

RÉPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE

PARIS

(11) N° de publication :

2 471 204

(A n'utiliser que pour les
commandes de reproduction).

A1

**DEMANDE
DE BREVET D'INVENTION**

(21) **N° 80 26064**

(54) Procédé et dispositif de transfert de masse d'au moins un constituant, d'une phase liquide à une autre phase liquide, avec séparation de ces deux phases dans ce même dispositif.

(51) Classification internationale (Int. Cl.³). B 01 D 12/00; G 01 N 33/54.

(22) Date de dépôt..... 9 décembre 1980.

(33) (32) (31) Priorité revendiquée : Israël, 12 décembre 1979, n° 58943.

(41) Date de la mise à la disposition du
public de la demande..... B.O.P.I. — « Listes » n° 25 du 19-6-1981.

(71) Déposant : CAIS Michael, SHIMONI Moshe et TECHNION RESEARCH & DEVELOPMENT
FOUNDATION LTD, résidant en Israël.

(72) Invention de : Michael Cais et Moshe Shimon.

(73) Titulaire : *Idem* (71)

(74) Mandataire : Bugnion Associés,
116, bd Haussmann, 75008 Paris.

PROCEDE ET DISPOSITIF DE TRANSFERT DE MASSE D'AU
MOINS UN CONSTITUANT, D'UNE PHASE LIQUIDE A UNE AUTRE
PHASE LIQUIDE, AVEC SEPARATION DE CES DEUX PHASES DANS
CE MEME DISPOSITIF

5 La présente invention se rapporte à un procédé relatif
à des opérations de transfert de masse et elle vise plus spé-
cialement un procédé et un dispositif permettant d'effectuer
le transfert d'au moins un constituant, d'une phase li-
quide à une autre phase liquide, ces deux phases étant prat-
10 quement non miscibles.

Les phénomènes de transfert de masse se rencontrent
partout dans la nature et ils ont une grande importance dans
toutes les branches de la science pure et de la science appli-
quée. L'expression "transfert de masse" se rapporte au déplace-
15 ment de molécules ou d'éléments fluides, provoqué par un
certain potentiel ou une "force d'entraînement". Le transfert
de masse comprend la diffusion moléculaire, le transport par
convection et le mélange pur et simple. Il est en jeu chaque
fois que se produit une réaction chimique, que ce soit dans
20 un réacteur industriel, dans une installation biologique ou
dans un laboratoire de recherche. Les substances que l'on veut
faire réagir doivent être réunies si l'on veut que la réaction
ait lieu. Dans de nombreux cas, la réaction se ralentit ou
même s'arrête si l'on ne retire pas le ou les produits fournis
25 par la réaction. La vitesse de transfert de masse peut déter-
miner complètement la conversion chimique lorsque les produits
en réaction doivent passer d'une phase à l'autre pour que cette
réaction puisse se produire. Dans le cas d'une réaction réver-
sible, on améliore la conversion si l'on retire de façon con-
30 tinue le produit désiré, par transfert de masse vers une secon-
de phase dans laquelle aucune réaction n'a lieu. En outre, les
vitesses relatives de transfert de masse des divers corps en
réaction et des produits obtenus peuvent jouer un grand rôle
sur la sélectivité lorsque plusieurs réactions simultanées
35 sont en jeu.

En principe, des opérations de transfert de masse et
de séparation peuvent être censées se produire entre une phase
immobilisée fixe et une phase liquide mobile (comme par exemple
dans les opérations d'échange d'ions) ou entre deux phases

liquides (comme par exemple dans les opérations d'extraction liquide-liquide). Il est bien connu que la séparation de telles phases représente l'une des opérations les plus importantes et les plus critiques dans de nombreux procédés de 5 laboratoire et industriels.

Les opérations entre phases liquides qui font intervenir le transfert de masse s'effectuent en général dans des récipients dans lesquels, après un mélange ou un contact intimes entre une phase et l'autre, on laisse ces deux phases 10 se séparer et on les retire. Comme récipient de laboratoire connu pour une telle destination, on peut citer des séparateurs en forme d'entonnoir. L'un des inconvénients de tels séparateurs réside dans le fait que la séparation des deux phases nécessite des opérations manuelles importantes. A 15 l'échelle industrielle, on connaît deux types principaux d'équipement : 1) les mélangeurs-décanteurs et 2) les colonnes. Ces deux types d'équipement visent à assurer une grande surface de contact entre phases, étant donné que la vitesse de transfert du constituant distribué est directement proportionnelle à cette surface. Le choix du type d'équipement convenable dépend du procédé appliqué pour mettre en contact les 20 phases liquides. En mélangeant les deux phases par subdivision et dispersion de l'une des phases, on constitue de nouvelles surfaces avec transfert rapide du soluté dans la grande surface 25 ce de contact. La facilité avec laquelle s'effectue le mélange dépend de la tension d'interface entre les deux phases, des masses spécifiques relatives de ces deux phases et de la viscosité de chacune des phases. La séparation des deux phases après leur mise en contact peut s'effectuer par gravité ou 30 sous l'effet de la force centrifuge. La facilité avec laquelle s'effectue la séparation des deux phases est fonction avant tout de la différence entre les masses spécifiques de ces phases et leurs viscosités et les opérations de séparation risquent d'être rendues beaucoup plus difficiles par la présence d'impuretés, 35 car celles-ci sont susceptibles de stabiliser les émulsions. C'est en particulier le cas avec les mélangeurs-décanteurs.

Un autre procédé permettant d'obtenir une grande surface de contact consiste à faire couler l'une des phases devant l'autre, sans essayer de mélanger les deux phases. Le matériel

servant à mettre les deux phases en contact joue également le rôle de séparateur car le mélange des deux phases est à éviter. Ce procédé repose sur l'augmentation de longueur du trajet d'écoulement en vue de l'obtention d'une grande surface de contact et il consomme normalement moins d'énergie que le procédé selon lequel les deux phases se mélangent l'une à l'autre, comme c'est le cas avec le type d'équipement précédent. On peut obtenir une plus grande surface de contact entre phases en faisant circuler les deux phases liquides à contre-courant ou dans le même sens dans des tubes ou conduits horizontaux (la phase de moindre densité circulant à la partie supérieure du tube) ou dans des tubes ou conduits verticaux (la phase la plus dense descendant le long de la paroi du tube tandis que la phase la moins dense monte dans la partie centrale du tube). Avec le matériel horizontal aussi bien qu'avec le matériel vertical, on obtient une plus grande surface de contact en donnant à l'installation une longueur assez grande. Il en est ainsi par exemple avec les installations du type à colonnes. Mais ces deux types d'installations d'extraction liquide-liquide présentent divers inconvénients. C'est ainsi par exemple que dans le cas de mélangeurs décanteurs, au cours de l'opération d'agitation, par laquelle l'un des liquides se disperse dans l'autre, l'agitation intense ou l'écoulement turbulent rendent en général difficile l'opération ultérieure de séparation dans le décanteur des phases liquides, en raison des faibles dimensions et de la grande stabilité des gouttelettes de la phase dispersée. Il en résulte que la séparation s'effectue très lentement et nécessite des récipients de grandes dimensions. Dans le cas de colonnes, la capacité de l'installation se trouve limitée par le fait que les vitesses d'écoulement des deux phases doivent être assez faibles pour empêcher ces phases de se mélangent l'une à l'autre, étant donné que le contact et la séparation des phases se produisent dans le même élément. La conclusion que l'on peut tirer sur le principe des opérations de transfert de masse est qu'il est important que les phases se mélangent intimement afin que l'on puisse obtenir un transfert efficace d'un ou plusieurs constituants, d'une phase à une autre.

A la connaissance du demandeur, le procédé de transfert de masse selon l'invention n'est pas antérieurisé.

Un dispositif à seringue en forme d'ampoule comportant une pièce cylindrique et muni d'un piston creux qui peut se 5 déplacer dans cette pièce cylindrique et qui, en coulissant, vient s'appliquer contre la paroi intérieure de l'ampoule, est décrit dans le brevet des Etats-Unis d'Amérique 2.524.362. Lorsque l'on pousse ce piston dans la pièce cylindrique, le liquide s'écoule par le passage longitudinal creux pratiqué 10 dans le piston et il ressort par une aiguille située à l'extrémité de cette ampoule.

