



# Certificat d'analyse

## Matériau de référence certifié

---

### ALNP-1

#### Matériau de référence certifié de nanoparticules de lipidiques anioniques

Le matériau de référence certifié (MRC) ALNP-1 est une dispersion stable et homogène de nanoparticules lipidiques anioniques d'origine connue destinée à l'élaboration de méthodes, aux comparaisons interlaboratoires, à la vérification de la performance des instruments, au contrôle de la qualité et à un usage général en laboratoire. Il sert aussi à accroître la confiance dans les mesures granulométriques des préparations à base de lipides et d'autres nanoparticules molles par diffusion dynamique de la lumière. Une fiole d'ALNP-1 contient au moins 2 mg de nanoparticules lipidiques anioniques dispersées dans 1 ml de solution saline tamponnée au phosphate (PBS) 0,5x de Dulbecco contenant 15 % de saccharose.

#### Valeurs certifiées

Les valeurs certifiées sont les valeurs indiquées ci-dessous pour le diamètre hydrodynamique moyen harmonique, sphérique équivalent et pondéré en intensité, aussi appelé taille moyenne Z,  $\bar{x}_{DLS}$ , ainsi que pour l'incertitude élargie correspondante,  $U_{DLS}$ . Les valeurs certifiées sont celles en lesquelles le Conseil national de recherches du Canada (CNRC) a le plus confiance et pour lesquelles toutes les sources connues et présumées d'erreur systématique ont été prises en compte et intégrées dans l'incertitude élargie indiquée. Les mesures de certification ont été prises par deux analystes utilisant chacun un analyseur des tailles de nanoparticules par diffusion dynamique de la lumière différent, de modèle Zetasizer Nano ZS (Malvern).

Tableau 1 : Valeurs certifiées du diamètre hydrodynamique moyen harmonique, sphérique équivalent et pondéré en intensité (taille moyenne Z),  $\bar{x}_{DLS}$ , et de l'incertitude élargie.

$\bar{x}_{DLS}$	123,2 nm
$U_{DLS}^a$	1,5 nm

<sup>a</sup> L'incertitude élargie au niveau de confiance de 95 % comprend les contributions de types A et B estimées conformément au guide JCGM 100:2008<sup>1</sup>. L'incertitude élargie  $U_{DLS}$  est formulée de manière à tenir compte de toutes les contributions considérables à l'incertitude de mesure.

Les valeurs certifiées sont traçables à l'unité de longueur du Système international d'unités exprimée en nanomètres. La valeur d'incertitude composée du diamètre hydrodynamique est de 0,75 nm, et le nombre effectif de degrés de liberté est de 218.

---

<sup>1</sup> JCGM 100:2008; Évaluation des données de mesure – Guide pour l'expression de l'incertitude de mesure (GUM 1995 avec des corrections mineures); Comité commun pour les guides en métrologie (JCGM) (2008).

Le diamètre hydrodynamique (taille moyenne Z) est un mesurande à méthode définie, comme le décrit la norme internationale ISO 22412:2017<sup>2</sup>. Par conséquent, le présent certificat n'est valide que dans le cadre de comparaisons avec des mesures prises sur un échantillon ayant atteint l'équilibre thermique à 25 °C, dans un milieu de dispersion ayant une viscosité de 0,911 mPa·s et un indice de réfraction de 1,334. Aux fins du présent certificat, les valeurs de viscosité et d'indice de réfraction ont été estimées à l'aide de la norme internationale ISO/TR 3666:1998<sup>3</sup> et de données tirées de la littérature<sup>4,5</sup>, et devraient être considérées comme des paramètres de modèle. Si des mesures sont effectuées à une autre température que 25 °C, il faut ajuster en conséquence la valeur de viscosité du milieu de dispersion.

### Validité de la certification

La certification de la valeur de  $\bar{x}_{DLS}$  (taille moyenne Z) de l'ALNP-1 est valide, à l'intérieur de la plage d'incertitude élargie indiquée, jusqu'au 31 mars 2025, à condition que les directives d'entreposage, de manutention et d'utilisation énoncées dans le présent certificat soient respectées.

### Maintien de la certification

Le CNRC surveillera le MRC ALNP-1. Dans le cas où un changement technique modifierait la validité de la certification avant la date d'expiration, il en avisera rapidement l'acheteur.

### Expédition et entreposage

L'ALNP-1 est entreposé à long terme à l'état congelé, à des températures de -80 à -70 °C. Il est expédié à l'acheteur dans un contenant à isolation thermique garni de neige carbonique (glace sèche). En temps normal, le CNRC expédie l'ALNP-1 dans des boîtes à isolation thermique pouvant maintenir une température inférieure à -70 °C pendant au moins trois (3) jours. Si le transport jusqu'à la destination finale risque de prendre plus de temps, l'acheteur doit aviser le CNRC et veiller à l'emploi d'une autre méthode d'expédition. Lorsqu'il reçoit le colis, l'acheteur doit immédiatement déballer les fioles, vérifier que la boîte d'expédition contient encore assez de neige carbonique pour maintenir une température égale ou inférieure à -70 °C, et transférer les fioles dans un congélateur à -70 °C pour les y entreposer.

