

## Broyage en série de matériel végétal (0.5-5 gr) pour analyses chimiques, physiologiques et génétiques à l'aide d'un agitateur de peinture

Patrick Leger<sup>1</sup>

### Résumé

Broyage en série de plusieurs centaines d'échantillons végétaux pour analyses physico-chimiques à l'aide d'un agitateur de peinture ayant permis d'optimiser les temps de broyages, sans contaminations ni exposition aux poussières végétales et intégrer des demandes de broyage pour des analyses de biologie moléculaire.

### Mots clés

Broyage, échantillons végétaux, agitateur de peinture SK550 (1), simplicité, robustesse, analyse NIRS analyse C-N, Biologie moléculaire.

### Abstract

Grinding in series hundreds of plant samples for physico-chemical analyses by means of a paint shaker. It allows optimizing grinding times without contamination nor exposure to vegetal dust. It allows also integrating grinding series for molecular biology analyses.

### Keywords

Grinding, plant samples, paint shaker SK550 (1), easyness, sturdyness, NIRS analysis, C-N analysis, molecular biology.

### Introduction

Dans le cadre des activités de phénotypage à haut débit de la plateforme Génobois (ISC INRA), les échantillons végétaux (1 à 5 grammes) doivent être broyés afin d'effectuer des analyses physico-chimiques et physiologiques. Auparavant, ce broyage s'effectuait à l'aide d'un broyeur à couteaux nécessitant un dépoussiérage entre chaque échantillon, procédé chronophage et exposant l'utilisateur aux poussières de bois pouvant être cancérigène. L'échantillonnage toujours plus volumineux a ainsi nécessité la mise en place d'une nouvelle approche.

### Description du système

En 2013, dans le cadre du projet Equipex Xyloforest (ANR 10-Eqpx-16), la plateforme GéoBois a obtenu un financement pour la réalisation d'un prototype de broyage automatisé conçu par la société Labman Automation (Royaume-Uni). Cet automate permet de broyer 96 échantillons un par un de façon autonome. Les échantillons secs et légèrement fractionnés au préalable, s'il s'agit de bois, sont placés dans des pots en poly acétal (POM) de 50 mL et broyés à l'aide d'une bille inox de 32 mm de diamètre. L'agitation verticale de 1250 rpm (tour par minute) est puissante, mais les échantillons sont traités les uns après les autres, et plusieurs heures sont

---

<sup>1</sup> INRA, UMR BIOGECO, 33610, Cestas, France  
[Patrick.leger@inra.fr](mailto:Patrick.leger@inra.fr)

nécessaires pour réaliser des broyages en série (4 à 8 heures pour 96 échantillons répartis sur quatre portoirs de 24 échantillons). L'automate est difficilement utilisable par le personnel non formé, et les pannes sont très fréquentes : sa maintenance réalisée par le fabricant anglais représente ainsi un budget conséquent. Une fois amorti, il a été nécessaire de penser à son renouvellement et à optimiser le processus de broyage afin de réduire les coûts et le temps de traitement.

Mon choix s'est porté sur un système plus accessible aux utilisateurs de la plateforme, moins onéreux, robuste et permettant de réutiliser les pots de broyages développés pour l'automate.

Je me suis orienté vers un agitateur vertical pouvant recevoir nos portoirs de 24 pots (24 x 36 x 7 cm). L'agitateur de peinture Fast and Fluid SK550 1.0 du fabricant Skandex offrait un plateau de chargement adapté (2). Sa vitesse d'agitation était inférieure à celle de l'automate (850 rpm max). C'est pourquoi, pour tester sa capacité à broyer nos échantillons, je me suis rapproché de l'entreprise Renaulac située sur notre commune de Cestas, Gironde qui en possédait un exemplaire.

Les échantillons ont été traités dans les mêmes conditions que celles utilisées pour l'automate Labman, broyage à sec dans des pots en poly acétal (POM) de 50 mL à l'aide d'une bille inox de 32 mm de diamètre. Le plateau de 24 pots de broyage est introduit directement dans l'agitateur SK550.



*SK 550 1.1, porte de chargement (photo : P. Leger)*

Après une phase de test, j'ai constaté que la vitesse limitée de l'agitateur pouvait être compensée par une augmentation du temps de broyage pour les échantillons les plus durs (bois), sans augmentation significative de la température (41°C max mesurée), et pour une qualité de poudre similaire à celle de notre automate. En revanche, le broyage à bille simultané de 24 échantillons génère un bruit de fonctionnement difficilement supportable : 85 dB.

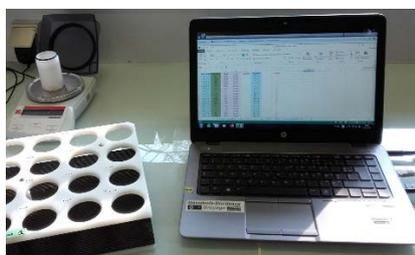
La plateforme GénoBois s'est équipée de ce modèle d'agitateur pour lequel j'ai fait réaliser un encoffrement acoustique par la société Alfacoustic : le nombre de décibels lors du broyage a été mesuré à 55 dB (en dessous du seuil d'exposition toléré).

