

## Utilisation de la méthode gravimétrique pour le contrôle de pipettes mécaniques à piston à déplacement d'air.

### Données générales

En règle générale, les fabricants certifient les pipettes commercialisées après vérification des performances à une température de  $21,5^{\circ}\text{C} \pm 1,5^{\circ}\text{C}$  (pas toujours), une pression de  $1013 \text{ hPa} \pm 25 \text{ hPa}$  et une humidité relative de 50 à 75%.

L'équipement nécessaire pour le contrôle des pipettes est le suivant :

- thermomètre étalonné à échelle de lecture à  $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$  ;
- hygromètre étalonné ;
- baromètre étalonné ;
- eau désionisée (grade 3, ISO 3696), exempte d'air dissous (à renouveler 2 fois par jour) ;
- balances de laboratoire étalonnées avec au moins les caractéristiques qui suivent ;
- verrerie pour réaliser les pesées ;

| gamme de volumes testée    | sensibilité de la balance | écart-type sur mesures de la balance | classe IOLM de la balance | réipient de pesée              |
|----------------------------|---------------------------|--------------------------------------|---------------------------|--------------------------------|
| 0,1 à 20 $\mu\text{L}$     | 0,001 mg                  | 0,002 mg                             | E2                        | à couvercle                    |
| 21 à 200 $\mu\text{L}$     | 0,01 mg                   | 0,02 mg                              | E2                        | à couvercle                    |
| 201 à 10 000 $\mu\text{L}$ | 0,1 mg                    | 0,2 mg                               | E2                        | on peut négliger l'évaporation |

Voici le tableau de valeurs de **Z en  $\mu\text{L}/\text{mg}$**  pour l'eau en fonction de la température et de la pression (Z tient compte de la masse volumique des masses étalons standards ( $8000 \text{ kg}/\text{m}^3$ ), de la masse volumique de l'air ( $1,2 \text{ kg}/\text{m}^3$ ) et évidemment de celle de l'eau) :

| température en $^{\circ}\text{C}$ | Pression atmosphérique en hPa |        |        |        |        |
|-----------------------------------|-------------------------------|--------|--------|--------|--------|
|                                   | 853                           | 907    | 960    | 1013   | 1067   |
| 15                                | 1,0018                        | 1,0019 | 1,0019 | 1,0020 | 1,0020 |
| 15,5                              | 1,0019                        | 1,0019 | 1,0020 | 1,0020 | 1,0021 |
| 16                                | 1,0020                        | 1,0020 | 1,0021 | 1,0021 | 1,0022 |
| 16,5                              | 1,0020                        | 1,0021 | 1,0022 | 1,0022 | 1,0023 |
| 17                                | 1,0021                        | 1,0022 | 1,0022 | 1,0023 | 1,0023 |
| 17,5                              | 1,0022                        | 1,0023 | 1,0023 | 1,0024 | 1,0024 |
| 18                                | 1,0023                        | 1,0024 | 1,0024 | 1,0025 | 1,0025 |
| 18,5                              | 1,0024                        | 1,0025 | 1,0025 | 1,0026 | 1,0026 |
| 19                                | 1,0025                        | 1,0025 | 1,0026 | 1,0027 | 1,0027 |
| 19,5                              | 1,0026                        | 1,0026 | 1,0027 | 1,0028 | 1,0028 |
| 20                                | 1,0027                        | 1,0027 | 1,0028 | 1,0029 | 1,0029 |
| 20,5                              | 1,0028                        | 1,0028 | 1,0029 | 1,0030 | 1,0030 |
| 21                                | 1,0029                        | 1,0030 | 1,0030 | 1,0031 | 1,0031 |
| 21,5                              | 1,0030                        | 1,0031 | 1,0031 | 1,0032 | 1,0032 |
| 22                                | 1,0031                        | 1,0032 | 1,0032 | 1,0033 | 1,0033 |
| 22,5                              | 1,0032                        | 1,0033 | 1,0033 | 1,0034 | 1,0035 |
| 23                                | 1,0033                        | 1,0034 | 1,0035 | 1,0035 | 1,0036 |
| 23,5                              | 1,0035                        | 1,0035 | 1,0036 | 1,0036 | 1,0037 |
| 24                                | 1,0036                        | 1,0036 | 1,0037 | 1,0038 | 1,0038 |
| 24,5                              | 1,0037                        | 1,0038 | 1,0038 | 1,0039 | 1,0039 |
| 25                                | 1,0038                        | 1,0039 | 1,0039 | 1,0040 | 1,0041 |
| 25,5                              | 1,0040                        | 1,0040 | 1,0041 | 1,0041 | 1,0042 |
| 26                                | 1,0041                        | 1,0042 | 1,0042 | 1,0043 | 1,0043 |
| 26,5                              | 1,0042                        | 1,0043 | 1,0043 | 1,0044 | 1,0045 |
| 27                                | 1,0044                        | 1,0044 | 1,0045 | 1,0045 | 1,0046 |
| 27,5                              | 1,0045                        | 1,0046 | 1,0046 | 1,0047 | 1,0047 |
| 28                                | 1,0046                        | 1,0047 | 1,0048 | 1,0048 | 1,0049 |
| 28,5                              | 1,0048                        | 1,0048 | 1,0049 | 1,0050 | 1,0050 |
| 29                                | 1,0049                        | 1,0050 | 1,0050 | 1,0051 | 1,0052 |
| 29,5                              | 1,0051                        | 1,0051 | 1,0052 | 1,0052 | 1,0053 |
| 30                                | 1,0052                        | 1,0053 | 1,0053 | 1,0054 | 1,0055 |

