôle de pression d'air
⑤ Chambre de pulsation
⑥ Système de vibration
⑦ Buse
⑧ Électrode
⑨ Réacteur
⑩ Coupelle de dérivation
⑪ Filtre à liquide
⑫ Filtre à air
⑬ Générateur de charge électrostatique
⑭ Générateur de fréquence
⑮ Lampe de stroboscope
⑯ Grille de filtration
⑰ Flacon collecteur de billes
⑱ Agitateur magnétique
⑲ Orifice déchets

Les principaux composants de l'Encapsulator B-395 Pro sont l'unité de commande avec pompe-seringue, les circuits électrique et pneumatique ainsi que le réacteur. Toutes les pièces de l'instrument en contact direct avec les billes peuvent être stérilisées par autoclavage.

Le produit à encapsuler (cellules, microorganismes ou autre produits biologiques et chimiques) est mélangé à un polymère d'encapsulation (habituellement l'alginate) et la matrice est placée une seringue ② ou dans un flacon à pression ③, voir la *figure 4-1*. Une ⑤ pompe-seringue ① ou la pression d'air ④ force l'entrée du mélange polymère-produit dans la chambre de pulsation. Le liquide traverse ensuite une buse percée avec précision ⑦ et se dissocie en gouttelettes de taille homogène à la sortie de la buse. Ces gouttelettes traversent un champ électrique entre la buse ⑦ et l'électrode ⑧ avec pour résultat une charge superficielle. La répulsion électrostatique disperse les gouttelettes dans la solution durcissante.

Taille des gouttelettes

La taille des gouttelettes dépend de plusieurs paramètres y compris la fréquence de vibration, l'amplitude, la taille de la buse, le débit ainsi que les propriétés physiques du mélange polymère-produit. De règle générale, le diamètre des gouttelettes de Ca-alginate correspond au double du diamètre de la buse. Mais la variation de la vitesse du jet et de la fréquence de vibration permet un ajustement de ±15 %.
La visualisation de la formation en temps réel des gouttelettes à la lumière d'une lampe de stroboscope permet d'optimiser les paramètres de formation des gouttelettes ⑮. Lorsque le paramétrage est optimal, une chaîne continue de gouttelettes est clairement visible. Une fois établis, les paramètres optimaux peuvent être prédéfinis pour des séquences de production de billes ultérieures avec le mélange polymère-produit. Les billes mal formées en début et en fin de séquence sont interceptées par la coupelle de dérivation ⑩.
En fonction de plusieurs variables, 50 à 5 000 billes sont générées par seconde et collectées dans une solution durcissante dans le réacteur ⑨. Les solutions du réacteur sont mélangées continuellement par la pale d'un agitateur magnétique ⑱ pour éviter l'agglutination de billes. Par ailleurs, le réacteur et/ou la solution doivent être mis à la terre. À la fin d'une séquence de production, la solution durcissante est vidangée (orifice déchets ⑲), tandis que les billes sont retenues par une grille de filtration ⑯. Des solutions de lavage ou d'autres solutions de réaction sont ajoutées aspetiquement par un filtre stérile ⑪. Les billes continuent d'être traitées en microcapsules ou transférées dans le flacon collecteur de billes ⑰.

4.2 Connexions de l'Encapsulator B-395 Pro

Connexions avant (voir la *figure 5-2*)

- Interrupteur principal
- Sortie d'air
- Tension
- Terre

Connexions arrière (voir la *figure 5-1*)

- Alimentation électrique
- Arrivée d'air
- Agitateur magnétique
- Vibration
- Connecteur en option

5 Mise en service

Ce chapitre décrit comment installer l'instrument. Il donne également des instructions à respecter pour le démarrage initial.

NOTE

Au déballage, inspecter l'instrument à la recherche de dommages éventuels. Le cas échéant, préparer un rapport d'état immédiatement pour informer l'entreprise postale, l'entreprise des chemins de fer ou l'entreprise de transport. Garder l'emballage d'origine pour tout transport ultérieur.

5.1 Site d'installation

Placer l'instrument sur une surface stable horizontale. Prendre en compte les dimensions maximales du produit et son poids. L'instrument doit être installé de façon à ne pas entraver l'accès à l'interrupteur principal et à la prise secteur.
Réunir les conditions ambiantes décrites dans la *section 3.2 « Données techniques »*.

Avertissement

Danger de mort ou de blessures graves en cas d'utilisation dans des environnements explosifs.

- Ne pas utiliser l'instrument dans des environnements explosifs.

Avertissement

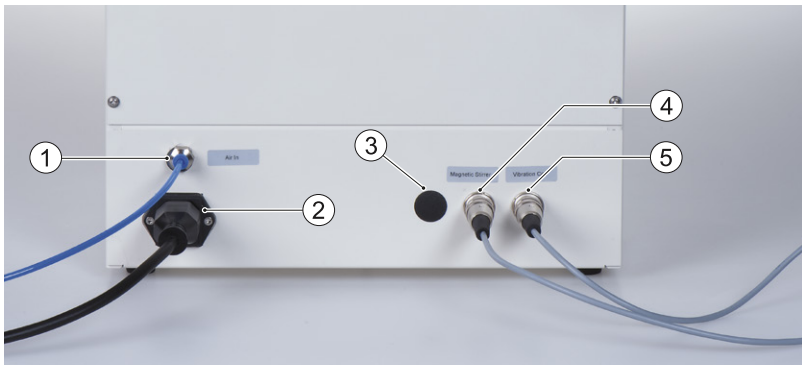
Danger de mort ou d'intoxication grave par contact ou incorporation de substances nocives.

- Porter des lunettes de sécurité.
- Porter des gants de sécurité.
- Porter une blouse de laboratoire.
- Bien nettoyer l'instrument et tous les accessoires pour retirer toute substance potentiellement dangereuse.
- Ne pas nettoyer les pièces poussiéreuses à l'air comprimé.
- Entreposer l'instrument et ses accessoires dans un endroit sec.

5.2 Installation de l'Encapsulator B-395 Pro

Placer l'instrument sur une paillasse de laboratoire près d'une prise secteur et d'une arrivée d'air comprimé. Placer l'instrument de manière à pouvoir débrancher l'alimentation électrique à tout moment.

Installation de l'agitateur magnétique, de l'unité de vibration et du conducteur de terre
Brancher l'agitateur électrique, l'unité de vibration et le conducteur de terre comme illustré aux *figure 5-1* et *5-2*.



① Arrivée d'air (tube bleu 2,6×4,0 mm)
② Prise électrique avec fusible intégré
③ Prise en option
④ Prise pour l'agitateur magnétique
⑤ Prise pour l'unité de vibration

Figure 5-1 : Vue de dos de l'unité de commande

L'unité de commande intègre tous les systèmes de régulation de la production de billes. La fréquence de vibration, la vitesse de la pompe, l'intensité de la lumière, la dispersion électrostatique et la vitesse de l'agitateur magnétique sont contrôlés sur les deux écrans tactiles. La pression d'air est régulée par le régulateur de pression. La lampe du stroboscope intégré permet le contrôle de la dissociation du jet en temps réel. L'unité de vibration est reliée au dos de l'unité de commande par un câble. Le réacteur est fixé au support par deux vis.

① Pompe-seringue
② Support réacteur
③ Unité de vibration
④ Écran tactile supérieur (fréquence de vibration et électrode)
⑤ Écran tactile inférieur (pompe-seringue, agitateur magnétique et indication de pression)
⑥ Régulateur de pression
⑦ Lampe de stroboscope
⑧ Interrupteur principal
⑨ Agitateur magnétique
⑩ Sortie d'air
⑪ EDU (sortie tension)
⑫ Connexion du conducteur de terre
⑬ Régulateur de débit de liquide

Figure 5-2 : Vue de face de l'unité de commande

Installation de la conduite d'air

Un tube d'air de 3 m (2,6×4,0 mm) est livré avec l'Encapsulator pour le branchement d'air comprimé externe ou d'azote.

1. Enfoncer le tube d'air dans le raccord d'arrivée d'air.
2. Fixer l'autre extrémité du tube d'air à l'alimentation externe en gaz.
3. Alimenter l'Encapsulator en gaz à un débit compris entre 1,5 et 2 bars (entre 23 et 30 psi) pour utiliser l'instrument.

NOTE

Le circuit pneumatique intégré (régulateur et raccords) tolère jusqu'à 7 bars à l'arrivée d'air. Une soupape de sécurité de surpression qui s'ouvre à 1,5 bar et située après le régulateur de pression garantit une pression d'air maximale de 1,5 bar à la sortie d'air. Toutefois la plage de travail est comprise entre 0 et 1 bar.

5.3 Connexions électriques

Vérifier que les spécifications électriques de l'unité inscrites sur la plaque d'identification de l'unité de commande correspondent à la tension du réseau électrique local. Brancher le câble d'alimentation de l'Encapsulator à l'alimentation secteur.

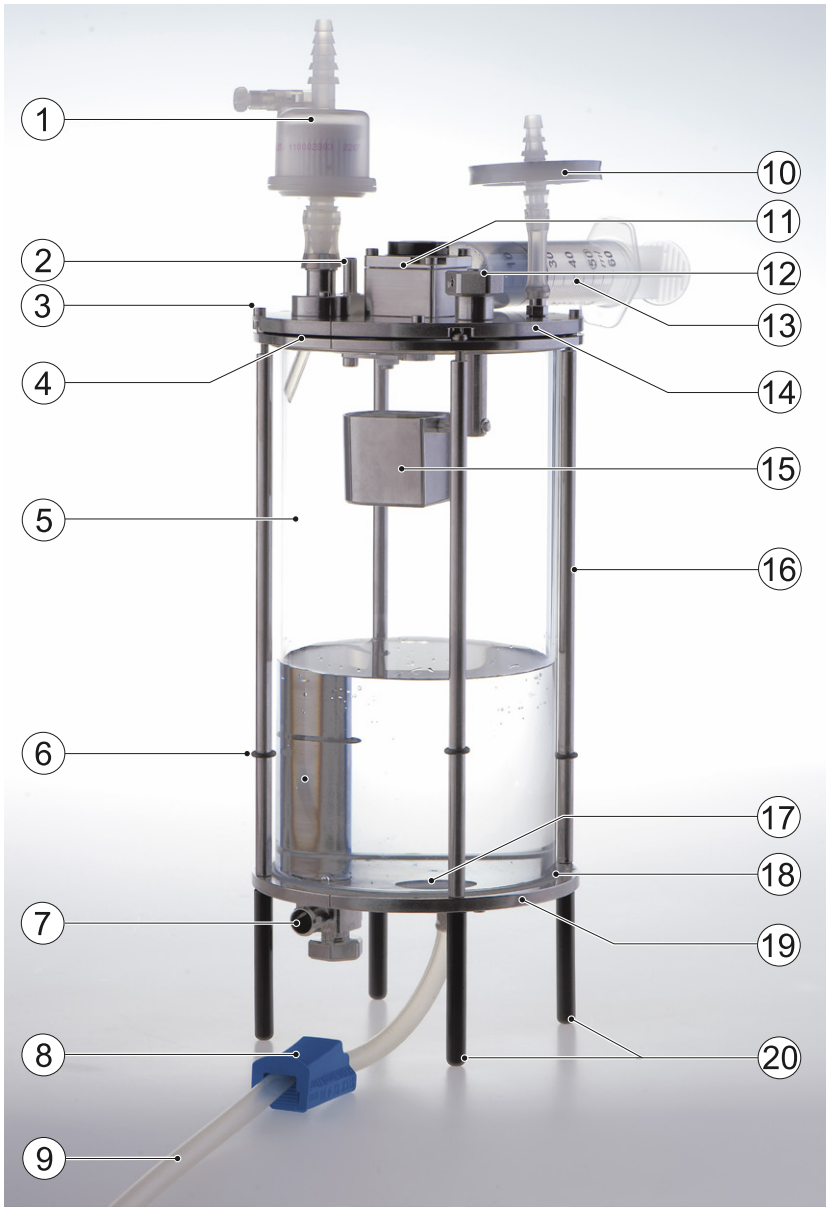
⚠ Mise en garde

Danger d'endommagement de l'instrument par une mauvaise alimentation secteur.

- L'alimentation secteur externe doit être conforme à la tension indiquée sur la plaque du modèle.
- Vérifier la présence d'une mise à la terre suffisante.
- Des mesures de sécurité électrique complémentaires comme des disjoncteurs différentiels à courant résiduel peuvent être nécessaires pour respecter les lois et réglementations locales. Les connexions électriques externes et les rallonges doivent être dotées d'un fil conducteur de terre (prises, cordon ou fiches tripolaires). Tous les cordons d'alimentation doivent être équipés de fiches moulées exclusivement pour éviter les risques liés à un câblage défectueux inobservé.

5.4 Montage du réacteur

Le réacteur est une unité fermée autoclavable qui permet la formation des billes dans des conditions stériles et s'il y a lieu de leur appliquer un traitement supplémentaire.



① Filtre à liquide
② Connexion électrode
③ Vis M4×10
④ Bride
⑤ Éprouvette en verre
⑥ Joint torique (6×2) pour contrôle du jeu
⑦ Vanne de collecte
⑧ Collier de serrage en plastique
⑨ Tube silicone (6×9) de drainage
⑩ Filtre à air
⑪ Unité de production de billes
⑫ Bouton de dérivation
⑬ Seringue
⑭ Plaque de recouvrement
⑮ Coupelle de dérivation
⑯ Barre de support
⑰ Filtre du circuit de drainage
⑱ Raccord plat silicone
⑲ Plaque de base
⑳ Pied

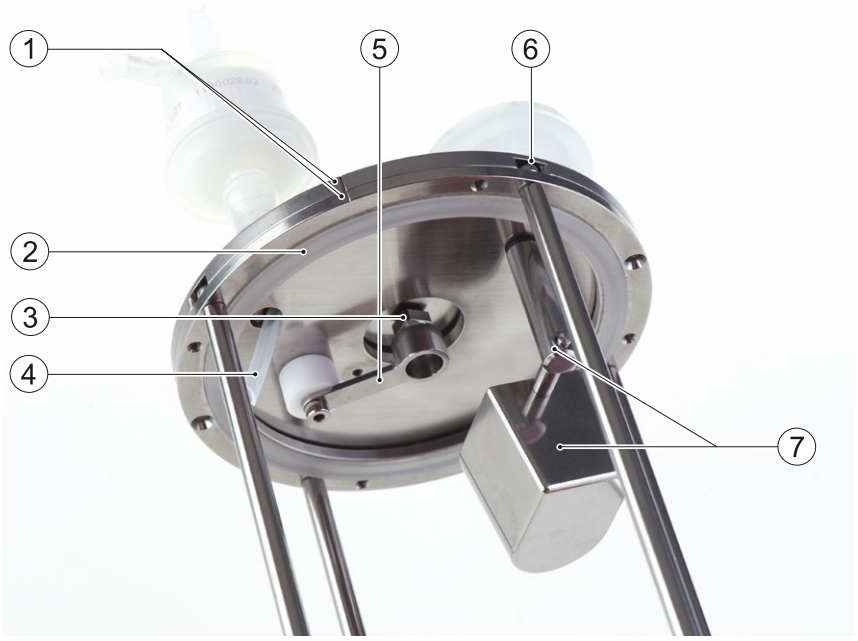
Figure 5-3 : Vue d'ensemble du réacteur

Principaux composants du réacteur :

1. Plaque de recouvrement en acier inoxydable avec électrode, dérivation, arrivée du liquide et filtre d'échange d'air
2. Unité de production de billes
3. Buse
4. Éprouvette en verre
5. Plaque de base en acier inoxydable avec vanne de drainage et de billes
6. Flacon collecteur de billes

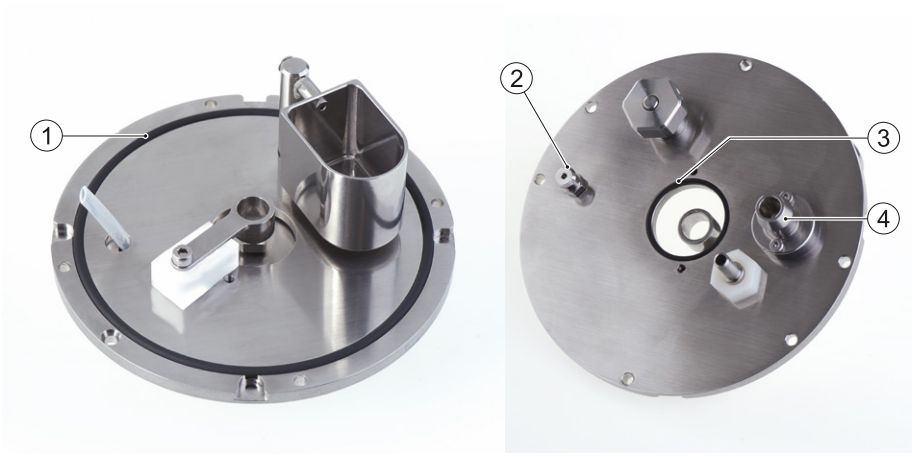
5.4.1 Plaque de recouvrement

La plaque de recouvrement est livrée assemblée. Laver la plaque de recouvrement soigneusement avant utilisation. Après chaque séquence, démonter l'unité de production de billes et la buse. Laver à l'eau ou avec un détergent ou solvant approprié (selon la nature de la matrice d'immobilisation utilisée), rincer à l'eau et laisser sécher. Attention de ne pas endommager la membrane PTFE en manipulant l'unité de production de billes.
Les autres composants ne doivent être démontés qu'en cas de besoin. Laver avec du détergent, rincer à l'eau et laisser sécher.
Pendant le remontage, vérifier l'intégrité des raccords plats et des joints toriques et les remplacer le cas échéant.



① Encoche avant d'alignement
② Rainure d'ajustage
③ Buse
④ Arrivée du liquide
⑤ Électrode
⑥ Vis M4×12
⑦ Dérivation de billes

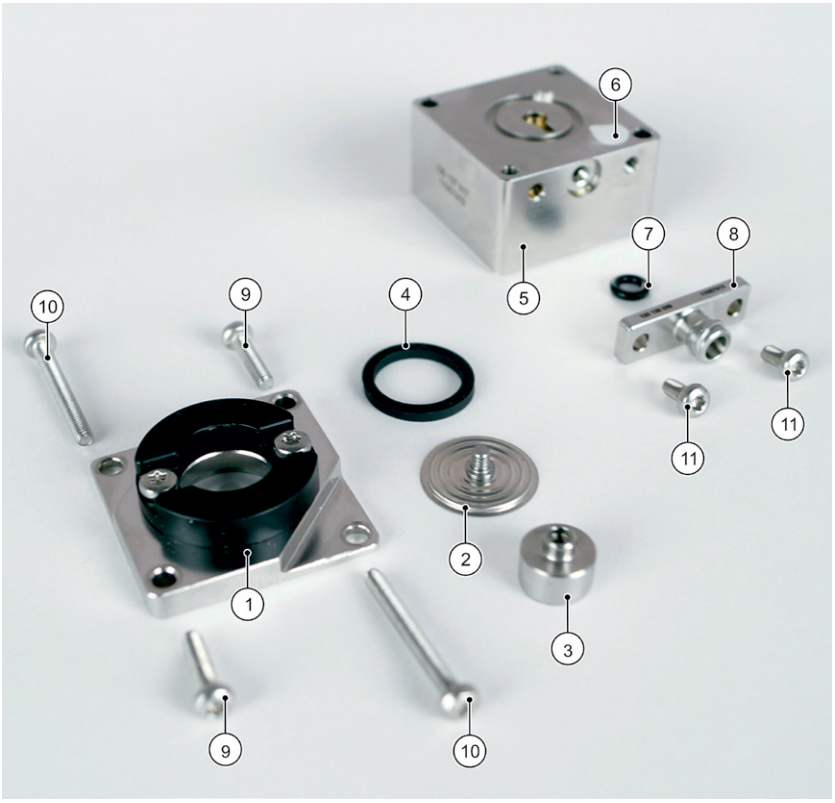
Figure 5-4 : Vue de dessous de la plaque de recouvrement montée



① Joint torique 117,1×3,53
② Arrivée d'air
③ Joint torique 29,87×1,78
④ Arrivée du liquide

Figure 5-5 : Vue de dessous (gauche) et vue d'en haut (droite) de la plaque de recouvrement

5.4.1.1 Unité de production de billes et buses



① Support magnétique *
② Membrane
③ Aimant
④ Joint torique (14×1,78)
⑤ Chambre de pulsation
⑥ Préfiltre à maillage de 50 µm
⑦ Joint torique (3,68×1,78)
⑧ Embout Luer Lock
⑨ Vis M3×8
⑩ Vis M3×25
⑪ Vis M3×6

*avec bague et vis de fixation M3×5.
La bague de fixation peut être retirée pour le nettoyage.

