



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Centre Universitaire Nour Bachir - El-Bayadh
المركز الجامعي نور البشير-البيضاء

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Cahier technique - 1 :

Technologie et maintenance des équipements de laboratoires des Sciences de la Nature et de la Vie

À l'usage de :

- Laborantins ;
- Étudiants de la troisième année des Sciences de la nature et de la vie ;
- Étudiants de la deuxième année laborantins de la santé publique.

Mostefa NAIMI


Maître-Assistant A, CUNB, El-Bayadh

Table des matières

Table des matières	i
Liste des abréviations	iii
1. Introduction	1
2. Mise en contexte	3
2.1 Qu'est-ce qu'un laboratoire ?	3
2.2 Que veut dire maintenance ?	3
3. Balances	5
3.1 Principe	5
3.2 Qu'est-ce qu'elle mesure	5
3.3 Type de balance	6
3.4 Dysfonctionnement et maintenance	7
4. Centrifugeurs	8
4.1 Principe	8
4.2 Force centrifuge relative	9
4.3 Coefficient de sédimentation Svedberg et le facteur K	9
4.4 Classe de centrifugeurs	10
4.5 Type de rotor	11
4.6 Tubes pour centrifugation	13
4.7 Dysfonctionnement et maintenance	13
5. Appareils à vide	15
5.1 Principe	15
5.2 Filtration sous vide	15
5.3 Filtration sous membrane	16
5.4 Système d'aspiration	17
5.5 Dysfonctionnement et maintenance	17
6. Microscopes optique	19
6.1 Principe	19
6.2 Type de microscope	19
6.3 Composantes de microscope optique	20
6.4 Pourquoi utilise-t-on l'huile à immersion ?	22
6.5 Comment calculer	22
6.6 Dysfonctionnement et maintenance	22

7. Polarimètre	19
7.1 Principe	19
7.2 Différentes parties à décrire	19
7.3 Mise à zéro et la mesure en degré S	20
7.4 Le pouvoir rotatoire spécifique de la substance active dissoute ?	20
7.5 Comment calculer la concentration ?	20
8. Spectrophotomètre	23
8.1 Principe	23
8.2 Eléments de base du spectrophotomètre	23
8.3 Mise à zéro, étalonnage et mesure	24
9. pH mètre	27
9.1 Principe	27
9.2 Parties de pH mètre	27
9.3 Etalonnage et mesure de Ph	28
9.4 Peut- on faire une correction d'une mesure déjà faite ?	28
Références bibliographiques	29

Liste Des Abréviations



mg	Milligramme
g	Gramme
kg	Kilogramme
N	Newton
SI	Système international
x g	Force de gravité
FCR	Force centrifuge relatif
rpm	Rotation par minute
mm	Millimètre
cm	Centimètre
dm	Décimètre
S	Svedberg
°C	Degré Celsius
µm	Micromètre
s	Seconde
min	Minute
h	Heure
ml	Millilitre
L	Litre
mol	Mole
°S	Degré Saccharimétrique
T°	Degré Température
DO	Densité optique
Na	Sodium
nm	Nanomètre
CFM	Confirmation
Cal	Calibration

1. Introduction

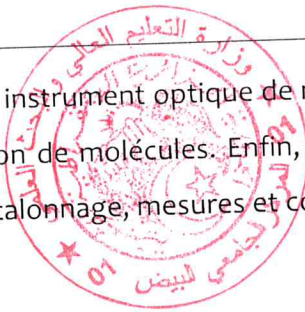
Les laboratoires pédagogiques, ceux de contrôle de qualité ou d'analyses médicales effectuent une variété d'analyses, allant d'une simple détermination de masse ou de pH au dosage quantitatif de certaines molécules comme les sucres et les protéines, ou qualitatif portant sur d'autres molécules comme les acides gras et les acides aminés. La fiabilité et la précision des résultats de ces analyses restent la préoccupation majeure, dont elle passe, premièrement par une connaissance parfaite des principes de fonctionnement de techniques de laboratoire utilisées à l'instar de la balance, du pH-mètre, de la centrifugeuse, du spectrophotomètre, etc.

Ce modeste travail (cahier technique - 1) est le fruit de diverses lectures de livres et manuels, s'ajoutant à une expérience de neuf ans dans les laboratoires (pédagogiques, d'autocontrôle et de la répression des fraudes) et de deux ans d'enseignement du module technologie et maintenance, spécialité laborantin de santé publique, Institut National de Formation Supérieure Paramédicale (INFSPM), Dr. Djebbari Abdelkrim, Saïda.

Ce présent *cahier technique - 1 : technologie et maintenance des équipements de laboratoires des sciences de la nature et de la vie*, a pour objectif de mettre entre les mains des lecteurs (étudiants, laborantins ou toute personne active au niveau de ce genre de laboratoire) un support où ils trouvent les principes de fonctionnement des divers appareils de laboratoire, aussi les dysfonctionnements et les principales notions de maintenance.

Il est structuré en sept chapitres, le premier est une mise en contexte du lecteur : définitions des termes laboratoire et maintenance. Le second expose les balances de laboratoire et la différence entre celles dites de précision et analytique. Le troisième passe en revue les classes de centrifugeuses, les types de rotor et de tube recommandés pour la centrifugation. Le quatrième traite des appareils de filtration sous-pression atmosphérique et sous-pression réduite, ainsi que les types de filtres entonnoir et papier. Tandis que le cinquième concerne le microscope optique, type et composante. Le sixième chapitre est consacré au polarimètre, instrument optique de mesure de degré °S, pouvoir rotatoire spécifique et concentration de la substance active dissoute. Par ailleurs, le septième chapitre est

consacré au spectrophotomètre, instrument optique de mesure de densité optique, de transmittance et concentration de molécules. Enfin, le huitième chapitre porte sur le pH-mètre, composantes, étalonnage, mesures et corrections.



2. Mise en contexte

2.1 Qu'est-ce qu'un laboratoire ?

2.2 Que veut dire maintenance ?

2.1 Qu'est-ce qu'un laboratoire ?

Le laboratoire, qui du latin *laboratorium* signifie lieu de travail, est un espace qui rassemble les moyens humains (personnels, techniques, administratifs et de soutien) et les moyens matériels, ceci afin d'exécuter une activité de recherches, d'analyses, ou des tests. Un laboratoire type comporte les installations, le mobilier et l'équipement suivants :

- (i) Les installations, en plus du local aménagé, sont principalement les paillasse (plan de travail), une paillasse peut être construite en dure ou amovible, sèche ou humide, avec ou sans dossier qui sert à ranger le matériel (Figure. 1).
- (ii) Le mobilier est représenté par l'ensemble des armoires (métalliques, coffre-fort, vitré), tabourets de manipulation, chaises, porte-manteau et bureau (Figure. 2).
- (iii) Et en dernier l'équipement dont on distingue deux types : le consommable représenté essentiellement par la verrerie, à savoir béchers, éprouvettes, fioles, pipettes, pissettes, etc., et le non consommable représenté par les appareils de mesure (analyses quantitatives : balances, centrifugeuse, polarimètre, pH-mètre, colorimètre, photomètre, etc.) et d'autres moyens d'analyse (analyse qualitative : telle que la chromatographie et l'électrophorèse). Ces appareils doivent faire l'objet - d'une manière systématique - d'entretien (vérification), d'étalonnage (calibrage) et de maintenance (Figure. 3).