### Manutention et utilisation

Avant de prendre des mesures, il faut décongeler la fiole d'ALNP-1 et la laisser atteindre un équilibre thermique à la température ambiante (20 à 25 °C), en la plaçant préférablement à l'horizontale sur une surface plane, dans un espace ouvert. Sinon, pour accélérer la décongélation et l'équilibrage thermique, on peut immerger partiellement la fiole d'ALNP-1 dans de l'eau à température ambiante. Avant d'ouvrir la fiole, il faut l'inverser à plusieurs reprises, au moins une dizaine de fois pour assurer l'uniformité de la dispersion des nanoparticules. Toute dispersion qui demeure dans la partie conique inférieure de la fiole doit être éliminée en donnant un léger coup sur la fiole inversée ou en agitant celle-ci de haut en bas. Pour prévenir la contamination, garder le bouchon sur la fiole en tout temps, sauf lors du prélèvement des aliquotes d'essai.

---

<sup>2</sup> Norme internationale ISO 22412:2017, Analyse granulométrique – Dispersion lumineuse dynamique (DLD).

<sup>3</sup> Norme internationale ISO/TR 3666:1998, Viscosité de l'eau.

<sup>4</sup> Y.-S. Liu, Y.-F. Hu, Q.-C. Hao, X.-M. Zhang, Z.-C. Liu et J.-G. Li, « Viscosity and Density of the System NaCl + LaCl<sub>3</sub> + H<sub>2</sub>O and Its Binary Subsystems at Different Temperatures », *J. Chem. Eng. Data*, 2009, vol. 54, n° 3, p. 739–744.

<sup>5</sup> J. F. Swindells, C. F. Snyder, R. C. Hardy et P. E. Golden, Viscosities of sucrose solutions at various temperatures: Tables of recalculated values, Technical Report No. 463432 (Supplement to National Bureau Standards Circular 440), 1958.

Pour prendre des mesures, disperser une aliquote de 10 µl de préparation ALNP-1 dans 500 µl de PBS 1x de Dulbecco, bien mélanger la dispersion en prélevant et redéversant la solution à répétition à l'aide d'une pipette en veillant à n'injecter aucune bulle d'air, et insérer la cellule échantillon dans un compartiment à échantillon en vérifiant que l'équilibre thermique a été atteint à la température de mesure. Avant d'insérer la cellule dans le compartiment, il faut éliminer toute bulle d'air qu'elle contient en la tapotant sur une surface dure ou en lui donnant une chiquenaude. L'homogénéité de l'ALNP-1 n'a pas été évaluée pour des aliquotes inférieures à 10 µl. Par conséquent, les valeurs certifiées pourraient ne pas être valides pour des quantités d'essai inférieures à 10 µl.

La valeur certifiée de la taille moyenne Z n'est valide que pour le contenu de la fiole qui est utilisé le même jour que la décongélation de la fiole et sa première ouverture, dans les six heures suivant son retrait du congélateur d'entreposage à -70 °C.

N.B. : Prendre soin de bien disperser l'aliquote d'ALNP-1 diluée aux fins des mesures. Il peut arriver qu'un nombre considérable de dimères et de petits agglomérats demeurent dans la cellule après la préparation de l'échantillon, donnant lieu à une valeur apparente de taille moyenne Z supérieure à la valeur certifiée de quelques nanomètres, une mesure corrélée à une augmentation apparente de l'indice de polydispersité (Pdl) par rapport à la valeur de référence indiquée ci-dessous. Si l'on présume que c'est le cas, il faut améliorer la dispersion de l'ALNP-1 en procédant à de nouveaux prélèvements et déversements avec la pipette, puis répéter les mesures. La plupart du temps, ces manipulations supplémentaires avec la pipette suffisent pour disperser les agglomérats résiduels. Si les mesures répétées donnent des valeurs apparentes de taille moyenne Z excessivement grandes, l'échantillon pourrait avoir été contaminé. Il faut alors le jeter et en préparer un nouveau.

### Valeurs de référence

Les valeurs de référence sont celles pour lesquelles il est possible que toutes les contributions à l'incertitude n'aient pas été pleinement prises en compte, la traçabilité métrologique n'a pas été fournie, ou d'autres facteurs ont empêché le CNRC d'établir le plus haut niveau de confiance. Les valeurs présentées ci-dessous conviennent à l'élaboration de méthodes, aux comparaisons interlaboratoires, au contrôle de la qualité et à d'autres utilisations générales en laboratoire. Elles sont fournies à titre d'information uniquement; par conséquent, le CNRC ne peut garantir de soutien ultérieur relativement à leur maintenance.