Figure 5-6 : Pièces composant l'unité de production de billes

Une buse haute qualité est essentielle dans la production homogène de billes. Le perçage des trous de buses est réalisé avec la plus grande précision grâce à l'utilisation des dernières technologies. L'Encapsulator B-395 Pro est livré avec un kit de 8 buses ; les tailles d'ouverture des buses sont 80, 120, 150, 200, 300, 450, 750 µm et 1,0 mm. Elles sont entièrement en acier inoxydable.

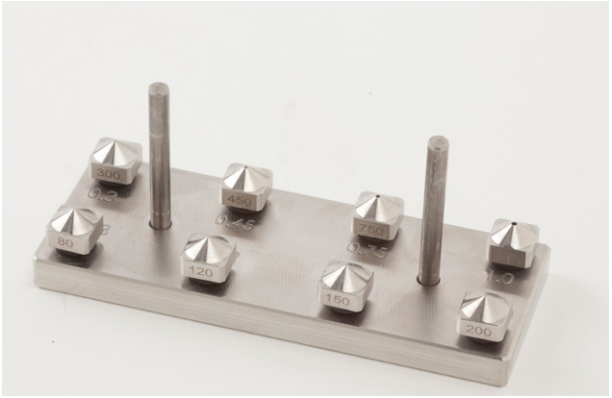


Figure 5-7 : Kit de 8 buses sur le porte-buse

Le porte-buse contient 8 buses (80, 120, 150, 200, 300, 450, 750 µm et 1,0 mm). La taille du joint torique est 4,47×1,78.

5.4.1.2 Électrode

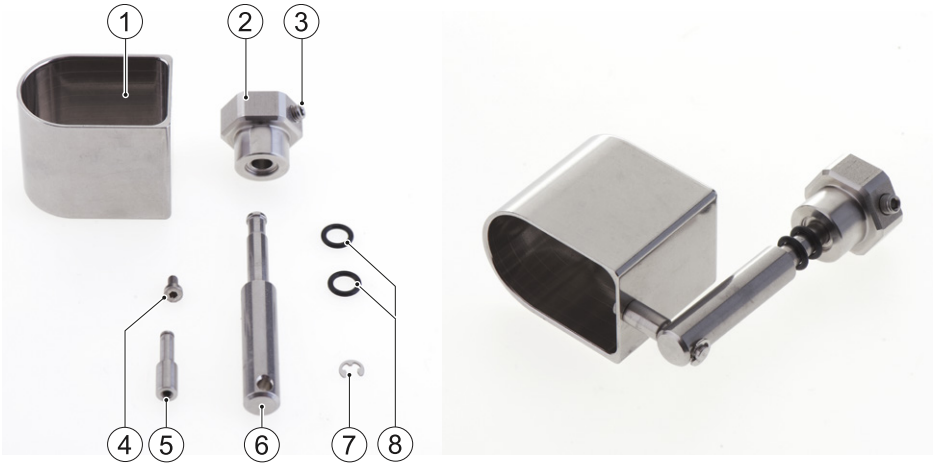
① Écrou de vis M10 (polyamide)
② Joint torique (10,82×1,78)
③ Isolateur
④ Électrode
⑤ Pièce intermédiaire
⑥ Vis M4×12

Figure 5-8 : Électrode et éléments de connexion

L'électrode est fixée avec l'anneau allongé vers le bas ou vers le haut pour pouvoir modifier la distance entre la buse et l'électrode. Une courte distance entre la buse et l'électrode est recommandée pour la production de petites billes et également en cas de faible viscosité des solutions utilisées. Une longue distance est recommandée pour la production de grosses billes (approximativement > 800 µm). La séparation de la bille du jet de liquide doit se produire à l'intérieur de l'anneau d'électrode où le champ électrostatique est le plus élevé, ou en second lieu dans l'espace compris entre l'électrode et la buse en fonction des propriétés de la matrice.

5.4.1.3 Système de dérivation des billes

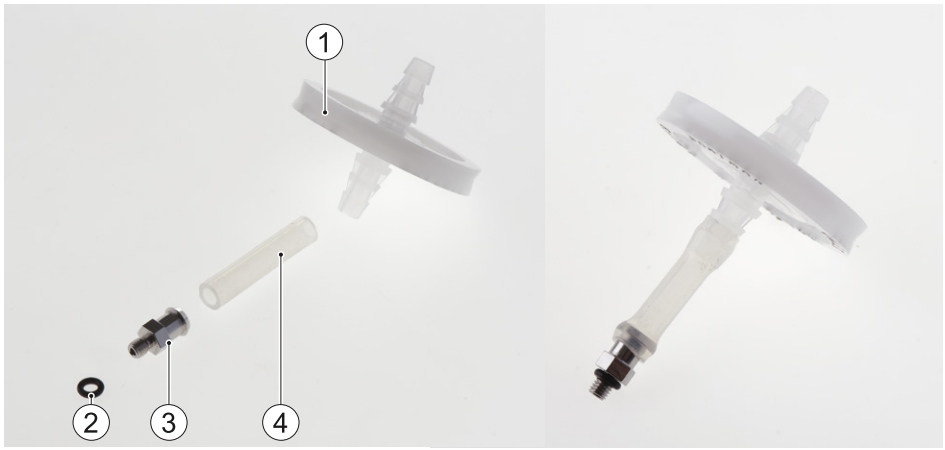
Système de dérivation des billes au début et à la fin de la séquence d'encapsulation pour éliminer les billes indésirables produites par un débit instable.



① Coupelle
② Bouton
③ Vis M5×8
④ Vis M3×6
⑤ Axe latéral
⑥ Axe principal
⑦ Bague
⑧ Joint torique (6,1×1,6)

Figure 5-9 : Système de dérivation des billes – Vue éclatée (gauche), vue assemblée (droite)

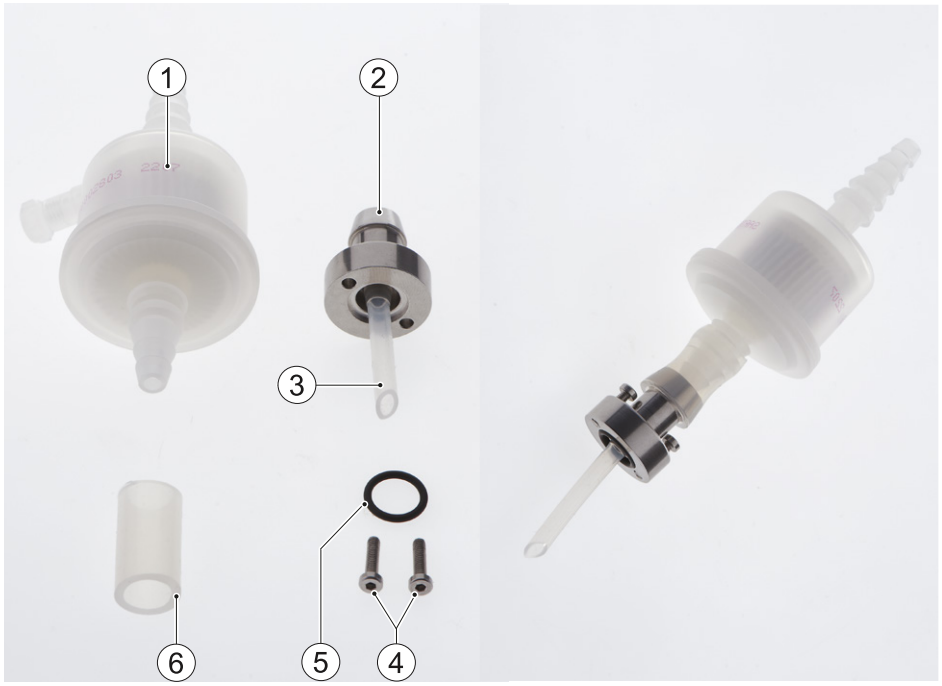
5.4.1.4 Filtre à air



① Filtre à air HEPA
② Joint torique 3,68×1,78
③ Embout
④ Tube en silicone 5×8 mm

Figure 5-10 : Filtre à air – Vue éclatée (gauche), vue assemblée (droite)

5.4.1.5 Filtre à liquide



① Filtre à liquide (par ex. Sartobran 150)
② Arrivée du liquide
③ Tube en silicone (3×5) de 35 mm de long
④ Vis M3×12
⑤ Joint torique (10,82×1,78)
⑥ Tube en silicone (10×14), 40 mm de long

Figure 5-11 : Filtre à liquide – Vue éclatée (gauche), vue assemblée (droite)

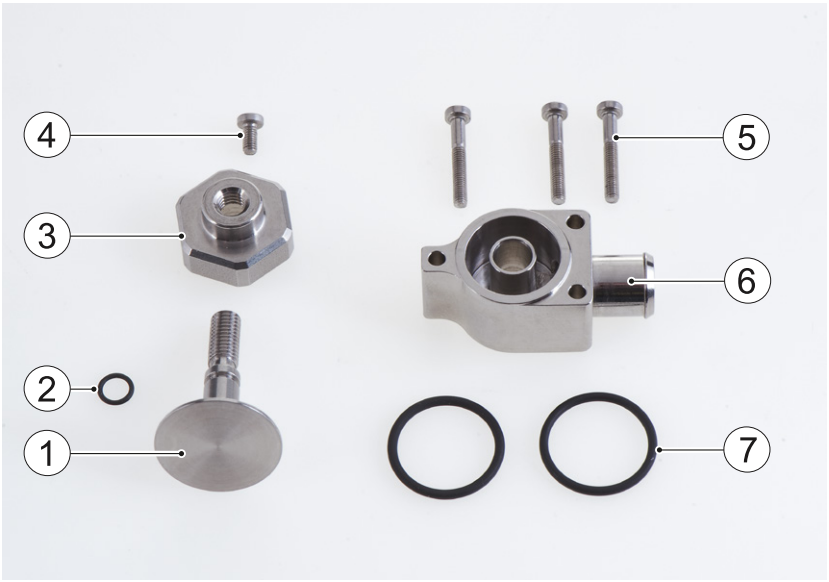
5.4.2 Plaque de base

La plaque de base a une double fonction et deux orifices d'évacuation. Le premier possède un filtre pour retenir les billes dans le réacteur pendant le remplacement de solution d'encapsulation et le second est une vanne de drainage pour la collecte des billes sans compromettre la stérilité.

① Raccord plat silicone
② Vanne de drainage des billes
③ Barre de support
④ Joint torique (6×2) pour contrôle du jeu
⑤ Filtre de drainage du liquide
⑥ Encoche avant d'alignement
⑦ Sortie de drainage du liquide
⑧ Plaque de base
⑨ Vanne de drainage des billes
⑩ Pied

Figure 5-12 : Vue d'en haut (en haut) et vue de dessous (en bas) de la plaque de base

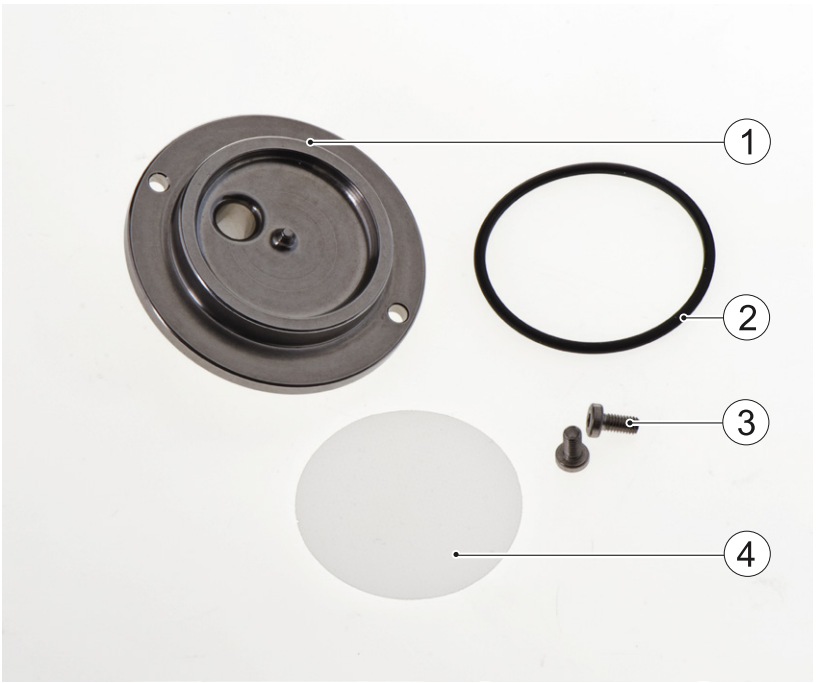
5.4.2.1 Vanne de drainage des billes



① Piston
② Joint torique (5×1)
③ Bouton de vanne
④ Vis M3×6
⑤ Vis M3×20
⑥ Vanne de collecte (BT 14)
⑦ Joint torique (18,77×1,78)

Figure 5-13 : Composants de la vanne de drainage des billes

5.4.2.2 Système de drainage du liquide



① Plaque de drainage du liquide
② Joint torique (34,65×1,78)
③ Vis M3×6
④ Grille du filtre, diamètre 35 mm, maillage 100 µm

Figure 5-14: Composants du système de drainage du liquide

NOTE

La grille du filtre rétrécit de 1 à 2 % pendant le premier autoclavage. Ensuite ses dimensions restent stables.

5.4.3 Flacon collecteur de billes

À la fin de la séquence de production des billes et de leur traitement, les billes sont directement transférées à travers la *vanne de collecte des billes* dans le flacon collecteur de billes. Les billes peuvent ensuite être transportées aseptiquement dans n'importe quel récipient. La *Figure 5-15* montre le flacon collecteur de billes démonté et monté.

Figure 5-15 : Flacon collecteur de billes pour la collecte et le transport stériles des billes et capsules produites. Le flacon collecteur de billes est relié à la vanne de collecte de billes du réacteur.

① Flacon 250 mL
② Filtre à air, voir la Fig. 5-10
③ Collier de tube
④ Tube en silicone 10×14
⑤ Plaque du flacon collecteur
⑥ Joint torique (31,42×2,62)
⑦ Bouchon troué

5.5 Systèmes de pompage

L'Encapsulator B-395 Pro propose deux systèmes de pompage de la matrice d'immobilisation :

- par pompe-seringue volumétrique
- par pression d'air des flacons à pression

Principales utilisations de la pompe-seringue :

1. Petits volumes (< 60 mL).
2. Lorsque le débit de liquide doit être contrôlé très précisément à chaque séquence.
3. Lorsqu'un très petit volume mort est exigé (approximativement 0,5 mL).

Cas où le pompage par pression d'air est recommandé :

1. Gros volumes (> 60 mL).
2. Pour utiliser des débits élevés nécessaires à la production de grosses billes avec des buses > 300 µm.

Les deux systèmes peuvent s'utiliser avec le système de buses concentriques. Le liquide du noyau est pompé par la pompe-seringue et le liquide de l'enveloppe est pompé par pression d'air. Il est également possible d'utiliser deux flacons à pression en séparant la conduite d'air vers les flacons par un connecteur « T » ou « Y ».

5.5.1 Pompe-seringue

La pompe-seringue sert de système de délivrance volumétrique. Cette pompe délivre la matrice d'immobilisation de façon très précise. La plupart des marques de seringues en plastique sont compatibles. (L'utilisation de seringues en verre est déconseillée !) Tous les types de seringue peuvent être étalonnés individuellement à l'aide du système d'étalonnage intégré (voir le chapitre 6 « Fonctionnement »). Les seringues préstérilisées facilitent le traitement aseptique.
Le débit de pompage peut varier de 0,01 à 50 mL/min en fonction de la taille de la seringue.

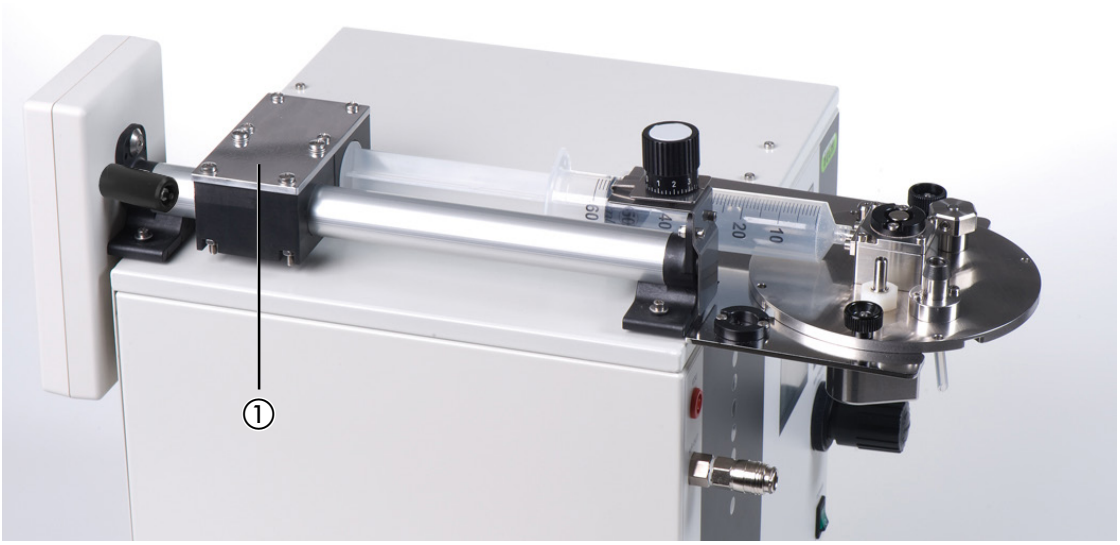


Figure 5-16 : Pompe-seringue

La seringue est reliée à l'unité de production de billes par le raccord Luer Lock. Le piston de la seringue est poussé par le bras mobile de la pompe-seringue ①.

5.5.2 Flacon à pression

Le flacon à pression est un récipient autoclavable utilisé pour le pompage de la matrice d'immobilisation par pression d'air. La *Figure 5-17* montre les différentes pièces qui composent le flacon à pression.