2.2 Que veut dire maintenance ?

La maintenance curative (corrective) consiste essentiellement à entreprendre des actions de réparation pour la remise en état de fonctionnement d'un équipement (en marche ou à l'arrêt) suite à des pannes d'origine diverses (électrique, accidentelle, etc.). Ces actions sont de deux sortes : les réparations

suite à des pannes et les réparations suite aux vérifications effectuées par l'utilisateur (laborantin, étudiant, etc.). Cependant, une maintenance préventive existe, dépend principalement de l'emploi correct et surtout soigneux suite à une connaissance parfaite du principe de fonctionnement de l'appareil.

3. Balance

3.1 Principe

3.2 Qu'est-ce qu'elle mesure ?

3.3 Type de balance

3.4 Dysfonctionnement et maintenance

3. Balance

3.1 Principe

La Balance, du latin populaire *bilancia*, du latin classique *bis* : deux, et *lanx* (*lancis*) : plateau, est l'un des éléments du matériel de laboratoire le plus utilisés, la plupart des balances sont conçues pour être simples à utiliser. Cependant, un pesage précis est essentiel pour parvenir à des résultats expérimentaux précis, de ce fait il est important d'apprendre à utiliser et à étalonner une balance de laboratoire correctement.

3.2 Qu'est-ce qu'elle mesure ?

La balance calcule la masse de l'objet à soumettre à l'analyse (quantité de la matière), exprimée en mg, g ou kg (SI). Aussi, la balance, calcule le poids qui fait référence à la force de gravitation (attraction terrestre) exercée sur cet objet qui est égale au produit de la masse par l'intensité locale de la pesanteur (approximativement égal à 9.81), donnée par la formule : $F \text{ (N)} = m \text{ (kg)} \times g \text{ (m.s}^{-2}\text{)}$. Si la masse est constante, son poids sera assez similaire à tous les points de la terre, ceci à cause de légères variations de la valeur locale de la pesanteur. Le poids est exprimé en Newton (N).

Une différence pratique, masse ou poids ? Les balances mécaniques mesurent directement la masse par comparaison, de l'objet, avec une référence (masses marquées). Inversement, les balances électroniques mesurent la force à laquelle l'objet pousse vers le bas le plateau de pesée, donc le poids, et non pas la masse. Ainsi le plateau transfère une charge concentrée en une force unique qui peut être mesurée par un dispositif appelé cellule de charge en produisant un signal de sortie correspondant à cette force. Ces balances électroniques, utilisées en laboratoire afin de calculer la masse, mesurent directement le poids, qui est ensuite divisé par la constante de gravité et par conséquent, la valeur affichée (numérique)

représente la masse de l'objet pesé. Bien que cette différence existe, les termes masse et poids sont souvent utilisés indifféremment dans l'usage courant.

3.3 Type de balance

Les balances couramment utilisées dans les laboratoires sont de deux types : mécanique et électronique. Le premier type regroupe plusieurs modèles : à ressort, à curseur, d'analyse (balances à deux plateaux) et tout le reste. Le second, regroupe une myriade de variétés, qui sont disponibles aujourd'hui, elles sont plus sensibles, plus précises, plus faciles et plus pratiques.

a. Balance ROBERVAL (à deux fléaux)

C'est une balance de type mécanique et de modèle à plateaux supportés, elle doit son nom à son inventeur Gilles Personne de ROBERVAL (1669). Une balance à deux fléaux. La balance Roberval se compose d'un fléau et d'un contre-fléau (à bras égaux). Ces deux pièces sont associées l'une à l'autre par les tiges qui supportent les plateaux. Une aiguille fixée sur le fléau supérieur se déplace devant un cadran qui permet de repérer sa position. Il existe deux sortes de balances Roberval : l'aiguille peut être dirigée vers le bas ou vers le haut. L'objet, dont on veut mesurer la masse, est placé dans un des plateaux, l'équilibre est rétabli par des masses marquées, qui permettent ainsi de connaître la masse de l'objet (et son poids en multipliant la masse par xg).

b. Balance de précision ou bien analytique ?

On entend par balance de précision les balances de laboratoire dont la précision est comprise entre 0.1 mg (soit 0.001 g : 3 chiffres décimaux) et 1 g, alors que les balances analytiques permettent de donner une mesure à une masse infime, ils peuvent mesurer à la plus proche de 0.01 mg (soit 0.00001 g : 5 chiffres décimaux), cette sensibilité est due à l'extrême sensibilité de la cellule de charge. Ces balances, pour beaucoup d'entre elles, sont constituées : d'une chambre de pesée, d'un plateau de pesée (porte-échantillon), un support de plateau (appelé un point d'appui), une cellule de charge, un élément d'affichage et de commande (numérique), un détecteur de stabilité, des pieds de réglage et un niveau à bulle.

Typiquement, un laboratoire de Biologie doit être doté de deux en minimum, une analytique et une autre de précision avec une portée relativement élevée.

3.4 Dysfonctionnement et maintenance

Chaque balance a une conception et par conséquent, un mode d'emploi qui est expliqué en détail dans le manuel d'utilisation fourni par le fabricant. Onze points à retenir si on veut diagnostiquer à bien les dysfonctionnements fréquemment rencontrés. La balance doit être :

- ✦ Installée sur une surface adéquate, stable et plane ;
- ✦ À l'abri de l'humidité extrême et les vibrations (dues aux, centrifugeurs, réfrigérateurs, ou tout moteur électrique) ;
- ✦ Aussi loin de sources, de changement de température (dues aux, radiateur, climatiseur ou aux rayons de soleil), courants d'air (causés par des fenêtres ou des portes ouvertes), champ magnétique (due aux agitateurs, etc.) ;
- ✦ Alimentée conformément à la tension indiquée ;
- ✦ Raccordée avec son propre cordon électrique ;
- ✦ Mise à niveau pour rattraper les inégalités de la surface de travail ;
- ✦ Mise à zéro avant la lecture ;
- ✦ Nécessairement calibrée, à chaque fois installée dans un nouvel emplacement. Il faut noter que, du fait de la légère variation de la force de gravitation, chaque balance doit être calibrée à son emplacement exact ;
- ✦ Contrôlée périodiquement par pesée de la masse de référence ou d'ajustage, ceci pour garantir sa précision ;
- ✦ Maintenir propre (nettoyée avec un chiffon légèrement humecté d'eau savonneuse et essuyée avec un chiffon sec) ;
- ✦ Utilisée et entretenue avec soins (éviter des pesées brutales ou qui pèsent plus que la portée).

4. Centrifugeur

- 4.1 Principe
- 4.2 Force centrifuge relative
- 4.3 Coefficient de sédimentation Svedberg et le facteur K
- 4.4 Classe de centrifugeurs
- 4.5 Type de rotor
- 4.6 Tubes pour centrifugation
- 4.7 Dysfonctionnement et maintenance

4. Centrifugeur

4.1 Principe

Le terme centrifugeur vient des mots latins *centrum* qui signifient centre et *fugere* qui signifient fuir. Un centrifugeur utilise un rotor qui porte des emplacements, situés symétriquement de part et d'autre de l'axe, qui peuvent recevoir des récipients contenant l'échantillon à qui une force centrifuge est appliquée, force agissant sur un corps tendant à le pousser vers l'extérieur du tube (si elles sont plus denses que le liquide) ou vers l'axe (si elles sont plus légères que la phase liquide).