## Protocole

Poste de préparation :



*mise en pot de l'échantillon*



*pesée et enregistrement*



*chargement bille et fermeture*



*préparation et identification code barre des pots recevant les poudres*

Chargement et broyage :



*serrage manuel (cela reste à automatiser)*



*encoffrement*

*accès au SK550*

*chargement*

*fermeture et mise en route*

Récupération des poudres :



*deux séries de 96 échantillons broyés prêtes à être transvasées en contenant de 70 mL plastique avec étiquetage code barre.*



*Transfert des poudres sous hottes à filtres (limiter l'exposition aux poussières de bois)*

*photos : P.Leger)*

## Performances du système

Les poudres obtenues sont constituées de particules fines sans fibres majoritairement inférieures à 0.16 mm :



*Broyage de cambium passé au tamis*

*broyage de feuilles de chêne*

*(photos : P.Leger)*

Cet atelier de broyage a initialement été prévu pour la préparation des échantillons avant analyse au spectrophotomètre proche infrarouge (SPIR). Mais il est également possible d'effectuer des broyages de matériel végétal (feuilles, bois) en vue d'extractions d'ADN pour l'analyse des communautés bactériennes ou fongiques par une approche de métabarcoding. Nous avons constaté que les pots peuvent être autoclavés afin de réduire le risque de contamination lors de ce type d'analyse. Ils peuvent également être passés sous les UVs d'un Poste de Sécurité Microbiologique (4). En revanche, la méthode ne peut pas être utilisée pour l'extraction d'ARN car le système n'est pas refroidi, entraînant une dégradation de cet acide. L'étanchéité des pots est obtenue par un joint torique en NBR butadiène-acrylonitrile (nitrile butadiene rubber).

De même la finesse des poudres est compatible avec les analyses de carbone – azote, les analyses isotopiques ( $\delta^{13}\text{C}$  et  $\delta^{15}\text{N}$ ), le dosage du silicium qui sont aujourd'hui de plus en plus fréquentes.

La chaîne de broyage mise en place, pesée, mise en pot, broyage, transvasement des poudres et nettoyage permet de traiter 100 échantillons/jour.

Le SK 550 est peu encombrant. Sa surface au sol avec les dégagements est de 2 m<sup>2</sup>. Ce système nécessite un peu de maintenance mais reste abordable (serrage et desserrage manuel des bouchons), prévoir des portoirs en polyacétal également.

## Conclusion

En fonctionnement depuis deux années (3000 échantillons broyés), le système s'avère fonctionnel, fiable (aucune panne à ce jour), peu coûteux à l'achat (3) et en maintenance (nettoyage des parties mobiles et graissage par nos soins), et sa prise en main par les utilisateurs est très simple, elle se fait en quelques minutes.

Ce détournement d'agitateur à peinture répond parfaitement à nos attentes que ce soit sa capacité de broyage, son coût d'achat, sa robustesse, sa rapidité ou la simplicité d'utilisation.

Cependant pour garder des temps de broyage courts (5-10 mn) il est nécessaire de limiter la quantité à broyer. L'ordre de grandeur est de 2-3 grammes. Il est néanmoins possible de broyer à pleine charge (5 g) dans ce cas prévoir un temps de broyage de 60 à 80 mn et/ou un fractionnement plus fin de l'échantillon avant broyage.

Cet article est publié sous la licence Creative Commons (CC BY-SA).



<https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>

Pour la citation et la reproduction de cet article, mentionner obligatoirement le titre de l'article, le nom de tous les auteurs, la mention de sa publication dans la revue « Le Cahier des Techniques de l'Inra », la date de sa publication et son URL).

## Annexe



*Broyeur à couteau*



*Automate Labman*



*Agitateur Sk 550*

*(1)\_ Évolution du matériel de broyage (photo : P.Leger)*

Données techniques

SK550 1.1

V. 1.0

## 6 Données techniques

### 6.1 Spécifications générales

Paramètre	Spécification
Les matériaux utilisés sont adaptées pour	Colorants à l'eau, universels et à base de solvants
Poids de charge maximum [kg]	40
Dimensions de table de boîte [cm]	36 x 35
Hauteur de boîte maximum [cm]	45
Hauteur de boîte minimum [cm]	7
Vitesse maximale d'agitation [tr/mn]	720
Durée maximale d'agitation [s]	999

*(2) Données techniques de l'agitateur SK 550 1.1*

Article	Prix en euros	
Agitateur SK 550	4000	unité
Encoffrement Alfacoustic	4000	unité
Pot de broyage en POM	30-40	pièce
Portoir en POM	400	pièce
Billes inox 420C Grade100	3 à 4	pièce
Joint NBR 35x3	0.02	pièce
Tube stérile Stardedt, réf : 60550100	0.1	pièce
Chariot ergonomique de transport*	349	pièce

\*Les portoirs de 24 pots chargés pèsent 6 kg, chariot de manutention ergonomique conseillé.

(3) Coût

Mme Filipi, **Renulac B.B. FABRICATIONS SAS**, Route de Saucats, 33612 CESTAS Cedex

**Fast & Fluid Management France Sarl.** fmeron@idexcorp.com

**Alfacoustic S.A** Zone industrielle les Bordes, 13 Rue Gustave Madiot, 91070 Bondoufle

**EIC** (bille inox) 19 rue Edgar Quinet, 92120 Montrouge

**Labman automation LTD** Seamer Hill, Strokesley N.Yorks TS9 5NQ - United Kingdom

**Corinne.Vacher & Dinia Cartry\_Labex Ceba (4)**, UMR BIOGECO

Plateforme Génoboïis, <https://www6.inra.fr/genoboïis>



## Remerciements

Je remercie les personnes qui ont participé à la relecture et apporté des précisions, suggestions et/ou corrections à cette rédaction : Camille Lepoitevin, Sylvain Delzon, Régis Burtlett, Corinne Vacher ainsi que le service de la rédaction du Cahier des Techniques de l'Inra.