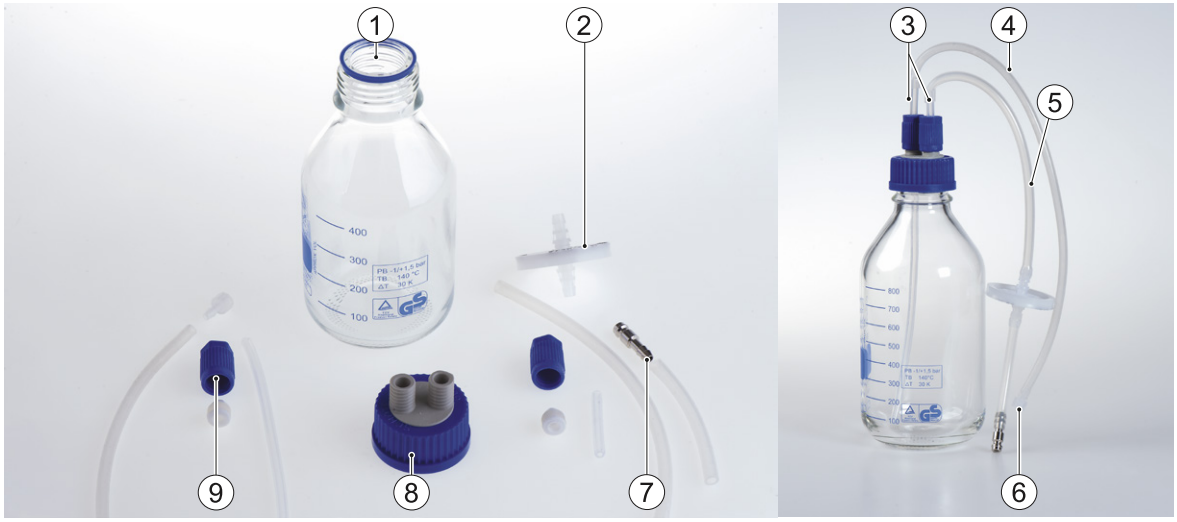


Figure 5-17 : Flacon à pression et filtre HEPA pour le pompage stérile du mélange d'immobilisation par pression d'air

① Flacon à pression résistant de 500 mL ou 1 000 mL
② Filtre à air HEPA
③ Tube PTFE (4×6)
④ Tube en silicone pour liquides (4×7)
⑤ Tube d'air en silicone (5×8)
⑥ Embout Luer Lock mâle, diamètre intérieur 4,8 mm
⑦ Embout raccord rapide
⑧ Bouchon à deux orifices
⑨ Bouchon avec raccord PTFE pour tubes 6 mm

L'**air** traverse un tube en silicone d'un diamètre intérieur de 5 mm (5×8 mm). Le filtre Hepa évite la contamination du mélange stérile d'immobilisation et doit être remplacé suivant les instructions du fabricant ou en cas de signes visibles de passage d'air réduit.

Le **liquide** passe dans un tube PTFE (3×6 mm) à l'intérieur du flacon et dans le tube en silicone ④ à l'extérieur du flacon. Ce tube en silicone est fixé à l'unité de production de billes par l'embout Luer Lock mâle ⑥.

5.5.3 Installation du flacon à pression

Figure 5-18 : Flacon à pression installé

1. Assembler et au besoin autoclaver le flacon à pression.
2. Remplir le flacon du mélange d'immobilisation.
3. Fixer le tube en silicone du flacon à pression sur l'arrivée Luer Lock de l'unité de production de billes.
4. Passer le tube en silicone dans le régulateur de débit de liquide. Le pincer pour qu'aucun liquide ne puisse passer.
5. Insérer l'embout g du tube d'air dans le raccord rapide de la sortie d'air de l'unité de commande.

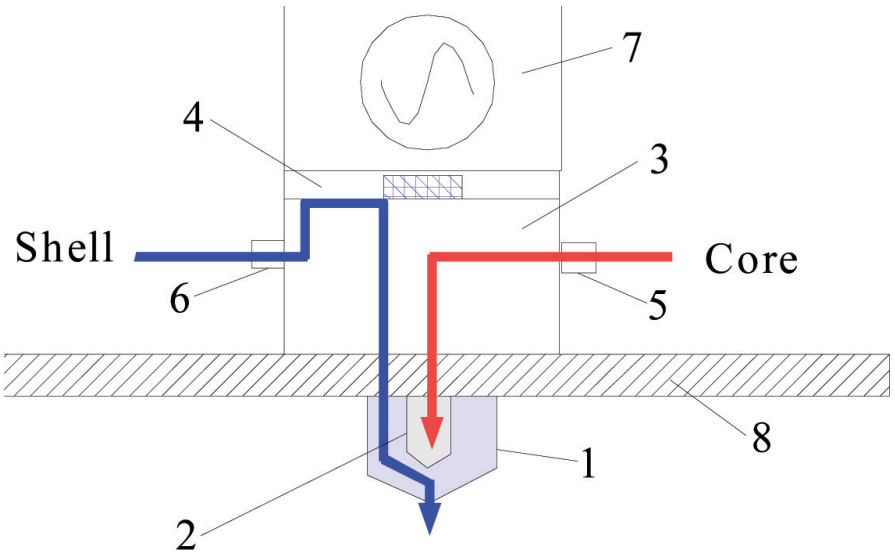
5.6 Option : système de buses concentriques

Le système de buses concentriques (CN) est une option ajoutée au kit de buses simples. Il permet la production de capsules en une étape. Le système comprend une unité de production de billes par buse concentrique, un kit de 7 buses d'enveloppe (0,20, 0,30, 0,40, 0,50, 0,60, 0,70 et 0,90 mm) ainsi qu'un flacon à pression de 1 000 mL. Le liquide d'enveloppe est pompée par pression d'air à l'aide du flacon à pression.

Principaux composants de l'unité de buses concentriques (voir la *figure 5-20*) :

- Paire de buses avec buse d'enveloppe ① et de noyau ②.
- Unité de production de billes CN avec corps antipulsation ③ et support magnétique ④.

Figure 5-19 : Formation de la capsule



① Buse d'enveloppe
② Buse de noyau
③ Corps antipulsation CN
④ Support magnétique
⑤ Raccord Luer, pour liquide de noyau
⑥ Raccord Luer, pour liquide d'enveloppe
⑦ Unité de vibration
⑧ Plaque-support

Figure 5-20 : Description schématique du système de buses concentriques

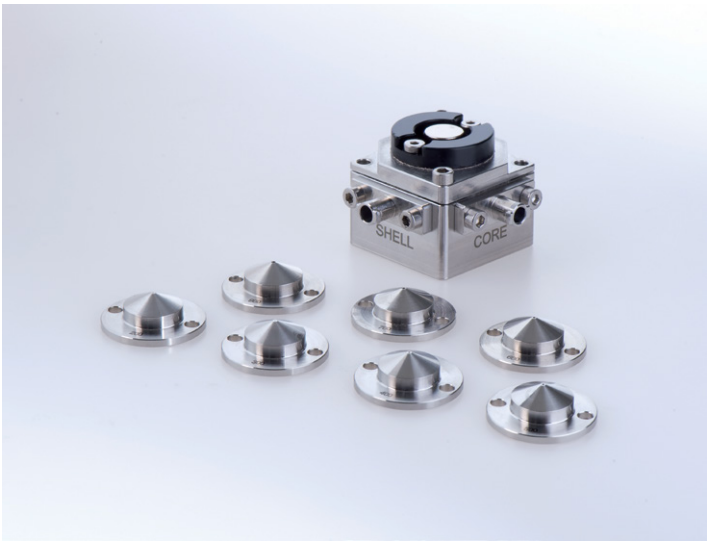


Figure 5-21 : Unité de production de billes CN avec 7 buses d'enveloppe. Les ouvertures de buse standard : 0,20, 0,30, 0,4, 0,50, 0,60, 0,70 et 0,90 mm.

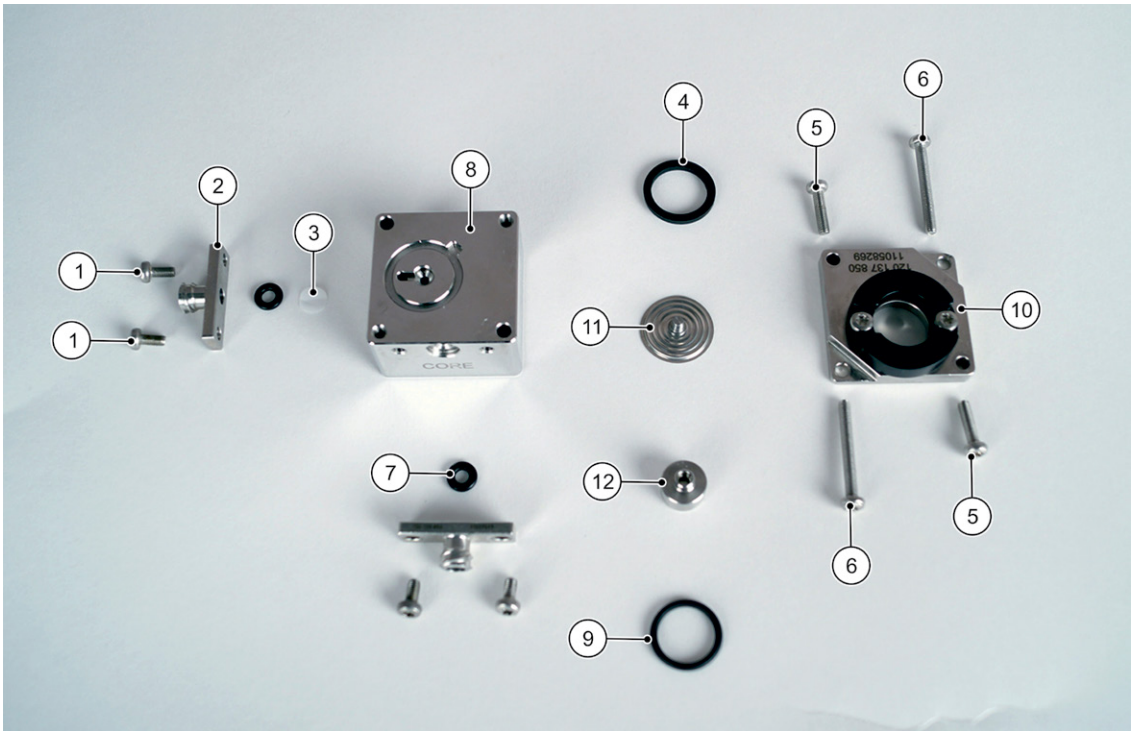
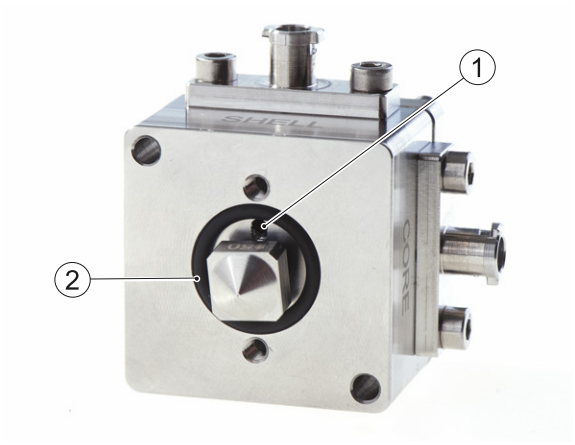


Figure 5-22 : Pièces individuelles composant l'unité de production de billes CN

① Vis M3×6
② Embout Luer Lock femelle
③ Maillage de 50 µm de la grille du préfiltre, D= 7 mm
④ Joint torique (14,0×1,78)
⑤ Vis M3×8
⑥ Vis M3×25
⑦ Joint torique (3,68×1,78)
⑧ Corps antipulsation CN
⑨ Joint torique (12,42×1,78)
⑩ Support de membrane CN
⑪ Membrane
⑫ Aimant

5.6.1 Montage des buses concentriques



Placer le joint torique 12,42×1,78 dans la rainure de l'unité de production de billes CN. Placer la buse intérieure (avec le joint torique fixé) dans l'orifice de l'unité de production de billes CN. Il n'y a pas de filetage. La buse intérieure est centrée et fixée par la buse d'enveloppe.

① Sortie du liquide d'enveloppe
② Joint torique 12,42×1,78

Figure 5-23 : Montage de la buse intérieure

Placer avec précaution la buse d'enveloppe par dessus la buse intérieure. Fixer la buse d'enveloppe avec deux vis (M3×6). La buse d'enveloppe centre et fixe la buse intérieure.

Figure 5-24 : Montage de la buse d'enveloppe

Figure 5-25 : Installation du système de buses concentriques avec une pompe-seringue et un flacon à pression

5.7 Composants de l’Encapsulator B-395 Pro

Figure 5-26 : Photo réunissant tous les composants de l’Encapsulator B-395 Pro

5.8 Contrôle final de montage

Ce contrôle doit être effectué après chaque installation et avant le premier processus d’encapsulation. Tous les branchements d’alimentation (par ex. tension secteur et pression de gaz) doivent correspondre aux données techniques du système installé ou de la configuration système.

- Vérifier si la verrerie est endommagée.
- Vérifier le branchement de toutes les autres connexions électriques comme les composants en option ou externes, par ex. l’agitateur magnétique, l’unité de vibration, le câblage de la pompe-seringue.

6 Fonctionnement

Ce chapitre donne des exemples d'applications type de l'instrument ainsi que des instructions d'utilisation correcte et sûre de l'instrument. Voir aussi les avertissements généraux dans la *section 2.5 « Sécurité du produit »*.

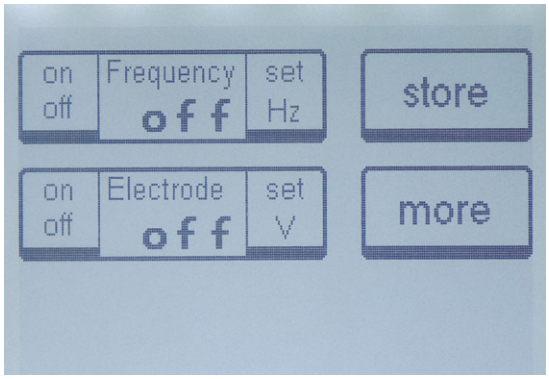
6.1 Démarrage de l'instrument

- Vérifier que l'Encapsulator B-395 est branché correctement à l'alimentation secteur.
- Effectuer un contrôle final de montage (voir la *section 5.8*) avant chaque production de billes.
- Allumer l'Encapsulator B-395 Pro. Le système exécute un contrôle interne.

6.2 Écrans principaux

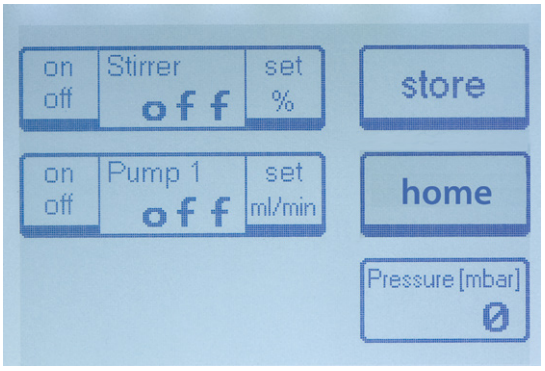
L'unité de commande intègre tous les systèmes de régulation de la production de billes. Les deux écrans tactiles permettent de contrôler la vibration, la vitesse de la pompe, l'intensité de la lumière et la dispersion électrostatique. La pression d'air est régulée par le régulateur de pression. La lampe du stroboscope intégré permet le contrôle de la dissociation du jet en temps réel.

Après le contrôle système interne, les deux écrans tactiles affichent les écrans principaux suivants :



Écran 6-1 : Écran tactile supérieur

L'écran tactile supérieur est réservé au contrôle de la fréquence de vibration et de la tension de l'électrode.



Écran 6-2 : Écran tactile inférieur

L'écran tactile inférieur est réservé au contrôle de la vitesse de la pompe-seringue et de l'agitateur magnétique.

La pression d'air est également indiquée sur cet écran, toutefois elle est contrôlée manuellement par le régulateur de pression.

NOTE

Les icônes munies d'une barre épaisse inférieure par ex. on off *activent/arrêtent un processus ou permettent de passer à un autre écran.*

6.3 Structure du menu de l'unité de commande

La figure ci-dessous présente une vue schématique de tous les menus de l'Encapsulator B-395 Pro et des fonctionnalités correspondantes.

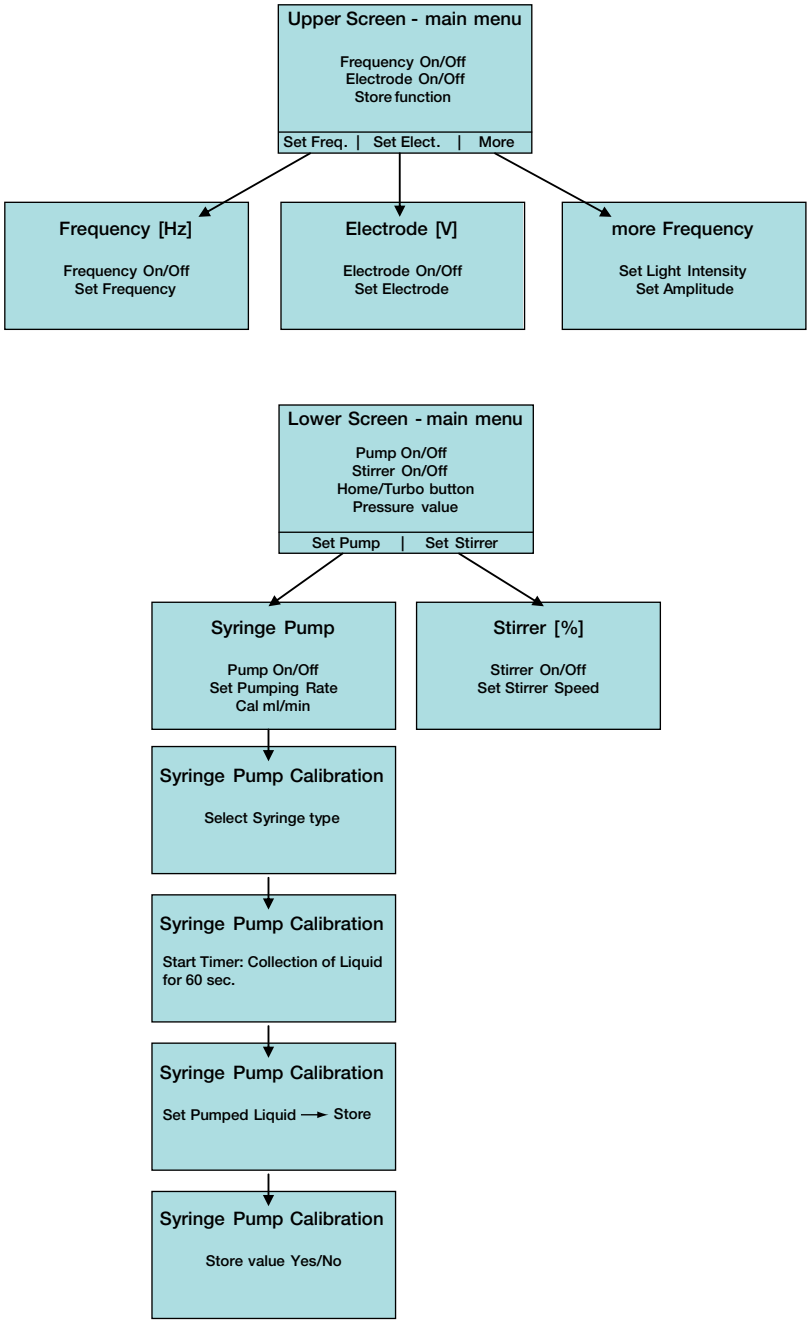
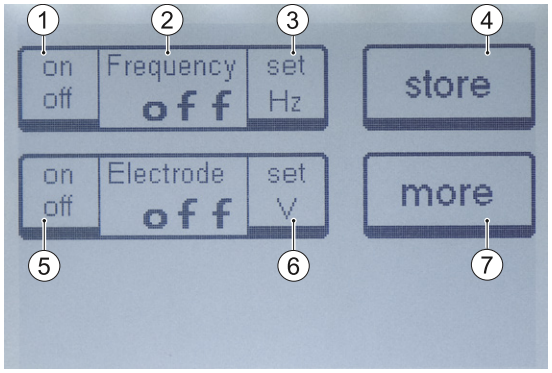


Figure 6-1 : Structure du menu de l'unité de commande

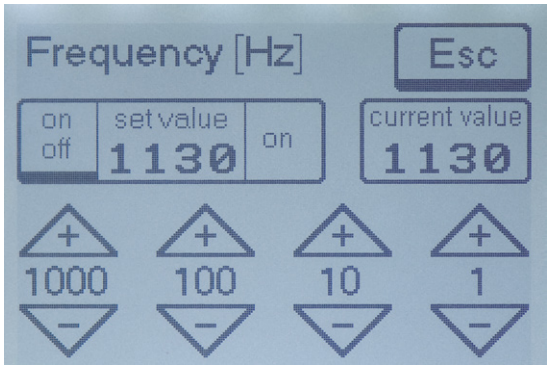
6.4 Fonctions du menu de l'écran tactile supérieur

La fréquence et l'amplitude de vibration, la dispersion électrostatique (tension) et l'intensité de la lumière de la lampe du stroboscope sont contrôlées sur l'écran tactile supérieur. Lorsque l'Encapsulator est allumé, l'écran tactile exécute un programme d'initialisation pendant quelques secondes. L'écran affiche ensuite le menu de démarrage (*Écran 6.3*) avec trois subdivisions (voir les *écrans 6-4* à *6-6*) pour la fréquence, l'électrode, le chauffage et d'autres options concernant la fréquence et l'intensité de la lumière.



