



LIGNE DIRECTRICE DE L'OCDE  
POUR LES ESSAIS DE PRODUITS CHIMIQUES

---

**« Distribution de la Taille des Particules/Distributions  
de la Longueur et du Diamètre des Fibres »**  
**Méthode A : Distribution de la Taille des Particules (rayon  
hydrodynamique effectif)**  
**Méthode B : Distributions de la Longueur et du Diamètre des  
Fibres**

## **1. INTRODUCTION**

### • Connaissances requises

- Méthode A : – Insolubilité dans l'eau  
Méthode B : – Informations sur la nature fibreuse du produit  
– Informations sur la stabilité de la forme fibreuse dans les conditions du microscope électronique.

### • Informations générales

- Méthode A : – Point de fusion  
Méthode B : – Point de fusion

### • Conditions particulières

Les deux méthodes peuvent être appliquées aux substances de pureté analytique et commerciale.

#### Méthode A :

Cette méthode ne peut s'appliquer qu'aux substances insolubles dans l'eau (solubilité  $< 10^{-6}$  g/l), du type des produits en poudre.

L'équivalence des six méthodes de références nationales et internationales pour la détermination de la taille des particules n'a pas été étudiée, et actuellement elle est inconnue. Il existe un problème particulier en relation avec la sédimentation et les mesures par compteur Coulter.

#### Méthode B :

Cette méthode ne s'applique qu'aux produits fibreux. On doit prendre en considération l'effet des impuretés sur la forme des particules.

- Recommandations

Méthode A :

On doit tester au laboratoire l'équivalence des méthodes de détermination de la distribution de la taille des particules.

- Documents de référence

La « détermination du Rayon Hydrodynamique Effectif » est basée sur les normes suivantes :

- ASTM - 3360, D422
- NF-T 30044
- DIN - 66115
- DIN - 66116, Part 1
- ASTM - C 678
- ANSI - C 690 - 75

ainsi que sur un principe d'essai décrit dans Chem. Ing. Techn. 46, 729 (1974).

## **2. MÉTHODE**

### **A. INTRODUCTION, OBJET, PORTÉE, PERTINENCE, APPLICATION ET LIMITES DE L'ESSAI**

Pour mesurer la taille des particules, de nombreuses méthodes sont disponibles, mais aucune d'entre elles n'est applicable à toute la gamme de tailles. Les techniques de tamisage, de sédimentation microscopique et de séparation par décantation sont les plus fréquemment utilisées. De plus, dans le cas des particules en suspension dans l'air (poussières, fumées, vapeurs) les méthodes de diffusion des radiations et d'inertie se révèlent particulièrement utiles. Finalement, des protocoles d'échantillonnage appropriés doivent être choisis afin de préparer des spécimens vraiment représentatifs du matériel étudié (Méthode A).

La première méthode décrite dans cette Ligne directrice pour les essais (Méthode A) est conçue pour fournir des informations sur le transport et la sédimentation des particules insolubles dans l'eau et dans l'air. Dans le cas spécial des matériaux qui peuvent former des fibres, il est également recommandé d'effectuer une autre série de mesures (Méthode B) afin de contribuer à identifier les dangers éventuels pour la santé provenant de l'inhalation ou de l'ingestion de produits chimiques.

La méthode A est généralement applicable, elle est fréquemment utilisée et elle est de caractère hydrodynamique ; comparativement, la méthode B est plus spécialisée, elle est moins fréquemment requise et elle implique un examen au microscope. On doit cependant se rappeler que la distribution primitive de la taille des particules dépend largement des méthodes de traitement industriel et qu'elle peut également être modifiée ensuite par des transformations dues à l'environnement ou aux hommes.

Ces essais ne sont applicables qu'aux substances insolubles dans l'eau (solubilité  $< 10^{-6}$  g/l). La méthode B, qui concerne les fibres, ne sera appliquée que si un examen au microscope ordinaire, des similitudes avec des substances connues fibreuses ou libérant des fibres ou d'autres données indiquent une probabilité de présence de fibres. Dans ce contexte, une fibre est une particule insoluble dans l'eau, dont le rapport d'aspect (longueur/diamètre) est  $\geq 3$  et le diamètre  $\leq 100 \mu\text{m}$ . Il n'est pas nécessaire de prendre en considération les fibres dont la longueur est  $< 5 \mu\text{m}$ . La méthode A, qui détermine le rayon hydrodynamique effectif  $R_s$ , sera utilisée pour les produits particuliers qu'ils soient fibreux ou non fibreux, sans examen préalable. Elle n'est utile que pour les valeurs de  $R_s$  comprises entre  $2 \mu\text{m}$  et  $100 \mu\text{m}$ .