Le brevet des Etats-Unis d'Amérique 3.512.948, qui repose sur le même principe, décrit un dispositif filtrant à tube à essai comportant, au lieu du piston décrit ci-dessus, 15 un plongeur creux muni d'un fond poreux qui joue le rôle de filtre. Des applications précises reposant sur le principe de ce dispositif ont été décrites ultérieurement à propos de la séparation de fractions de sang dans un grand nombre de brevets des Etats-Unis d'Amérique et de demandes de brevets allemands. 20 Comme publications caractéristiques, on peut citer les brevets allemands 2.415.618 et 2.454.918 ou les brevets correspondants déposés aux Etats-Unis d'Amérique (brevet 4.021.352) et en Grande-Bretagne (brevet 1.508.844). Conformément à ces brevets, les quantités de sang coagulé, qui sont séparées 25 par précipitation ou par centrifugation dans la fraction de forte densité des globules rouges et dans le plasma sanguin de faible densité, sont introduites dans un récipient cylindrique. On pousse un piston creux, muni à sa partie inférieure d'un disque, par exemple en verre fritté, en le faisant des- 30 cendre dans ce récipient cylindrique, jusqu'à ce qu'il arrive à l'interface entre les deux fractions sans toutefois atteindre cet interface. Afin de pouvoir recueillir la fraction de sang de plus faible densité (le plasma) qui s'écoule par l'ouverture supérieure du piston, on prévoit un récipient 35 récepteur au-dessus du récipient cylindrique. Il convient de prendre des précautions particulières lorsque l'on fait fonctionner ce dispositif, afin d'éviter que les deux phases ne se mélangent au cours de la descente du piston et, par suite, que l'on n'obtienne qu'une élimination partielle du plasma.

La présente invention vise :

- un procédé permettant d'effectuer le transfert de masse et la séparation physique de deux phases liquides dans le même récipient, éventuellement de façon quantitative;
- 5 - un dispositif simple permettant d'effectuer le transfert de masse et la séparation physique de deux phases liquides, ce dispositif possédant une très grande souplesse d'application aussi bien pour des opérations de laboratoire que pour des opérations industrielles, soit à petite échelle, 10 en mettant en jeu simplement quelques millimètres cubes, soit à grande échelle, en mettant en jeu des centaines ou même des milliers de litres.

De façon plus précise, l'invention a pour objet un dispositif permettant d'effectuer le transfert de masse d'un 15 ou de plusieurs constituants, d'une phase liquide à une autre phase liquide, avec séparation physique de ces deux phases, les deux opérations s'effectuant dans les mêmes éléments, ce dispositif étant caractérisé par le fait qu'il comporte un réservoir-mélangeur (A) dans lequel est maintenu fermement 20 un mélangeur-séparateur (B) percé d'au moins un canal (C) suivant son axe vertical, ce mélangeur-séparateur (B) ayant, à son extrémité supérieure, la forme d'un récipient collecteur (E) dans lequel s'accumule et se transpose matériellement 25 la phase liquide supérieure provenant du réservoir-mélangeur (A) et aspirée par le canal (C) lorsque l'on pousse ce mélangeur-séparateur (B) dans le réservoir-mélangeur (A).

On peut donner au réservoir-mélangeur (A) toute forme géométrique convenable. La forme du mélangeur-séparateur (B) dépend de celle du réservoir-mélangeur (A).

30 Le dispositif selon l'invention présente une grande souplesse d'utilisation dans de nombreux procédés qui comprennent des opérations de transfert de masse. On décrira plus spécialement son application au procédé d'extraction par solvant et au procédé d'essai immunologique, en insistant sur 35 ce dernier; mais il est bien entendu que la description qui va suivre n'est nullement limitative et que le dispositif selon l'invention n'est pas destiné uniquement à des essais immunologiques. La demande de brevet des Etats-Unis d'Amérique SN 124.691 au nom du demandeur décrit l'application d'un

procédé d'extraction liquide-liquide pour des essais précis de liaison. On constate, dans la demande de brevet que l'on vient de citer, que, moyennant l'utilisation d'un solvant convenable et dans des conditions bien déterminées, on peut 5 obtenir un procédé permettant de séparer les ligands combinés et le ligand libre dans des essais immunologiques, sans nuire fâcheusement ni au pouvoir de liaison de la protéine de liaison, ni à l'équilibre protéine de liaison-ligand. Comme signalé dans la demande de brevet que l'on vient de citer, le 10 procédé convient en particulier à des essais de radio-immuno- logie, dans les cas où il ne convient de procéder à une séparation physique, le comptage de l'isotope émettant des rayons gamma s'effectuant dans la phase correspondante, combinée ou libre. Toutefois, dans les essais immunologiques non homogènes, 15 il convient en général de séparer un antigène libre marqué d'avec celui qui est lié à un anticorps donné. Un procédé idéal devrait non seulement assurer une séparation nette de ces constituants, mais également ne pas être influencé par des fluides biologiques ou autres substances non spécifiques du 20 mélange réactionnel. Dans la technique antérieure, on connaît les catégories suivantes de procédés de séparation de fractions combinées et de fractions libres :

- 1) Procédés électrophorétiques et chromato-électrophorétiques;
- 25 2) Filtration de gel;
- 3) Précipitation non spécifique de complexes d'hormones et de protéines;
- 4) Immuno-précipitation de complexes solubles d'hormones et de protéines;
- 30 5) Absorption d'hormones en phase solide; et
- 6) Absorption d'anticorps en phase solide.

Les procédés indiqués ci-dessus présentent tous de très graves inconvénients. C'est ainsi par exemple que la chromato-électrophorèse exige beaucoup de place et demande 35 beaucoup de temps. Si l'on veut obtenir des séparations bien nettes et de très bons résultats, il convient d'effectuer ces séparations dans des chambres froides ou dans de grands réfrigérateurs, mais l'on n'a pas toujours de tels appareils à sa disposition. Les compteurs à bande, nécessaires dans ce procédé,

ont tendance à tomber en panne et la plupart d'entre eux fonctionnent mal avec l'iode-125. Etant donné que la majeure partie des papiers ont une capacité limitée, en général moins de 200 mm³, les activités spécifiques élevées de l'hormone marquée sont nécessaires en vue d'un comptage précis.

Il n'est pas question d'envisager la filtration de gel, étant donné que la préparation de colonnes individuelles exige beaucoup de temps et de place. De plus, le rassemblement des effluents sortant des colonnes nécessite une forte attention de la part de l'opérateur.

Dans la précipitation non spécifique des complexes d'hormones et de protéines, des quantités très importantes d'antigènes libres peuvent être occluses dans le précipité, et des changements de condition même légers risquent de modifier le degré de séparation. La durée de travail de l'opérateur, même dans les formes améliorées de ce procédé, semble être plus grande qu'avec certains des autres procédés envisagés, et les résultats qui ont été publiés ne semblent pas représenter une amélioration suffisante pour justifier ce procédé.

L'immuno-précipitation des complexes antigènes-anticorps présente de nombreux inconvénients :

(a) Il faut beaucoup d'habileté et de soin pour l'aspiration ou la décantation de la solution qui surnage. Le précipité peut éventuellement être emprisonné dans une membrane de fibrine au niveau du ménisque et être rejeté par inadvertance.

(b) Le sérum humain risque de gêner d'un grand nombre de façons la réaction des anticorps secondaires. Certains anticorps secondaires subissent, avec la globuline gamma humaine, une réaction croisée suffisante pour que la précipitation du premier anticorps se trouve atténuée. Il peut se produire des variations importantes du degré d'immuno-précipitation entre le sérum et le plasma héparinisé.

Les procédés reposant sur l'absorption en phase solide de l'antigène libre (par exemple l'utilisation de charbon de bois, de résine, de silice, de florisil) présentent cet inconvénient que le complexe antigène-anticorps liés risque également d'être lié sur l'absorbant solide. Un procédé récent et élégant en ce qui concerne l'absorption en phase solide

d'anticorps consiste à faire absorber des anticorps par des tubes en matière plastique. A cette fin, on prépare un grand nombre de tubes munis d'un revêtement. La préparation et le stockage d'un grand nombre de tels tubes représentent un gros 5 inconvénient, en plus du fait que ces tubes sont sensibles aux variations de la teneur du sérum en protéines.

Le procédé selon l'invention est d'une mise en oeuvre très simple et il donne des résultats très précis. En outre, l'ensemble du dispositif, en raison de son prix de revient 10 peu élevé, peut très bien n'être utilisé qu'une seule fois.