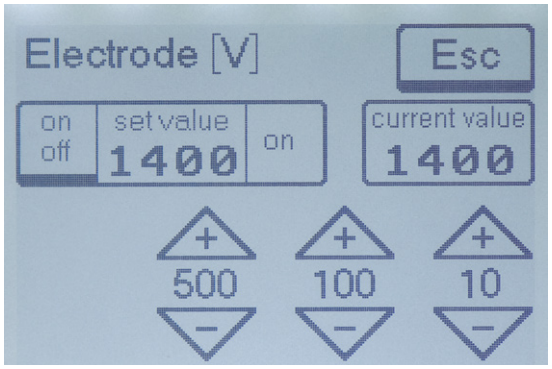
Écran 6-3 : Menu de démarrage de l'écran tactile supérieur

① Activation/désactivation du contrôle de fréquence.
② Indication du paramètre de contrôle et de l'état du contrôle (valeur ou arrêt).
③ Bouton de passage à l'écran 6-4 pour régler les paramètres de fréquence.
④ Bouton d'enregistrement des valeurs de consigne : appuyer deux fois en une seconde. Un son indique que les valeurs sont enregistrées.
⑤ Activation/désactivation du contrôle de l'électrode.
⑥ Bouton de passage à l'écran 6-5 pour régler les paramètres de l'électrode.
⑦ Bouton de passage à l'écran 6-6 pour régler d'autres paramètres de fréquence.



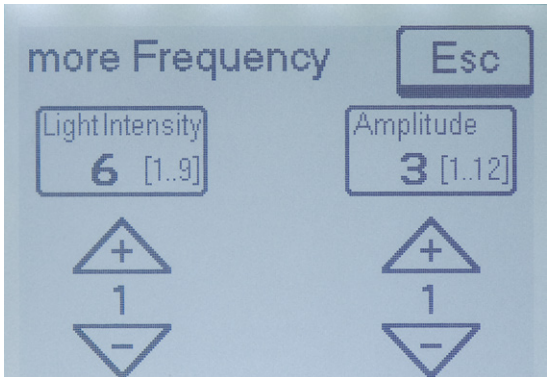
Écran 6-4 : Régulation de fréquence

La régulation de fréquence génère l'oscillation électrique appropriée dans l'unité de vibration. La pression des boutons (+) et (–) permet de modifier la fréquence. La pression du bouton « on/off » active ou désactive la fréquence.
Le bouton « Esc » permet de retourner au menu de démarrage tout en conservant la valeur de consigne.



Écran 6-5 : Unité de dispersion électrostatique

L'unité de dispersion électrostatique est utilisée pour charger la surface des billes. Les forces de répulsion induites par la charge égale des surfaces empêchent le heurt des gouttelettes entre elles pendant leur dispersion et lorsqu'elles pénètrent dans la solution durcissante. La tension appliquée est souvent située dans une plage comprise entre 500 et 2 000 V, en fonction de la taille des gouttelettes et de la vitesse du débit de liquide. De cette manière, l'Encapsulator B-395 Pro peut générer des lots de billes en routine avec une homogénéité supérieure à 95 %.
La pression des boutons (+) et (–) permet de modifier le paramètre de dispersion électrostatique. Le système prend quelques instants pour atteindre la valeur de consigne. Le bouton « Esc » permet de retourner au menu de démarrage tout en conservant la valeur de consigne.

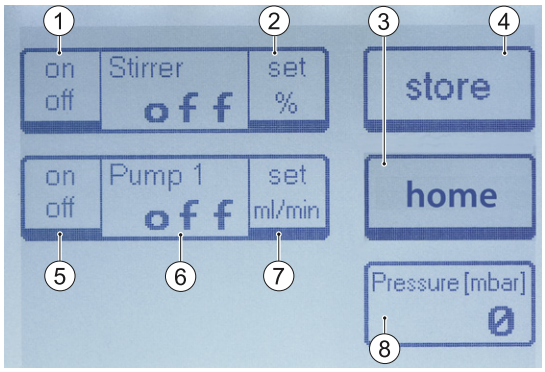


Écran 6-6 : D'autres options concernant l'amplitude de vibration et l'intensité de lumière de la lampe du stroboscope.

L'intensité de lumière de la lampe du stroboscope et l'amplitude (= l'intensité) de la vibration peuvent être réglées dans une plage de 1 à 9. Au-dessus d'une fréquence de 1 500 Hz, l'amplitude peut être réglée dans une plage de 1 à 12. Plus l'amplitude augmente, plus la vibration est forte. Les valeurs supérieures à 3 sont principalement définies pour des solutions à viscosité supérieure à 100 mPa s. La pression des boutons (+) et (–) permet de modifier immédiatement les paramètres.
Le bouton « Esc » permet de retourner au menu de démarrage tout en conservant la valeur de consigne.

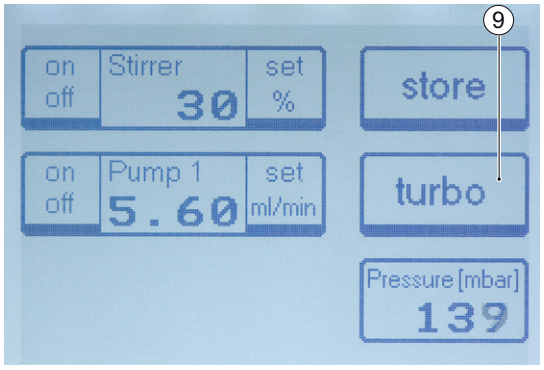
6.5 Fonctions du menu de l'écran tactile inférieur

La pompe-seringue (vitesse et étalonnage de la pompe) ainsi que l'agitateur magnétique sont contrôlés sur l'écran tactile inférieur. À l'allumage de l'Encapsulator, l'écran tactile exécute un programme d'initialisation pendant quelques secondes. L'écran affiche ensuite le menu de démarrage avec deux subdivisions (voir les *figures 6-7* à *6-10*).



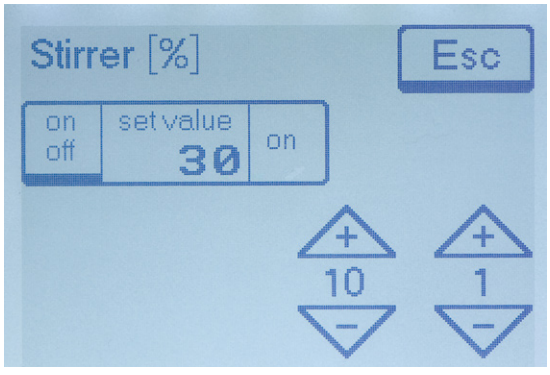
Écran 6-7 : Menu de démarrage de l'écran tactile inférieur

① Activation/désactivation du contrôle de l'agitateur magnétique.
② Bouton de passage à l'*écran 6-9* pour le réglage de la vitesse de l'agitateur magnétique.
③ Bouton pour renvoyer le bras de la pompe.
Ce bouton n'est visible que si le bras n'est pas déjà en position de repos. Lorsque la pompe est en mouvement, ce bouton devient le bouton « turbo », voir l'*écran 6-8*.
④ Bouton d'enregistrement des valeurs de consigne : appuyer deux fois en une seconde. Un son indique que les valeurs sont enregistrées.
⑤ Activation/désactivation du contrôle de la pompe-seringue.
⑥ Indication du paramètre de contrôle et de l'état du contrôle (valeur ou arrêt).
⑦ Bouton de passage à l'*écran 6-10* pour régler les paramètres de la pompe-seringue.
⑧ Indication de la valeur de pression de la sortie d'air, entre 0 et 1 000 mbars.



Écran 6-8 : Écran tactile inférieur avec bouton turbo

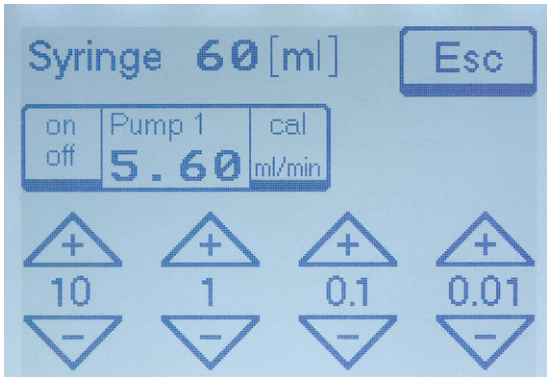
⑨ Le débit de pompe actuel est doublé en appuyant sur le bouton « turbo ».



Écran 6-9 : Régulation de la vitesse de l'agitateur magnétique

La pression des boutons (+) et (–) permet de modifier la vitesse de l'agitateur. Le bouton « Esc » permet de retourner au menu de démarrage tout en conservant la valeur de consigne.

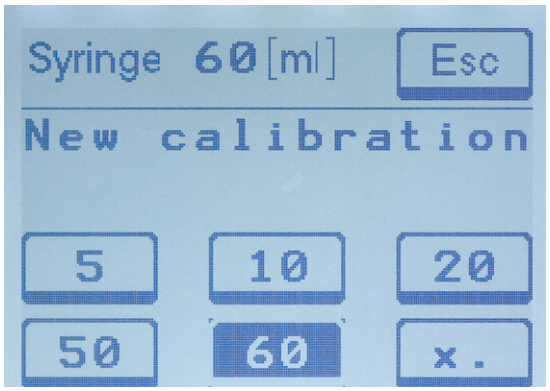
NOTE
Les valeurs sont des valeurs arbitraires mais reproductibles et ne correspondent pas au nombre de tours par minute.



Écran 6-10 : Vitesse de régulation de la pompe-seringue

La pression des boutons (+) et (–) permet de modifier le débit de la pompe. Le bouton « Esc » permet de retourner au menu de démarrage tout en conservant la valeur de consigne. La pression du bouton « cal mL/min » pendant que la pompe fonctionne, ouvre l'*écran 6-11* et permet d'étalonner la seringue actuelle. Si la pompe est arrêtée, l'écran demande de sélectionner une seringue étalonnée.

6.5.1 Menu d'étalonnage de la pompe-seringue

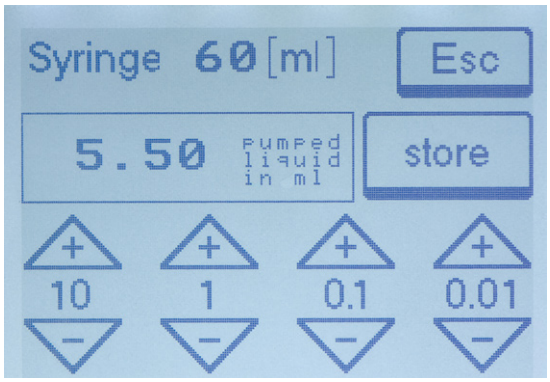


Écran 6-11 : Étalonnage de la pompe-seringue – Sélection du type de seringue

Sélectionner le volume de seringue approprié en appuyant sur le bouton correspondant. L'*écran 6-12* s'affiche (si la pompe fonctionne) ou l'écran principal (si la pompe est à l'arrêt).

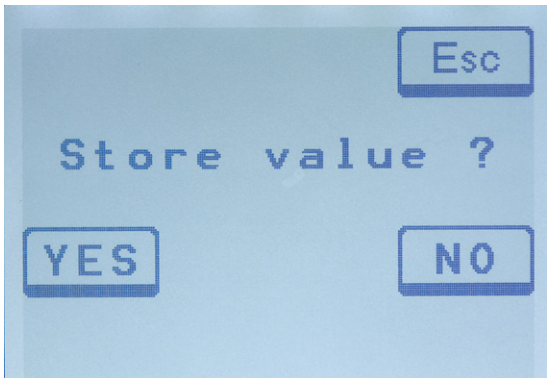
Écran 6-12 : Étalonnage de la pompe-seringue – Minuterie

La minuterie démarre en appuyant sur le bouton « on ». La minuterie fait le compte à rebours d'une minute de 60 à 0 s. Pendant ce temps, le liquide du jet est recueilli dans une cuve prépesée. Les trois dernières secondes sont annoncées par un bref signal sonore. Une seconde plus tard, la pompe-seringue s'arrête et l'*écran 6-13* s'affiche.



Écran 6-13 : Étalonnage de la pompe-seringue – Réglage du liquide pompé

Utiliser les boutons (+) et (–) pour entrer la quantité de liquide pompé pendant 1 min. Appuyer ensuite sur le bouton « store ». L'*écran 6-14* s'affiche.

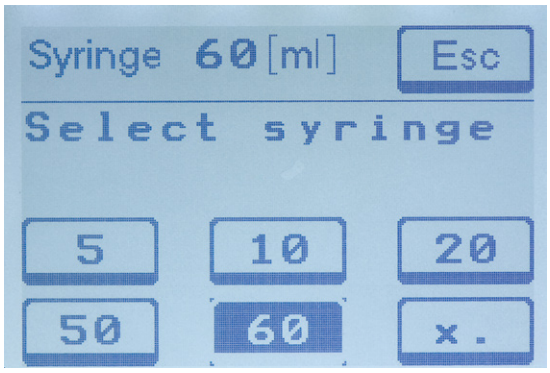


Écran 6-14 : Étalonnage de la pompe-seringue – Enregistrement de la valeur

Appuyer sur « Yes » pour enregistrer les valeurs. Le menu de démarrage s'affiche à l'écran. La pompe-seringue fonctionne avec le nouvel étalonnage en appuyant sur le bouton « on » du contrôle de pompe.

6.5.2 Sélection d'une seringue étalonnée

Arrêter la pompe. Sur l'*écran 6-10*, appuyer sur le bouton « cal mL/min ». L'*écran 6-15* s'affiche.



Écran 6-15 : Sélection de la taille de la seringue

Sélectionner la seringue appropriée en appuyant sur l'élément correspondant. La seringue est enregistrée et le menu de démarrage s'affiche à l'écran.

NOTE
Cet écran n'est accessible que depuis le menu de démarrage, si la pompe est arrêtée.

6.6 Contrôle manuel de la pression d'air

Dans l'unité de commande, la pression est contrôlée manuellement par le régulateur de pression intégré au panneau avant de l'unité de commande (voir la *figure 6-2*). La valeur de la pression d'air définie doit être supérieure (+0,2 à 0,3 bar) à la pression d'air maximale nécessaire à la procédure d'encapsulation, mais doit rester inférieure à 1 bar. Tourner le bouton du régulateur de pression dans le sens antihoraire pour augmenter la pression et dans le sens inverse pour la diminuer. Le bouton du régulateur de pression comprend deux positions. S'il est enfoncé, il est verrouillé et s'il est tiré il est déverrouillé. Le fait de tourner le bouton dans le sens antihoraire réduit la pression grâce au système d'aération automatique de la soupape. La pression est indiquée sur l'écran tactile (voir l'*écran 6-7*).

NOTE

- *La pression de l'air ou de l'azote pénétrant dans l'unité de commande au dos de l'Encapsulator doit être inférieure à 7 bars (100 psi). La fourchette réglementaire est comprise entre 1,5 et 2 bars (entre 20 et 30 psi).*
- *Il faut savoir que le système de régulation de pression réagit relativement lentement parce que le déplacement de l'air entrant ou sortant est retardé par le passage dans la valve à étranglement.*
- *Ne pas laisser le tuyau d'alimentation en gaz branché lorsque l'Encapsulator n'est pas utilisé. Le système d'aération automatique de la soupape drainerait la cuve sous pression.*
- *La pression maximale de la sortie d'air est égale à 1,5 bar (20 psi). Cette valeur est contrôlée par une soupape de sécurité de surpression intégrée qui s'ouvre à 1,5 bar. Toutefois la plage de travail est comprise entre 0 et 1 bar.*

Figure 6-2 : Système de contrôle manuel de la pression d'air : tourner le régulateur de pression dans le sens horaire **augmente** la pression.

6.7 Manipulation de la pompe-seringue

Avant la première utilisation de la pompe-seringue et après l'allumage de l'unité de commande, appuyer sur le bouton « home » de l'écran tactile inférieur pour remettre le bras de la pompe en position de repos. Laisser le bras revenir complètement jusqu'à ce qu'il touche le microrupteur du bouton d'extrémité (voir la *figure 6-3*) où il s'arrête de lui-même. L'ordinateur de l'unité de commande reconnaît ainsi la position exacte du bras de la seringue. Fixer la seringue remplie (nous recommandons d'utiliser des seringues en plastique avec un système de connexion Luer Lock) à l'unité de production de billes.
Démarrer la pompe pour que le bras de la seringue avance (voir l'*écran 6-10*). Le bouton « turbo » permet de doubler la vitesse de déplacement du bras. Cette vitesse de marche avant peut être augmentée en définissant temporairement des débits de pompe plus élevés. Réduire la vitesse lorsque le bras de la pompe s'approche du piston de la seringue. Arrêter la pompe lorsque le bras touche le piston de la seringue. Définir le débit de liquide souhaité (voir l'*écran 6-10*). Démarrer la pompe en appuyant sur le bouton marche/arrêt. Pour amorcer le système, appuyer sur le bouton « turbo » (la pompe se déplace à double vitesse) jusqu'à ce qu'un jet de liquide continu se forme au niveau de la buse. Appuyer à nouveau sur le bouton « turbo » pour revenir à la valeur prédéfinie. Au besoin, ajuster la vitesse de la pompe pour obtenir des gouttelettes clairement séparées à la lumière du stroboscope.

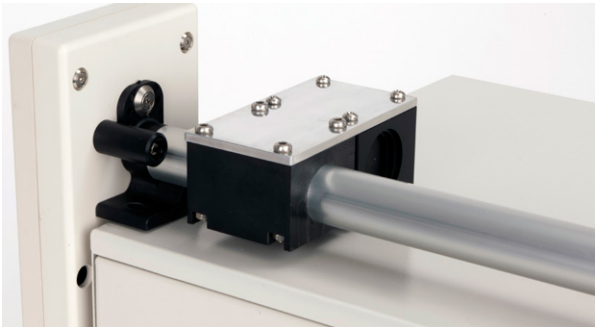


Figure 6-3 : Bouton d'extrémité de la pompe-seringue

6.7.1 Étalonnage de la pompe-seringue

Remplir la seringue d'eau ou de matrice d'immobilisation et la fixer à l'unité de production de billes. Peser un récipient destiné à recueillir le liquide pompé pendant 1 minute et lancer le pompage. Régler le débit de la pompe de façon à obtenir des billes biens formées. Lancer la procédure d'étalonnage en appuyant sur le bouton « cal mL/min » (voir l'*écran 6-10*). Choisir la taille de seringue appropriée (voir l'*écran 6-11*).

Appuyer sur le bouton on/off (voir l'*écran 6-12*) et recueillir pendant 60 secondes le liquide provenant de la buse dans le récipient prépesé. Les trois dernières secondes sont annoncées par un signal sonore. La pompe s'arrête automatiquement une seconde après l'émission du dernier signal sonore. Peser le liquide pompé. Insérer la valeur (voir l'*écran 6-13*) et enregistrer la valeur. Ce type de seringue est désormais étalonné.

