

Comprendre les technologies d'évaporation et de concentration Partie 1 – Principes fondamentaux des technologies d'évaporation les plus utilisées

Dr. Induka Abeysena & Rob Darrington
Genevac Ltd, Ipswich, Royaume-Uni.

La première partie de ce document en deux parties expose les principes élémentaires de l'évaporation et de la concentration, et décrit certaines des technologies les plus utilisées. La seconde partie dressera le tableau de la grande variété de systèmes utilisés pour l'évaporation, notamment les pompes, les pièges à froid et les évaporateurs.

Introduction

L'élimination des solvants représente un processus essentiel des applications des industries pharmaceutiques, chimiques et biotechnologiques. Divers formats d'échantillonnage et de solvants sont utilisés, sans qu'aucune technique d'élimination des solvants ne constitue une solution universelle. De nombreux systèmes commerciaux d'évaporation et de concentration ont été développés pour les différentes applications. Ces systèmes, et le matériel associé (pompes à vide, pièges à froid et technologies de chauffage) ont récemment bénéficié de développements novateurs des technologies de concentration par lyophilisation et centrifugation, améliorant la performance d'évaporation et l'intégrité des échantillons. En outre, les nouveaux pièges à froid haute puissance permettant de récupérer les solvants plus facilement, réduisent ainsi l'impact du processus d'évaporation/de concentration sur l'environnement.

La meilleure connaissance des processus d'évaporation et de concentration, de leurs applications pratiques et des avantages des nouveaux équipements, permet d'optimiser les protocoles et de réaliser plus rapidement des concentrations d'échantillons de meilleure qualité.

Processus d'élimination des solvants

Au cours de l'élimination des solvants, de l'énergie calorifique est appliquée au liquide pour le vaporiser en gaz, puis il est éliminé afin d'obtenir un produit concentré sans solvant (sec). La catégorie générique des

« évaporateurs » regroupe de nombreux systèmes. Toutefois, la véritable évaporation correspond à l'évaporation à l'état gazeux à la surface du liquide. De nombreux évaporateurs produisent une ébullition et non une évaporation. Le processus de lyophilisation ne produit ni évaporation ni ébullition, mais une sublimation, une transformation de l'état solide à la phase gazeuse, sans phase liquide.

La phase d'une substance est déterminée par deux facteurs principaux, la chaleur et la pression, la température à laquelle l'ébullition ou l'évaporation se produit, dépend de la pression. Ainsi, les concentrateurs à vide établissent du vide dans le système pour réduire le point d'ébullition des solvants, de façon à ce que la vaporisation du liquide survienne à des températures plus faibles (ex. : l'eau bout à 7,5°C à une pression de 10 mbar). De façon similaire, dans les lyophilisateurs, l'énergie calorifique appliquée à un échantillon congelé à faible pression transfère une énergie suffisante pour changer de phase, mais la pression étant trop basse pour la formation de liquide, le solvant est donc sublimé en gaz. La vapeur produite est éliminée par un piège à froid ou un condenseur, dans lequel le solvant est récupéré.

Chaleur et température

Les systèmes d'élimination des solvants appliquent de l'énergie calorifique pour induire leur vaporisation. Plusieurs mécanismes de chauffage existent, notamment des blocs thermiques électriques, des lampes, et de la vapeur à faible température. La chaleur et la température, bien que liées, sont des concepts différents, qu'il est essentiel de distinguer. La chaleur est une énergie calorifique mesurée en Joules, tandis que la température correspond au niveau d'énergie thermique, à savoir le caractère chaud ou froid d'un objet. Les échantillons thermosensibles sont généralement sensibles aux températures, ainsi une majorité des échantillons peut être chauffée sans

dégradation, dans la mesure où la température demeure dans des limites définies. L'application de vide dans un système réduit le point d'ébullition des solvants de façon à ce que la vaporisation du liquide se produise à des températures plus faibles, sans risque pour l'échantillon.