Le centrifugeur est un équipement destiné pour des activités de laboratoire afin de : (i) séparer deux (ou plus) phases liquides de différentes densités ; (ii) de fractionner une phase solide en suspension dans une phase liquide par sédimentation (la partie située dans le fond du tube est appelée culot et la partie supérieure est appelée surnageant).

Il existe une grande variété de modèles dans diverses tailles avec une classe d'appareils en fonction des besoins expérimentaux allant du centrifugeur à des vitesses relativement basses, moyennes, haute vitesse, et à l'ultra vitesse.

Ceux avec une vitesse relativement faible sont utiles pour la séparation rapide d'une protéine. Ceux à haute vitesse sont principalement utilisés pour la séparation de cellules entières, des débris cellulaires, ou des organites plus grands tels que les noyaux, les mitochondries, etc., ceux à ultra vitesse, vitesse très élevée, sont utilisés dans la séparation de petits organites.

4.2 Force centrifuge relative

La force centrifuge relative (FCR) exprimée en multiple de l'accélération terrestre ($\times g$) (nombre de fois la force de gravité ($\times g$)). Cette force centrifuge est donnée par la formule : $FCR (\times g) = 1,12 r n^2$ (où r : rayon de centrifugation exprimé en mm et n : (nombre de tours par minutes = rpm) / 1000). Plus la force centrifuge relative est élevée plus la sédimentation sera rapide. Une conversion de la force centrifuge relative en vitesse de centrifugation exprimée en tours par minute (rpm) peut être obtenue en utilisant la valeur maximale de r : r_{max} , qui est égale à la distance entre l'axe de rotation et le fond du tube de centrifugation. À ce propos, des tableaux nous fournissent des valeurs r_{max} pour des rotors couramment utilisés et de même la FCR ($\times g$) et la vitesse (rpm) de centrifugation qui correspondent sont utilisées. Alternativement des tables (nomogrammes) permettent de déterminer la FCR ($\times g$) lorsque la vitesse (rpm) et r_{max} sont connus, ou bien la vitesse (rpm) lorsque la FCR ($\times g$) et r_{max} sont connus, sont également utilisées, cela se fait par alignement d'une règle pour les deux valeurs connues et la lecture de la valeur inconnue.

4.3 Coefficient de sédimentation Svedberg et le facteur K

Le coefficient S , fut nommée en l'honneur de Theodor Svedberg, lauréat du prix Nobel de chimie, est la vitesse de sédimentation divisée par la force centrifuge, en Svedberg (S) : équivalent de 10^{-13} secondes. Des coefficients de sédimentation sont disponibles dans la littérature et peuvent également être déterminés avec une centrifugation. Les grandes organelles telles que les mitochondries peuvent avoir des coefficients de sédimentation $> 10.000 S$ tandis que les protéines individuelles sont généralement $< 10 S$, les sous-unités ribosomiques ont des coefficients de $30 S$ et $50 S$.

Tandis que, le facteur K est une valeur spécifique à la conception du rotor, qui sert à évaluer le temps de centrifugation nécessaire pour obtenir un culot d'une particule d'un coefficient de sédimentation connu. Autrement dit, pour un rotor tournant à sa vitesse maximale, le facteur K donne le temps de précipitation (t)

pour un coefficient de sédimentation donnée. En outre, le facteur K est utilisé pour comparer l'efficacité des rotors.

Il faut noter qu'un coefficient S supérieur signifie une sédimentation rapide. Alors qu'un facteur K inférieur signifie une sédimentation rapide.

4.4 Classe de centrifugeurs

Les centrifugeurs sont présents sous deux grands groupes : (i) les centrifugeurs de paillasse aussi nommés de table et (ii) les centrifugeurs de sol. Ces deux groupes comportent trois classes : (a) à basse, (b) à haute et (c) à ultra vitesse :

a. Centrifugeur à des vitesses relativement basses

Cette classe permet d'atteindre de faibles accélérations de 1,000 à 3000 x g soit des vitesses de rotation par minute avec un maximum de 3,000 rpm. Ces centrifugeurs à des vitesses basses sont conçus pour être placés sur paillasse ou sur table et pour recevoir des petits et des moyens volumes. Certains d'entre eux sont réfrigérés, certains d'autres non. Cette classe renferme aussi les microcentrifugeurs spécialement conçus pour les micros volumes de 1 à 1,5 ml et qui permettent d'atteindre des accélérations moyennes de l'ordre de 18,000 x g soit des vitesses de rotation par minute ont un maximum de 14,000 rpm. Ces microcentrifugeurs peuvent être réfrigérés.

b. Centrifugeur à haute vitesse

Cette classe permet d'obtenir pour les plus petits rotors des accélérations d'environ 100,000 x g soit des vitesses de rotation par minute de l'ordre de 30,000 rpm. Ces centrifugeurs à des hautes vitesses sont conçus pour être placés sur sol et pour centrifuger de moyens et grands volumes. Certains rotors peuvent contenir des emplacements pour des récipients de 250 à 500 ml. Ils sont tous réfrigérés.

c. L'ultracentrifugeur

Cette classe permet d'atteindre des accélérations très élevées jusqu'à 1,000,000 x g soit des vitesses de rotation par minute très rapide de l'ordre de 130,000 rpm. Ces centrifugeurs ultras rapides sont conçus pour être placés sur le sol et pour centrifuger de moyens et grands volumes mais qui sont un peu limités que la précédente, généralement des volumes qui n'excèdent pas les 40 ml. Ils sont équipés de pompes à vide, afin de créer des pressions très réduites pour obtenir de telles vitesses, aussi ces faibles pressions permettent d'éviter la surchauffe du rotor et même de l'échantillon. Ils sont tous réfrigérés.

Quel que soit le groupe ou la classe du centrifugeur, ce dernier est composé généralement des éléments suivants : base, couvercle, boîtier, moteur électrique, un afficheur numérique tous paramètres, groupe de froid (4 °C) sur les centrifugeurs réfrigérés, pompe à vide sur les ultracentrifugeurs et un rotor dont on distingue différents types.

4.5 Type de rotor

Il existe trois grands types de rotors : à angle fixe, à godets mobiles et verticaux, essentiellement conçus pour être suffisamment résistants pour supporter les accélérations (vitesses) voulues mais aussi suffisamment légères pour que le moteur puisse les faire tourner à la vitesse requise. Les rotors conçus en acier sont destinés pour les centrifugeurs à des faibles vitesses. Les autres conçus, en alliages à base de métaux comme l'aluminium et le titane ou à base de fibres de carbone, à la fois légers et résistants sont destinés pour les centrifugeurs à forte vitesse (haute et ultra vitesse).

a. Les rotors à angle fixe

Les rotors d'usage courant, aussi appelés rotors angulaires du fait qu'ils sont inclinés par rapport à l'horizontale, généralement avec un angle qui varie de 20° à 40° selon le modèle. Ces rotors compacts, conçus d'aluminium ou de titane, ont un

rayon relativement court assurant des vitesses moyennes et élevées. La sédimentation commence par projeter des particules contre la paroi du tube et finit par accumulation sur le fond du tube par glissement pour former ainsi le culot. Ces rotors sont très utilisés pour la technique de centrifugation différentielle.