Pour des mesures supérieures à 200  $\mu\text{L}$  (ou 100  $\mu\text{L}$ ), le facteur d'évaporation peut être négligé lors des contrôles. Sinon il faut l'estimer selon la procédure normalisée (ISO 8655).

| <b>Evaluation de la justesse</b><br><i>(cas ou l'incertitude de pesée liée à la balance est négligeable)</i>  | <b>Evaluation de la répétabilité</b>   |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>– <math>n</math> nombre de mesures ;</li> <li>– <math>V_i</math> le volume mesuré à la mesure <math>i</math> ;</li> <li>– <math>\bar{V}</math> le volume moyen ;</li> <li>– <math>V_0</math> le volume nominal (désiré) ;</li> <li>– <math>E</math> l'erreur systématique de la pipette ;</li> <li>– <math>E\%</math> erreur systématique en % du volume nominal.</li> </ul> $\bar{V} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n V_i$ $E = \bar{V} - V_0$ $E\% = (E/V_0) \times 100$ | <ul style="list-style-type: none"> <li>– <math>n</math> nombre de mesures ;</li> <li>– <math>V_i</math> le volume mesuré à la mesure <math>i</math> (10 au minimum) ;</li> <li>– <math>\bar{V}</math> le volume moyen ;</li> <li>– <math>S</math> l'écart type estimé sur l'échantillonnage ;</li> <li>– <math>CV</math> le coefficient de variation (<math>S</math> relatif à <math>\bar{V}</math> en %.)</li> </ul> $S = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(\bar{V} - V_i)^2}{n - 1}}$ $CV = \frac{S}{\bar{V}} * 100$ |

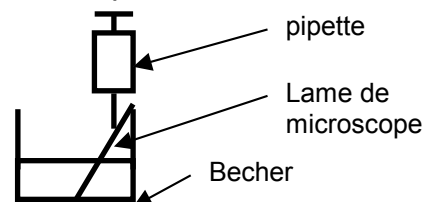
La fréquence et la qualité des contrôles devrait être :

|  | type de test                             | méthode   |
|--|--|---|
| pipette neuve ou après démontage, réparation | validation de justesse et répétabilité   | 30 mesures au volume le plus faible, au volume moyen et au volume le plus élevé |
| quotidien                                    | tests visuels simples, test pas de fuite | inspection de fuite   |
| hebdomadaire                                 | justesse                                 | 4 mesures au volume le plus faible et au volume le plus élevé                   |
| tous les 6 mois                              | contrôle de répétabilité et justesse     | 10 mesures au volume le plus faible et au volume le plus élevé                  |

### **Mode opératoire simple pour un contrôle gravimétrique, gamme de mesures supérieures à 100 $\mu\text{L}$ , évaporation négligée**

S'adresse donc aux pipettes délivrant de 100 à 1000  $\mu\text{L}$  ou de 1000 à 5000  $\mu\text{L}$  ou de 5 000 à 10 000  $\mu\text{L}$ .

- (i) Connaître les spécifications en justesse et fidélité exigibles.
- (ii) Noter la température, la pression et l'hygrométrie. Utiliser de l'eau désionisée exempte d'air dissous et équilibrée à la température du laboratoire pour les prélèvements.
- (iii) Afficher le volume désiré et travailler en mode direct.
- (iv) Pré-rincer le cône deux fois.
- (v) Aspirer le prélèvement d'eau en mode direct, tarer la balance, distribuer le volume d'eau selon le schéma :



attendre la stabilisation de la balance, noter la valeur de la masse, aspirer un nouveau prélèvement en mode direct, ... le cycle des mesures est renouvelé  $n$  fois.