6.7.2 Sélection d'une seringue préétalonnée

Au besoin, le rappel des types de seringues préétalonnées est possible. Arrêter la pompe, appuyer sur le bouton « cal mL/min » (voir l'*écran 6-10*) et l'*écran 6-15* s'affiche. Sélectionner la seringue appropriée et ensuite le menu de démarrage s'affiche à l'écran. La sélection est effectuée.

6.8 Apprentissage de l'Encapsulator, utilisation d'eau

Avant de travailler avec des polymères d'encapsulation, faire l'apprentissage de l'Encapsulator pour se familiariser avec les effets des différentes commandes. Prendre la plaque de recouvrement du réacteur, fixer l'unité de production de billes ainsi qu'une buse de 200 ou 300 µm. Placer la plaque de recouvrement assemblée sur l'unité de commande. La fixer avec les deux vis à serrage à main. Placer l'unité de vibration sur l'unité de production de billes. Placer un grand bécher (environ 600 mL) sous la buse. Brancher le fil rouge de l'électrode à l'unité de dispersion électrostatique (EDU).

6.8.1 Utilisation de la pompe-seringue

1. Remplir une seringue de 60 mL d'eau distillée et l'installer en suivant les instructions consignées à la *section 5.5*. Régler la vitesse de la pompe-seringue sur 4 mL/min. Activer le système de commande des vibrations et régler la vibration à 1 500 Hz. Activer la pompe-seringue. L'eau s'écoule en grosses gouttes de la buse. Augmenter la vitesse de la pompe jusqu'à formation d'un jet de liquide continu. Modifier la vitesse de pompage et observer la chaîne de gouttelettes à la lumière du stroboscope. Le bon réglage est atteint lorsque les gouttelettes de la chaîne sont clairement séparées de plusieurs centimètres, depuis 3 ou 5 mm sous la buse. Noter les réglages de vibration, de tension et de la pompe-seringue avant d'arrêter la pompe.

NOTE
En cas de difficulté à apercevoir la chaîne de gouttelettes, réduire la quantité de lumière autour de l'Encapsulator et regarder à une distance de 20 à 30 cm (8" à 12") dans le jet de liquide de sorte que le cadre noir du stroboscope soit directement derrière le jet.

2. Redémarrer la pompe et enfoncer le bouton « turbo » pour doubler la vitesse de la pompe et obtenir la formation d'un jet de liquide continu. Relâcher le bouton « turbo ». Le jet se stabilise rapidement au débit prédéfini. Le bouton « turbo » est très utile pour amorcer le système en cas de solutions polymériques visqueuses et pour déloger de petites occlusions qui entravent le débit.
3. Augmenter la fréquence de vibration jusqu'à ce que la chaîne devienne instable, puis augmenter la vitesse de la pompe jusqu'à la restauration d'une chaîne de gouttelettes satisfaisante. Répéter cette procédure en sens inverse en diminuant la vitesse de la pompe, puis la fréquence de vibration. La répétition de cette procédure plusieurs fois permet de se familiariser avec ces deux paramètres et comprendre leur relation. Insérer les valeurs déterminées de chaîne de gouttelettes optimale dans le *tableau 6-1*.

NOTE
La vitesse de la pompe et la fréquence de vibration s'influencent mutuellement dans une plage de travail donnée. La plage de travail elle-même est principalement déterminée par le diamètre de la buse et la viscosité de la matrice polymérique.

Règles générales :

- ***Des fréquences élevées génèrent de plus petites gouttelettes.***
- ***Des débits faibles génèrent de plus petites gouttelettes.***
- ***Plus les gouttelettes sont petites, moins la tension électrostatique nécessaire à la séparation est élevée.***
- ***Des buses plus petites génèrent des gouttelettes plus petites. Le diamètre final des billes est environ deux fois plus élevé que celui de la buse.***

Tableau 6-1 : Détermination du champ de travail (avec pompe-seringue)

Taille de la buse : Taille de la seringue :

Vitesse de la pompe ml/min	Chaîne distincte de gouttelettes sans tension électrostatique		Chaîne distincte de gouttelettes avec tension électrostatique		
	Fréquence minimale	Fréquence maximale	Tension électrostatique	Fréquence minimale	Fréquence maximale

Taille de la buse : Taille de la seringue :

Vitesse de la pompe ml/min	Chaîne distincte de gouttelettes sans tension électrostatique		Chaîne distincte de gouttelettes avec tension électrostatique		
	Fréquence minimale	Fréquence maximale	Tension électrostatique	Fréquence minimale	Fréquence maximale

4. Régler la vitesse de la pompe et la fréquence de vibration aux valeurs déterminées pour créer une chaîne de gouttelettes distincte satisfaisante. Activer l'unité de dispersion électrostatique à 300 V et augmenter la tension progressivement de 100 V jusqu'à ce que la chaîne de gouttelettes simple se transforme en jet à écoulement laminaire à la manière d'un entonnoir. Plus la charge électrostatique est élevée, plus la séparation des gouttelettes est rapide. Ceci empêche le heurt des gouttelettes entre elles pendant leur dispersion et lorsqu'elles pénètrent dans la solution durcissante, puisqu'il ne s'agit pas de particules chargées qui se repoussent mutuellement. Grâce à cette fonction exclusive, l'Encapsulator peut générer des lots de billes en routine avec une homogénéité supérieure à 95 %.
5. Modifier la fréquence de vibration et la vitesse de la pompe en observant leur influence sur la tension électrostatique nécessaire à la génération d'un jet dissocié en gouttelettes. L'utilisation d'une dispersion électrostatique élargit la plage de travail.
   Il peut arriver qu'au bout d'un certain temps les gouttelettes ne pénètrent plus voire s'échappent du bécher récepteur. Ceci en raison des charges électrostatiques qui s'accumulent dans le bécher isolé électriquement. Pour éviter ce phénomène, accrocher la pince en acier inoxydable du conducteur de terre sur le bord du bécher pour qu'elle soit en contact avec le liquide et brancher l'autre extrémité du fil vert-jaune dans la prise de mise à la terre sur le panneau avant de l'unité de commande (voir la figure 6-4). Si vous travaillez avec le réacteur complet, les charges électrostatiques sont éliminées automatiquement sans avoir besoin du conducteur de terre.

Figure 6-4 : Mise à la terre du bain de polymérisation ouvert

6. Modifier l'amplitude de vibration et observer de légers changements dans la chaîne de gouttelettes. Généralement, des valeurs comprises entre 1 et 3 sont optimales pour des solutions à faible viscosité. En cas de matrices d'immobilisation à forte viscosité (> 150 mPa s), des valeurs supérieures à 3 peuvent être préférables.
7. Répéter cette expérimentation avec une autre taille de buse.

6.8.2 Utilisation du flacon à pression

1. Assembler l'unité de production de billes, y visser la buse simple 0,30 mm et fixer le tout sur la plaque de recouvrement à l'aide de la vis (M3×25). Placer l'unité de vibration sur l'unité de production de billes. Brancher le fil rouge de l'électrode à l'unité de dispersion électrostatique (EDU).
2. Remplir le flacon à pression de 200 à 300 mL d'eau distillée et visser le bouchon assemblé. Passer le tube en silicone (4×7 mm) entre les aubes du régulateur de débit et fixer le raccord à embout Luer Lock mâle du tube en silicone au raccord à embout Luer Lock femelle de l'unité de production de billes. Serrer le régulateur en tournant le bouton dans le sens horaire de sorte que le tube en silicone soit fermé.
3. Ouvrir l'alimentation externe en air sous pression. La pression d'arrivée d'air est optimale entre 1,5 et 2 bars (entre 20 et 30 psi). Toutefois le système tolère des pressions d'arrivée d'air allant jusqu'à 7 bars (100 psi).
4. Régler la pression de la sortie d'air sur 0,2 bar avec le régulateur de pression. Contrôler l'affichage périodiquement pour vérifier que la pression d'air correspond toujours à la valeur de consigne. Activer le système de commande des vibrations et régler la fréquence à 800 Hz.
5. Ouvrir le régulateur de débit en tournant le bouton dans le sens antihoraire jusqu'à ce que l'eau s'écoule dans le tube en silicone et l'unité de production de billes en direction de la buse où elle forme un jet liquide continu. Régler le débit et/ou la fréquence pour obtenir une bonne chaîne de gouttelettes sous la lumière de la lampe du stroboscope. Le bon réglage est atteint lorsque les gouttelettes de la chaîne sont clairement séparées de plusieurs centimètres, à partir de 3 ou 5 mm sous la buse. Enregistrer la position du régulateur de débit pour ce réglage.
6. Augmenter la fréquence de vibration jusqu'à ce que la chaîne de gouttelettes devienne instable. Augmenter ensuite le débit du liquide par une augmentation lente de la pression d'air jusqu'à ce que la chaîne de gouttelettes soit à nouveau homogène. Répéter cette procédure en sens inverse en diminuant le débit et en compensant par une diminution de la fréquence de vibration. Cette procédure peut être répétée autant de fois que nécessaire pour se familiariser avec la relation entre ces deux réglages. Enregistrer les valeurs dans le *tableau 6-2*.

NOTE

- *Le débit de liquide et la fréquence de vibration s'influencent mutuellement dans une plage de travail donnée. La plage de travail elle-même est principalement déterminée par le diamètre de la buse et la viscosité de la matrice polymérique.*
- *Une pression d'air comprise entre 0,05 et 0,15 bar est suffisante pour le pompage de l'eau distillée.* ***Des pressions de travail supérieures indiquent des problèmes comme l'engorgement de la buse.***

Règles générales :

- ***Des fréquences élevées génèrent de plus petites gouttelettes.***
- ***Des débits faibles génèrent de plus petites gouttelettes.***

Tableau 6-2 : Détermination du champ de travail (avec flacon à pression)

Taille de la buse :

Pression de l'air	Chaîne distincte de gouttelettes sans tension électrostatique		Chaîne distincte de gouttelettes avec tension électrostatique		
	Fréquence minimale	Fréquence maximale	Tension électrostatique	Fréquence minimale	Fréquence maximale

Taille de la buse :

Pression de l'air	Chaîne distincte de gouttelettes sans tension électrostatique		Chaîne distincte de gouttelettes avec tension électrostatique		
	Fréquence minimale	Fréquence maximale	Tension électrostatique	Fréquence minimale	Fréquence maximale

7. Régler le débit de liquide et la fréquence de vibration aux valeurs d'obtention d'une chaîne distincte de gouttelettes. Activer l'unité de dispersion électrostatique à 300 V et augmenter la tension progressivement de 100 V jusqu'à ce que le jet de liquide simple se transforme en jet à écoulement laminaire à la manière d'un entonnoir. Plus la charge électrostatique est élevée, plus la séparation des gouttelettes est rapide. Ceci empêche le heurt des gouttelettes entre elles pendant leur dispersion et lorsqu'elles pénètrent dans la solution durcissante. l'Encapsulator peut ainsi générer des lots de billes en routine avec une homogénéité supérieure à 95 %. Si rien ne se passe, vérifier que l'électrode est branchée sur l'unité de commande.
8. Modifier la fréquence de vibration et le débit de liquide en observant leur influence sur la tension électrostatique nécessaire à la génération d'un jet dissocié en gouttelettes. L'utilisation d'une tension électrostatique élargit la plage de travail.
   Il peut arriver qu'au bout d'un certain temps les gouttelettes ne pénètrent plus voire s'échappent du bécher. Ceci en raison des charges électrostatiques qui s'accumulent dans le bécher isolé électriquement. Pour éviter ce phénomène, accrocher la pince en acier inoxydable du conducteur de terre sur le bord du bécher pour qu'elle soit en contact avec le liquide et brancher le fil vert-jaune dans la prise de mise à la terre sur le panneau avant de l'unité de commande. Si vous travaillez avec le réacteur complet, les charges électrostatiques sont éliminées automatiquement sans avoir besoin du conducteur de terre.

   Règle générale :
   Plus les gouttelettes sont grandes, plus la tension électrostatique doit être élevée pour dissocier le jet.

9. Modifier l'amplitude de la vibration. Les changements enregistrés dans la chaîne de gouttelettes sont légers. Très souvent des valeurs comprises entre 1 et 3 sont optimales pour des solutions à faible viscosité. En cas de matrices d'immobilisation à viscosité plutôt forte (> 150 mPa s), des valeurs supérieures à 3 peuvent être mieux appropriées.
10. Répéter cette procédure avec une autre taille de buse.

Règle générale :

- ***Des buses plus petites génèrent des gouttelettes plus petites.***
- ***Le diamètre final des billes est environ deux fois plus élevé que celui de la buse.***

6.9 Apprentissage de l'Encapsulator, utilisation d'une solution d'alginate non stérile

Après s'être familiarisé avec les commandes de formation des billes, effectuer une série d'essais avec des solutions d'alginate non stériles. L'alginate de sodium est le polymère le plus communément utilisé mais d'autres le sont aussi avec diverses propriétés. Nous recommandons un alginate à faible degré de viscosité. La concentration en alginate influence fortement la viscosité qui à son tour influence la chute de pression dans la buse. La concentration de la solution d'alginate est donc une fonction du diamètre de buse (voir le tableau suivant).

Tableau 6-3 : Concentration en alginate recommandée (par rapport au poids sec) pour les différents diamètres de buse

Diamètre de buse	Concentration en alginate à faible degré de viscosité	
	Plage de travail	Concentration recommandée
80 à 120 µm	0,75 à 1,4 %	1,1 à 1,2 %
120 à 200 µm	1,0 à 1,6 %	1,3 à 1,4 %
200 à 300 µm	1,2 à 1,8 %	1,5 à 1,6 %
300 à 500 µm	1,5 à 2,5 %	1,8 à 2,0 %

NOTE

Dans des conditions normales d'entreposage, la poudre d'alginate contient 10 à 12 % d'eau. Nous faisons donc référence à la concentration en alginate par rapport au poids sec.

6.9.1 Préparation d'une solution d'alginate de sodium à 1,5 %

1. Prendre un bécher de 400 mL et peser 3,3 g de poudre d'alginate de sodium à faible degré de viscosité.
2. Ajouter 200 mL d'eau désionisée et mélanger vigoureusement avec un agitateur de laboratoire pendant 1 à 2 minutes.
3. L'alginate a tendance à être grumeleux. Enlever les grumeaux d'alginate du bécher et des lames de l'agitateur avec une spatule et mélanger à nouveau pendant 1 à 2 minutes. S'il reste des grumeaux dans le liquide, mélanger une nouvelle fois.
4. Ensuite laisser reposer le mélange pour permettre aux bulles d'air piégées de s'échapper du liquide.
5. Si nécessaire, dégazer le mélange à pression réduite.
6. La dissolution de l'alginate avec un agitateur magnétique prend beaucoup plus de temps et doit être effectuée pendant la nuit.

NOTE

Les solutions d'alginate favorisent la croissance de micro-organismes et sont stables pendant environ 2 semaines au réfrigérateur. La réduction de la viscosité de la matrice indique une contamination microbienne. Les solutions d'alginate peuvent être conservées pendant bien plus longtemps, même à température ambiante, si elles sont stérilisées ou si des agents de conservation comme 0,05 % NaN_3 sont ajoutés.

6.9.2 Utilisation de la pompe-seringue

1. Fixer une buse de 200 ou 300 µm sur l'unité de production de billes assemblée. Placer la plaque de recouvrement assemblée sur l'unité de commande. La fixer avec les deux vis à serrage à main. Placer l'unité de vibration sur l'unité de production de billes. Brancher le fil rouge de l'électrode à l'unité de dispersion électrostatique (EDU). Mettre l'agitateur magnétique sous la buse et un grand bécher sur l'agitateur. Remplir le bécher de 100 mM de $CaCl_2$ pour qu'au moins 2 cm (environ ¾") soit occupé par le liquide de polymérisation. Mettre la pale d'un agitateur magnétique dans le bécher et le régler de sorte qu'un léger vortex soit visible. Le vortex crée des forces de cisaillement susceptibles de déformer les billes. Il est préférable d'utiliser une pale sans anneau de rotation (fourni) parce que ce dernier rehausse la pale et risque d'écraser les billes en dessous. De même, accrocher la pince mise à la terre sur le rebord du bécher de sorte qu'elle soit en contact avec le liquide. À ce stade, couvrir le bécher d'une plaque (plaque de Petri) ou l'écarter ainsi que l'agitateur et placer un autre bécher rempli d'eau (et la pince mise à la terre) sous la buse en place.
2. Remplir une seringue de 60 mL avec la solution d'alginate à 1,5 % et l'installer sur l'Encapsulator.
3. Activer le système de commande des vibrations et régler la fréquence de vibration à 1,200 Hz pour la buse de 200 µm ou à 900 Hz pour la buse de 300 µm. Activer la pompe-seringue et régler la vitesse de pompage à 5 mL/min pour la buse de 200 µm ou à 8 mL/min pour la buse de 300 µm. Enfoncer le bouton « turbo » jusqu'à formation d'un jet de liquide continu. Relâcher le bouton « turbo ». Le jet se stabilise rapidement au débit prédéfini. Régler la vitesse de pompage et/ou la fréquence pour obtenir une chaîne distincte sous l'électrode.
4. Activer l'unité de dispersion électrostatique à 500 V. Augmenter progressivement la tension de 100 V à la fois pour obtenir une dispersion circulaire du jet de billes de 3 à 10 cm (1" à 4") après l'électrode. La distance optimale est d'environ 5 cm (approximativement 2") sous l'électrode. Si rien ne se passe, vérifier que l'électrode est branchée sur l'unité de commande.

NOTE

Plus la dispersion circulaire du jet de gouttelettes est forte, plus l'homogénéité des billes est grande. Ceci ne dépend pas uniquement de la tension électrostatique mais également du débit du liquide et de la fréquence de vibration qui sont aussi des facteurs. ils influencent la dissociation de la gouttelette du jet de liquide dans le champ électrostatique entre la buse et l'extrémité de l'électrode. À proximité de la buse, les gouttelettes qui se dissocient du jet de liquide sont plus petites.

5. Dès que le modèle de dispersion obtenu est symétrique et stable, remplacer le bécher par celui contenant la solution de polymérisation. Procéder à la collecte des billes pendant 1 minute environ. Enregistrer les paramètres du processus dans le *tableau 6-4* pendant l'accumulation des billes. Couvrir le bécher (ou le remplacer par le bécher précédent contenant des déchets) et arrêter la production de billes en désactivant la pompe-seringue, la commande de vibration et la tension électrostatique.

NOTE

Nettoyer soigneusement la buse après chaque séquence à l'eau distillée pour éviter son engorgement ou son occlusion partielle en raison de l'assèchement de la matrice polymérique.

Tableau 6-4 : Feuille de travail d'essai préliminaire Encapsulator (pompe-seringue)					
Taille de la seringue (ml)					
Taille de la buse [µm]					
Concentr. alginate [%]					
Vitesse de la pompe [ml/min]					
Fréquence de vibration [Hz]					
Amplitude					
Taille de bille approximative [µm]					
Homogénéité [%]					
Commentaires					

6. Inspecter les billes sous microscope avec un oculaire à l'échelle d'un micromètre et enregistrer vos observation relatives au diamètre, l'uniformité et à la forme dans le *tableau 6-4*.
7. Répéter cette procédure à chaque modification des paramètres.

NOTE

Lors de la production de petites billes d'un diamètre inférieur à 500 µm, il peut arriver que leur forme ne soit pas sphérique mais quelque peu ovale. Ceci est dû principalement à la tension superficielle de la solution de polymérisation. Un point extrêmement important est l'entrée dans la solution de polymérisation. Si la tension superficielle est trop élevée, la bille est partiellement retenue à la surface et la polymérisation démarre avant que la bille n'ait regagné une forme ronde. Ce problème peut être éliminé en ajoutant une petite quantité de surfactant comme le Tween 20 à la matrice de polymérisation.