Le procédé de mise en oeuvre de la présente invention est très simple. On considérera à titre d'exemple, une solution aqueuse renfermant un soluté soluble dans un solvant organique non miscible à l'eau. On introduit cette solution 15 aqueuse dans le réservoir-mélangeur (A) jusqu'à ce qu'elle occupe environ un quart du volume de ce réservoir. On ajoute, dans ce même réservoir (A), un solvant organique approprié, non miscible à l'eau. La quantité de solvant organique à ajouter peut varier en fonction de la capacité de ce réservoir 20 mélangeur. La masse spécifique de ce solvant peut être supérieure ou inférieure à celle de la solution aqueuse. On mélange ensuite intimement les deux phases en déplaçant dans un sens et dans l'autre le séparateur-mélangeur dans le réservoir-mélangeur (A). On peut éventuellement assurer un tel mélange 25 également à l'aide d'un mélangeur-vibrateur ou d'un agitateur magnétique ou encore à l'aide de tout autre dispositif mélangeur approprié, l'opération étant de faible durée. Après cette opération de mélange, on laisse le système reposer pendant un temps convenable, et l'on obtient alors les deux phases non 30 miscibles, à savoir la phase supérieure et la phase inférieure. On enfonce le mélangeur-séparateur (B) et la phase supérieure liquide parvient, par l'intermédiaire du canal (C), dans le récipient collecteur (E). On pousse le mélangeur-séparateur (B) jusqu'à ce qu'il atteigne l'interface, ce qui a pour effet de 35 chasser complètement la phase supérieure qui contient le soluté qui était présent dans la phase aqueuse. Cette phase supérieure ainsi séparée peut alors être envoyée dans un dispositif de mesure approprié, en vue de la détermination de la quantité de soluté provenant de la phase inférieure trans-

férée dans la phase supérieure. On peut procéder à la même opération de mesure avec la phase inférieure qui est demeurée dans le réservoir-mélangeur (A). Si le soluté qui était initialement présent dans la phase aqueuse est un radio-isotope émettant des rayons gamma, l'opération s'effectue comme indiqué ci-dessus, toute l'installation étant disposée dans le réservoir d'un compteur de gamma, de telle sorte que seules les radiations provenant de la phase qui est demeurée dans le réservoir-mélangeur (A) sont comptées. Etant donné que le comptage total des radiations est connu à l'avance, la quantité demeurant dans la phase inférieure du réservoir-mélangeur (A) fait connaître le degré de répartition du soluté constitué par un radio-isotope émettant des rayons gamma, entre les deux phases. Un tel procédé d'analyse se révèle particulièrement utile lorsqu'on l'applique au développement des essais immunologiques destinés à la détection de très faibles concentrations de substances chimiques dans des fluides biologiques. D'après la nomenclature bien connue de ces substances chimiques, on peut considérer les groupes suivants en vue de leur analyse :

Alcaloïdes, tels que : morphine, codéine, dihydrocodéine, héroïne, oxymorphone, métordon, pholcodine, etc.

Bartiburates, par ex.: véronal, luminal, séconal, phénobarbital, barbital, etc.

Stéroïdes, estrogènes, tels que : β -estradiol, estrone, estriol, 17 α -éthyinyl estradiol etc., androgènes, progestogènes, hormones adrénocorticales, etc.

Cannabinoïdes et leurs métabolites.

Vitamines, tels que : carotène, riboflavine, thiamine, niacine, acide ascorbique, tocophérol, phytol - 1,4 - naphtoquinone, etc.

Acides aminés et polypeptides.

Sucres y compris les saccharides et les poly-saccharides.

Tranquillisants, tels que : méprobamate, valium, oxazépame, phénotiazines, etc.

En plus des haptènes indiqués ci-dessus, on peut appliquer, dans le procédé selon l'invention, un certain nombre d'autres composés, comme par exemple : la cocaïne, la prostaglandine, les antibiotiques comme la pénicilline, 5 la chloromycétine, l'actinomycétine et les acides nucléiques et les nucléotides; les insecticides, les fongicides, les bactériocides et les nématocides comme le malathion et les carbamates. D'une façon générale, les antigènes, les haptènes et leurs anticorps, les hormones, les vitamines, les drogues, 10 les métabolites et leurs récepteurs ainsi que les matériaux de liaison peuvent être déterminés à l'aide du procédé selon l'invention.

Parmi les constituants à déterminer, on peut citer les suivants :

15	T_4 compensé	Montée de T_3
	Cortisol	Insuline
	Digoxine	Tri-iodothyronine
	Folate	Thyroxine (T_4 total)
	h G H	T S H.

20 Le procédé selon l'invention convient également particulièrement bien dans le cas où l'agent marqueur est un corps fluorescent, les mesures étant alors effectuées à l'aide d'un spectromètre approprié. Lorsque l'agent marqueur de l'essai est un radio-isotope émettant des rayons gamma, comme 25 par exemple l'iode-125 et que la phase supérieure est un solvant organique, la phase aqueuse présente dans le réservoir-mélangeur (A) après séparation par le séparateur-mélangeur (B), renferme le complexe anticorps-antigène, et l'on peut introduire tout l'ensemble du dispositif dans le réservoir du 30 compteur gamma de manière que seule la phase inférieure soit soumise à comptage dans l'instrument. La même remarque s'applique si la phase inférieure est un solvant organique, auquel cas, en introduisant tout l'ensemble du dispositif dans le réservoir du compteur gamma, on obtient le comptage du 35 ligant libre transféré sur le solvant organique.

Ce procédé convient à toutes opérations d'essais immunologiques, comme par exemple les essais de radio-immuno- logie, les essais de radicaux libres, les essais immunologiques par fluorescence, les essais immunologiques d'enzymes

ou les essais immunologiques de métaux (comme décrits dans le brevet des Etats-Unis d'Amérique 4.205.952.) Il est très avantageux en particulier d'utiliser le dispositif selon l'invention avec les divers appareils disponibles sur le 5 marché pour ces opérations.

Une autre application possible du dispositif selon l'invention réside dans la séparation de l'antigène libre d'avec le complexe d'antigène et d'anticorps liés dans le cas de protéines, de globules ou d'autres composés de poids 10 moléculaire élevé, si l'on utilise deux polymères solubles dans l'eau mais incompatibles entre eux, pour favoriser le non mélange. Cela donne deux phases aqueuses entre lesquelles peuvent se répartir diverses espèces. Un tel phénomène a été décrit dans des publications techniques (P.A. Albertson et 15 divers, dans la revue *Nature*, 184, 1465 1959; G. Johnson et divers, *Hur. J. Biochem.* 33, 379, 1973). Les couples de polymères non compatibles sont nombreux (voir par exemple A Dobry et divers, : *Journal Polym. Sci.* 2,90, 1947). Le dispositif et le procédé selon l'invention peuvent être utilisés pour séparer les deux phases aqueuses non mélangées, 20 de la manière décrite ci-dessus. Ce procédé et ce dispositif conviennent très bien également en spectrométrie d'absorption atomique, pour l'analyse de trace de métaux. On a souvent besoin de faire appel à une opération d'extraction, dans 25 laquelle le solvant organique contient un agent de chélation destiné à extraire les ions métal du milieu aqueux. L'utilisation du dispositif selon l'invention fournit un moyen très simple et très efficace d'extraction et, après séparation de la phase organique dans le récipient collecteur (E) de ce 30 dispositif, on peut utiliser cette phase organique directement en vue des mesures d'absorption atomique. Le dispositif selon l'invention pourrait facilement faire partie d'installations automatiques d'injection d'échantillons dans des spectromètres d'absorption atomique.

35 Le dispositif et le procédé selon l'invention sont simples du point de vue technique, rapides et peu coûteux et on doit considérer ce procédé comme parfait pour l'extraction liquide-liquide d'une façon générale et, plus spécialement, pour les essais immunologiques. En vue de mettre en évidence

le besoin ressenti depuis longtemps par les spécialistes, d'un tel dispositif et d'un tel procédé décrits ci-dessus, on peut avantageusement citer un manuel bien connu intitulé "Principles of competitive protein-binding assays" de 5 W.D. Odell et W.H. Daughaday; J.P. Lippincott Cie, Philadelphia et Toronto Editeurs, 1971, Chapitre XI, page 303, ouvrage dans lequel on peut lire :

"le fait que l'on ait proposé un si grand nombre de procédés de séparation est la preuve d'une certaine insuffisance des procédés connus".

Or, il semble que le procédé selon l'invention se rapproche le plus possible des conditions du procédé idéal, en tout cas beaucoup mieux que n'importe quel des procédés connus.

15 D'autres caractéristiques et avantages de l'invention ressortiront de la description qui va suivre, faite en regard des dessins annexés et donnant, à titre explicatif mais nullement limitatif, diverses formes de réalisation du dispositif selon l'invention.

20 Sur ces dessins, la figure 1 représente, de façon schématique, une forme de réalisation du dispositif selon l'invention;

La figure 2 représente une variante du dispositif de la figure 1;

25 La figure 3 représente une autre forme de réalisation du dispositif selon l'invention;

La figure 4 représente encore une autre forme de réalisation du dispositif selon l'invention;

30 La figure 5 représente une nouvelle forme de réalisation du dispositif selon l'invention; et

La figure 6 est constituée par des courbes dont la signification sera précisée plus loin.