b. Les rotors à godets mobiles

Les rotors communément utilisés qui permettent une meilleure séparation, encore appelés rotors à angle mobile, à godets oscillants, ou rotors libres puisqu'ils se réorientent au moment de la centrifugation. Les godets sont disposés sur des crochets avec un système à bascule. Dès début de la rotation les godets et les tubes qu'ils contiennent sous l'effet de la force centrifuge, se réorientent et passent en position horizontale ce qui allonge le rayon du rotor et par conséquent, si comparés aux précédents, ne peuvent pas atteindre des vitesses très élevées. La séparation passe directement dans le fond du tube et les particules s'accumulent dans le fond du tube. Ces rotors permettent la formation de bandes bien définies et de culots plus homogènes. Ils sont très utilisés pour la centrifugation isopycnique (séparation par densité) et la centrifugation zonale (séparation par taille), lorsqu'une résolution maximale des zones est requise pour un échantillon.

c. Les rotors verticaux

Les rotors beaucoup moins répandus, aussi appelés rotors à tube verticaux du fait que les tubes restent parallèles à l'axe de rotation en position verticale. Ces rotors sont conçus tout comme les rotors à angle fixe compacts et à partir d'aluminium, ou de titane, toutefois ils assurent des vitesses beaucoup plus grandes, même plus que les rotors à godets mobiles. La séparation commence par formation de bandes de particules parallèles à l'axe des tubes, puis aux files de rotation les bandes de particules se réarrangent et prennent une orientation horizontale. Ces rotors sont utilisés comme leurs précédents, mais surtout lorsqu'il est important d'avoir un temps de centrifugation court.

4.6 Tubes pour centrifugation

Les tubes pour centrifugeurs peuvent être en : verre ordinaire ou bien spécial, nitrocellulose, polyallomère (PA), polypropylène (PP), ou polyéthylène (PE), etc. Les tubes en verre ordinaire peuvent être utilisés à moins 3,000 rpm. Au-dessus de cette vitesse, ce type de verre peut se briser, le verre spécial peut être utilisé jusqu' à 18,000 rpm. Des tubes en nitrocellulose, polypropylène, polyéthylène peuvent résister au-delà de 20,000 rpm.

4.7 Dysfonctionnement et maintenance

Il existe une vaste gamme de centrifugeuses, dont chacune, a sa propre conception. D'une manière générale les règles suivantes doivent être respectées afin de garantir une utilisation correcte et un fonctionnement optimal. Le centrifugeur doit être :

- ✦ Utilisé conformément aux instructions figurant sur le manuel d'utilisation ;
- ✦ Alimenté conformément à la tension indiquée et raccordé avec son propre cordon électrique ;
- ✦ Installé sur une surface (paillasse, sol) stable et plane avec une ventilation adéquate et à une hauteur telle que le manipulateur puisse voir à l'intérieur de la cuve ;
- ✦ Gardé propre et sec et sans traces de liquides à effet corrosif (sels, bases, acides, détergents, brosse, etc.) de métal qui créerait des faiblesses de rotor. De tels rotors doivent être déclassés ;
- ✦ Utilisé uniquement avec ses propres rotors (ceci évite le bris du rotor ou celui du moteur) et les récipients adaptés (ceci évite le bris de verre et les fractures de ceux en plastique) ;
- ✦ Utilisé à ses vitesses appropriées ;
- ✦ Chargé (rotor) de façon uniforme et les récipients doivent être placés symétriquement ;
- ✦ Chargé (récipients) au niveau approprié, généralement pleine à au moins 1 cm ;

- ✦ Décontaminé avec un désinfectant germicide et nettoyé avec un détergent doux et de l'eau de Javel diluée ;
- ✦ Étalonné (vitesses) périodiquement, ainsi les vitesses mesurées devraient pas différer de $\pm 5\%$;
- ✦ Étalonnée (minuterie et température de centrifugation), ainsi la valeur de la minuterie et de la température mesurées ne devrait pas différer de ± 2 s et de $\pm 1^{\circ}\text{C}$, respectivement.

5. Appareils à vide

- 5.1 Principe**
- 5.2 Filtration sous vide**
- 5.3 Filtration sous membrane**
- 5.4 Système d'aspiration**
- 5.5 Dysfonctionnement et maintenance**

5. Appareils à vide

5.1 Principe

La filtration consiste à séparer les particules solides se trouvant dans un liquide. Donc, nous dirons que l'on précipite les particules solides ou que l'on filtre le liquide. Il existe deux modes de filtration. La filtration simple sous pression atmosphérique (par gravité : pour cela, nous utilisons un entonnoir de forme conique ; un filtre généralement en papier, conique ou plissé, qui doivent être sans cendre et qui sont classés par porosité (les filtres dits lents avec une porosité très fine et les filtres dits rapides avec une porosité plus grande) ; une fiole erlenmeyer afin de recueillir le liquide. Le second mode est la filtration sous vide (par aspiration sous pression réduite), pour cela nous utilisons : des entonnoirs de forme spéciale ; aussi des filtres et des fioles spéciales ; et comme particularité, nous utilisons un système d'aspiration souvent plus rapide et plus efficace.

5.2 Filtration sous vide

La filtration sous vide utilise la dépression créée par le système d'aspiration sous l'entonnoir porte filtre ou l'entonnoir filtre afin d'accélérer la filtration. Le montage de base est constitué de : une fiole à vide de volume supérieur à celui du liquide à filtrer qui doit être fermement maintenu par une pince ; un joint conique en caoutchouc pour assurer l'étanchéité entre le filtre et la fiole ; un flacon de garde situé entre la fiole à vide et le système d'aspiration, ce dernier permet d'obtenir un vide relatif. Généralement, deux types de filtres (entonnoirs) sont utilisés :

a. Büchner

Les filtres de type Büchner, sont conçus en porcelaine, est en forme cylindrique à fond plat perforé à gros trous, soit ils sont utilisés tels qu'ils sont soit utilisés placés au-dessus d'un filtre ayant la forme en feuille disque, plane et mince (de l'ordre de centaines de microns), conçus en papier cellulose (Whatman, Ederol, Delta, etc.), qui doivent être purs, sans cendre (0,007 %) et résistants et dont chacun

a une référence (grade) et des applications probables, à titre d'exemple pour papiers-filtres standard Whatman : celui portant grade 41, a une porosité de 20-25 μm , est préféré pour des filtrations très rapides des précipités grossiers et gélatineux avec un temps de filtration égale à 3,4 s ; celui portant grade 43, a une porosité de 16 μm , est préféré pour des filtrations moyennes à rapides des précipités moyennement fins avec un temps de filtration de 8,9 s ; tandis que celui portant grade 42, a une porosité de 2,5 μm , est préféré pour des filtrations très lentes des précipités très très fins avec un temps de filtration égale à 107 s. Il faut noter que ces filtres en papiers doivent être suffisamment grands afin de couvrir la totalité du fond plat perforé, mais sans remonter le long des parois.

b. Verre fritté

Les filtres en verre fritté, sont conçus en verre spécial, est en forme cylindrique à fond plat contient un disque en verre fritté, de porosité fixée qui est indiquée par des numéros (0, 1, 2, 3, 4, 5) qui correspondent respectivement à la taille des pores en μm (160-250, 100-160, 40-100, 16-40, 10-16, 1-10), chaque filtre à des applications probables, à titre d'exemple : le filtre portant porosité 4 qui a une taille des pores 10-16 μm est pour application précipitée très fins (Cu^2O). Tandis que celui portant porosité 5 qui a une taille des pores 1-10 μm est pour application filtration bactérienne.