8. Comparer l'influence de l'unité de dispersion électrostatique en collectant les billes à la même fréquence de vibration et au même débit de pompage avec ou sans activation de la fonction de tension électrostatique.
9. Déterminer le champ de travail en augmentant progressivement la vitesse de pompage à partir du débit minimal qui crée juste un jet de liquide continu jusqu'à un débit qui ne permet plus de voir une chaîne de gouttelettes distinctes à n'importe quelle fréquence de vibration. Noter les fréquences minimale et maximales correspondantes dans le *tableau 6-5*.

Tableau 6-5 : Détermination du champ de travail

Taille de la buse :	Concentration en alginate :		Taille de la seringue :		
Vitesse de la pompe [ml/min]	Chaîne distincte de gouttelettes sans tension électrostatique		Chaîne distincte de gouttelettes avec tension électrostatique		
	Fréquence minimale	Fréquence maximale	Tension électrostatique	Fréquence minimale	Fréquence maximale

Taille de la buse :	Concentration en alginate :		Taille de la seringue :		
Vitesse de la pompe [ml/min]	Chaîne distincte de gouttelettes sans tension électrostatique		Chaîne distincte de gouttelettes avec tension électrostatique		
	Fréquence minimale	Fréquence maximale	Tension électrostatique	Fréquence minimale	Fréquence maximale

6.9.3 Emploi du flacon à pression

1. Fixer une buse de 200 ou 300 µm sur l'unité de production de billes assemblée. Placer la plaque de recouvrement assemblée sur l'unité de commande. La fixer avec les deux vis à serrage à main. Placer l'unité de vibration sur l'unité de production de billes. Brancher le fil rouge de l'électrode à l'unité de dispersion électrostatique (EDU). Mettre l'agitateur magnétique sous la buse et un grand bécher sur l'agitateur. Remplir le bécher de 100 mM de $CaCl_2$ pour qu'au moins 2 cm (environ ¾") soit occupé par le liquide de polymérisation. Mettre la pale d'un agitateur magnétique dans le bécher et le régler de sorte qu'un léger vortex soit visible. De même, accrocher la pince mise à la terre sur le rebord du bécher de sorte qu'elle soit en contact avec le liquide. À ce stade, couvrir le bécher d'une plaque (plaque de Petri) ou l'écarter ainsi que l'agitateur et placer un autre bécher rempli d'eau (et la pince mise à la terre) sous la buse en place.
2. Remplir le flacon à pression de la solution d'alginate à 1,5 % décrite plus haut et visser le bouchon assemblé. Passer le tube en silicone (4×7 mm) entre les aubes du régulateur de débit et fixer le raccord à embout Luer Lock mâle du tube en silicone au raccord à embout Luer Lock femelle de l'unité de production de billes. Serrer le régulateur en tournant le bouton dans le sens horaire de façon à fermer le tube en silicone.
3. Ouvrir l'alimentation externe en air sous pression. La pression d'arrivée d'air est optimale entre 1,5 et 2 bars (entre 20 et 30 psi). Toutefois le système tolère des pressions d'arrivée d'air allant jusqu'à 7 bars (100 psi).
4. Régler la pression de l'air du régulateur de pression à 0,4 bar. Contrôler l'affichage périodiquement pour vérifier que la pression d'air correspond toujours à la valeur de consigne. Activer le système de commande des vibrations et régler la fréquence de vibration à 1 100 Hz pour la buse de 200 µm et à 800 Hz pour la buse de 300 µm.
5. Ouvrir le régulateur de débit en tournant le bouton dans le sens antihoraire jusqu'à ce que le liquide s'écoule dans le tube en silicone et l'unité de production de billes en direction de la buse où il forme un jet liquide continu. Régler le débit et/ou la fréquence pour obtenir une bonne chaîne de gouttelettes sous la lumière de la lampe du stroboscope. Le bon réglage est atteint lorsque les gouttelettes de la chaîne sont clairement séparées de plusieurs centimètres, depuis 3 ou 5 mm sous la buse. Enregistrer la position du régulateur de débit pour ce réglage.
6. Augmenter la fréquence de vibration jusqu'à ce que la chaîne de gouttelettes devienne instable. Augmenter ensuite le débit du liquide par une augmentation lente de la pression d'air ou en ouvrant lentement le régulateur de débit jusqu'à ce que la chaîne de gouttelettes soit à nouveau homogène. Répéter cette procédure en sens inverse en diminuant le débit et en compensant par une diminution de la fréquence de vibration. Cette procédure peut être répétée autant de fois que nécessaire pour se familiariser avec la relation entre ces deux réglages. Enregistrer les valeurs dans le *tableau 6-5*.

NOTE

Une pression d'air comprise entre 0,1 et 0,8 bar est généralement suffisante pour le pompage de la matrice polymérique. Des pressions supérieures à 1,0 bar sont à éviter et indiquent des problèmes tels que :

- *une buse engorgée ;*
- *une matrice polymérique trop visqueuse ;*
- *une buse trop petite pour la matrice polymérique utilisée.*

7. Activer l'unité de dispersion électrostatique à 500 V. Augmenter progressivement la tension de 100 V à la fois pour obtenir une dispersion circulaire du jet de billes de 3 à 10 cm (1" à 4") après l'électrode. La distance optimale est d'environ 5 cm (approximativement 2") sous l'électrode.

NOTE

Plus la dispersion circulaire du jet de gouttelettes est forte, plus l'homogénéité des billes est grande. Ceci ne dépend pas uniquement de la tension électrostatique mais également du débit du liquide et de la fréquence de vibration qui sont aussi des facteurs. Idéalement la gouttelette doit se dissocier du jet de liquide dans le champ électrostatique entre la buse et l'extrémité de l'électrode.

8. Dès que la dissociation est symétrique et stable, retirer la plaque du bécher rempli de solution polymérique ou remplacer le bécher d'eau par le bécher de solution de polymérisation munie de la plaque d'agitation (et de la pince de mise à la terre) et procéder à la collecte des billes pendant 1 minute environ. Enregistrer les paramètres du processus dans le *tableau 6-5* pendant l'accumulation des billes. Couvrir ou remplacer le bécher et arrêter la production de billes en désactivant la tension électrostatique et la commande de pression d'air et de vibration.

NOTE

Nettoyer soigneusement la buse après chaque séquence à l'eau distillée pour éviter son engorgement ou son occlusion partielle en raison de l'assèchement de la matrice polymérique.

9. Vérifier les billes sous microscope avec un oculaire à l'échelle d'un micromètre et enregistrer vos observation relatives au diamètre, l'uniformité et à la forme dans le *tableau 6-6*.
10. Répéter cette procédure à chaque modification des paramètres.

Tableau 6-6 : Feuille de travail d'essai préliminaire Encapsulator (flacon à pression)

Taille de la buse [µm]					
Concentr. alginate [%]					
Position du régulateur de débit					
Fréquence de vibration [Hz]					
Amplitude					
Taille de bille approximative [µm]					
Homogénéité [%]					
Commentaires					

NOTE

Lors de la production de petites billes d'un diamètre inférieur à 500 µm, il peut arriver que leur forme ne soit pas sphérique mais quelque peu ovale. Ceci est dû principalement à la tension superficielle de la solution de polymérisation. Un point extrêmement important est l'entrée dans la solution de polymérisation. Si la tension superficielle est trop élevée, la bille est partiellement retenue à la surface et la polymérisation démarre avant que la bille ait regagné une forme ronde. Ce problème peut être éliminé en ajoutant une petite quantité de surfactant comme le Tween 20 à la matrice de polymérisation.

11. Comparer l'influence de la tension électrostatique en collectant les billes à la même fréquence de vibration et au même débit de pompage avec ou sans activation de la fonction de tension électrostatique.

6.10 Apprentissage de l'Encapsulator, emploi du réacteur complet

Après s'être familiarisé avec la formation de billes de Ca-alginate, effectuer une série d'essais avec le réacteur complet pour simuler des conditions de travail stériles mais en utilisant une solution d'alginate non stérile.
Les conditions de travail stériles présentent la difficulté supplémentaire de modifier quelque chose dans le réacteur autoclavé sans perdre la stérilité, dans le cas par exemple où un composant aurait été oublié ou mal monté. Il est donc important de bien préparer le réacteur avant la stérilisation. Suivre les instructions d'assemblage et de stérilisation du réacteur consignées dans la *section 5*. En cas de changement apporté, le noter dans une procédure séparée.

1. Préparer tous les réactifs nécessaires à l'encapsulation (par exemple pour l'encapsulation de cellules animales, voir la section 6.14).

Pour cette séquence :		
	60 mL	Solution d'alginate à 1,5 %
	500 mL	100 mM de solution de polymérisation $CaCl_2$
	600 mL	0,9 % NaCl + 10 mM de solution de lavage $CaCl_2$

   Assembler un flacon à pression.

2. Prendre le réacteur autoclavé et le fixer à l'unité de commande.
   Vérifier que le tube en silicone connecté à l'orifice de drainage du liquide de la plaque de base du réacteur est fermé par un collier. S'assurer que le régulateur de collecte de billes du réacteur est fermé, que l'agitateur magnétique se trouve sous le réacteur et que la pale de l'agitateur est au-dessus de l'agitateur magnétique.

   – Brancher l'unité de dispersion électrostatique (EDU) au fil rouge du réacteur.
   – Déplacer la coupelle de collecte de dérivation des billes sous la buse.

3. Introduire 500 mL de solution de polymérisation dans le flacon à pression. Fixer le tube en silicone à la membrane filtrante à liquide.
   Raccorder le flacon à pression à la sortie d'air de l'unité de commande. Allumer l'unité de commande. Régler la pression d'air de 0,3 à 0,7 bar (4 à 10 psi). Lorsque le volume de liquide pompé est suffisant, relâcher la pression d'air.

NOTE
Le volume de solution durcissante doit être 8 à 10 fois plus élevé que le volume de la matrice polymérique. La solution de polymérisation doit remplir au moins 2 cm (environ ¾") du réacteur (200 mL minimum).

4. Régler la fréquence de vibration, la tension électrostatique et, en cas d'utilisation de la pompe-seringue, le débit de pompage aux valeurs appropriées déterminées précédemment. Régler la vitesse de l'agitateur magnétique de façon à ce qu'un vortex soit à peine visible.
5. Remplir une seringue de 60 mL avec la solution d'alginate/d'échantillon et la fixer à l'Encapsulator. Activer le système de commande des vibrations et régler la fréquence de vibration aux valeurs prédéterminées à la *section 6-9*. Activer la pompe-seringue et régler la vitesse de pompage aux valeurs déterminées précédemment. Enfoncer le bouton « turbo » jusqu'à formation d'un jet de liquide continu. Activer le système de dispersion électrostatique. Au besoin, régler la vitesse de pompage et/ou la fréquence pour obtenir une chaîne distincte jusque sous la coupelle de collecte.

6. Dès que la chaîne de gouttelettes est stable, éloigner la coupelle de collecte du jet de liquide pour démarrer le processus de production de billes proprement dit. La dispersion doit se produire 3 à 10 cm (environ 1" à 4") sous l'électrode. La distance optimale est d'environ 5 cm (2") sous l'électrode. Pour atteindre ce but, ajuster la tension électrostatique et éventuellement affiner légèrement les réglages de fréquence de vibration et de vitesse de pompage.
7. Noter et enregistrer les paramètres exacts du processus. Inspecter la production de gouttelettes à la lumière de la lampe du stroboscope pour vérifier les réglages.
8. Juste avant d'enfoncer complètement le piston de la seringue, remettre la coupelle de dérivation sous le jet de gouttelettes. Ceci pour empêcher les grosses gouttelettes formées à la fin du processus de production de contaminer la collecte homogène. Arrêter la pompe. Éteindre l'unité de dispersion électrostatique et le système de commande des vibrations. Ou appuyer sur « home » pour remettre le bras de la pompe-seringue en position de repos. Cette action désactive également l'unité de dispersion électrostatique et le système de commande de vibration.
9. Laisser les billes durcir pendant 5 minutes.
10. Pour vidanger la solution durcissante du réacteur, ouvrir lentement le collier de drainage et compter 1 à 2 minutes pour drainer 500 mL. Désactiver l'agitateur magnétique aux trois quarts du drainage du liquide. Fermer le collier de drainage dès que le niveau du liquide atteint les billes stabilisées.

NOTE

Laisser toujours les billes recouvertes légèrement de solution pour éviter l'agglutination.

11. Remplir le flacon de transfert de liquide de 400 mL de solution de lavage et la pomper dans le réacteur. Redémarrer l'agitateur magnétique dès que la pale est recouverte de liquide de sorte que les billes ne soient pas endommagées. Laver les billes pendant 5 minutes et drainer le liquide en suivant les instructions ci-dessus (article 10).
12. Pomper les derniers 200 mL de solution de lavage dans le réacteur. Resuspendre les billes en allumant l'agitateur magnétique.
13. Ouvrir le régulateur de collecte des billes pour que les billes s'écoulent dans le flacon collecteur. Si des billes restent dans le réacteur, réintroduire du liquide du flacon collecteur dans le réacteur en plaçant le flacon collecteur plus haut que le réacteur drainé. Resuspendre les billes restantes avec ce liquide et le retransférer dans le flacon collecteur en le descendant plus bas que le réacteur.
14. Fermer avec le collier le tube en silicone qui relie le réacteur au flacon collecteur de billes. Débrancher le flacon collecteur de billes du réacteur et vérifier la qualité des billes sous un microscope.
15. Immédiatement à la fin du processus de production de billes, remplir une seringue d'eau distillée, la fixer à l'unité de production de billes et rincer la buse pour éviter que le polymère sèche et engorge le système, ce qui crée un problème de maintenance. Nettoyer soigneusement le réacteur y compris les divers orifices d'admission et de sortie.

6.11 Stérilisation par la chaleur du réacteur

1. Préparer le réacteur en suivant les instructions consignées à la section 5.4.
2. Ajouter 2 à 5 mL d'eau dans le réacteur.
3. Vérifier que les éléments suivants sont bien connectés ou prêts :
    - Bonne taille de buse
    - Centrage de l'électrode sous la buse
    - Unité de production de billes fermée par le système Luer Lock ?
    - Filtres à air et à liquide en place ?
    - Y a-t-il une pale d'agitateur magnétique dans le réacteur ?
    - Le flacon collecteur est-il fixé ?
    - Le passage entre le réacteur et le flacon collecteur est-il ouvert (vanne de drainage des billes ouverte) ?
    - Le tube de drainage est-il fermé par un collier ?
    - L'embout Luer Lock de l'unité de production de billes est-il fermé par un bouchon Luer Lock ?
4. Placer le réacteur assemblé dans l'autoclave et étuver à 121 °C pendant 20 minutes ou conformément au protocole utilisé.
5. À la fin de l'autoclavage, retirer le réacteur chaud de l'autoclave dès que possible pour éviter la condensation d'eau dans le filtre à air. Un filtre à air humide ne laissant plus passer l'air, il est difficile de vidanger les liquides du réacteur en raison de la pression négative créée dans le réacteur. Pour tester l'état du filtre à air, fixer une seringue de 60 mL au filtre. Le mouvement aller et retour du piston de la seringue ne doit rencontrer qu'une légère résistance.
6. Ne fermer le régulateur de collecte des billes qu'après le refroidissement du réacteur à la température ambiante.

6.12 Stérilisation du flacon à pression

1. Assembler le flacon à pression et fermer le raccord Luer Lock avec un bouchon Luer Lock.
2. Ajouter 1 à 2 mL d'eau dans le flacon à pression. Placer le flacon à pression assemblé dans l'autoclave et étuver à 121 °C pendant 20 minutes ou conformément au protocole utilisé.

6.13 Procédure d'encapsulation pour l'immobilisation de micro-organismes dans des billes de Ca-alginate

Cette section décrit une méthode simple mais bien établie d'immobilisation de micro-organismes dans des billes de Ca-alginate. La stabilité de ces billes dépend non seulement du type d'alginate utilisé mais aussi des conditions de culture futures. Les ions Ca de la solution durcissante remplacent les ions Na des gouttelettes,ce qui entraîne le durcissement des billes d'alginate (réaction réversible). Si des billes plus résistantes sont requises en raison de certains ingrédients du milieu de culture susceptibles de dissoudre les billes, les ions Ca peuvent être remplacés par des ions Ba qui ont une affinité plus grande avec l'alginate que les ions Ca, avec pour résultat des billes Ba-alginate plus stables.

La filtration sur membrane stérile donne les meilleurs résultats de stérilisation des solutions d'alginate (0,2 µm). La stérilisation par la chaleur tend à dégrader partiellement l'alginate et modifie de manière imprévisible la viscosité et la capacité de polymérisation.

Pour l'encapsulation de cellules animales, il est recommandé d'utiliser un autre protocole parce que la structure tridimensionnelle du Ca-alginate empêche la formation de la nouvelle membrane cytoplasmique pendant la division cellulaire. Les capsules sont mieux adaptées à la division cellulaire. La *section 6-14* décrit une procédure pour la production de capsules alginate-PLL.

1. Préparer tout le nécessaire indiqué à la *section 6-10* : réacteur, flacon à pression, seringue de 60 mL, béchers, éprouvettes graduées, etc. Autoclaver le réacteur.
2. Préparer tous les réactifs d'encapsulation nécessaires.

Pour cette séquence :		
	50 mL	Solution d'alginate à 1,5 %, faible degré de viscosité, filtration stérile
	500 mL	100 mM de solution de polymérisation $CaCl_2$ (non stérile)
	600 mL	0,9 % NaCl + 10 mM de solution de lavage $CaCl_2$ (non stérile)

3. Allumer l'unité de commande. Régler la fréquence de vibration, la tension électrostatique et le débit de pompage aux valeurs appropriées déterminées au préalable.
4. Introduire 500 mL de solution de polymérisation dans le flacon à pression et le refermer. Fixer le tube en silicone à la membrane filtrante à liquide. Pomper la solution de polymérisation dans le réacteur.
5. Débrancher le tube en silicone de la membrane filtrante et placer le réacteur dans une hotte biologique stérile.
6. Préparer 10 mL de suspension concentrée de micro-organismes. La suspension doit être exempte de cations bivalent ou trivalents (par ex. Ca, Mg, Al, Fe) ou en contenir une très faible concentration, pour éviter les réaction de polymérisation préliminaire avec l'alginate. Choisir la concentration de micro-organismes souhaitée telle qu'elle est dans la matrice polymérique finale < 1 010 cellules/ml (pour les cellules animales < 107 cellules/ml). Mélanger soigneusement 10 mL de la suspension de micro-organismes à 50 mL de solution d'alginate à 1,5 % stérile pour minimiser la formation de bulles d'air.
7. Remplir une seringue de 60 mL avec le mélange aseptique polymère-produit. Fixer la seringue à l'unité de production de billes. Fixer le réacteur (avec la seringue) à l'unité de commande. Avancer le bras de la pompe-seringue de sorte qu'il touche le piston. Démarrer l'agitateur magnétique de façon à ce qu'un léger vortex soit visible. Activer la commande de vibration et la pompe-seringue. Enfoncer le bouton « turbo » jusqu'à formation d'un jet de liquide continu. Activer l'unité de dispersion électrostatique. Au besoin, modifier la vitesse de pompage et/ou la fréquence pour obtenir une chaîne distincte jusque sous la coupelle de collecte.