Le dispositif selon l'invention, selon la forme de réalisation représentée sur la figure 1, comprend quatre éléments principaux, à savoir : un réservoir-mélangeur (A), un mélangeur-séparateur (B), un récipient-collecteur (E) et un bouchon (S). Ce bouchon (S) peut occuper une position de fermeture ou une position d'ouverture. De façon plus précise la figure 1a représente le dispositif avec deux phases liqui-

des, à savoir la phase supérieure (U) et la phase inférieure (L) telles qu'elles se présentent avant l'opération de transfert de masse; la figure 1b montre le mélangeur-séparateur (B) enfoncé complètement dans le réservoir-mélangeur (A), les deux phases étant alors mélangées intimement l'une à l'autre. Au cours des mouvements de va-et-vient de ce mélangeur-séparateur (B), le bouchon (S) est en position de fermeture, ce qui permet la formation de vide dans le mélangeur-réservoir (A) et une augmentation de pression dans le récipient-collecteur (E). La combinaison de ces deux effets assure un mélange très efficace et, par suite, un transfert de masse très poussé. A la fin de l'opération de mélange, on laisse le mélangeur-séparateur (B) en position haute (figure 1a), le bouchon (S) étant en position d'ouverture pour détendre la pression de l'air, et on laisse les liquides du mélange se séparer spontanément en une phase supérieure et une phase inférieure. La figure 1c montre ce dispositif tel qu'il se présente lorsque l'on a poussé le mélangeur-séparateur (B) dans le réservoir-mélangeur (A), après séparation des deux phases liquides en une phase supérieure (U) et une phase inférieure (L). On peut enfoncer le mélangeur-séparateur (B) jusqu'à la hauteur convenable de façon qu'il ne demeure que peu ou pas du tout de phase supérieure dans le canal (C). Le bouchon (S) étant en position d'ouverture, on peut déverser la phase liquide supérieure (U), à volonté dans n'importe quel autre récipient. Aucune fraction des phases qui demeurent dans le canal (C) ne se déverse au cours de cette extraction de la phase supérieure (U), en raison du vide formé dans le réservoir-mélangeur (A).

Sur la figure 2 qui représente, comme signalé plus haut, une variante du dispositif de la figure 1, le canal (C) n'occupe pas toute la longueur du mélangeur-séparateur (B). De façon plus précise, les figures 2a, 2b et 2c montrent le fonctionnement du dispositif tel que décrit à propos de la figure 1. Le dispositif représenté sur ces figures montre également un bouchon (S) d'un type différent.

Dans la forme de réalisation du dispositif selon l'invention représenté sur la figure 3, seule la partie inférieure (Bb) du mélangeur-séparateur (B) est retenue

fortement dans le réservoir-mélangeur (A). De plus, on voit que ce réservoir-mélangeur (A) comporte une échelle graduée (G) en vue des mesures volumiques. Il est bien entendu qu'une telle graduation pourrait être prévue dans les autres 5 formes de réalisation représentées sur les autres figures.

La partie (Bb) fortement enfoncée qui fait partie du mélangeur-séparateur (B), pourrait être montée de manière telle que l'on puisse la remplacer, soit par vissage, soit par tout autre procédé. L'état dans lequel se trouve le dispositif 10 selon l'invention sur la figure 3a correspond aux figures 1a et 2a, et l'état de ce dispositif correspondant à la figure 3c correspond aux figures 1c et 2c.

La forme de réalisation représentée sur la figure 4 comporte une construction complémentaire dont le rôle est 15 de rendre encore plus facile le glissement du séparateur-mélangeur (B) dans le réservoir-mélangeur (A). Cette nouvelle forme de réalisation du dispositif selon l'invention convient dans les cas où ce dispositif est en un matériau dont le coefficient de frottement est assez élevé. Dans cette forme 20 de réalisation, le réservoir-mélangeur (Ac) représenté sur la figure 4b présente au moins deux rainures longitudinales de guidage, pratiquées dans les parois de ce réservoir-mélangeur. La figure 4c est une coupe transversale de ce réservoir-mélangeur (Ac) avec quatre de telles rainures longitudinales. 25 Le mélangeur-séparateur (Bc) tel que représenté sur la figure 4a doit comporter un certain nombre de saillies, représentées en coupe sur la figure 4d. Le nombre de ces saillies du mélangeur-séparateur 4a doit correspondre au nombre des rainures longitudinales du réservoir-mélangeur (Ac). 30 Lorsque l'on enfonce ce mélangeur-séparateur (Bc) dans le réservoir-mélangeur (Ac), on obtient le même ajustage qu'avec le dispositif de la figure 1.

Le dispositif selon l'invention, dans la forme de réalisation représentée sur la figure 5, comprend, lui aussi, 35 quatre éléments principaux, à savoir : un réservoir-mélangeur (A), un séparateur-mélangeur (B), un récipient-collecteur (E) et un bouchon (S). Il est prévu deux variantes du mélangeur-séparateur (B). Suivant l'une de ces variantes, le récipient-collecteur (E) fait partie du mélangeur-séparateur (B), tandis

que, selon l'autre variante, le récipient-collecteur (E) peut être séparé d'avec le mélangeur-séparateur (B). Le mélangeur-séparateur (B ou B') est muni, à sa base, d'un élément d'étanchéité qui peut glisser le long des parois 5 intérieures du réservoir-mélangeur (A). Cet élément d'étanchéité comporte au moins un trou traversant toute son épaisseur, ce trou étant raccordé au canal (C). On peut faire varier la position et le mode de fabrication de cet élément d'étanchéité sans sortir du cadre de l'invention. Selon une 10 forme de réalisation, cet élément d'étanchéité est un joint torique T en caoutchouc traversé, de part en part, par un trou et destiné à glisser le long des parois intérieures du réservoir-mélangeur (A). Si l'on enfonce le mélangeur-séparateur (B), le liquide de la couche supérieure est aspiré dans 15 ce trou et dans le canal (C) et il s'accumule dans le récipient collecteur (E). Selon une autre forme de réalisation, le joint torique en caoutchouc est monté un peu au-dessus de la base du séparateur-mélangeur (B), de telle façon que le caoutchouc ne soit pas au contact de la phase liquide inférieure provenant du réservoir-mélangeur (A). Dans ce cas, on 20 peut utiliser n'importe quel sorte de caoutchouc. Le bouchon (S), qui a pour rôle de fermer le récipient-collecteur (E ou E'), est muni d'un couvercle intérieur perforé, les trous de ce couvercle permettant aux gouttes de liquide entraînées de 25 revenir dans le récipient-collecteur (E). Ces trous (Y) peuvent, bien entendu, avoir n'importe quelle forme et n'importe quelle dimension sans que cela gêne le fonctionnement du dispositif. Le fonctionnement de cette forme de réalisation du dispositif est analogue à celui du dispositif de la 30 figure 1.

Comme on l'a déjà signalé au début de cette description, le dispositif selon l'invention peut constituer un équipement très commode, d'une façon générale dans le domaine de l'extraction liquide-liquide, soit à grande échelle, soit 35 à petite échelle. A petite échelle, on peut utiliser ce dispositif pour les recherches fondamentales de filtration de solvants ou pour la détermination des conditions limites des coefficients de séparation d'un solvant donné. A grande échelle, ce dispositif ne le cède en rien, ni au mélangeurs-

décanteurs classiques, ni aux colonnes de type connu, en raison de l'efficacité du transfert en masse obtenu.

Parmi les principaux avantages du dispositif selon l'invention, il convient de mentionner l'absence totale de communication hydraulique et la séparation de l'opération de mélange d'avec l'aspiration, chacune de ces deux opérations pouvant s'effectuer indépendamment de l'autre conformément à ses propres conditions, de telle sorte qu'il n'y ait aucun risque de mélange par reflux. En d'autres termes, le dispositif selon l'invention assure le transfert en masse très efficace que l'on obtient d'une façon générale à l'aide d'un mélangeur, mais, en même temps, ce dispositif est exempt des inconvénients présentés par un dispositif mélangeur. On peut faire varier à volonté la forme des éléments de ce dispositif selon l'invention, pour qu'il convienne à chaque cas précis.

On peut faire varier à volonté les volumes du réservoir-mélangeur (A) et du récipient-collecteur (E) en fonction des volumes des deux phases liquides en jeu dans le procédé de séparation considéré. L'élément (E) peut être un récipient-collecteur ayant une forme et des dimensions quelconque, à condition toutefois qu'à une certaine hauteur au-dessus de l'extrémité supérieure du mélangeur-séparateur (B), il ait une largeur supérieure au diamètre extérieur du réservoir-mélangeur (A), de manière que l'on puisse recueillir un volume donné de liquide.