• Définitions et unités

Pour la méthode A, le paramètre intéressant est le rayon hydrodynamique effectif, ou rayon effectif de Stoke,  $R_s$ . La vitesse terminale d'une petite sphère, tombant sous l'influence de la gravité, à l'intérieur d'un fluide visqueux est donnée par la formule :

$$v = 2_g R_s^2 (d_1 - d_2) / 9\eta$$

où

- v = vitesse (m/sec)
- g = accélération de la pesanteur ( $\text{m/sec}^2$ )
- $R_s$  = rayon de Stoke (m)
- $d_1$  = densité de la sphère ( $\text{kg/m}^3$ )
- $d_2$  = densité du fluide ( $\text{kg/m}^3$ )
- $\eta$  = viscosité dynamique ( $\text{N}\cdot\text{sec}/\text{m}^2 = \text{Pa}\cdot\text{s}$ ) du fluide.

Dans d'autres cas, on applique des relations similaires. La taille des particules est habituellement mesurée en micromètres ( $= 10^{-6}$  m).

La méthode B fournit des histogrammes des distributions de la longueur (l) et du diamètre (d) des fibres. On porte en ordonnée le nombre absolu de particules dans chaque intervalle de l ou de d. Les figures 1 et 2 fournissent des graphiques caractéristiques.

---

**« Distribution de la Taille des Particules/Distributions  
de la Longueur et du Diamètre des Fibres »****• Substances de référence**

Cinq substances de référence dont la taille des particules est définie et couvre le domaine variant de 0,35 à 650  $\mu\text{m}$  (à l'exception de l'intervalle allant de 50 à 200  $\mu\text{m}$ ) ont été homologuées au vu de la distribution massique cumulative des particules par rapport au diamètre équivalent de vitesse de dépôt ou au diamètre équivalent de volume. Les produits seront disponibles au Bureau de la Communauté des substances de référence\* de la Communauté Economique Européenne et ils seront fournis avec des certificats de mesure. Le rapport de certification (4) sera également disponible au Bureau de la Communauté des substances de référence.

***Produits d'étalonnage***

Méthode A : On suggère d'utiliser un mélange binaire ou ternaire de sphères de latex ( $2 \mu\text{m} \leq d \leq 100 \mu\text{m}$ ).

Méthode B : Il n'existe pas de produits de référence standard aisément disponibles.

**• Produits pour l'estimation**

Méthode A : Mélange ternaire de sphères de latex de 2  $\mu\text{m}$ , 50  $\mu\text{m}$  et 100  $\mu\text{m}$  de diamètre (qui fournit une distribution calibrée discrète) plus un échantillon de quartz broyé (distribution continue).

Méthode B : On recommande d'utiliser de l'amiante chrysotile fibreux (des propriétés spécifiques ne sont pas essentielles dans la mesure où on dispose de suffisamment de produit soigneusement mélangé pour avoir une distribution identique au cours d'un essai circulaire).

**• Principe des méthodes**

Méthode A : Il existe plusieurs méthodes de référence disponibles qui répondent aux critères de sensibilité demandés :

<u>Principe</u>	<u>Méthodes</u>
Sédimentation	ASTM-D 3360, D 422 NF-T 30044 DIN-66-115

---

\* Pour les adresses : voir annexe 2

« Distribution de la Taille des Particules/Distributions  
de la Longueur et du Diamètre des Fibres »

Centrifugation	ASTM - C 678 Chem. Ing. Tech. <u>46</u> , 729 (1974)
Compteur Coulter	ANSI-C 690-75

On doit déterminer la comparativité de ces méthodes (en particulier pour la sédimentation) et des autres méthodes. L'échantillon doit également être soumis à un examen au microscope à lumière ordinaire, afin de déterminer la nature approximative de ses particules (par exemple, plaquettes, aiguilles, etc...).