8. Dès que la chaîne de gouttelettes est stable, éloigner la coupelle de collecte du jet de liquide pour démarrer le processus de production de billes proprement dit. Vérifier que la dispersion se produit 3 à 10 cm (environ 1" à 4") sous l'électrode. La distance optimale est d'environ 5 cm (2") sous l'électrode. Ajuster la tension électrostatique pour atteindre ce but.
9. Enregistrer les paramètres exacts du processus pendant la surveillance de la production de billes.
10. Juste avant d'enfoncer complètement le piston de la seringue, remettre la coupelle de collecte sous le jet de gouttelettes. Arrêter la pompe.
    Éteindre l'unité de dispersion électrostatique et le système de commande des vibrations.
11. Laisser durcir les billes pendant 5 minutes.
12. Pour vidanger la solution durcissante du réacteur, ouvrir lentement le collier de drainage et compter 1 à 2 minutes pour drainer 500 mL. Désactiver l'agitateur magnétique aux trois quarts du drainage du liquide. Fermer le collier de drainage dès que le niveau du liquide atteint les billes stabilisées.

NOTE

Laisser toujours les billes recouvertes légèrement de solution pour éviter l'agglutination.

13. Remplir le flacon à pression de 400 mL de solution de lavage et les pomper dans le réacteur. Redémarrer l'agitateur magnétique dès que la pale est recouverte de liquide de sorte que les billes ne soient pas endommagées. Laver les billes pendant 5 minutes et drainer le liquide en suivant les instructions ci-dessus (article 12).
14. Pomper les derniers 200 mL de solution de lavage dans le réacteur. Resuspendre les billes en allumant l'agitateur magnétique.
15. Ouvrir le régulateur de collecte des billes pour que les billes s'écoulent dans le flacon collecteur.
16. Fermer avec le collier le tube en silicone qui relie le réacteur au flacon collecteur de billes. Débrancher le flacon collecteur de billes du réacteur et vérifier la qualité des billes sous un microscope.
17. Immédiatement à la fin du processus de production de billes, remplir une seringue d'eau distillée, la fixer à l'unité de production de billes et rincer la buse pour éviter que le polymère ne sèche et n'engorge le système, ce qui crée un problème de maintenance. Nettoyer le réacteur.

6.14 Protocole d'encapsulation dans des membranes d'alginate-PLL-alginate

La membrane d'alginate-polylysine-alginate est un système d'encapsulation très bien établi pour les cellules animales et décrit initialement par Lim et Sun[1]. Ci-dessous un protocole éprouvé.

Solutions requises

1.	Solution d'alginate à 1,5 % :	alginate à 1,5 % à faible viscosité dans un tampon de lavage MOPS réglage du pH à 7,0 à 25 °C filtration stérile dans un filtre de 0,2 µm
2.	Solution de polymérisation :	10 mM MOPS (acide morpholinopropanesulfonique) 100 mM $CaCl_2$ pH = 7,2 à 25 °C
3.	Solution PLL :	15 000-30 000 mg de poly-L-lysine à 0,05 % dans un tampon de lavage MOPS
4.	Tampon de lavage MOPS :	10 mM MOPS (acide morpholinopropanesulfonique) NaCl à 0,85 % pH = 7,2 à 25 °C
5.	Solution d'alginate à 0,03 % :	2 mL de solution d'alginate à 1,5 %. + 98 mL de tampon de lavage MOPS.
6.	Solution de dépolymérisation :	50 mM de Na_3-Citrate NaCl à 0,45 % 10 mM MOPS pH = 7,2 à 25 °C

Éléments nécessaires pour une encapsulation de 12 mL de mélange polymère-produit :

- 12 mL Solution d'alginate à 1,5 % (filtration stérile)
- 100 mL Solution d'alginate à 0,03 % (non stérile)
- 225 mL Solution de polymérisation (non stérile)
- 75 mL Solution PLL (non stérile)
- 900 mL Tampon de lavage MOPS (non stérile)
- 200 mL Solution de dépolymérisation (non stérile)

[1]Lim F. and Sun A.M. 1980. Microencapsulated Islets as Bioartificial Pancreas. Science 210 : p.908-910.

Procédure

1. Préparer le réacteur et l'autoclaver en suivant les instructions consignées dans les *sections 6.10* et *6.11*.
2. Préparer toutes les solutions et le matériel de laboratoire.
3. Remplir le réacteur autoclavé de 225 mL de solution de polymérisation.
4. Une culture d'environ 6×10^6 cellules (ou conforme aux besoins personnels) est centrifugée avec resuspension du culot dans un tampon de lavage MOPS stérile de 2 mL mélangé à 10 mL de solution d'alginate de sodium à 1,5 %. Attention de ne pas introduire ou très peu de bulles d'air pendant le mélange.
5. Remplir une seringue de 20 mL de suspension cellules-alginate et fixer la seringue au réacteur dans une hotte à air laminaire.
6. Fixer le réacteur à l'unité de commande de l'Encapsulator placée sur la paillasse.
7. Lancer la formation de billes avec les paramètres établis précédemment.
8. Laisser durcir les billes pendant 5 minutes, puis arrêter l'agitateur et vidanger la solution de polymérisation.

NOTE

Les billes et plus tard les capsules doivent toujours être recouvertes d'une petite quantité de liquide pour prévenir leur agglutination. Sinon la resuspension des billes et des capsules est difficile et la membrane peut être endommagée.

9. Pomper 75 mL de solution PLL à 0,05 % et laisser se former la membrane PLL-alginate pendant 10 minutes.
10. Drainer la solution PLL à 0,05 %.
11. Pomper 150 mL de tampon de lavage MOPS, agiter pendant 1 min et drainer.
12. Pomper à nouveau 150 mL de tampon de lavage MOPS, agiter pendant 5 min et drainer.
13. Pomper 100 mL de solution d'alginate à 0,03 % et agiter pendant 5 minutes pour permettre la formation de la membrane extérieure d'alginate, puis drainer la solution d'alginate.
14. Pomper 150 mL de tampon de lavage MOPS, agiter pendant 1 min et drainer le tampon.
15. Pomper 150 mL de solution de dépolymérisation et agiter pendant environ 10 minutes pour dissoudre l'alginate du noyau des billes. Le temps de dissolution dépend du poids moléculaire et de la pureté de l'alginate, ainsi que de la susceptibilité du produit à encapsuler à la solution de dépolymérisation.
16. Vidanger la solution de dépolymérisation.
17. Pomper 150 mL de tampon de lavage, resuspendre les capsules et les transférer dans le flacon collecteur.
18. Transférer les capsules dans le milieu de culture.

NOTE

L'alginate dissous se diffuse lentement. En fonction de l'alginate utilisé et de l'épaisseur de la membrane de la capsule il peut lui falloir jusqu'à 2 heures pour quitter la capsule, en cas de quantités substantielles. Pour maximiser le retrait du noyau :

- *Prolonger le temps d'extraction dans MOPS ou dans un milieu de culture sans ions bivalents.*
- *Cultiver les cellules dans un milieu contenant < 50 mg/l d'ions Ca.*
- *Cultiver les cellules dans un milieu présentant un rapport d'ions monovalents (Na^+, K^+)-ions bivalents (Ca^{2+}, Mg^{2+}) compris entre 20:1 et 50:1.*

Recommandations spéciales pour les cellules

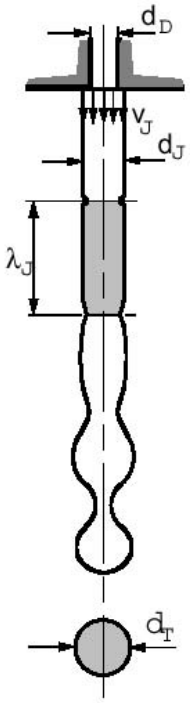
Pour les cellules en mitose – Dissoudre l'alginate du noyau, puis maintenir un rapport Na/Ca > 20:1 dans le milieu de culture de façon à ne pas resolidifier le noyau.

Pour les cellules au repos – il est possible de maintenir la structure du noyau d'alginate à l'état gélifié et même d'utiliser Ba^{2+}, qui est un ion plus gélifiant que Ca^{2+}. Le Ba-alginate est extrêmement stable et résiste à la dissolution dans une solution avec 50 mM de citrate pendant des jours.

Voir également : Gröhn P. et al. 1994. Large-scale production of Ba^{2+} alginate-coated islets of Langerhans for immunoisolation. Exp. Clin. Endocrinol. 102: p.380-387.

6.15 Contexte théorique

Équ. 1 : $$f = \frac{v}{\lambda}\,[Hz]$$



Lorsqu'un jet à écoulement laminaire est soumis à une perturbation mécanique à la fréquence f, les billes formées sont de taille homogène[1]. La longueur d'onde λ_{opt} optimale de dissociation, selon Weber[2] est obtenue par :

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

où : D = diamètre de buse
η = viscosité dynamique [Pa s]
ρ = densité [kg/m^3]
(env. 1 000 kg/m^3 pour les solutions d'alginate)
σ = tension superficielle [N/m]
(env. 55×10^{-3} N/m pour les solutions d'alginate)

λ_{opt} est la longueur d'onde optimale pour obtenir la meilleure formation de billes pour le diamètre de buse et la viscosité de la matrice d'encapsulation donnés. Il est possible de changer λ_{opt} de 30 % et d'atteindre encore une bonne formation de billes.

Le diamètre d'une bille = d [m] peut être calculé avec le débit de liquide = V' [m^3/s] et la fréquence de pulsation f selon :

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

La vitesse du jet = v [m/s] et le diamètre de buse = D [m] sont corrélés au débit de liquide (V') selon :

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

La *Figure 6-5* montre la dépendance du débit de liquide à la vitesse du jet et au diamètre de buse comme dans le calcul de l'équation 4. En raison de l'écoulement laminaire du liquide, la plage de travail de vitesse du jet est généralement comprise entre 1,5 et 2,5 m/s, en fonction de la viscosité du liquide et du diamètre de la buse.

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

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

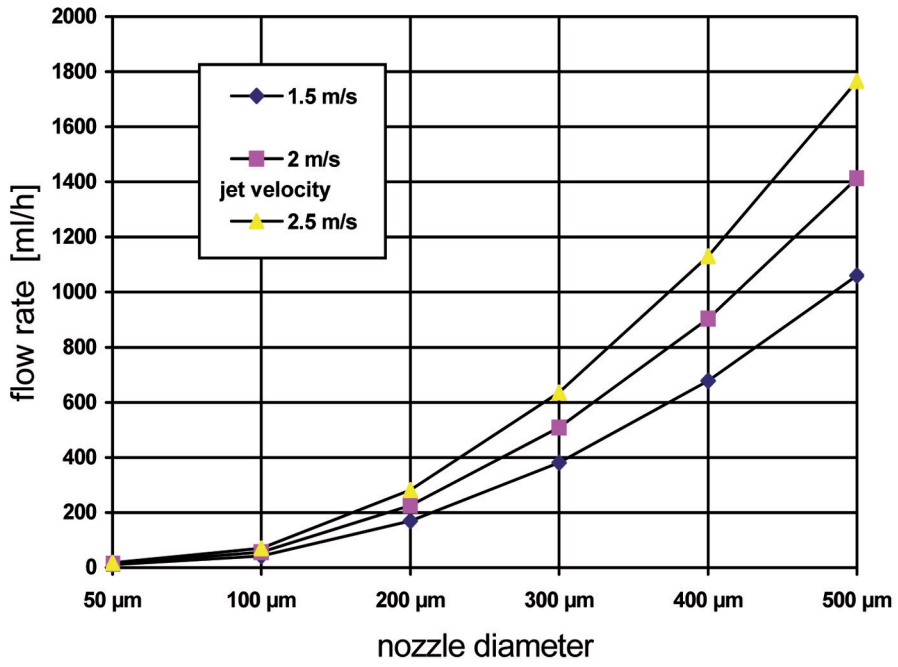


Figure 6-5 : Influence de la vitesse de jet du liquide et du diamètre de buse sur le débit de liquide selon le calcul de l'équation 4.

La *Figure 6-6* montre la corrélation entre la fréquence de vibration et le diamètre des billes pour cinq débits différents selon le calcul de l'équation 4. Des faibles débits de liquide, qui correspondent à des débits de pompage plus faibles, produisent de petites billes. Des fréquences de vibration élevées produisent également de petites billes.

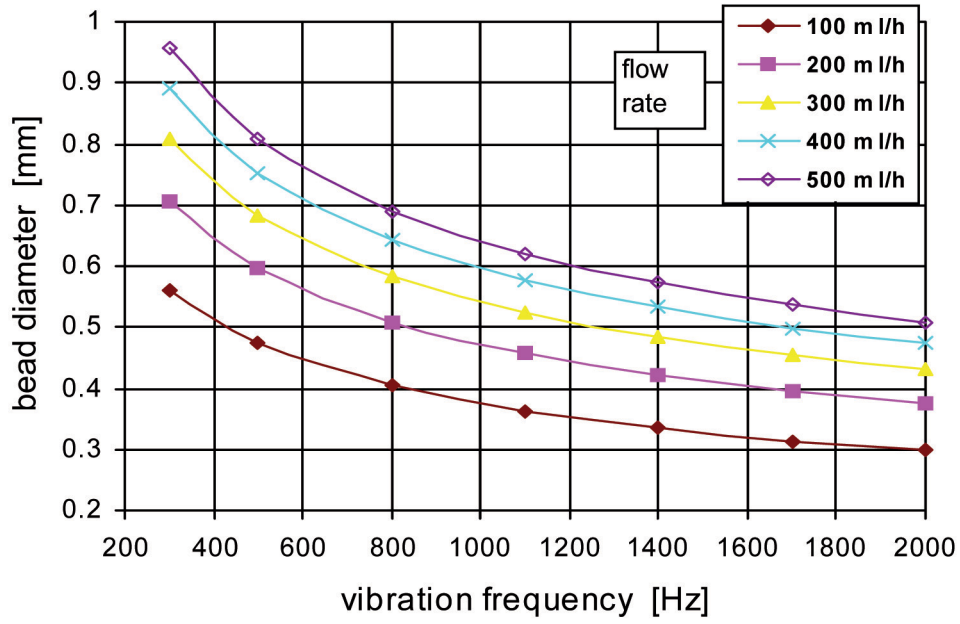


Figure 6-6 : Influence de la fréquence de vibration et du débit de liquide sur le diamètre des billes selon le calcul de l'équation 4.

Tableau 6-7 : Conditions de travail optimales pour l'Encapsulator déterminées avec une solution d'alginate

Diamètre de buse [µm]	Débit * [ml/min]	Intervalle de fréquence **	Amplitude	Pression de l'air [bar]
1,0 mm	30 à 40	40 à 220 Hz	2 à 6	0,3 à 0,6
750 µm	19 à 25	40 à 300 Hz	2 à 5	0,3 à 0,5
450 µm	9 à 14	150 à 450 Hz	2 à 5	0,3 à 0,5
300 µm	5,5 à 7	400 à 800 Hz	1 à 3	0,3 à 0,5
200 µm	3,5 à 4,5	600 à 1 200 Hz	1 à 3	0,4 à 0,6
150 µm	2,3 à 2,8	800 à 1 800 Hz	1 à 3	0,4 à 0,6
120 µm	1,5 à 1,8	1 000 à 2 500 Hz	1 à 4	0,5 à 0,7
80 µm	1,1 à 1,3	1 300 à 3 000 Hz	1 à 4	0,5 à 0,7

* Essais effectués avec une solution d'alginate à faible degré de viscosité de 2 % pour les buses de 750 µm et 1,0 mm, avec une solution d'alginate à 1,5 % pour une buse de 150 à 500 µm et avec une solution d'alginate à 1,2 % pour les buses de 80 et 120 µm.

**Valeurs supérieures à haute tension.

NOTE

Principes à prendre en compte pour des solutions à viscosité différente de celles testées :

- *Plus la viscosité est haute, plus la vitesse minimale du jet est grande*
- *Plus la viscosité est haute, plus le débit de travail est élevé*
- *Plus la viscosité est haute, plus la fréquence optimale est basse*
- *Plus la viscosité est haute, plus les billes sont grandes*

6.15.1 Productivité des billes et densité cellulaire

Les *Figures 6-7* et *6-8* indiquent la quantité de billes formées dans 1 mL de liquide. Environ 30 000 billes de 0,4 mm de diamètre sont formées contre seulement 2 000 de 1 mm de diamètre.

Les *Figures 6-9* et *6-10* indiquent le nombre de cellules encapsulées dans une bille pour une densité cellulaire et un diamètre de bille donnés. Ces chiffres aident à sélectionner la densité cellulaire appropriée de la matrice d'immobilisation. Par exemple, si la matrice d'immobilisation contient 1×10^6 cellules par ml, environ 33 se retrouvent en moyenne dans chaque bille de 0,4 mm contre environ 520 cellules dans chaque bille de 1 mm.

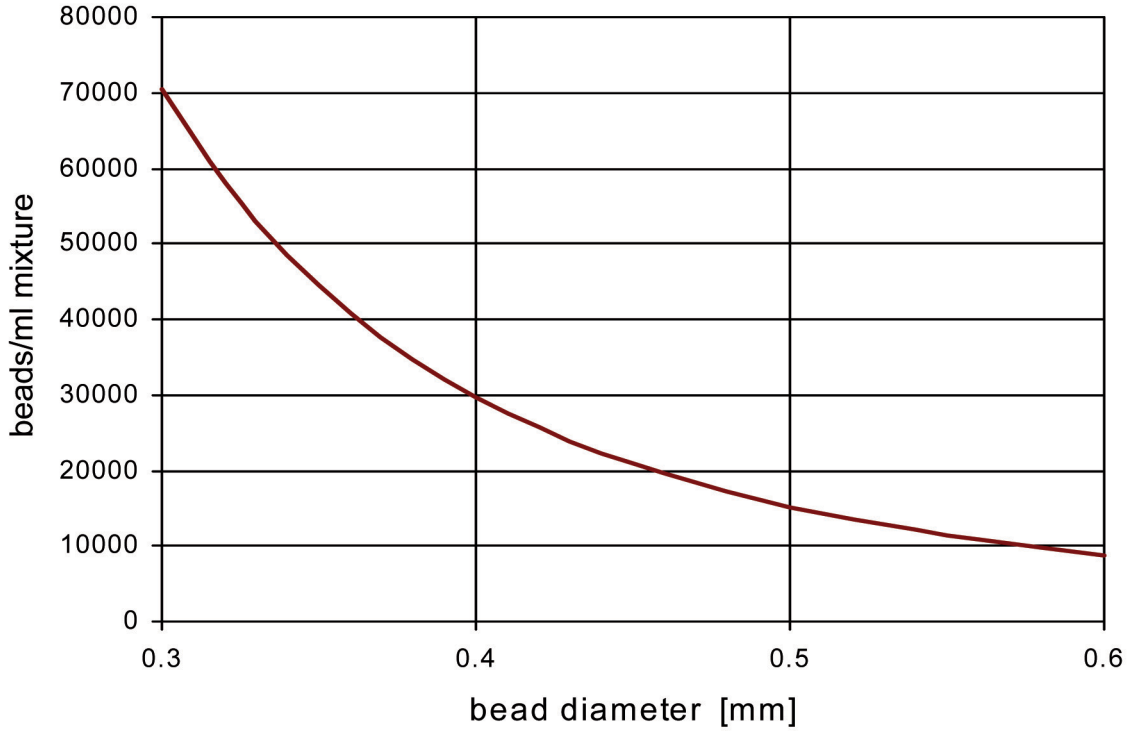


Figure 6-7 : Quantité de billes de 0,3 à 0,6 mm de diamètre formées dans 1 mL de matrice d'immobilisation.