Selon une forme de réalisation, on intercale une bague entre l'extrémité supérieure du réservoir-mélangeur (A) et l'élément collecteur (E), cette bague pouvant glisser le long du mélangeur-séparateur (B) et, de la sorte, déterminer le niveau d'enfoncement dans ce mélangeur-séparateur, et, par conséquent l'interface entre les deux phases liquides, ce qui permet de chasser complètement la phase supérieure du réservoir-mélangeur (A). Selon le même principe, on pourrait intercaler deux ou plusieurs bagues en diverses positions de l'interface. Une bague de ce genre, désignée par la référence D, est représentée sur les figures 1, 2 et 4.

Un autre avantage que présente l'invention, tient au fait que le dispositif selon l'invention peut être installé sur une série d'appareils susceptibles d'être facilement

automatisés sans nécessiter d'installations auxiliaires complexes.

Le dispositif selon l'invention peut être en tout matériau neutre, par exemple en verre, en polyéthylène ou en 5 toute autre matière plastique convenable et même en métal, pour certaines applications spéciales.

On donnera ci-après plusieurs exemples de mise en oeuvre du procédé de séparation de deux phases liquides appliquée à des essais d'immunologie, pour lesquels une séparation 10 très nette est indispensable; mais bien entendu le procédé selon l'invention ne se limite pas à ce domaine.

Pour simplifier, dans les exemples qui vont suivre on désignera le dispositif de séparation et d'extraction de liquides selon l'invention par l'expression "séparateurs" 15 et l'on appellera "tubes A" du séparateur, le réservoir-mélangeur (A), et "mélangeur B" du séparateur tout l'ensemble (B) de la description et des figures.

Exemple 1. ETUDES DU RENDEMENT DE L'EXTRACTION AVEC LE SEPARATEUR ET UTILISATION DE TRACTEURS RASIO-20 ISOTOPHIQUES.

Pour savoir si un solvant ou un mélange de solvants conviennent bien pour l'extraction d'un composé d'une solution aqueuse, le processus suivant fournit des résultats très rapides et très précis. On utilise douze "tubes A" du 25 séparateur, numérotés de 1 à 12. Dans chaque tube A, on introduit 500 mm³ d'une solution tampon de phosphate EDTA, puis 200 mm³ d'une solution renfermant un dérivé de digoxine marquée avec le radio-isotope iodé-125 (on prépare cette 30 solution en reconstituant un dérivé de digoxine-I-125, disponible dans le commerce (Ames) à l'aide de 12 ml de tampon au phosphate EDTA, d'un pH égal à 7,4, renfermant 1,2 g de phosphate disodique et 0,6 d'EDTA disodique dans 100 ml d'eau désionisée). On mesure la radioactivité dans les tubes A 1 à 12 à l'aide d'un compteur gamma; on effectue deux fois 35 chaque opération de comptage, chaque fois pendant 30 secondes.

Puis dans chaque tube A, on ajoute 1,4 ml de solvants de la manière suivante :

(a) tubes 1 et 2 : alcool tert-amyl; (b) tubes 3 et 4 : un mélange d'alcool tert-amyl et de cétone méthyl-isobutyle

(MIBK) dans le rapport volumique de 9/1; (c) tubes 5 et 6 : alcool tert-amyl/MIBK, dans le rapport volumique 3/1; (d) tubes 7 et 8 : alcool tert-amyl/MIBK, dans le rapport 1/1; (e) tubes 9 et 10 : MIBK et (f) tubes 11 et 12 : éther tert-butyl (tous les solvants et mélanges de solvants indiqués ci-dessus ont été au préalable équilibrés au moyen du même tampon au phosphate EDTA).

Après avoir ajouté les solvants, on introduit le mélangeur-séparateur (B) du séparateur comme un bouchon à la partie supérieure de chacun des tubes A 1 à 12, puis on soumet chacun de ces séparateurs assemblés à une agitation tourbillonnaire pendant 30 secondes. (A condition d'utiliser un plateau convenable, on peut provoquer cette agitation tourbillonnaire en même temps pour tous les séparateurs). Après ce mélange tourbillonnaire, on laisse reposer les séparateurs pendant 10 mn, et il se forme alors une phase liquide supérieure et une phase liquide inférieure. Puis on introduit doucement le mélangeur-séparateur (B) de chacun des séparateurs 1 à 12 dans le tube A, le plus loin possible. Les séparateurs utilisés pour ces expériences ont été conçus de manière que, lorsqu'on a poussé le séparateur (B) au maximum, il demeure 0,5 ml de la phase liquide inférieure dans le tube A, 0,2 ml dans le canal C et la totalité de la phase supérieure (à savoir 1,4 ml) dans le récipient-collecteur (E). On introduit alors chacun des séparateurs 1 à 12 dans le réservoir du compteur gamma et on mesure la radioactivité de la phase inférieure (qui demeure dans le tube A) de la même manière que précédemment, à savoir deux fois pour chaque tube, pendant 30 secondes à chaque fois.

Les résultats, reportés au tableau 1 suivant, indiquent que la précision des mesures est extrêmement satisfaisante. Les expériences effectuées pour déterminer la précision de ces mesures indiquent qu'en raison des différences de construction des compteurs gamma, il peut y avoir une variation atteignant 1% dans la précision de la détermination du rendement de l'extraction.

TABLEAU 1

Rendement de l'extraction déterminé à l'aide de séparateurs de l'invention proposée.

5	Solvants d'	N° du	Totaux	Comptages	% de radioacti-	Rendement moy.
	extraction	tube	des comp-	en phase	vité restante	de l'ex-
			tags	aqueuse après	ds la phase	traction
				separation	aqueuse	(en %)
10	tert-amyl alcool/	1	26264	1299	4.9	95.1
		1	26131	1360	5.2	94.8
		2	26770	1403	5.3	94.7
		2	26442	1340	5.1	94.9
15	tert-amyl alcool/	3	26165	1670	6.3	93.7
		3	26219	1626	6.2	93.8
	MIBK	4	26178	1343	5.1	94.9
	(9/1)	4	26350	1380	5.2	94.8
20	tert-amyl alcool/	5	26397	1426	5.4	94.6
		5	26631	1461	5.5	94.5
	MIBK	6	26474	1402	5.3	94.7
	(3/1)	6	26073	1388	5.3	94.7
25	tert-amyl alcool/	7	26104	1848	7.0	93.0
		7	26291	1891	7.2	92.8
	MIBK	8	26215	1458	5.5	94.5
	(1/1)	8	26797	1528	5.8	94.2
30	MIBK	9	26123	3332	12.7	87.3
		9	26290	3308	12.6	87.4
		10	26491	3347	12.7	87.3
		10	26399	3312	12.6	87.4
35	tert-butyl méthyle éther	11	26191	2332	8.9	91.1
		11	26592	2201	8.4	91.6
		12	26032	2435	9.2	90.8
		12	26311	2360	10.0	90.0

Exemple 2. ETUDES DU RENDEMENT DE L'EXTRACTION A L'AIDE DU
SEPARATEUR, ET UTILISATION DE TRACTEURS
FLUORESCENTS.

Une expérience analogue à celle décrite à l'exemple 1 montre la possibilité d'utiliser pour les mesures la phase supérieure, séparée dans le récipient-collecteur (E) du séparateur. Les données indiquées décrivent l'utilisation de traceurs fluorescents pour déterminer le rendement d'extraction de solvants, mais il est bien entendu que ces données peuvent très bien s'appliquer à d'autres déterminations, comme par exemple à des essais immunologiques non-isotopiques utilisant des marqueurs fluorescents ou d'autres agents marqueurs non-isotopiques ainsi que des marqueurs radio-isotopiques, s'il s'agit de régler la fraction libre.

On prépare deux solutions de type standard de Rhodamine B 5×10^{-4} M, l'une dans de l'eau distillée deux fois et l'autre dans de l'alcool tert-amyl. On utilise ces solutions pour la dilution, de manière à obtenir des solutions possédant les concentrations désirées, 5×10^{-5} M, $4,5 \times 10^{-5}$ M, $4,0 \times 10^{-5}$ M, $2,5 \times 10^{-5}$ M, $2,25 \times 10^{-5}$ M, $2,0 \times 10^{-5}$ M, $1,0 \times 10^{-5}$ M et $0,5 \times 10^{-5}$ M. On obtient des courbes d'étalonnage avec ces solutions en utilisant un modèle Perkin-Helmer MPF-44B. Un spectrophotomètre à fluorescence ayant une longueur d'onde d'excitation de 430 nm et une longueur d'onde d'émission de 615 nm.

On utilise 14 "tubes A" du séparateur, numérotés de 1 à 16. Dans les tubes 1 et 2, utilisés comme commandes, on introduit 0,7 ml d'eau. Puis, dans les tubes 3 à 16, on introduit 0,7 ml des solutions indiquées ci-dessus de Rhodamine B dans de l'eau, chacune des sept concentrations indiquées ci-dessus étant utilisées deux fois. On ajoute ensuite 1,4 ml d'alcool tert-amyl (préalablement saturé d'eau) à chacun des tubes A 1 à 16.