**Méthode B** : Puisqu'il s'agit de collecter des données sur des fibres de petit diamètre ( $\geq 0,1 \mu\text{m}$ ), on doit utiliser la microscopie électronique de balayage (MEB) ou de transmission (MET). Il n'existe, à l'heure actuelle, aucun procédé normalisé, et ceux qui sont actuellement mis au point pour la contamination due à l'amiante (dans lesquels le produit fibreux est déjà identifié et présent en concentration élevée) sont souvent plus complexes et onéreux qu'il n'est nécessaire pour les besoins de ce programme. Au cours de la préparation d'un échantillon on doit toujours prendre le plus grand soin afin d'éviter toute contamination et de casser ou d'agglutiner les fibres. Un procédé simple de départ est proposé ci-dessous (Mode Opérateur). La longueur et le diamètre des images des fibres peuvent être mesurés manuellement, semi-automatiquement ou automatiquement, et les résultats sont mis sous forme d'histogramme (voir les figures 1 et 2).

Figure 1 : Distribution de la longueur des fibres de l'échantillon (Méthode B).

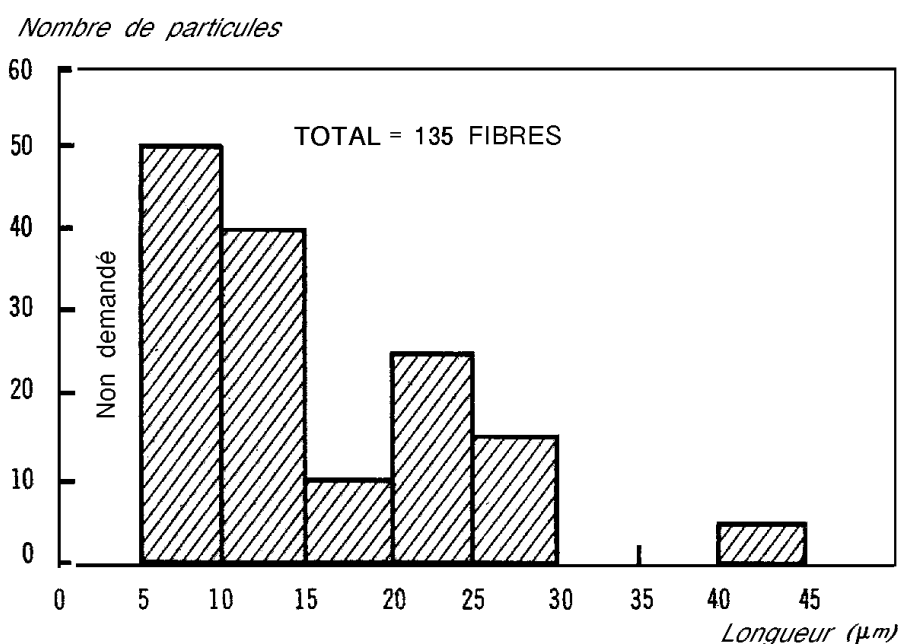
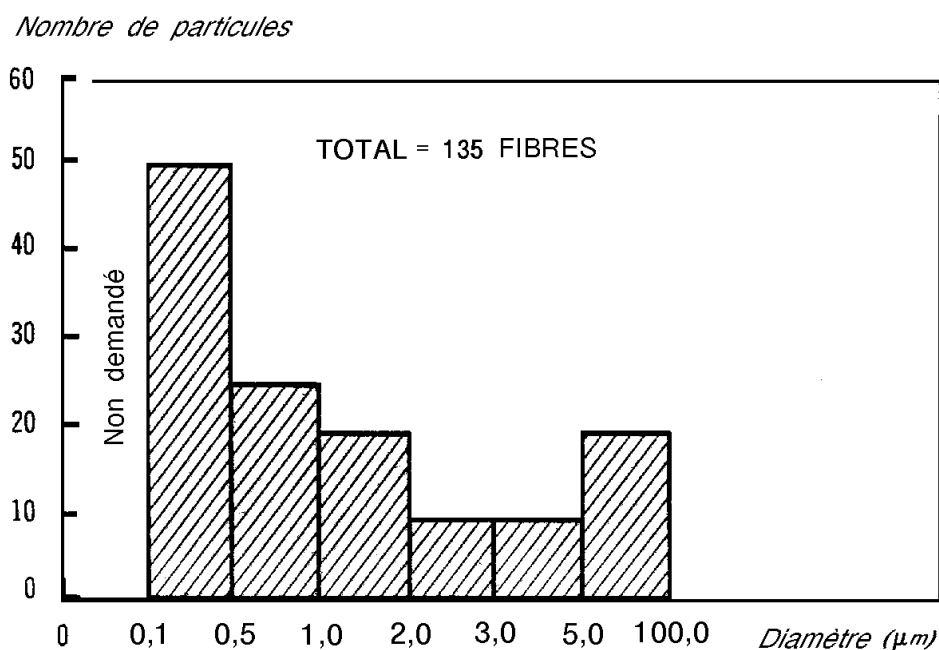