Avec comme remarque, ce type de filtre est utilisé dans des conditions de pH extrêmes (où le papier ne résisterait pas). Toutefois, il n'est pas utilisé avec des solutions d'acide qui réagit avec la silice du verre.

5.3 Filtration sur membranes

La filtration sur membrane est réalisée soit au moyen des rampes de filtration à plusieurs postes conçus pour un nombre élevé de filtrations, soit au moyen d'un seul poste de filtration, quant à eux, conçus pour un nombre réduit de filtrations. Pour ce dernier, le montage de base est constitué de : support de filtration à un poste en acier inoxydable sur lequel un fritté en acier inoxydable est placé et maintenu par un joint plat en silicone qui est en position centre entre les deux. Une membrane filtrante stérile est placée sur le fritté. Ensuite, un entonnoir en acier inoxydable, avec couvercle muni d'un joint en silicone, est placé de sa partie inférieure de façon à coincer la membrane filtrante, ceci simplement en le tournant dans le sens des aiguilles d'une montre et le verrouillé à l'aide de la pince. L'ensemble est lié à une fiole à vide qui à son tour lié, à l'aide du tuyau, à un flacon appelé flacon de Woulff, présent pour la protection du système d'aspiration. En cas d'une rampe de filtration multiposte il y a un support de base avec un robinet à 3 voies.

Quelle membrane pour quelle application ? Les filtres membrane sont des structures en feuille, plane, mince, ronde et poreuse comme un tamis, sont conçues à partir de mélange d'esters de cellulose, de polymères similaires (nitrate de cellulose, acétate de cellulose), ou à partir d'autres polymères (polyamide, polypropylène, polycarbonate, polytétrafluoroéthylène = téflon "PTFE"). Ces filtres doivent : être chimiquement inertes, fournit ainsi un environnement de collecte optimale ; ne relarguent pas de fibres ; être résistants aux actions des bases, des acides, des hydrocarbures, etc. ; être thermostables, peut être passée la température d'autoclave d'une manière satisfaisante. Aussi ces filtres sont avec un quadrillage imprimé à la surface du filtre pour un comptage et une localisation simplifiés des colonies sous un microscope, loupe ou à l'œil nu. Les particules solides (biologique ou non biologique) dont la taille (en micron) dépasse le diamètre des pores sont trouvées, retenues par piégeage aléatoire et adsorption, à la surface du filtre. Chaque centimètre carré de la surface de filtre contient des millions de pores de taille uniforme d'où le volume poreux de filtre occupe environ 80 % du volume total de filtre et comme résultat ceci augmente le débit à travers le filtre, à titre d'exemple : les filtres avec des diamètres $0,45 \mu\text{m}$ qui sont largement utilisés en Microbiologie ont des débits de l'ordre de $38,400 \text{ litres/h/cm}^2$. Les filtres membranes sont disponibles sous plusieurs marques (Millipore, Sartorius-Membrane-Filter, etc.) et dans des tailles de pores distinctes, allant de $14 \mu\text{m}$ jusqu'à $0,022 \mu\text{m}$.

5.4 Système d'aspiration

Le système d'aspiration utilisé, afin de créer un vide partiel, est caractérisé par la pression minimale obtenue indiquée généralement en bar ou en sous unité (mbar), aussi par le débit volumétrique. Ce système d'aspiration est de deux sortes, du plus simple qui est la trompe à eau au plus perfectionné qui est la pompe à vide. La trompe à eau permet de créer un vide jusqu'à 12 mbar (donc une dépression si comparée avec la pression atmosphérique) et d'obtenir des débits de quelques litres en quelques minutes. Tandis que, la pompe à vide permet de créer un vide jusqu'à 1 mbar et d'obtenir des débits de 5-200 L/min suivant les modèles.

5.5 Dysfonctionnement et maintenance

Afin de garantir un bon fonctionnement et une longue durée de vie, la rampe de filtration doit être :

- ✦ Démontée entièrement et nettoyée avec des détergents non agressifs, sans effet corrosif, de métal ainsi qu'avec des brosses souples ;
- ✦ Stérilisée à l'exception des parties thermosensibles notamment les joints en silicone ;
- ✦ Le robinet du support de base à la position de 12 h pour garantir une parfaite stérilisation ;
- ✦ La pince de serrage légèrement serrée afin de ne pas perdre sa capacité de serrage ce qui peut altérer l'étanchéité ;
- ✦ Les joints en silicone gardé en bon état pour garantir une parfaite étanchéité, aussi pour éviter une contamination probable ;
- ✦ Le robinet à 3 voies en état de manipulation aisée, pour ouvrir et fermer facilement l'alimentation en vide, de ce fait, il faut le démonter, le nettoyer, le sécher et le graisser si nécessaire.

6. Microscope optique

- 6.1 Principe
- 6.2 Type de microscopes
- 6.3 Composantes de microscope optique
- 6.4 Pourquoi utilise-t-on l'huile à immersion ?
- 6.5 Comment calculer le grossissement final d'un microscope ?
- 6.6 Loupe et stéréomicroscope ?
- 6.7 Dysfonctionnement et maintenance

6. Microscope optique

6.1 Principes

Le nom microscope est à l'origine grecque : *miKros* qui veut dire petit et *skopein* qui veut dire à observer, donc un équipement de laboratoire destiné pour l'examen d'une structure, à l'échelle petit, elle peut être ainsi observée à l'œil nu, photographiée ou enregistrée sur un ordinateur. Le principe du microscope optique est basé sur les types d'interaction entre les lentilles, la structure (objet) à observer et la lumière. Cette dernière peut être : absorbée, déphasée ou émise, d'où nous avons trois types de microscopes optiques : (a) à lumière directe, (b) à contraste de phase et (c) à fluorescence.

6.2 Type de microscopes

a. Microscope en lumière directe

Microscope d'usage simple. La lumière blanche issue d'une lampe est concentrée sur la structure à observer et la traverse, soit à l'état naturel (plus ou moins colorée), soit après coloration qui peut être : simple par utilisation des colorants acides (éosine, acide picrique ; colorent uniformément la cellule) ; ou différentiels par utilisation des colorants basiques (fuch sine, violet de gentiane ; ayant une affinité pour un composant). La structure non colorée reste relativement claire. Tandis que, celle colorée (contrastée) apparaîtra plus ou moins sombre à cause de la lumière qui est plus ou moins absorbée. Il faut noter qu'en microscopie, cette structure constitue la catégorie des objets d'amplitude (des objets colorés qui absorbent la lumière et ainsi changent sa distance maximale parcourue) facilement observable en fond clair.

b. Microscope en contraste de phase

Microscope d'usage spécial pour la catégorie d'objet de phase (objets transparents qui font diffraction de la lumière) difficilement observable en fond clair (un défaut de ce type de microscope, mais qui est mis à profit pour ou créer des contrastes). La structure qui est plus transparente, constitue cette catégorie, elle dévie la lumière et avoir comme résultat un déphasage (un retard ou un freinage) entre les rayons. Le principe de microscope en contraste de phase est donc : « de compenser le déphasage produit par la structure par l'action d'une plaque de phase qui va ramener l'état à celui qui serait donné par un objet d'amplitude et transpose ainsi les contrastes de phases en contrastes d'amplitudes, ainsi l'objet transparent devient contrasté sans l'action de colorant ». Ce microscope permet d'observer la structure vivante.

c. Microscope à fluorescence

Ce type de microscope utilise la lumière blanche, issue d'une lampe, filtrée de manière à ne laisser passer que l'ultraviolet à courte longueur d'onde sur la structure à observer, qui va l'absorbée en émettant des radiations de longueur d'onde plus grande dite de fluorescence. La lumière ait traversé la structure, va être nouvellement filtrée de manière à isoler ce qui reste de la lumière excitatrice et ne laisser passer que les radiations de fluorescence.