On introduit un mélangeur B du séparateur comme un bouchon à la partie supérieure de chacun des tubes A, puis on soumet la totalité des seize ensembles de séparateurs à une agitation tourbillonnaire pendant 20 secondes.

Après un repos de 10 minutes, on introduit le mélangeur B de chacun des ensembles 1 à 16 doucement dans les tubes A, com-

me expliqué à l'exemple 1. On déverse dans une cellule de spectrophotomètre la phase supérieure qui a pénétré dans le récipient-collecteur (E) de chacun des séparateurs et on mesure le signal fluorescent. On détermine la concentration de la Rhodamine B dans chacun des tubes, d'après une courbe d'étalonnage, en interpolant le signal de fluorescence obtenu comme indiqué ci-dessus et en prenant en considération le coefficient de dilution (2/1) utilisé dans l'expérience ci-dessus. Les résultats indiquent que l'extraction de la Rhodamine B dans le solvant à l'alcool tert-amyl s'est effectuée avec un rendement de 90 à 93%.

On pourrait éventuellement, dans l'expérience ci-dessus, construire un séparateur de manière telle que le récipient-collecteur (E) du mélangeur (B) soit une pièce distincte, par exemple en quartz ou en pirex ou en tout autre matériau convenant à des mesures de fluorescence, ce récipient-collecteur (E) étant fixé au séparateur-mélangeur (B) avant l'opération de séparation des phases. Après cette séparation des phases, la phase supérieure étant dans le récipient collecteur (E), on peut installer tout l'ensemble dans une cellule modifiée du spectrophotomètre à fluorescence. Cela dispenserait de déverser la phase supérieure dans la cellule et tout l'ensemble des opérations pourrait facilement être automatisé. Comme précisé au premier paragraphe du précédent exemple, on pourrait faire appel au même processus si, par exemple, on utilisait comme traceur un matériau marqué au tritium. A la suite de la séparation des phases, la phase supérieure contenue dans le récipient collecteur, d'où a été extrait le traceur marqué au tritium, peut être déversée dans le liquide à scintillation et introduite dans un compteur à scintillation en vue de mesures de radioactivité.

Exemple 3. ESSAIS RADIO-IMMUNOLOGIQUES A LA DIGOXINE EFFECTUES A L'AIDE DU SEPARATEUR DE L'INVENTION.

En vue de démontrer les possibilités, la sûreté de fonctionnement, la simplicité et la facilité de marche et autres avantages du séparateur dans les essais d'immunologie, on procède à deux expériences parallèles :

(a) on utilise un appareil disponible sur le marché pour les essais de radio-immunologie à la digoxine RIALYZE, marque

déposée (Ames) en employant des tubes de chromatographie comme dispositif de séparation pour séparer les fractions libres des fractions liées;

5 (b) on utilise les mêmes réactifs mais le principe de l'essai repose sur l'utilisation du séparateur de l'invention.

On reconstitue tous les éléments de l'appareil conformément au mode d'emploi de cet appareil. Les tubes à essai sont marqués en double pour les comptages totaux, normes A, B, C, D, et E. De plus, on marque I, II et III 10 des tubes à essai en double pour chaque sérum de contrôle DADE (TRI-YAC, marque déposée, contrôles d'essai de radio-immunologie à trois niveaux, niveau I, niveau II, et niveau III).

Dans le cas de l'installation à séparateur 15 parallèle, on marque les tubes A du séparateur en double pour les comptages totaux, norme zéro et normes A, B, C, D et E. De plus, on marque en triple (I, II et III) les tubes A du séparateur pour chaque sérum de contrôle DADE.

On introduit dans les tubes de l'essai 100 mm³ du 20 réactif reconstitué à la digoxine I-125. On ajoute 50 mm³ de tampon aux tubes de comptage totaux et de norme zéro. Aux tubes standards convenablement marqués, on ajoute 50 mm³ de chaque norme et l'on ajoute 50 mm³ de chaque sérum de contrôle aux tubes marqués I, II et III.

25 On introduit 100 mm³ d'antisérum reconstitué dans tous les tubes, à l'exception du tube de comptage total, dans lequel on introduit 100 mm³ du tampon. On chauffe tous les tubes pendant 20 minutes à la température ambiante. Après ce chauffage, on soumet chacun des jeux aux opérations différentes suivantes :

(a) Dans chaque tube d'essai de l'appareil RIALYZE, on introduit un tube de chromatographie et on laisse reposer pendant 10 minutes, puis on ajoute 0,8 ml de tampon à chaque tube et on laisse reposer encore pendant 10 minutes. On soumet 35 alors les tubes à un comptage de radioactivité dans un compteur gamma.

(b) Dans chacun des tubes A de l'appareil, on introduit 350 mm³ de tampon (pour le réglage en volume), puis on ajoute 1,4 ml du mélange de solvant d'extraction, à savoir le mé-

lange alcool tert-amyl /MIBK, dans la proportion 3/1, préalablement saturé par le tampon. On introduit un mélangeur B du séparateur comme bouchon à la partie supérieure de chacun des tubes A et on soumet tous les ensembles séparateurs à une agitation tourbillonnaire pendant 30 secondes.

On laisse reposer ces ensembles pendant 10 minutes (en vue de la séparation des phases liquides, puis on introduit doucement le mélangeur B de chaque ensemble dans le tube A, le plus loin possible. On installe les ensembles dans le réservoir du compteur gamma afin de mesurer la radioactivité de la phase aqueuse qui demeure au fond du tube A. On calcule les résultats du comptage de radioactivité sous la forme lié/total en ce qui concerne l'appareil RIALYZE, 15 (comme indiqué dans le mode d'emploi de cet appareil) et sous la forme lié/lié zéro, pour le système de l'invention.

On reporte les résultats des deux expériences sur le papier quadrillé de l'appareil en fonction du logarithme de la concentration en digoxine (figure 6), sur laquelle la courbe à points noirs correspond à l'appareil séparateur et la courbe à points blancs correspond à l'appareil Ames. Des courbes de ce graphique, on tire les teneurs en digoxine (ng/ml) des sérums de contrôle. Les tableaux 2 et 3 résument les valeurs moyennes de tous les résultats et des compositions des valeurs des sérums de contrôle trouvées à l'aide de ces appareils et d'autres appareils du commerce. Comme on peut le constater d'après les courbes de la figure 6 et d'après les valeurs de la concentration en digoxine déterminées pour les sérums de contrôle, le séparateur donne de très bons résultats pour les essais à la digoxine.

TABLEAU 2. COMPARAISON D'ESSAIS DE RADIO-IMMUNOLOGIE A L'IODE-125, POUR L'APPAREIL RIALYZE (AMES) ET POUR LE DISPOSITIF SEPARATEUR

35	Normes	Conc. de digoxine (ng/ml)	Appareil RIALYZE	SEPARATEUR
			Valeur moyenne libre (en %)(F/T)	Valeur moyenne en % B/Bo
	A	0,6	33,6	77,0
	B	1,0	48,1	67,0
	C	2,0	65,8	46,3

24

D	2,8	75,7	39,3
E	4,6	83,8	27,9
Contrôle	Niveau I	40,5	67,8
Sérum	Niveau II	61,5	47,6
	Niveau III	72,7	37,6

TABLEAU 3. VALEURS DE CONTROLE DE REFERENCE (ng/ml) CALCULEES
 D'APRES LES RESULTATS FOURNIS PAR LE TABLEAU 2 ET
 10 PAR LA FIGURE 6 ET COMPARAISON AVEC LES VALEURS
DADE PUBLIEES.

Contrôle DADE	Appareil RIALYZE (AMES)	Séparateur DATA- Tope	Gamme de valeurs pour CORNING (I-125)	KALESTA D (3H). Quantitope Immunoph.
Niv. I	0,78	0,92	0,71-1,06	0,64-1,04 0,77-1,37
Niv. II	1,65	2,05	1,55-2,17	1,40-2,10 1,48-2,4
Niv. III	2,6	3,0	2,64-3,49	2,3-3,5 2,33-3,52

REVENDICATIONS

1. Dispositif permettant d'effectuer le transfert de masse d'un ou de plusieurs constituants, d'une phase liquide à une autre phase liquide, avec séparation physique de ces 5 deux phases, les deux opérations s'effectuant dans les mêmes éléments, ce dispositif étant caractérisé par le fait qu'il comporte un réservoir-mélangeur (A) dans lequel est maintenu fermement un mélangeur-séparateur (B) percé d'au moins un canal (C) suivant son axe vertical, ce mélangeur-séparateur 10 (B) ayant, à son extrémité supérieure, la forme d'un récipient collecteur (E) dans lequel s'accumule et se transpose matériellement la phase liquide supérieure provenant du réservoir-mélangeur (A) et aspirée par le canal (C) lorsque 15 l'on pousse ce mélangeur-séparateur (B) dans le réservoir-mélangeur (A).