Figure 2 : Distribution du diamètre de l'échantillon (Méthode B).



- Critères de qualité

**Reproductibilité**

La distribution du rayon hydrodynamique effectif (méthode A) doit être mesurée trois fois, sans qu'aucune des valeurs ne diffère de plus de 20% d'une autre.

Les distributions de la longueur et du diamètre des fibres (méthode B), si elles sont demandées, doivent être mesurées au moins deux fois - en utilisant des échantillonnages et des préparations séparées - avec un minimum de 70 fibres par histogramme. Dans un intervalle d'histogramme donné, aucune valeur ne doit différer d'une autre de plus de 50% ou de plus de 3 fibres, ce qui est encore plus important. Une telle reproductibilité doit être suffisante pour les procédés envisagés actuellement pour la construction de modèles et pour la prise de décision ; cependant la présence de fibres longues et minces - à cause de leurs effets nocifs éventuels sur la santé - peut indiquer que des mesures supplémentaires, plus précises, sont nécessaires.

### *Sensibilité*

Dans le cas général (méthode A) on doit pouvoir mesurer des particules dont la taille varie de 2  $\mu\text{m}$  à 200  $\mu\text{m}$ . La méthode exige que l'on utilise un nombre suffisant d'intervalles de rayon pour résoudre la courbe de distribution des rayons. Dans le cas des fibres (méthode B) on doit pouvoir mesurer des diamètres variant de 0,2  $\mu\text{m}$  à 100  $\mu\text{m}$  et des longueurs allant de 5  $\mu\text{m}$  à 300  $\mu\text{m}$ .

### *Spécificité*

Voir le paragraphe 2.A, ci-dessus.

### *Possibilité de normalisation*

Les modes opératoires des méthodes peuvent être facilement normalisés, si on le désire, mais la non-uniformité de l'échantillonnage, de la préparation et de la manipulation préalable peut toujours entraîner une variation considérable des résultats de la méthode B.

### *Possibilité d'automatisation*

L'automatisation ou la semi-automatisation de ces procédés est possible. L'automatisation complète de la mesure et de l'analyse de la longueur et du diamètre des fibres est également possible.

## **B. MODES OPÉRATOIRES**

### **• Préparations**

#### Méthode A :

Les petites quantités utilisées comme échantillons doivent être représentatives de lots renfermant de nombreux kilogrammes de produit ; l'échantillonnage et la manipulation de l'échantillon réclament donc beaucoup d'attention. Les petites particules, par exemple, forment souvent des agglomérats, il peut donc être nécessaire de pré-traiter l'échantillon (par exemple, par addition d'agents dispersants, par agitation ou par traitement par les ultra-sons à faible niveau) avant de pouvoir déterminer la taille de la particule primaire. On doit cependant faire très attention pour éviter de modifier la distribution de la taille des particules. Dans le cas des agrégats très stables, il n'est pas toujours utile d'établir une distinction stricte entre particules

primaires et agglomérats. On trouvera quelques méthodes de préparation des échantillons représentatives dans les procédés normalisés énumérés dans le paragraphe « Principe des méthodes » (Méthode A) ci-dessus.

#### Méthode B :

On peut proposer deux procédés simples de préparation des échantillons (B-1, B-2) pour la microscopie électronique de balayage.