Réaliser les calculs nécessaires, comparer à la spécification, remplir le cahier de suivi des pipettes...

**Rappel** : l'immersion des pipettes pour les prélèvements est normalisée à 2 à 4 mm pour 101 à 1000  $\mu\text{L}$  et à 3 à 6 mm pour 1001  $\mu\text{L}$  à 10 mL (important contre les coulures externes et les effets de tourbillon).

**Bibliographie** : norme ISO 8655 et Document Gilson LT802292/E 2006 (disponible en ligne)

## **Travail à réaliser**

### **1 Contrôle d'une pipette mécanique 100-1000 µL**

Contrôle de la pipette mécanique P100-1000 de base disponible pour chaque étudiant.

#### **Etape 0**

Réaliser un contrôle visuel de base (étanchéité en particulier).

#### **Etape 1**

Réaliser 10 pesées selon le mode opératoire présenté ci-dessus au volume de réglage 100 µL.

Consigner les valeurs expérimentales dans le compte rendu.

Calculer le volume moyen délivré et l'écart type expérimental sur ce volume et consigner dans le compte rendu.

Conclure quant à la conformité sachant que l'écart maximal toléré localement (EMT) est : « sur 10 pesées, aucune pesée à plus de 3 µL d'écart de la cible pour le réglage à 100 µL ».

Si la pipette est conforme, passer à l'étape 2, sinon prévenir l'enseignant responsable et maintenir et/ou régler la pipette afin de la rendre conforme à 100 µL.

#### **Etape 2 (si l'étape 1 a été franchie avec succès)**

Réaliser 10 pesées selon le mode opératoire présenté ci-dessus au volume de réglage 1000 µL.

Consigner les valeurs expérimentales dans le compte rendu.

Calculer le volume moyen délivré et l'écart type sur ce volume et consigner dans le compte rendu.

Conclure quant à la conformité sachant que l'écart maximal toléré localement (EMT) est: « sur 10 pesées, aucune pesée à plus de 10 µL d'écart de la cible pour le réglage à 1000 µL ».

Si la pipette est conforme réaliser l'enregistrement du contrôle dans le cahier de contrôle des pipettes du laboratoire, sinon alerter l'enseignant (« une pipette P100-1000 conforme à 100 devrait être conforme à 1000 ») qui avisera.

### **2 Contrôle d'une fiole jaugée de 100 mL**

Le tableau des valeurs de **Z en µL/mg** pour l'eau en fonction de la température et de la pression permet aussi de contrôler la verrerie jaugée.

Les tolérances pour les fioles jaugées de 100 mL sont de ± 0,10 mL pour les fioles de classe A et ± 0,20 mL pour les fioles de classe B. Les volumes sont donnés pour la température 20°C.

- Utiliser une balance de sensibilité meilleure que le mg et supportant plus de 200g de charge. Tout le matériel et les réactifs sont équilibrés en température.
- Noter la température T en °C (à 0,2°C près).
- Tarer la fiole propre et sèche.
- Remplir la fiole avec de l'eau à l'aide d'une pipette jusqu'à dépasser de 5 mm la marque d'ajustage et en laissant le col parfaitement sec. Soutirer l'excès d'eau avec une pipette pour ajuster.
- Peser immédiatement.
- Noter la masse m.

$$V_{20^{\circ}\text{C}} = Z \cdot m \cdot (1 - \gamma(T - 20))$$

Où  $\gamma$  est le coefficient de dilation du matériau. Par exemple  $9,9 \cdot 10^{-6}$  pour le verre Duran.

Utiliser les tables à 6 chiffres significatifs disponibles sur

[http://www.brand.de/fileadmin/user/pdf/SOPs/sop\\_bbf.pdf](http://www.brand.de/fileadmin/user/pdf/SOPs/sop_bbf.pdf)

Conclure grâce aux spécifications données ci-dessus.

*bibliographie : norme ISO 4787 et [http://www.brand.de/fileadmin/user/pdf/SOPs/sop\\_bbf.pdf](http://www.brand.de/fileadmin/user/pdf/SOPs/sop_bbf.pdf), recommandations OIML R4 1970 et 1977.*