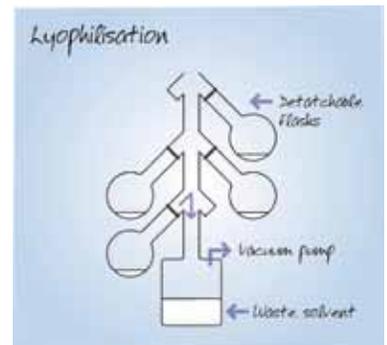
La chaleur et la température sont corrélées par l'équation $Q = mc\Delta T$, où Q correspond à l'énergie apportée, m à la masse de l'objet, c à la capacité calorifique spécifique de l'objet chauffé, et ΔT à la variation thermique. ΔT peut s'exprimer en termes d'apport de chaleur : $\Delta T = Q/mc$. Ces équations se vérifient lorsque tous les autres paramètres restent inchangés. Toutefois, au moment du changement de phase, l'énergie calorifique apportée n'augmente pas la température, car l'énergie est nécessaire au changement d'état, notamment de l'état liquide à l'état gazeux. Ainsi, dans les véritables systèmes d'évaporation (sans ébullition), l'échantillon est à la même température que le système le contrôlant, tandis que dans un lyophilisateur qui congèle activement les produits, l'échantillon est à la température à laquelle il a été congelé, puis, sa température dépend de la température de sublimation de glace, contrôlée par le niveau de vide.

La dynamique inverse existe dans les concentrateurs à vide qui font bouillir le solvant. Lorsque l'échantillon est en solution et qu'il bout, il est à la température d'ébullition du liquide. La Figure 1 illustre la relation entre le point d'ébullition et la pression de plusieurs solvants usuels. À ce stade, il est possible de chauffer le système à des températures élevées sans que jamais l'échantillon n'atteigne cette température, et ce, jusqu'à élimination totale du solvant. L'échantillon n'atteindra la température du système qu'une fois l'ensemble du solvant éliminé. Le contrôle précis de la température de l'échantillon est donc déterminant. Généralement, le contrôle de la température du porte-échantillon offre une protection efficace, car l'échantillon ne peut pas atteindre une température supérieure, sauf s'il est chauffé directement et indépendamment du porte-échantillon. Cette méthode requiert l'utilisation de porte-échantillons en métal tel que l'aluminium qui peuvent transmettre un maximum de chaleur à l'échantillon et être refroidis par le solvant en évaporation. Certains systèmes sont dotés d'un dispositif de contrôle en temps réel de la température, qui permet de déterminer avec précision lorsque l'évaporation est complète, évitant ainsi le chauffage excessif des échantillons.

Différentes méthodes de séchage Lyophilisation

Il existe deux principaux types de lyophilisateurs : les lyophilisateurs qui

congelent activement les échantillons placés sur des étagères réfrigérées, similaires aux congélateurs de laboratoires, et le second type, à savoir des systèmes passifs qui ne congèlent pas activement, mais qui sont équipés de cloches sur lesquelles on adapte les échantillons en flacons ou en ballons. Un vide poussé est souvent utilisé pour que les échantillons restent congelés et bien préservés au moment de la sublimation et de la récupération du solvant dans le piège à froid. Le produit lyophilisé prend généralement la forme d'une poudre diffuse qui présente un taux élevé de siccité (en raison de la grande surface disponible pour l'élimination du solvant) et est très facile à dissoudre à nouveau. Certains échantillons, notamment l'ADN, exigent une attention particulière lors de leur manipulation afin d'éviter la perte de la poudre fine. La Lyophilisation est un procédé relativement lent, même si certaines configurations sont compatibles avec des cycles lots importants. Des projections de solvant peuvent se produire, cela peut être réduit par la pré-congélation des échantillons. Le processus de lyophilisation est limité aux solutions aqueuses ou aux solvants organiques simples qui se congèlent facilement, comme le butanol tertiaire et le 1,4-dioxane. Les échantillons contenant des solvants volatils doivent être activement congelés à très faible température, ce qui exige un contrôle du vide à très faible pression, les rendant si froids qu'ils perturbent le fonctionnement du condenseur.



Concentration par centrifugation

Les concentrateurs centrifuges induisent l'ébullition du solvant sous vide, l'échantillon est donc froid mais, contrairement aux lyophilisateurs, pas congelé, ainsi, le processus est plus rapide. Une attention particulière doit être apportée à l'évaporation centrifuge des échantillons aqueux, qui peuvent geler. Les évaporateurs centrifuges sont équipés de pièges à froid, qui permettent de récupérer le solvant. Avec la centrifugation, le solvant bout depuis la surface de l'échantillon, en flux descendant, ce qui réduit les risques de débordement et de projection, et donc les pertes et la contamination croisée. Le solvant à la surface du liquide est à la même pression que l'équipement, tandis que le solvant sous ce niveau est à une pression supérieure en raison du poids supplémentaire du solvant, multiplié par la force centrifuge (g) exercée par le rotor. Les systèmes équipés de rotors très rapides exerçant au moins 500 g contiennent les projections de solvant. La technique d'évaporation centrifuge est adaptée à de nombreux solvants, ►►►