##### *Préparation des échantillons B-1*

Suspendre une quantité donnée de l'échantillon dans 10 à 100 ml d'eau filtrée distillée ou désionisée (la suspension doit être relativement légère, pas boueuse). On peut aider à distribuer les particules en suspension en utilisant un engio-actif, par exemple de petites quantités (~ 1 partie/100) d'alcool éthylique absolu ou un détergent non-ionique. La suspension de la poudre est réalisée par agitation manuelle légère, par mélange au Vortex ou par agitation magnétique. Filtrer directement la solution à travers un filtre Nuclepore\* de 47 mm de diamètre recouvrant un filtre à membrane Millipore\* d'un diamètre de 47 mm logé dans un support de filtre Millipore\* de 47 mm de diamètre (Hydrosol, inoxydable) en utilisant un léger vide. S'assurer que la poudre n'a pas précipité à partir de la suspension. Selon la taille des particules étudiées on peut utiliser des filtres dont les pores ont des dimensions différentes. La concentration des particules en suspension détermine la quantité qui sera filtrée. Une suspension moins concentrée fournira une distribution de particules plus égale sur la surface du filtre (2). Enlever le filtre Nuclepore de son support, en prenant soin de ne pas déranger les particules vers le haut - dans une boîte de Pétri en verre ou en plastique, contenant du papier filtre Whatman\* n° 1 ; couvrir la boîte de Pétri et la placer dans un dessiccateur ou sous vide. Quand il est complètement sec, le filtre est découpé en morceaux de taille appropriée et il est monté, côté filtre vers le haut, sur le ruban de cuivre préalablement fixé sur une lame porte-échantillon de microscope électronique à balayage (à l'aide d'adhésif double-face). Afin de s'assurer que le ruban est bien collé, le préchauffer pendant 5 à 15 minutes en utilisant une source de chaleur infra-rouge ou similaire. Tailler le bord du filtre pour qu'il s'adapte au porte-échantillon du microscope électronique à balayage.

---

\* Les adresses sont notées dans l'annexe 2



### *Préparation des échantillons B-2*

Une autre méthode de préparation des échantillons consiste à déposer directement la poudre sèche sur un ruban de cuivre (ruban électrique adhésif) monté sur une lame porte-échantillon d'un microscope électronique à balayage (MEB). La poudre peut également être dispersée sur la surface du ruban de cuivre à l'aide d'un atomiseur ou d'une pipette équipée d'une grande poire en caoutchouc.

### • Conditions expérimentales et appareillage

Méthode A : Conditions ambiantes. Des appareils de mesure sont facilement disponibles pour toutes les méthodes. Pour les méthodes de sédimentation on utilise des pipettes et des balances de sédimentation.

Méthode B : La contamination par des fibres en suspension dans l'air peut constituer un problème. On doit utiliser, si possible, une hotte ou une « pièce propre ». Cette méthode requiert un petit microscope électronique et un équipement de support.

### • Exécution des essais

Méthode A : Doit être choisie parmi les procédés standards dont la liste se trouve ci-dessus (dans : Principe des méthodes).

Méthode B : Les deux méthodes de préparation (B-1 et B-2) fournissent un échantillon de particules sur un papier filtre ou sur un ruban de cuivre montés sur un porte-échantillon d'un MEB. Celui-ci peut ensuite être examiné au MEB, ou préalablement recouvert d'un film métallique à l'aide d'un appareil pulvérisateur ou d'un évaporateur sous vide. Des régions représentatives de la surface de l'échantillon sont photographiées avec des grossissements différents afin de fournir un échantillon représentatif de la population étudiée. (Si on le désire, on peut effectuer une analyse des particules représentatives par réfraction aux rayons X afin de contrôler la contamination de l'échantillon).

La distribution de la taille des particules peut être déterminée en faisant des mesures directement sur l'écran ou sur des photographies. Si le MEB est équipé d'un système d'analyse de l'image, on peut déterminer directement des statistiques sur la population. De telles mesures peuvent être, si on le désire, automatisées ou semi-automatisées (3). Si l'image indique que l'échantillon est trop concentré, répéter l'opération avec une solution plus diluée.

- A n a l y s e

La mesure de paramètres physiques par des méthodes différentes peut donner des résultats quelque peu différents quant à la distribution de la taille des particules ; c'est pourquoi on doit toujours signaler quelles sont les techniques de mesure qui ont été employées. Des méthodes d'analyse représentatives sont discutées dans les références 1-6.