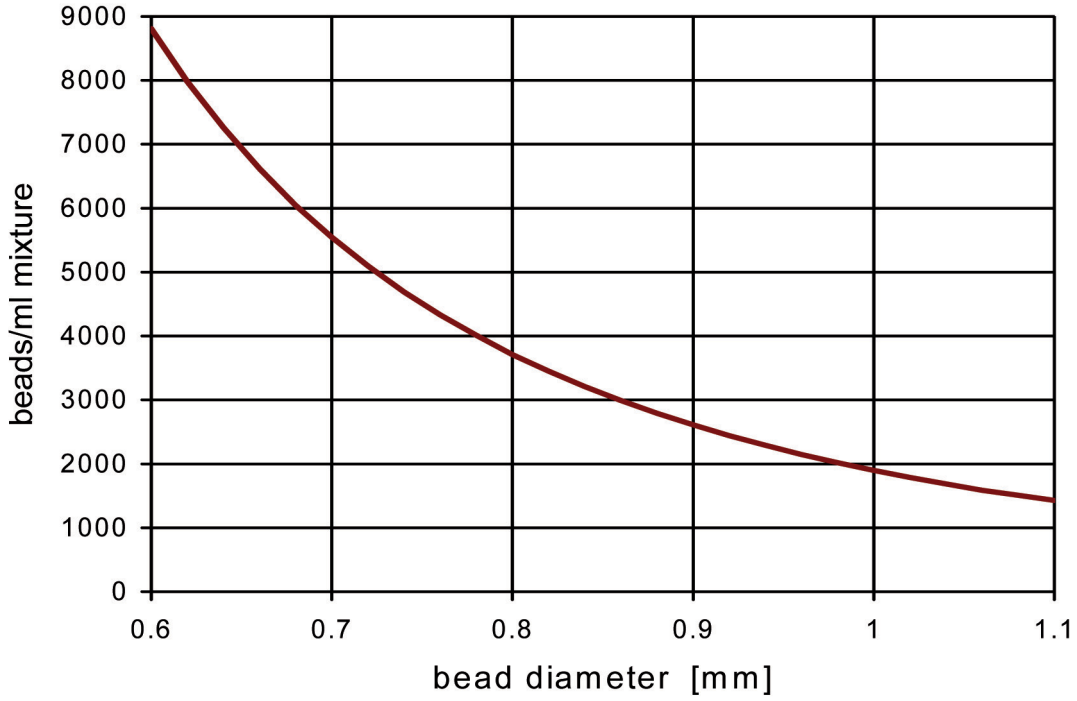


Figure 6-8 : Quantité de billes de 0,6 à 1,1 mm de diamètre formées dans 1 mL de matrice d'immobilisation.

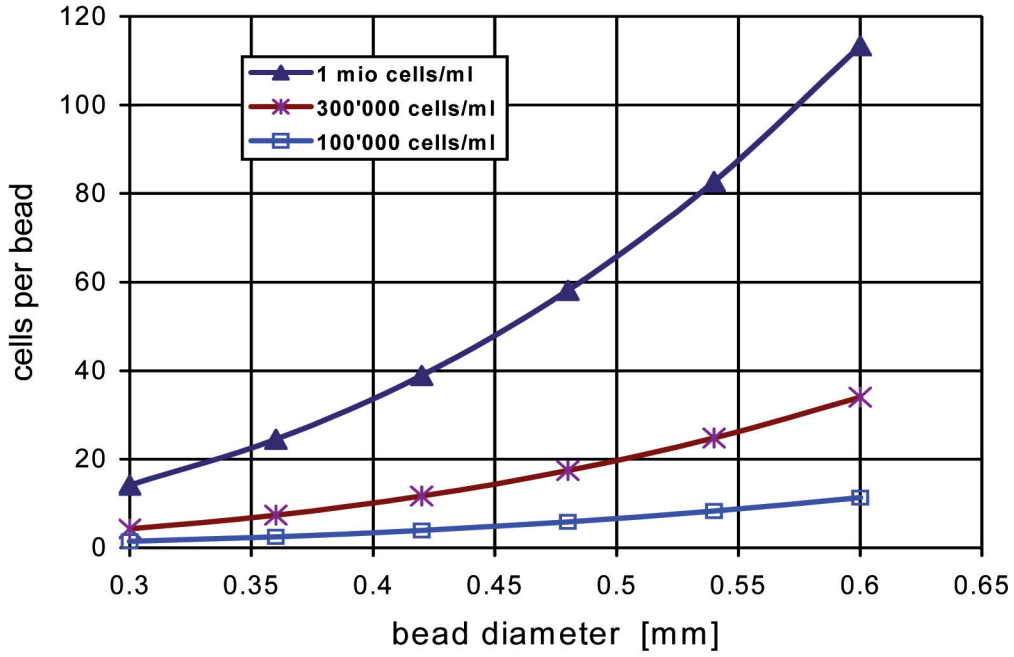


Figure 6-9 : Quantité de cellules par bille dans des concentrations cellulaires différentes pour des diamètres de billes compris entre 0,3 et 0,6 mm.

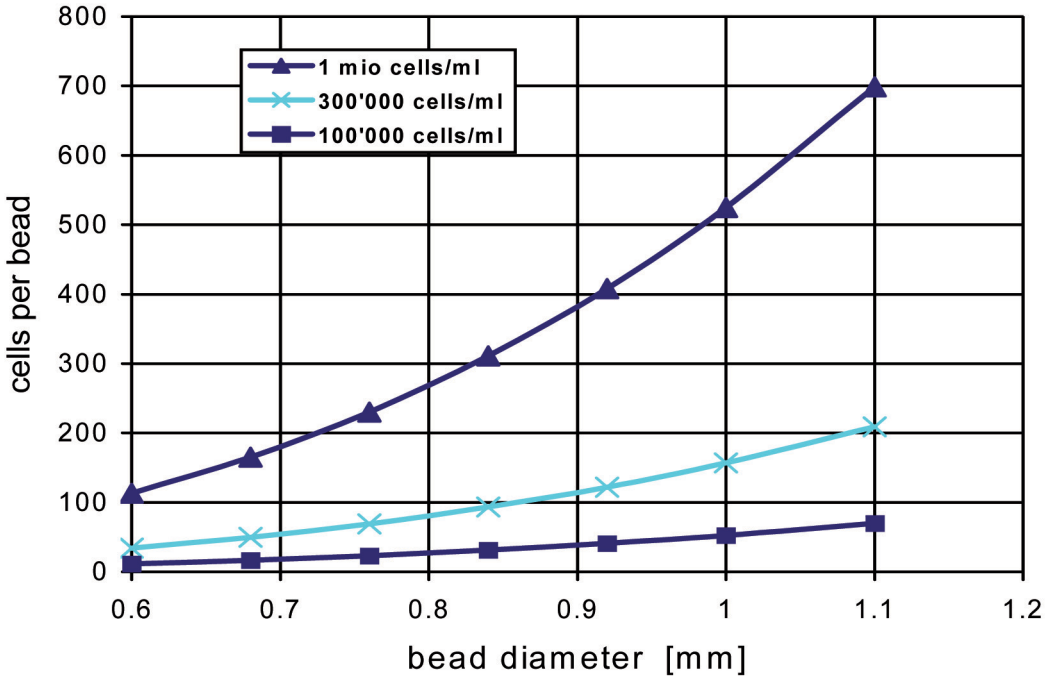


Figure 6-10 : Quantité de cellules par bille dans des concentrations cellulaires différentes pour des diamètres de billes compris entre 0,6 et 1,1 mm.

7 Maintenance et réparations

Ce chapitre donne les instructions concernant les travaux de maintenance à effectuer en vue de conserver l'instrument en bon état de marche et de garantir la sécurité. Tous les travaux de maintenance et les réparations impliquant l'ouverture ou la dépose du boîtier de l'instrument doivent être effectués exclusivement par un personnel formé et uniquement avec les outils fournis à cet effet.

NOTE
Assurer la garantie et prolonger les bonnes performances du système en utilisant uniquement des consommables et des pièces de rechange d'origine pour tous les travaux de maintenance et les réparations. Toute modification apportée à l'Encapsulator B-395 Pro ou à ses composants nécessite l'autorisation préalable du fabricant.

7.1 Service client

Seul des techniciens accrédités sont autorisés à effectuer des réparations sur l'instrument. L'accréditation demande une formation technique complète et la connaissance des dangers potentiels susceptibles de survenir pendant l'intervention sur l'instrument. Cette formation et ces connaissances ne peuvent être fournies que par BUCHI.

Les adresses des bureaux officiels du service client BUCHI sont mentionnées sur le site Web BUCHI sous :
www.buchi.com. En cas de dysfonctionnements constatés sur l'instrument ou bien de questions techniques ou problèmes d'applications, prière de contacter un de ces bureaux.

Prestations du service client :

- Fourniture de pièces de rechange
- Réparations
- Conseils techniques

7.2 État du boîtier

Vérifier que le boîtier ne présente pas de défauts visibles (interrupteurs, prises, fissures) et le nettoyer régulièrement avec un chiffon humide.
L'unité de commande de l'Encapsulator doit faire l'objet du même traitement que celui apporté aux autres composants de l'installation électrique. Le panneau avant est recouvert d'une couche de polyamide et peut donc être nettoyé avec une solution détergente douce à l'alcool.

7.3 Étanchéité

Il est recommandé d'effectuer régulièrement un contrôle d'intégrité des scellements. Les garnitures d'étanchéité, les joints toriques et les tubes en silicone doivent être remplacés périodiquement (approximativement une fois par an). Vérifier toutes les pièces et le cas échéant les remplacer avant l'utilisation.

7.4 Nettoyage

Avertissement

Élévation de pression dans le système d'admission en raison de buses engorgées.

Rupture du système d'admission.

Danger de mort ou d'intoxication grave par contact ou incorporation de substances nocives utilisées.

- Nettoyer la buse immédiatement après utilisation, voir la section suivante.

	Porter une blouse de laboratoire
	Porter des lunettes de protection
	Porter des gants de protection

7.4.1 Nettoyage de la buse après chaque séquence d'immobilisation

Il est essentiel de nettoyer la buse immédiatement après son utilisation de façon à ce que le substrat d'encapsulation (alginate, etc.) ne sèche pas et n'engorge pas le système.

1. Laisser la buse en place sur l'unité de production de billes.
2. Fixer une seringue de 20 ou 60 mL à l'unité de production de billes et injecter 20 à 60 mL d'eau distillée ou du solvant utilisé pour le polymère d'encapsulation.
3. Si nécessaire, dévisser la buse de l'unité de production de billes, rincer à l'eau désionisée (voir la *figure 7-1*) ou avec un solvant approprié et sécher la buse par un soufflage à l'air.

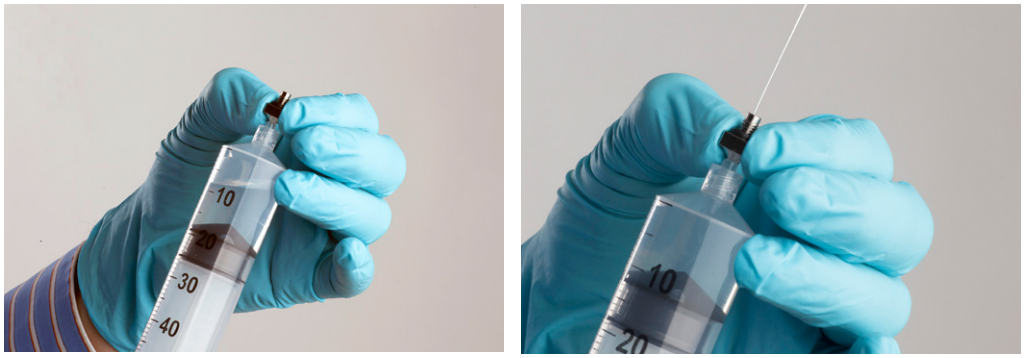


Figure 7-1 : Procédure de nettoyage de la buse

- Utiliser une seringue remplie d'air en haut et d'eau au fond.
- Expulser l'air dans la buse (figure de gauche).
- Expulser l'eau dans la buse immédiatement après (figure de droite).
- Examiner l'embout de buse sous un microscope stéréoscopique pour s'assurer que le passage est dégagé et propre.

NOTE
En cas de solutions d'immobilisation lipophiles, utiliser les solvants de nettoyage appropriés. Ne pas utiliser de solution acide pour l'alginate au risque de créer un précipité.

7.4.2 Nettoyage d'une buse engorgée

Dévisser la buse. Injecter de l'air et de l'eau dans la buse comme indiqué à la *figure 7-1*.

Si l'embout de buse n'est pas dégagé, tremper la buse dans l'eau avec le solvant approprié, 1N NaOH ou acide sulfurique azoté (ne jamais utiliser d'acide chlorhydrique) selon la matrice d'encapsulation pendant 1 heure à température ambiante et agiter périodiquement. La sonification des buses en acier inoxydable est également une procédure utile. Porter un équipement de protection approprié. Rincer à l'eau distillée, à l'air et laisser sécher.

Examiner l'embout de buse sous un microscope stéréoscopique pour s'assurer que le passage est dégagé et propre.

NOTE
En cas de solutions d'immobilisation lipophiles, utiliser les solvants de nettoyage appropriés. Ne pas utiliser de solution acide pour l'alginate au risque de créer un précipité.

7.4.3 Nettoyage du réacteur et d'autres cuves

Démonter le réacteur. Attention de ne pas démonter le support magnétique !
Démonter le système de transfert de liquide.
Laver tous les éléments, hormis les filtres à air, dans une solution détergente douce appropriée, 0,01N NaOH ou acide sulfurique 0,01N (ne jamais utiliser d'acide chlorhydrique).
Rincer soigneusement à l'eau distillée, à l'air et laisser sécher.

8 Dépannage

8.1 Dysfonctionnements et remèdes

Le tableau ci-dessous répertorie les erreurs possibles de fonctionnement et leur cause. Pour y remédier, redéfinir le paramètre pas à pas en sens inverse ou rétablir la pièce manquante.

Tableau 8-1 : Cause possible

Problème	Cause possible
Débit instable	Le débit est trop faible.
	Le nettoyage de la buse n'est pas adéquat (cause fréquente).
	La fréquence est trop élevée.
	L'amplitude est trop élevée.
Chaîne de gouttelettes instable	La fréquence est trop élevée ou trop faible.
	Le débit est trop haut ou trop faible.
	Le nettoyage de la buse n'est pas adéquat.
	L'amplitude est trop élevée ou trop faible.
Billes de taille différente	Le débit est trop élevé.
	La fréquence est trop élevée.
	La tension électrostatique est trop basse.
	La matrice d'immobilisation est un liquide non newtonien, ce qui complique l'extrusion ou la sphérisation des billes.
Chaîne de gouttelettes non dissociées	L'électrode n'est pas branchée sur l'unité de commande.
	La tension électrique est trop basse.
	L'électrode n'est pas branchée.
Gouttelettes invisibles à la lumière du stroboscope	L'unité de vibration n'est pas activée.
	L'unité de vibration n'est pas placée sur l'unité de production de billes.
	La fréquence de vibration est trop élevée ou trop faible.
	La viscosité de la matrice d'immobilisation est trop forte.

9 Arrêt, entreposage, transport et mise au rebut

Ce chapitre précise les modalités d'arrêt et d'emballage de l'instrument pour son entreposage ou son transport. Les conditions d'entreposage et d'expédition sont également consignées ici.

9.1 Entreposage et transport

Éteindre l'instrument et débrancher le câble d'alimentation. Pour démonter l'Encapsulator B-395 Pro, suivre les instructions de montage de la section 5 dans l'ordre inverse. Retirer tous les liquides et résidus poussiéreux avant d'emballer l'instrument.

Avertissement

Danger de mort ou d'intoxication grave par contact ou incorporation de substances nocives.

- Porter des lunettes de sécurité
- Porter des gants de sécurité
- Porter une blouse de laboratoire
- Bien nettoyer l'instrument et tous les accessoires pour retirer toute substance potentiellement dangereuse
- Ne pas nettoyer les pièces poussiéreuses à l'air comprimé
- Entreposer l'instrument et ses accessoires dans un endroit sec dans son emballage d'origine

9.2 Mise au rebut

Pour permettre une mise au rebut de l'instrument dans le respect de l'environnement, la liste des différents composants est donnée au *chapitre 3.3*. Ceci garantit la séparation des différents composants en vue d'un recyclage correct.
Les lois régionales et locales en matière de mise au rebut doivent être observées. Pour toute assistance, prière de contacter les autorités locales.

NOTE
En cas de retour de l'instrument au fabricant à des fins de réparation, veuillez copier et compléter la déclaration de sécurité de la section 10.2 et la joindre à l'instrument.

10 Déclarations et exigences

10.1 Exigences de la FCC (pour les États-Unis et le Canada)

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.

10.2 Déclaration de sécurité

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

Filiales BUCHI :

BÜCHI Labortechnik AG
CH – 9230 Flawil 1
T +41 71 394 63 63
F +41 71 394 65 65
buchi@buchi.com
www.buchi.com

BUCHI Italia s.r.l.
IT – 20010 Cornaredo (MI)
T +39 02 824 50 11
F +39 02 57 51 28 55
italia@buchi.com
www.buchi.it

BUCHI Russia/CIS
United Machinery AG
RU – 127787 Moscow
T +7 495 36 36 495
F +7 495 981 05 20
russia@buchi.com
www.buchi.ru

Nihon BUCHI K.K.
JP – Tokyo 110-0008
T +81 3 3821 4777
F +81 3 3821 4555
nihon@buchi.com
www.nihon-buchi.jp

BUCHI Korea Inc
KR – Seoul 153-782
T +82 2 6718 7500
F +82 2 6718 7599
korea@buchi.com
www.buchi.kr

BÜCHI Labortechnik GmbH
DE – 45127 Essen
Freecall 0800 414 0 414
T +49 201 747 490
F +49 201 747 492 0
deutschland@buchi.com
www.buechigmbh.de

BÜCHI Labortechnik GmbH
Branch Office Benelux
NL – 3342 GT
Hendrik-Ido-Ambacht
T +31 78 684 94 29
F +31 78 684 94 30
benelux@buchi.com
www.buchi.be

BUCHI China
CN – 200052 Shanghai
T +86 21 6280 3366
F +86 21 5230 8821
china@buchi.com
www.buchi.com.cn

BUCHI India Private Ltd.
IN – Mumbai 400 055
T +91 22 667 75400
F +91 22 667 18986
india@buchi.com
www.buchi.in

BUCHI Corporation
US – New Castle,
Delaware 19720
Toll Free: +1 877 692 8244
T +1 302 652 3000
F +1 302 652 8777
us-sales@buchi.com
www.mybuchi.com

BUCHI Sarl
FR – 94656 Rungis Cedex
T +33 1 56 70 62 50
F +33 1 46 86 00 31
france@buchi.com
www.buchi.fr

BUCHI UK Ltd.
GB – Oldham OL9 9QL
T +44 161 633 1000
F +44 161 633 1007
uk@buchi.com
www.buchi.co.uk

BUCHI (Thailand) Ltd.
TH – Bangkok 10600
T +66 2 862 08 51
F +66 2 862 08 54
thailand@buchi.com
www.buchi.co.th

PT. BUCHI Indonesia
ID – Tangerang 15321
T +62 21 537 62 16
F +62 21 537 62 17
indonesia@buchi.com
www.buchi.co.id

BUCHI Brasil Ltda.
BR – Valinhos SP 13271-570
T +55 19 3849 1201
F +41 71 394 65 65
latinoamerica@buchi.com
www.buchi.com

Centres de support BUCHI :

South East Asia
BUCHI (Thailand) Ltd.
TH-Bangkok 10600
T +66 2 862 08 51
F +66 2 862 08 54
bacc@buchi.com
www.buchi.com

Latin America
BUCHI Latinoamérica Ltda.
BR – Valinhos SP 13271-570
T +55 19 3849 1201
F +41 71 394 65 65
latinoamerica@buchi.com
www.buchi.com

Middle East
BUCHI Labortechnik AG
UAE – Dubai
T +971 4 313 2860
F +971 4 313 2861
middleeast@buchi.com
www.buchi.com

BÜCHI NIR-Online
DE – 69190 Walldorf
T +49 6227 73 26 60
F +49 6227 73 26 70
nir-online@buchi.com
www.nir-online.de

Nous sommes représentés par plus de 100 distributeurs dans le monde.
Pour trouver votre revendeur le plus proche, rendez-vous sur : www.buchi.com