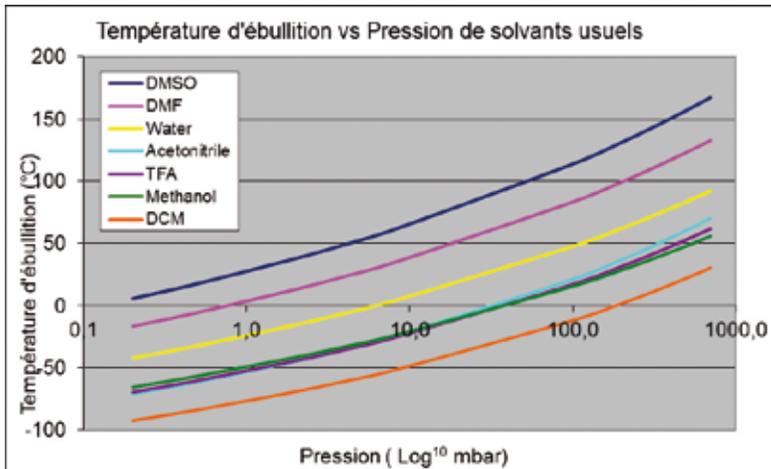


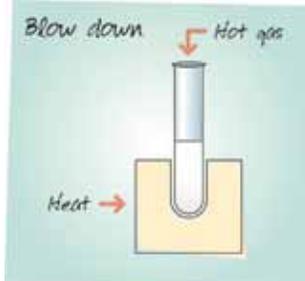
Figure 1 – Relation entre la pression et le point d'ébullition de solvants usuels



et peut concentrer, sécher ou lyophiliser les échantillons.

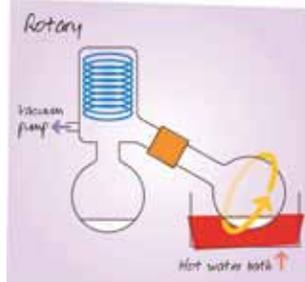
Les systèmes sophistiqués d'évaporation centrifuge peuvent rapidement lyophiliser en concentrant la majorité d'un volume plus important avant la lyophilisation des derniers millilitres de l'échantillon. Les échantillons doivent être traités par lots, un nombre important de petits échantillons peut être traité simultanément. Alors que les premiers systèmes étaient considérés comme lents, les récentes innovations dans le domaine du chauffage des échantillons par vapeur à basse température et à basse pression, notamment l'évaporateur Rocket™ de Genevac, permettent d'effectuer des concentrations rapides de volumes plus importants à la même vitesse qu'un évaporateur rotatif. Ces systèmes suppriment les projections de solvant et le contrôle continu associé aux évaporateurs rotatifs.

faible et des projections peuvent se produire, en particulier si le débit de gaz est trop élevé, ce qui peut entraîner une contamination croisée des échantillons. Le procédé à flux gazeux est souvent utilisé pour réduire des volumes importants à quelques millilitres avant traitement par d'autres techniques. Il existe des tubes à embouts spéciaux adaptés à cette procédure, et certains systèmes commerciaux sont dotés de mécanismes d'arrêt automatique basés sur la détection du niveau de liquide.



Évaporation vortex

Ces systèmes font bouillir des lots d'échantillons sous vide pour garder une température d'échantillon basse pendant la vaporisation, tout en agitant les tubes pour créer un tourbillon/vortex. Les évaporateurs rotatifs fonctionnent de façon très similaire, mais avec un seul échantillon par flacon. Le tourbillon génère une grande surface d'évaporation, rendant le procédé relativement rapide. Toutefois, le produit sec obtenu est étalé sur les parois du flacon, ce qui peut rendre la récupération de l'échantillon difficile. En outre, contrairement aux concentrateurs centrifuges, le mouvement rotatif produit une force g insuffisante pour prévenir les projections de solvant, entraînant des pertes et une potentielle contamination croisée. Dans certains systèmes vortex, l'évaporation est accélérée par l'utilisation de lampes chauffantes dirigées vers l'intérieur des tubes, mais ces systèmes peuvent surchauffer l'ensemble ou partie des échantillons devenus secs.