### **3. RÉSULTATS ET RAPPORT**

Méthode A : On doit obtenir des données pour 3 domaines de taille différents :  $> 200 \mu\text{m}$ ,  $< 2 \mu\text{m}$  et de 2 à  $200 \mu\text{m}$ . La courbe de distribution ne doit être préparée que pour ce dernier intervalle. On doit disposer de suffisamment d'accroissements exprimés en  $\mu\text{m}$  pour résoudre la courbe (sous-populations). Une présentation sous forme d'histogramme est nécessaire, plus l'énoncé du pourcentage en poids de produit dont la taille est supérieure à  $200 \mu\text{m}$  et inférieure à  $2 \mu\text{m}$ .

Méthode B : On demande la longueur totale (l) et le diamètre (d) des fibres pour lesquels  $d \geq 0,1 \mu\text{m}$  et  $l \geq 5 \mu\text{m}$ . On doit préparer deux histogrammes basés chacun sur l'examen d'au moins 50 fibres. Pour les diamètres, les intervalles doivent être de 0,1 à 0,5 ; 0,5 à 1,0 ; 1 à 2 ; 2 à 3 ; 3 à 5  $\mu\text{m}$  et au-dessus de 5  $\mu\text{m}$ . Pour les longueurs, ils doivent être de 0 à 5 ; 5 à 10 ; 10 à 15 ; 15 à 20, (etc.)  $\mu\text{m}$ . Ceci est illustré par les figures 1 et 2 ci-dessus.

- R a p p o r t

Méthode A : On doit fournir les informations suivantes :

- Taux de modification (en pour cent) prévu pour le futur pour les valeurs reportées (par exemple : variations entre différents lots de la production)

- Méthodes utilisées pour la préparation des échantillons.
- Méthodes d'analyse utilisées.
- Informations approximatives sur la forme des particules (par exemple : sphères, plaquettes, aiguilles).
- Numéro du lot, numéro de l'échantillon.
- Milieu de suspension, température, pH.
- Concentration.
- Distribution du rayon (hydrodynamique effectif) de Stoke,  $R_s$ , pour des valeurs de  $R_s$  comprises entre 2 et 200  $\mu\text{m}$ .
- Valeur moyenne et « surface » approchée (en pour cent) de tout pic résoluble dans la distribution de  $R_s$ .
- Pourcentage de particules dont le  $R_s$  est  $\leq 2 \mu\text{m}$ .
- Pourcentage de particules dont le  $R_s$  est  $\geq 200 \mu\text{m}$ .

**Méthode B** : On doit fournir les informations suivantes :

- Description de l'échantillon, description de la méthode
- Nombre de particules sur chaque surface observée
- Nombre total des fibres mesurées
- Distributions des longueurs et des diamètres (histogramme)
- Valeur moyenne et « surface » approchée (en pour cent) de tout pic résoluble dans la distribution de  $R_s$ .

#### **4. BIBLIOGRAPHIE**

1. T. Allen, *Particle Size Measurement*, Chapman et Hall, Londres (1975).
2. R.R. Irani et C.F. Callis, *Particle Size Measurement*, Interprétation et application.
3. S. Orr et J.M. Dellavalle, *Mesure des particules fines*.

4. Rapport de certification sur les particules de taille définie, Bureau de la Communauté sur les Substances de Référence, Bruxelles (1979).
5. P.P. Mc Grath et J.B. Ewell, Application de la Microscopie Electronique au problème des contaminants particulaires dans la nourriture, les médicaments et les produits biologiques, *Scanning Electron Microscopy*, Partie III, (1976).
6. *Symposium on Electron Microscopy of Microfibers*, édité par I.M. Asher et P.P. Mc Grath, Compte rendu du premier symposium d'été du bureau scientifique de la FDA, (23-25 août 1976).



## 2. ADRESSES

Le rapport de certification des cinq substances de référence sera disponible auprès de la :

Commission de la Communauté Européenne  
Direction Générale pour la Recherche Scientifique et l'Education  
Bureau de la Communauté sur les Produits de Référence BCR, Rue de la loi 200  
B-1049 Bruxelles

On peut se procurer les filtres et supports de filtres nécessaires à la préparation des échantillons dans la méthode B auprès des fabricants suivants :

Nuclepore Corporation  
7035 Commerce Circle  
Pleasanton  
Californie 94566 / USA

Millipore Corporation  
Order Service Department  
Bedford  
Massachusetts 01730 / USA

Whatman Filters  
W et R Balston Limited  
Angleterre