**Indice de polydispersion.** Les meilleures estimations du Pdl de l'ALNP-1 et de l'incertitude élargie correspondante sont respectivement de 0,041 et de 0,008. Lorsqu'une préparation est entreposée à 4 °C aux fins d'une utilisation prolongée, le Pdl diminue avec le temps pour atteindre environ 0,035 après deux semaines, après quoi il reste inchangé pendant plusieurs semaines.

**Diamètre hydrodynamique de l'ALNP-1 entreposé à 4 °C pendant une période prolongée.** Une fois décongelé, l'ALNP-1 reste stable pendant plusieurs mois lorsqu'il est entreposé à 4 °C. On ne constate qu'une petite augmentation de la valeur de son diamètre hydrodynamique, proportionnelle à la racine cubique de la durée d'entreposage à 4 °C. Si l'ALNP-1 est transféré immédiatement dans un endroit d'entreposage à 4 °C après sa première utilisation et qu'il fait l'objet d'essais ultérieurs, il convient de corriger comme suit la valeur du diamètre hydrodynamique indiquée dans le présent certificat :

$$\bar{x}_{DLS}(t) = \bar{x}_{DLS} + \alpha \sqrt[3]{t}, \quad \text{Éq. 1}$$

où  $t$  est le temps écoulé depuis que la fiole a été retirée du congélateur d'entreposage à -70 °C, et  $\alpha$  est le coefficient de croissance de la taille, dont la valeur moyenne est de 1,0 nm·jour<sup>-1/3</sup>. Il est recommandé de limiter à 14 jours l'utilisation prolongée de l'ALNP-1 entreposé à 4 °C. Comme les valeurs du

coefficient de croissance de la taille varient selon la fiole et possiblement aussi selon le nombre d'ouverture de celle-ci, à l'intérieur d'une plage allant généralement de 0,8 à 1,2 nm·jour<sup>-1/3</sup>, toute utilisation de l'ALNP-1 entreposé à 4 °C après 14 jours relève de la responsabilité de l'utilisateur.

**Diamètre hydrodynamique de l'ALNP-1 décongelé et recongelé à -70 °C à répétition.** Il est possible de recongeler les fioles après la première utilisation et de les décongeler ultérieurement à des fins de mesure. Dans ce cas, la valeur du diamètre hydrodynamique indiquée dans le présent certificat devrait être corrigée au moyen de l'Éq. 1, où  $t$  est cette fois le temps total pendant lequel le contenu de la fiole a été maintenu à l'état décongelé entre les recongelations. Il est recommandé de ne pas répéter plus de cinq fois le cycle de congélation et décongélation, et de ne pas laisser le temps total  $t$  de l'ensemble des cycles dépasser 24 heures. L'utilisation de l'ALNP-1 hors de ces limites n'a pas été soumise à essai et relève donc de la responsabilité de l'utilisateur.

### **Système de management de la qualité (ISO 17034, ISO/IEC 17025)**

Ce matériau a été produit conformément au système de gestion de la qualité de Métrologie du CNRC, qui satisfait aux exigences des normes ISO 17034 et ISO/IEC 17025.

Le système de gestion de la qualité de Métrologie, sur lequel s'appuient les aptitudes du CNRC en matière d'étalonnage et de mesure, telles qu'elles sont indiquées dans la base de données des comparaisons clés du Bureau international des poids et mesures (BIPM) (<http://kcdb.bipm.org/>), a été examiné et approuvé sous l'autorité du Système interaméricain de métrologie (SIM) et jugé conforme aux attentes de l'Arrangement de reconnaissance mutuelle du Comité international des poids et mesures (CIPM). L'approbation du SIM est disponible sur demande.

### **Le présent document devrait être cité de la manière suivante :**

Jakubek, Z. J., S. Chen, Y. Y. C. Tam et S. Zou, ALNP-1 nanoparticules de lipidiques anioniques de matériaux de référence certifiés: certificat d'analyse. Conseil national de recherches Canada, Ottawa, Ontario (Canada), 2023. DOI: [10.4224/crm.2023.alnp-1](https://doi.org/10.4224/crm.2023.alnp-1).

**Date de délivrance : mars 2023**

**Version du document: ALNP-1\_1\_032023**

**Approuvé par :**

\_\_\_\_\_  
Shan Zou, Ph. D.  
Chef d'équipe, Mesure à l'échelle nanométrique  
CNRC-Métrologie

**Le présent certificat n'est valide que si le matériau correspondant a été obtenu directement auprès du CNRC ou d'un de ses vendeurs autorisés.**

Conseil national de recherches Canada  
Métérologie  
1200, chemin de Montréal  
Édifice M36, Pièce 1029  
Ottawa (Ontario) K1A 0R6

**Téléphone** : 613-993-2359

**Télécopieur** : 613-993-8915

**Courriel** [CRM-MRCOttawa@nrc-cnrc.gc.ca](mailto:CRM-MRCOttawa@nrc-cnrc.gc.ca)