6.3 Composantes de microscope optique

Différents composants à connaître afin de comprendre le fonctionnement du microscope en lumière directe. Le microscope, en lumière directe, peut être vu comme deux systèmes optiques : l'objectif et l'oculaire.

- ✦ L'objectif (placé près de l'objet à examiner) est une lentille convergente de très courte distance focale de l'ordre du millimètre et produit une image intermédiaire qui est réelle, renversée et fortement agrandie, d'où nous parlons de grandissement, qui est gravée généralement par $\times 10$, $\times 40$, $\times 100$. Ces objectifs sont aussi caractérisés par l'ouverture numérique et sont portés par le porte-objectifs ou la tourelle revolver ;
- ✦ Tandis que, l'oculaire -du latin *oculus* : œil- (placé près de l'œil) est une lentille convergente de distance focale relativement longue de l'ordre du centimètre. L'oculaire joue le rôle d'une loupe et produit une image définitive, virtuelle de la première image, mais qui est grossie, d'où nous

parlons de grossissement qui est gavé généralement par $\times 10$. Le microscope monoculaire est avec un seul oculaire et le microscope binoculaire est avec deux oculaires qu'on peut régler la distance, en les écartant horizontalement, grâce à la coulisse de réglage interpupillaire. Le (s) oculaire (s) est (sont) muni (ent) d'une échelle dioptrique qui permet le réglage de la focale en fonction de l'utilisateur. L'oculaire (s) est (sont) porté (s) par le porte-oculaire (s) ou la tête qui est inclinée par rapport à la potence et même orientable sur 360° ;

Les deux systèmes sont placés aux deux extrémités du tube optique de distance invariable, de 16 cm dans tous les microscopes, appelée aussi intervalle optique.

Nous avons, aussi :

- ✦ Une source d'éclairage (lampe) a pour rôle d'éclairer l'objet à observer ; le porte-filtre ; le condenseur qui a pour rôle de concentrer (éclairer de façon homogène) les rayons de la source sur l'objet à observer ; le diaphragme de champs dont le rôle est de corriger la focalisation et le centrage sur l'objet à observer et le diaphragme d'ouverture qui sert à régler la quantité de lumière qui arrive sur l'objet à observer. Les deux derniers ont pour rôle d'obtenir une meilleure résolution et un meilleur contraste de l'objet à observer ;
- ✦ Des boutons (vis) : vis macrométrique à mouvement rapide pour effectuer un réglage grossier et le vis micrométrique à mouvement lent et précis pour effectuer un réglage fin et net. Ces boutons ont pour rôle le déplacement de l'ensemble objectif-tube-oculaire afin de faire la mise au point de l'objet à observer ;
- ✦ La platine, partie sur laquelle est posée l'objet à observer, évidée dans sa partie centrale afin de permettre le passage des rayons de la source et munie d'un mécanisme de maintien ou le chariot composé d'un doigt mobile et un arrêt qui ont pour rôle de serrer l'objet à observer. L'ensemble peut être déplacé en mouvement croisé (coaxial), de haut en bas et/ou de gauche à droite, grâce aux molettes de déplacement de la platine ;
- ✦ Deux parties rigides : la potence relie la platine aux oculaire (s) et le pied sur lequel repose le microscope ;
- ✦ Le variateur ou le rhéostat a pour rôle le réglage de l'intensité. Et sur la face arrière, l'interrupteur et le porte-fusible.
- ✦

6.4 Pourquoi utiliser l'huile à immersion ?

L'ouverture numérique est directement responsable de la luminosité (la quantité de la lumière) et de la résolution d'un objectif et dépend directement de l'indice de réfraction du milieu. D'une manière générale les objectifs de faible grossissement ($\times 5$ à $\times 20$) sont dotés d'une faible ouverture numérique (0.5 à 0.75), ils offrent une grande distance de travail et une grande profondeur de champ (épaisseur sur laquelle la structure est d'une netteté satisfaisante pour une mise au point donnée). Les objectifs de grandissement supérieur ($\times 40$, $\times 100$) ont une ouverture numérique supérieure à 0.75 et offrent une excellente résolution, mais une faible profondeur de champ. À partir de $\times 100$ on améliore plus la résolution et l'on ne fait que grossir du flou et donc pour obtenir une ouverture numérique effective supérieure à 0.75, égale à 1.40, les objectifs doivent être à immersion.

6.5 Comment calculer le grossissement final d'un microscope ?

Le grossissement du microscope est le nombre de fois dont sont grossis les objets pour notre œil, est donné grâce à la formule suivante : $G_t = \text{grandissement objectif} \times \text{grossissements oculaires}$. À titre d'exemple, pour un objectif $\times 40$, $G_t = 40 \times 10 = 400$.

6.6 Dysfonctionnement et maintenance

Pour une utilisation aisée et un fonctionnement optimal, le microscope doit être :

- ✦ Placé en position verticale sur une surface plate et stable ;
- ✦ Transporté toujours à deux mains, l'une tenant la potence et l'autre le tenant par sa base ;
- ✦ Alimenté avec la tension correspondante ;
- ✦ Utilisé avec fusible approprié et ampoules adaptées ;
- ✦ Le rhéostat sur le minimum, avant et après chaque utilisation afin de prolonger la vie de l'ampoule ;
- ✦ La platine toujours en position basse ;
- ✦ Si nécessaire, nettoyé sans démonter ni oculaires ni objectifs et sans laisser ni des traces d'empreinte ou de petites fibres de coton, ni des rayures ;
- ✦ L'objectif $\times 100$, nettoyé immédiatement avec un solvant (xylène, alcool, etc.) au moyen d'un tissu de coton doux.

7. Polarimètre

7.1 Principe

7.2 Différentes parties à décrire

7.3 Mise à zéro et la mesure en degré S

7.4 Le pouvoir rotatoire spécifique de la substance active dissoute ?

7.5 Comment calculer la concentration ?

7. Polarimètre

7.1 Principe

Le polarimètre ou instrument de rotation optique mesure une propriété de certaines molécules biologiques appelées chiralité qui est définie simplement par la direction gauche ou droite et scientifiquement elle désigne la capacité du produit à exister sous une ou deux formes miroir ou énantiomères. Chaque énantiomère fait tourner la lumière polarisée dans une direction opposée. Vers la droite, la molécule est appelé dextrogyre (D) ou énantiomère (+). Vers la gauche, la molécule est appelée lévogyre (L) ou énantiomère (-). Donc, le principe du polarimètre est basé sur le changement de direction ou la rotation du plan de la lumière polarisée qui se produit lorsque cette lumière traverse une substance optiquement active dite énantiomère. Un produit qui existe sous mélange à parts égales de deux énantiomères est optiquement inactif et dit racémique. Un produit qui existe sous un seul énantiomère est dit optiquement pur. La pureté optique est attribuée à la mesure basée sur le pourcentage de lumière déviée dans une direction particulière.