2. Dispositif selon la revendication 1 caractérisé par le fait que le mélangeur-séparateur (B) comporte, à sa base, un élément d'étanchéité présentant au moins un trou qui le traverse dans toute son épaisseur, ledit trou étant 20 raccordé au canal (C).

3. Dispositif selon la revendication 2 caractérisé par le fait que cet élément d'étanchéité peut glisser le long des parois intérieures du réservoir-mélangeur (A), en demeurant bien au contact desdites parois intérieures de ce 25 réservoir-mélangeur.

4. Dispositif selon la revendication 2 caractérisé par le fait que ledit élément d'étanchéité consiste en un joint torique en caoutchouc percé d'un alésage raccordé au canal (C), ledit joint torique pouvant coulisser le long des 30 parois intérieures du réservoir-mélangeur (A).

5. Dispositif selon la revendication 1 caractérisé par le fait que seule la partie inférieure du séparateur-mélangeur (B) est introduite fortement dans le réservoir-mélangeur (A).

35 6. Dispositif selon la revendication 1 caractérisé par le fait que le canal (C) ne traverse que la partie inférieure de l'axe vertical du séparateur-mélangeur (B).

7. Dispositif selon la revendication 1 caractérisé par le fait que ledit réservoir-mélangeur (A) comporte au

moins deux rainures longitudinales percées dans ses parois, le nombre de ces rainures étant égal à celui des saillies ou protubérances du mélangeur-séparateur (B), ce qui permet à ce mélangeur-séparateur (B) de glisser plus facilement dans 5 le réservoir-mélangeur (A).

8. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé par le fait que le réservoir-mélangeur (A) est de forme cylindrique.

9. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 10 1 à 7, caractérisé par le fait que le mélangeur-réservoir (A) comporte une échelle graduée destinée à des mesures de volume.

10. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé par le fait qu'une bague D est 15 intercalée entre l'extrémité supérieure du mélangeur-réservoir (A) et le récipient-collecteur (E), cette bague pouvant glisser le long du mélangeur-séparateur (B) en déterminant la longueur sur laquelle le mélangeur-séparateur a pénétré dans le réservoir-mélangeur (A).

20 11. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 7 caractérisé par le fait que la largeur de ce récipient-collecteur (E) est supérieure au diamètre extérieur du réservoir-mélangeur (A) à une certaine hauteur au-dessus de l'extrémité supérieure du mélangeur-séparateur (B).

25 12. Dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 7, caractérisé par le fait qu'il est en un matériau inerte ou neutre.

13. Dispositif selon la revendication 7 caractérisé par le fait que ce matériau inerte est du verre, du poly- 30 éthylène ou toute autre matière plastique convenable ou encore un métal.

14. Procédé permettant d'effectuer le transfert en masse d'un ou plusieurs constituants, d'une phase à une autre phase, avec ultérieurement séparation physique de ces deux 35 phases, ce transfert de masse et cette séparation physique s'effectuant dans le même dispositif, ce procédé étant caractérisé par le fait qu'il consiste à introduire dans le réservoir-mélangeur (A) les deux liquides devant venir en contact, à mélanger les constituants, à laisser se former l'interface

entre ces deux liquides, et à enfoncer le mélangeur-séparateur (B) jusqu'au niveau désiré, la phase supérieure liquide étant introduite dans le récipient-collecteur (E) par aspiration dans le canal (C).

5 15. Procédé selon la revendication 14, appliqué à des essais d'immunologie.

16. Procédé selon la revendication 15, caractérisé par le fait que l'essai d'immunologie est un essai de radioimmunologie, un essai de radicaux libres, un essai d'immuno-10 logie par fluorescence, un essai d'immunologie à enzymes ou un essai d'immunologie par métaux.

17. Procédé selon l'une quelconque des revendications 14 à 16, mis en oeuvre à l'aide d'un appareil à essai d'immunologie.

15 18. Procédé selon l'une quelconque des revendications 14 à 16, mis en oeuvre de façon automatique.

19. Procédé selon l'une quelconque des revendications 14 à 18, appliqué à la digoxine.

20 20. Procédé selon l'une quelconque des revendications 14 à 18, appliqué à l'estradiol, à la progestérone, ou à la testostérone.

21. Procédé selon l'une quelconque des revendications 14 à 16, appliqué à T_4 .

22. Procédé selon l'une quelconque des revendications 25 14 à 18 appliqué à T_3 .

23. Procédé selon l'une quelconque des revendications 14 à 18 appliqué à des barbiturates.

24. Procédé selon l'une quelconque des revendications 14 à 18 appliqué à des cannabinoïdes.

30 25. Procédé selon l'une quelconque des revendications 14 à 16 appliqué à la morphine.

26. Appareil destiné à des essais de radio-immunologie, à des essais de radicaux libres, à des essais d'immunologie par fluorescence, à des essais d'immunologie d'enzymes ou à 35 des essais d'immunologie par métaux, comportant le dispositif selon l'une quelconque des revendications 1 à 13 destiné à effectuer des transferts de masse.