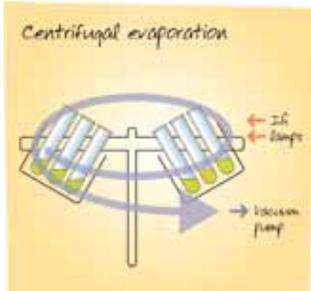


Facteurs influençant la vitesse d'évaporation

Trois facteurs influencent la vitesse de concentration : l'énergie calorifique apportée, la captation de la vapeur et la surface de solvant. Pour un solvant en ébullition, plus on apporte de l'énergie rapidement, plus il bout rapidement. De façon similaire, pour les systèmes

d'évaporation, plus on apporte de chaleur, plus l'évaporation est rapide, bien que les échantillons soient à la température déterminée par le système plutôt qu'en ébullition lorsque le point d'ébullition du solvant contrôle la température de l'échantillon. La chaleur est apportée par des lampes, des blocs/bains chauffants ou, dans les nouveaux systèmes par centrifugation, par de la vapeur à faible température et à faible pression. Dans ces derniers, l'eau est chauffée par les parois, se transforme en vapeur, puis se condense sur les flacons d'échantillonnage (qui sont froids, car le solvant y est en ébullition) pour transférer la chaleur aux échantillons. La vapeur de chauffage se répand sur toute la surface, un minimum de chaleur est perdu et la température requise est très rapidement atteinte, ce qui renforce l'efficacité de la concentration.

Outre les effets du taux de chauffage, plus les vapeurs sont captées rapidement, plus les solvants entrent en ébullition rapidement. Lorsqu'un échantillon est en solution, il est à la température d'ébullition du solvant, donc, plus vite le système peut apporter de la chaleur à l'échantillon avec efficacité, plus la concentration survient rapidement et plus le système éliminera avec efficacité les vapeurs par condensation dans un piège froid. La vitesse de concentration peut être améliorée avec des niveaux de vide plus importants, cependant cela ne se vérifie que jusqu'à un certain point. Aux plus bas niveaux de vide possibles avec les évaporateurs modernes, un solvant volatil entrera en ébullition à des températures si faibles qu'un piège à froid ne pourra pas récupérer le solvant efficacement, le rendant inutile. Pour une performance optimale du système, il est essentiel de parvenir à un équilibre entre l'apport calorifique à l'échantillon et son élimination par le condenseur. Si un système n'est pas équilibré, soit le piège à froid ne récupère pas le solvant, qui entre dans la pompe, ce qui élève la pression du système et empêche la récupération du solvant ; soit le piège à froid contrôle la pression du système de façon à ce qu'il fonctionne à une vitesse inférieure au débit optimal. Dans un lyophilisateur, le débit de vapeur représente le facteur déterminant : plus la vapeur est captée rapidement, plus les échantillons sèchent rapidement. Enfin, la concentration et l'évaporation peuvent être accélérées par la création d'une surface de solvant plus importante, et les systèmes à flux gazeux accélèrent l'évaporation par un déplacement de l'équilibre entre les phases.



Évaporation à flux gazeux

Dans ces évaporateurs, un gaz inerte, tel que de l'azote, est pulsé à travers des aiguilles au-dessus des échantillons contenus dans des tubes, des fioles ou des microplaques pour créer un flux sur la surface du liquide. Ce processus modifie l'équilibre entre les phases gazeuse et liquide pour favoriser la phase gazeuse. Une source de chaleur est généralement apportée aux échantillons pour accélérer l'évaporation, mais il est aussi possible d'utiliser des gaz préchauffés. La technique permet un accès aux équipements en continu, et, est relativement peu coûteuse dans des versions auto-assemblées ou commerciales simples. Bien que l'évaporation à flux gazeux soit relativement rapide pour les solvants volatils, elle peut se révéler lente pour les solvants dont le point d'ébullition est élevé, ou les solvants difficiles à évaporer tel que l'eau. Les échantillons traités selon ce procédé peuvent chauffer car, pendant l'évaporation, ils sont à la température du bloc ou du bain chauffant et, par conséquent, cette technique offre un faible taux de récupération des composés volatils. Le procédé étant manuel, l'évaporation à flux gazeux exige un suivi continu pour détecter le point de séchage limite. Le taux de siccité de la technique est généralement



2012 Découverte médicale
PRODUIT DE L'ANNÉE



Forum LABO & BIOTECH – Stand F35

Lecteur de microplaques multi détection

Synergy™ NEO

Synergy™ NEO est le tout nouveau lecteur de microplaques multimode de BioTek, spécifiquement conçu pour les besoins actuels dans le domaine du criblage de molécules. NEO a toutes les fonctions que vous attendez d'un instrument HTS, y compris des détecteurs parallèles multiples pour des mesures ultra rapides, excitation par laser, un manipulateur de plaque ultra rapide et une sensibilité extrême sur des dosages à faible volume.

Le Criblage à Haut Débit a changé, et votre lecteur?

BioTek
Get a Better Reaction.

BioTek France
BioTek Instruments SAS
50 avenue d'Alsace, 68025 Colmar Cedex
Tel: 03 89 20 63 29, Fax: 03 89 20 43 79
info@biotek.fr, www.biotek.fr