7.2 Différentes parties à décrire

Un polarimètre est constitué de :

- ✦ Une source de lumière, souvent une lampe à vapeur de sodium ;
- ✦ Un polariseur filtre la lumière de manière que les rayons lumineux (faisceau) déplacent tous dans le même plan afin de se détourner/dévier soit à droite, soit à gauche, lorsqu'ils rencontrent une molécule optiquement active ;
- ✦ Une chambre d'échantillon avec couvercle et un support de tube d'observation (tube polarimétrique en verre) renfermant le produit ;
- ✦ Un détecteur qui mesure la quantité de la lumière polarisée le frappant dans un angle différent de l'angle du plan d'origine ;

- ✦ Des commutateurs de fonctionnement : rotation à droite (R +), rotation à gauche (L -), avancement rapide et de mise à zéro avec un indicateur de remise à zéro ;
- ✦ Un oculaire ;
- ✦ Un sélecteur d'unité de mesure en degré : °angulaire ou °S saccharimétrique ;
- ✦ Un afficheur numérique : °angulaire (0.00), °S (0.0), T° ;
- ✦ En face arrière : commutateur marche / arrêt, porte-fusible et connecteur d'alimentation.

7.3 Procédure de mise à zéro et la mesure en degré S

La mise à zéro est réalisée par ajustage de la luminescence de deux demi-plages translucides, visualisés à travers l'oculaire, soit en tournant vers la droite ou vers la gauche au moyen des commutateurs actionnés ou enfoncés et avec allumage de l'indicateur de remise à zéro. Une fois équiluminescence est établie, en appuyant sur le commutateur de mise à zéro. La mesure du degré °angulaire ou °S est réalisée par ajustage de la luminescence des deux demi-plages qui apparaissent différemment, dont la luminosité visualisée à travers l'oculaire, à l'aide des commutateurs actionnés ou enfoncés. La demi-plage droite, la plus éclairée, foncera progressivement jusqu'à devenir la plus sombre. Entre ces deux on obtient équiluminescence des deux demi-plages. L'affichage à cet instant indique le degré angulaire ou le °S produit par la molécule.

7.4 Le pouvoir rotatoire spécifique de la substance active dissoute ?

Le pouvoir rotatoire spécifique est donné par la loi de Biot qui est une loi additive : $[\alpha]_T^\lambda = 100 \alpha / L \times C$. avec T est la température en °C, λ est la longueur d'onde (souvent pour la longueur d'onde du Na, raie D : $\lambda = 589,0 \text{ nm}$ et $\lambda = 589,6 \text{ nm}$), α est la rotation mesurée en degré (valeur lue sur le polarimètre), L est la longueur du trajet optique en dm (égale à 1 cas d'utilisation de tube de 100 dm) et C est la concentration en g/ml. Le pouvoir rotatoire s'exprime en °.dm⁻¹.g⁻¹.mL, mais en pratique on utilise tout simplement le degré. Pour un liquide pur le pouvoir rotatoire spécifique est calculé comme suit :

$$[\alpha]_T^\lambda = 1 \alpha / L \times D$$

7.5 Comment calculer la concentration ?

Dans le cas où le pouvoir rotatoire spécifique est connu, la concentration est calculée comme suit : $C = 100 \times \alpha / (1 \times [\alpha]_T^\lambda)$.

8. Spectrophotomètre

8.1 Principe

8.2 Éléments de base du spectrophotomètre

8.3 Mise à zéro et étalonnage

8.4 Mesure

8. Spectrophotomètre

8.1 Principe

Le spectrophotomètre est l'équipement que l'on trouve probablement dans tous les laboratoires de Biologie (Biochimie et Microbiologie) et de Chimie. C'est un instrument utilisé afin d'identifier et déterminer la concentration des molécules biologiques, aussi utilisé afin de suivre la cinétique de croissance bactérienne ou celle d'une réaction enzymatique. Le mot spectrophotomètre, est dérivé du latin, renvoi différentes longueurs d'onde (spectro) de la lumière (photo), dont il mesure (mètre). Donc, le spectrophotomètre utilise l'interaction de la lumière (essentiellement les plages : proche ultraviolet = 180-380 et visible = 380-780 nm) avec la molécule en solution, principalement par absorption ou transmission, pour identifier et déterminer sa concentration, ce qui permet une analyse essentiellement quantitative.

8.2 Éléments de base du spectrophotomètre

Le spectrophotomètre classique est composé de :

- ✦ Une source de lumière polychromatique. Une lampe qui produit de la lumière visible (blanche), une autre lampe qui produit de l'ultraviolet, afin de couvrir la totalité du spectre ;
- ✦ Un monochromateur ou un miroir filtre, généralement composé d'une fente d'entrée (constitue optiquement la véritable source de lumière), un prisme et d'une fente de sortie. Le monochromateur sépare la lumière en différentes longueurs d'onde définies, souvent le corps à doser absorbe une seule longueur d'onde dite monochromatique ;
- ✦ Un porte-échantillon qui est placé entre le chemin de faisceau et le photo-détecteur, destiné pour recevoir une ou plusieurs cuve(s) qui est (sont) le (s) plus souvent à basse carrée (s) de 1 cm de côté en verre, en plastique ou en quartz. La cuve est pour contenir l'échantillon ;
- ✦ Le photo-détecteur mesure la quantité de lumière passée à travers l'échantillon, appelée absorbance / transmittance. Cette quantité est convertie en un signal électrique affichée sous forme numérique ;
- ✦ Un afficheur numérique ;

- ✦ Interrupteur marche / arrêt, porte fusible et connecteur d'alimentation.

8.3 La mise à zéro et étalonnage

La mise à zéro est réalisée avec le blanc ou le témoin (on doit travailler avec une solution à laquelle la molécule étudiée est retirée). L'étalonnage est réalisé avec la même molécule à différentes concentrations connues (on réalise une courbe d'étalonnage).

8.4 Mesure de l'absorbance, concentration et transmittance

L'absorbance (A) ou la densité optique (DO), mesure la quantité de lumière qui est absorbée par l'échantillon, est donnée par la loi de Beer-Lambert : $\log I_0 / I = \epsilon \times C \times L$. avec, I_0 est l'intensité de la lumière incidente ; I est l'intensité de la lumière transmise ou non absorbée ; ϵ est le coefficient d'absorption moléculaire spécifique ; L est la longueur du trajet optique (égale à 1 puisqu'on utilise une cuve de 1 cm) ; C est la concentration de l'échantillon en mol/L (la densité optique est directement proportionnelle à la concentration). Alors que, La transmittance ou la transmission (T), mesure la quantité de lumière qui a traversé l'échantillon, est donnée par le rapport I / I_0 , exprimé en pourcentage.