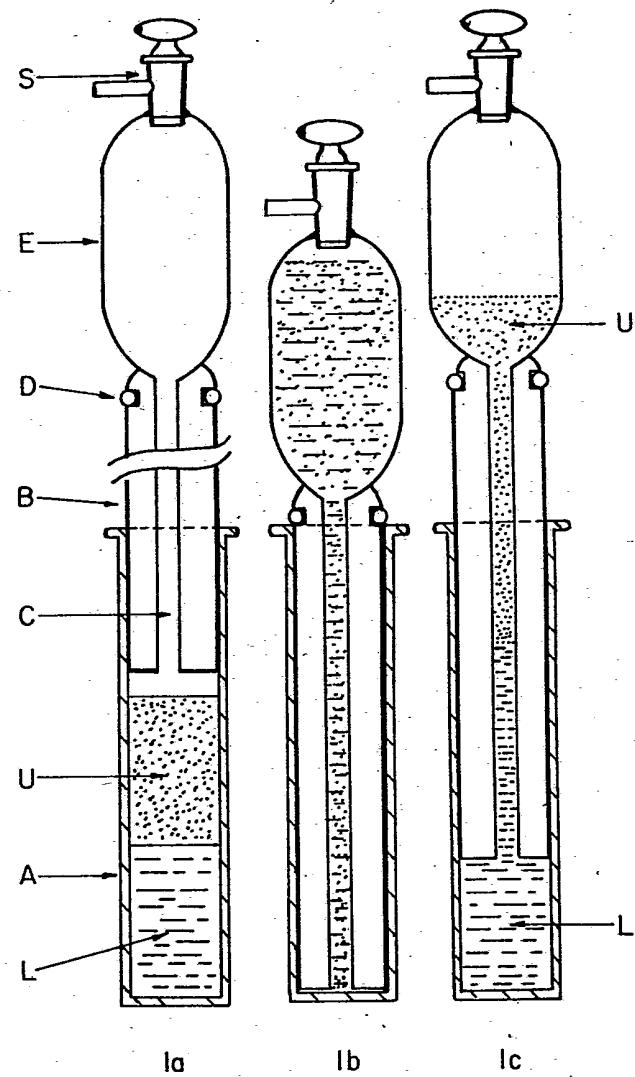


Fig. I

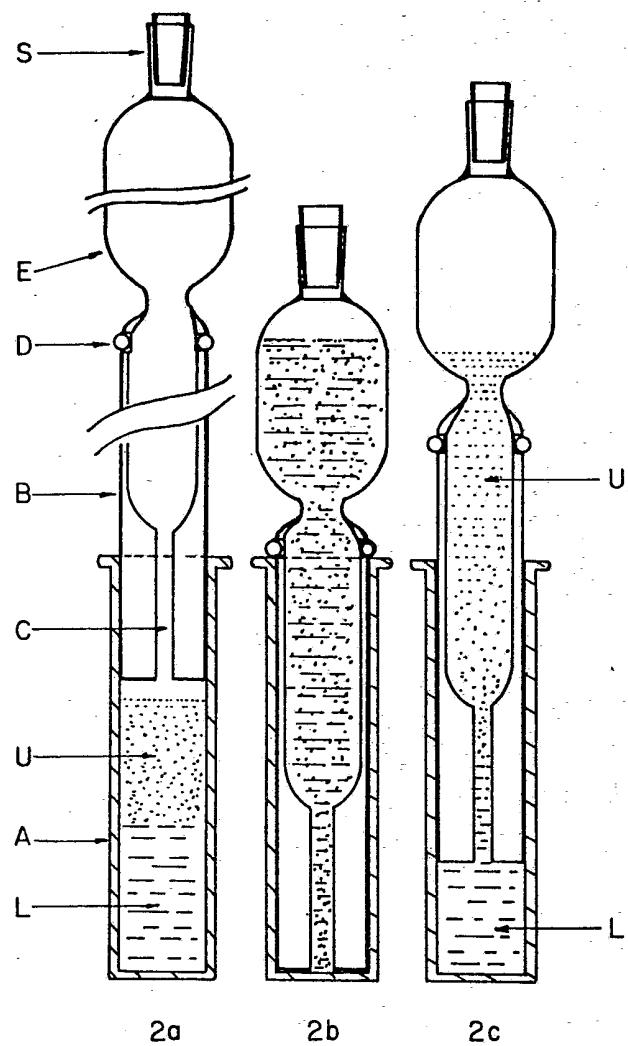


Fig. 2

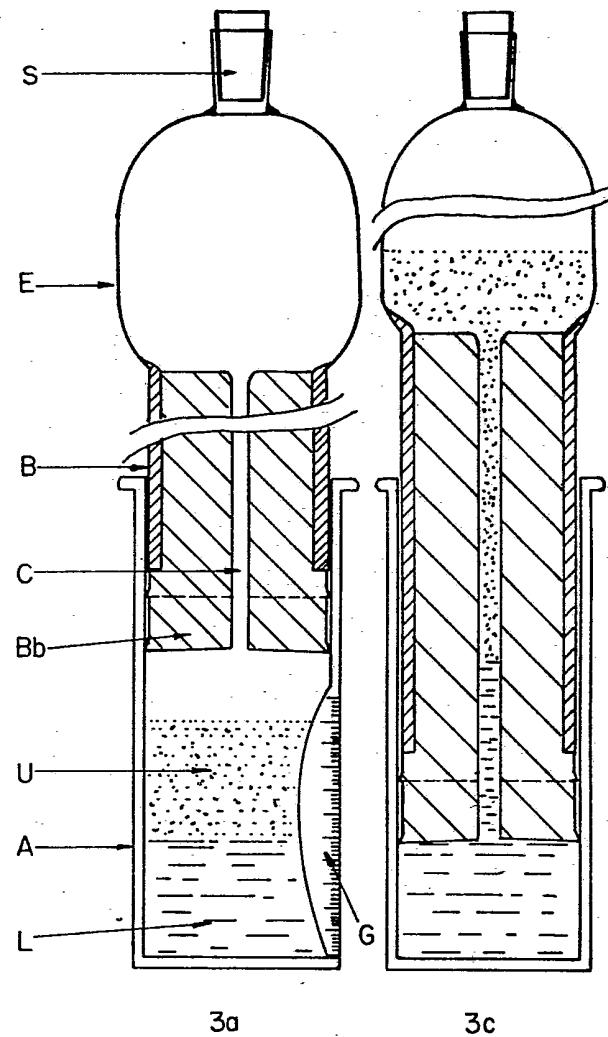


Fig. 3

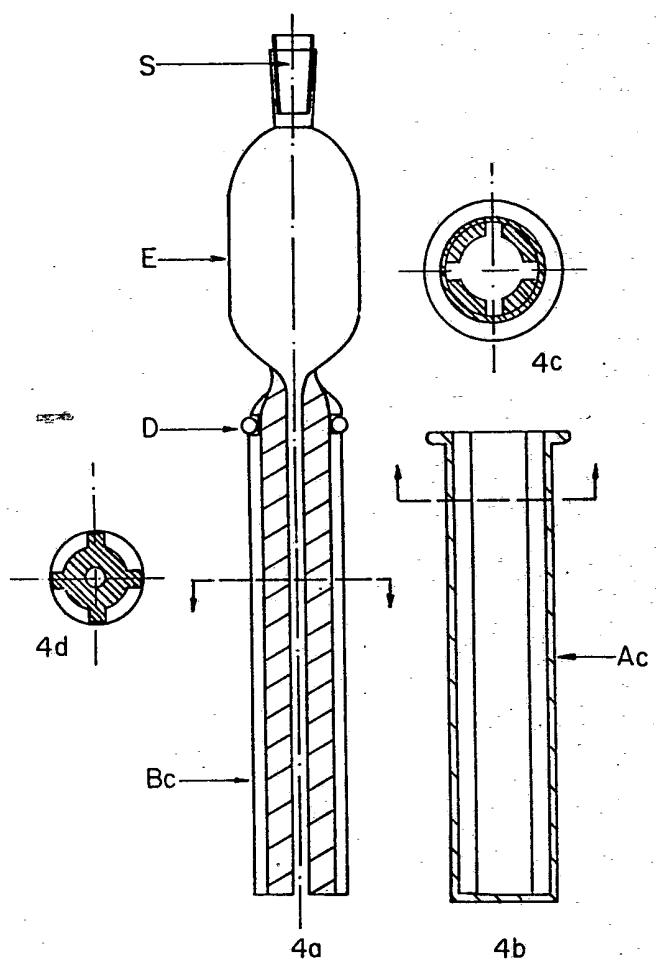


Fig. 4

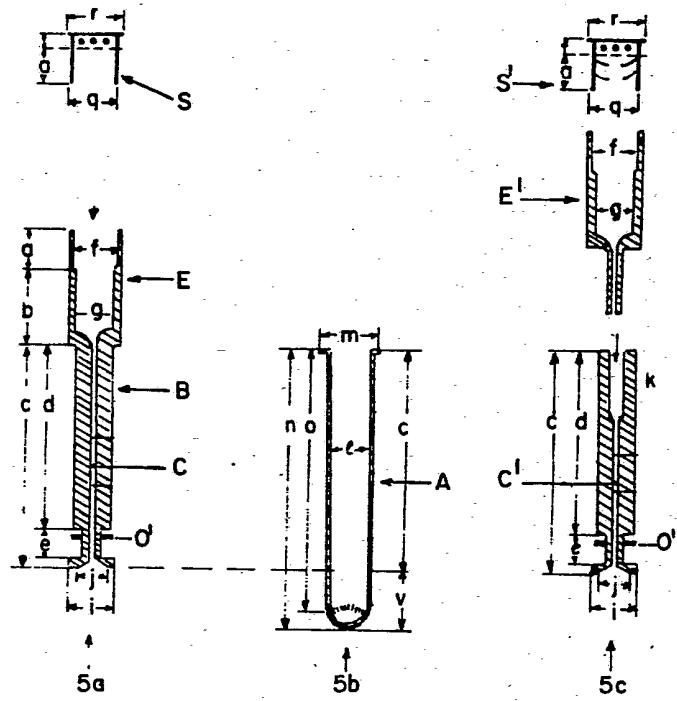


Fig. 5

(○-○-○) % F/T PROCEDE CONNU
(●-●-●) % B/B₀ PROCEDE DE L'INVENTION

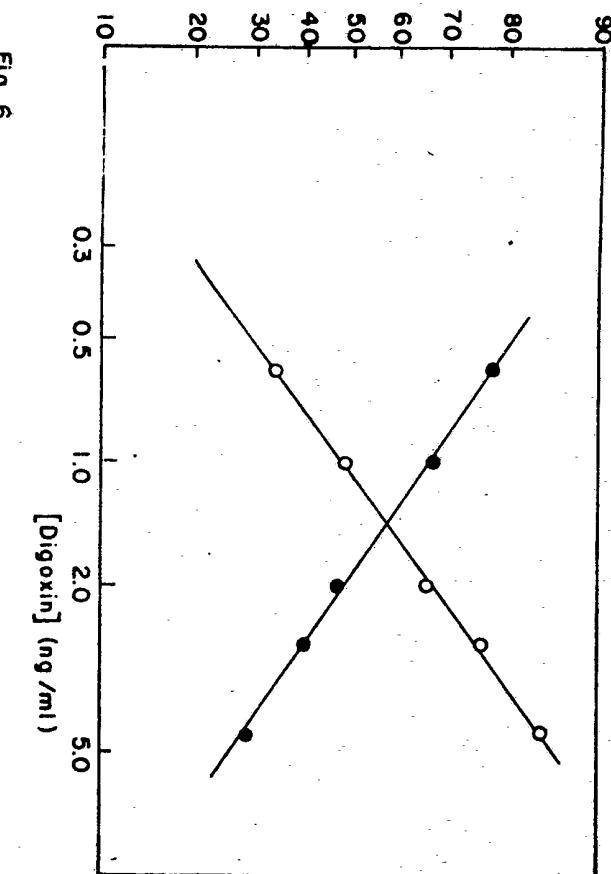


Fig. 6