9. pH-mètre

9.1 Principe

9.2 Parties du pH-mètre

9.3 Étalonnage et mesure du pH

9.4 Peut-on faire une correction d'une mesure déjà faite ?

9. pH-mètre

9.1 Principe

Le potentiel d'Hydrogène (pH) est une valeur qui représente la concentration d'ions hydrogène (H_3O^+ : hydronium) dans une solution. La concentration varie de 1 à 10^{-14} mol / L et la valeur est placée sur une échelle dite échelle de pH qui varie de 0 à 14 (échelle développée par le biochimiste danois Soren Sorensen). Au-dessous de 7, cette valeur indique des conditions acides ayant une grande concentration d'ions hydrogène. Tandis qu'au-dessus de 7, cette valeur indique des conditions basiques ou alcalines. Une valeur égale à 7 indique des conditions appelées neutre. Une baisse d'une unité sur l'échelle de pH représente une augmentation de dix fois de la concentration en ions hydrogène. Les ions hydrogène (H_3O^+) ont une charge électrique positive et peuvent passer un courant électrique. Donc un pH-mètre, comme son nom l'indique, est un instrument qui mesure la concentration en ions hydrogène d'une solution en mesurant la capacité d'un courant électrique de passer à travers cette solution.

9.2 Parties du pH-mètre

Un pH-mètre de paillasse se compose de deux parties : l'électrode et le boîtier électronique :

- ✦ Un bras porte-électrodes et sonde de température ;
- ✦ Une électrode de pH dite électrode combinée qui mesure l'électricité passée à travers la solution. Elle se compose d'un élément de mesure (électrode de verre¹ ou de mesure) et un élément de référence (électrode de référence²) :
 - (1) l'électrode de verre est un tube contenant une solution concentrée de sel et une pièce de métal utilisé pour détecter le courant électrique. Les ions hydrogène passent à travers le verre et modifient les propriétés électriques de la solution de sel (les solutions acides transfèrent plus d'ions que les solutions basiques).
 - (2) l'électrode de référence à lui, contient une quantité connue d'acide et également un fil métallique qui détecte le courant électrique, et produit un courant invariable pour une valeur de pH connue, déterminée par la quantité d'acide. Les deux courants passent à travers

l'amplificateur puis sur un circuit électrique qui compare le courant dans l'électrode de verre au courant dans l'électrode de référence. Ce circuit calcule ensuite le pH et transmet la valeur affichée ;

- ✦ Un affichage numérique ;
- ✦ Un panneau de contrôle avec boutons de sélection et de réglage ;
- ✦ Interrupteur marche / arrêt ;
- ✦ Connecteur pour électrodes ;
- ✦ Connecteur pour sonde de température ;
- ✦ Le pH-mètre est livré avec des solutions étalons de pH (de valeurs stables et connues appelées encore tampons pH).

9.3 Étalonnage en température, en pH et mesure du pH

Le pH-mètre doit être préalablement étalonné pour que les résultats soient corrects. Un étalonnage, à compensation manuelle, est réalisé en trois étapes : (1) réglage de potentiomètre température de travail pour que l'afficheur du pH-mètre indique la même température que le thermomètre ; (2) réglage de potentiomètre étalonnage à pH 7.0 pour que l'afficheur indique un pH de 7.0 ; (3) réglage de potentiomètre étalonnage à pH 4.0 pour que l'afficheur indique un pH de 4,01. Cependant, un étalonnage plus facile, à compensation automatique, est réalisé sur certains pH-mètres munis de sonde de T°, de touche CFM (pour confirmer les valeurs d'étalonnage) et de touche Cal (pour entrer ou sortir du mode étalonnage). Une fois l'étalonnage du pH-mètre est fait avec succès on procède à la mesure du pH.

9.4 Peut-on faire une correction d'une mesure de pH déjà faite ?

La mesure de pH est dépendante de la température. Au cas où, une mesure est déjà faite à une température non prescrite sur le protocole (généralement la mesure de pH doit se faire à 25 °C), donc pour corriger la mesure on utilisant une formule de correction de pH, donné par l'équation suivante :

$$\text{Actual pH} = \text{Measured pH} + [0.0167 \times (T^{\circ}\text{F} - 77)] ; \text{ avec } [^{\circ}\text{F}] = [^{\circ}\text{C}] \times 9 / 5 + 32$$

À titre d'exemple, si une mesure du pH d'une solution à une température de 16.8 °C a donné une valeur de 7.47, et la température prescrite de mesure est de 25 °C. Après utilisation de la formule, la mesure exacte du pH de la solution sera de 7.22.

Références bibliographiques

A. SEITZ., *basics in light microscopy*, 2010, 66 pp.

ATAGO., mode d'emploi : polarimètre, 07 pp.

B.R. SHMAEFSKY., *Biotechnology 101*, Greenwood presse, London, 2006, 251 pp.

C.M. WEAVER., J.R. DANIEL., *The Food Chemistry Laboratory, a manual for experimental foods, dietetics, and food scientists*, CRC presse, 2005, 137 pp.

HANNA., mode d'emploi : pH-mètre, 17 pp.

MOTIC., mode d'emploi : microscope, 2008, 27 pp.

Organisation Mondiale de la santé (OMS)., *manual of basic techniques for a health laboratory*, 2ed, 2003, 281 pp.

Organisation Mondiale de la santé (OMS)., *manuel d'entretien et de maintenance des appareils de laboratoire*, 2ed, 2008, 158 pp.

P. GAUTHIER., *formation biologie moléculaire : organisation et fonctionnement d'un laboratoire de biologie moléculaire*, 2006, 19 pp.

S. R. Gallagher., E. A. Wiley., *Current Protocols Essential Laboratory Techniques*, WILEY, 2008, 806 pp

SARTORIUS., mode d'emploi : appareil de filtration, 2008, 50 pp.

SARTORIUS., mode d'emploi : balances électroniques micro, d'analyse et de précision, 2007, 87 pp.

SIGMA., mode d'emploi : centrifugeuse de paillasse réfrigérée, 2007, 79 pp.

EVALUATION PRONOSTIQUE

NOM ET PRENOM :
LABORATOIRE :

Donnez la dérivation latine du mot laboratoire

Que possède une balance pour rattraper les inégalités de surface de travail ?

À quoi servent : le détecteur de stabilité, les pieds de réglage et le niveau à bulle, dans une balance ?

Comment calculer le grossissement total de microscope optique ?

Que mesurent : une balance ? Un spectrophotomètre ?

Laquelle est la plus précise ? une balance de précision ou une balance analytique, pourquoi ?

Que savez-vous sur le flacon de garde ?

Donnez le principe de fonctionnement du microscope optique.

Lequel a une distance focale de l'ordre du millimètre, l'objectif ou bien l'oculaire ?

Comment peut-on corriger une mesure de potentiel d'hydrogène déjà faite ?

Sur un polarimètre, à quoi sert le polariseur ?

Sur un spectrophotomètre, à quoi sert le monochromateur ?

L'électrode de pH est dite une électrode combinée, pourquoi ?

D'après vos connaissances, quelles sont les causes et les solutions probables ?

Le polarimètre ne s'allume pas :

L'interrupteur principal est sur ON mais le spectrophotomètre ne fonctionne pas :

La lecture de l'absorbance indique des valeurs négatives :

Donnez les causes et les solutions probables aux dysfonctionnements, ci-après, des équipements suivants :

Balance électronique : a) la balance ne s'allume pas ! b) la lecture de la masse est incorrecte !

Centrifugeur : a) les tubes fuient ! b) les tubes sont fissurés ou cassés !

Microscope : a) l'objectif x 100 ne donne pas des images claires !