

### 1. Verrerie courante peu précise

► **Tubes à essai et tubes à hémolyse**

Utilisés pour les réactions de caractérisation, les dosages colorimétriques.

► **Coupelles et sabots**

Pour recevoir le produit lors de la pesée.

► **Béchers**

Contiennent les réactifs à prélever pour réaliser la manipulation. **Avant remplissage à partir du flacon de réserve, y noter au marqueur le nom du produit et les lettres-symboles de sécurité.**

► **Fioles erlenmeyer ou vases à réaction**

Reçoivent la solution à doser et les réactifs qui ensemble forment le milieu réactionnel où s'effectue le dosage volumétrique.

► **Ballons**

Permettent le chauffage des liquides à haute température.

► **Eprouvettes**

Permettent de distribuer un volume peu précis. Notamment utilisées pour l'eau distillée et les réactifs utilisés pour créer une condition chimique particulière au déroulement du dosage.



### 2. Verrerie de précision

► **Burettes (voir fiche M 9)**

► **Pipettes graduées**

Utilisées pour prélever les solutions à doser et les réactifs.

Deux types :

- pipettes à un trait de jauge  
(Schéma de droite)

- pipettes à deux traits de jauge  
(Schéma de gauche)

### 3. Verrerie de haute précision

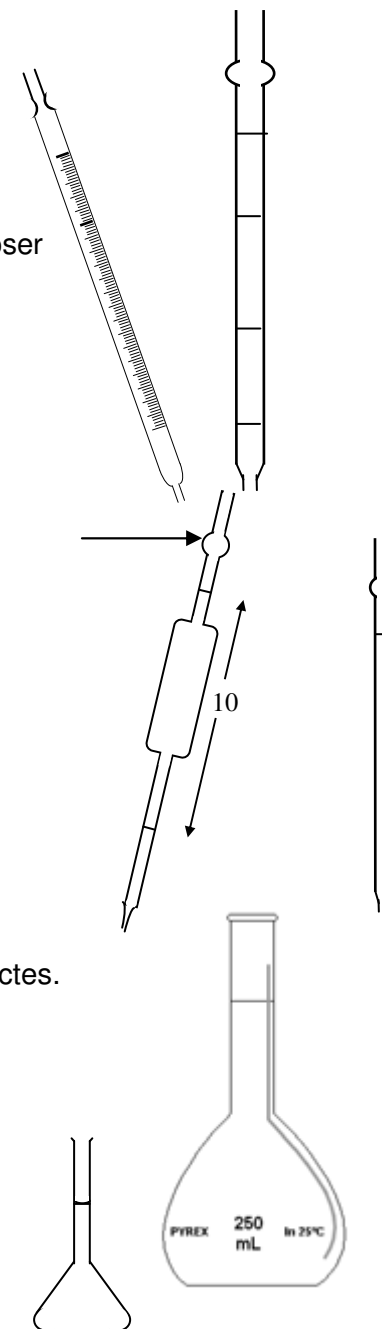
► **Pipettes jaugées**

Utilisées pour prélever la solution à doser ou un volume donné de réactif intervenant précisément dans le dosage.

Il existe également des pipettes jaugées à un trait et à deux traits de jauge.

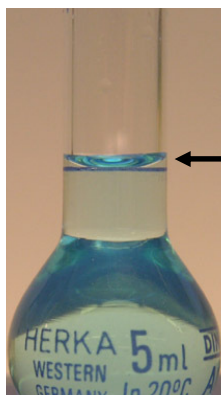
► **Fioles jaugées**

Utilisées pour la confection de solutions exactes.



► **AJUSTAGE DU VOLUME AU TRAIT DE JAUGE**

La surface d'un liquide dans un récipient n'est pas plane, elle prend l'aspect d'un **ménisque concave** ainsi l'ajustage du volume dans les fioles et pipettes est fait comme le montre la figure.

**CONSIGNES À RESPECTER POUR UN BON AJUSTAGE :**

- Tenir la fiole ou la pipette bien verticalement
- placer les yeux face à la graduation pour éviter les erreurs de parallaxe
- faire coïncider le bas du ménisque avec le trait de jauge.

*Remarque : avec une solution fortement colorée ou opaque, le bas du ménisque n'est pas repérable. Effectuer alors l'ajustage sur le haut du ménisque.*

► **LA PRECISION**

Le choix de la verrerie à utiliser dépend de la précision qu'impose la manipulation. Ainsi on distingue :

1. La verrerie courante peu précise : **béchers, Erlenmeyers, éprouvettes.**

L'erreur sur le volume prélevé est de 1 à 5%.

Exemple : en mesurant 100 mL dans un bécher, l'erreur est donc de +/- 1 à 5 mL

2. La verrerie de précision de classe A et classe B : **burettes et pipettes graduées.**

Avec ce type de verrerie, l'erreur sur le volume prélevé est inférieure à 1 %, la verrerie de classe A étant plus précise que la verrerie de classe B.

PIPETTES GRADUEES	Erreur sur le volume (mL)	
	Classe A	Classe B
<b>Pipettes à un trait</b>		
1 mL	+/- 0,006	+/- 0,010
2 mL	+/- 0,010	+/- 0,020
5 mL	+/- 0,030	+/- 0,050
10 mL	+/- 0,050	+/- 0,10
<b>Pipettes à deux traits</b>		
1 mL	+/- 0,006	+/- 0,010
2 mL	+/- 0,010	+/- 0,020
5 mL	+/- 0,030	+/- 0,050
10 mL	+/- 0,050	+/- 0,10

3. La verrerie de haute précision des classes A et B : **pipettes et fioles jaugées.**

L'erreur sur le volume prélevé est inférieure à 0,5 %.

PIPETTES JAUGEES	Erreur sur le volume (mL)	
	Classe A	Classe B
1 mL	+/- 0,007	+/- 0,015
2 mL	+/- 0,010	+/- 0,020
5 mL	+/- 0,015	+/- 0,030
10 mL	+/- 0,020	+/- 0,040
15 mL	+/- 0,025	+/- 0,050
20 mL ou 25 mL	+/- 0,030	+/- 0,060
50 mL	+/- 0,050	+/- 0,10
100 mL	+/- 0,080	+/- 0,16

FIOLES JAUGEES	Erreur sur le volume (mL)	
	Classe A	Classe B
10 mL	+/- 0,025	
20 ou 25 mL	+/- 0,04	
50 mL	+/- 0,06	+/- 0,15
100 mL	+/- 0,10	+/- 0,20
200 ou 250 mL	+/- 0,15	+/- 0,30
500 mL	+/- 0,25	+/- 0,50
1000 mL	+/- 0,40	+/- 0,80

*Remarque : les pipettes graduées et jaugées de 1 et 2 ml ont quasiment la même précision.*

## M 3

## UTILISATION DES PIPETTES GRADUEES OU JAUGÉES

### ► Choix de la pipette

La pipette doit être adaptée au volume à prélever, à la précision requise par la manipulation, au respect de la sécurité et à la viscosité du liquide.

Exemples :

- pour 5 mL d'eau de rivière à doser : **pipette jaugée de 5 ml**
- Pour 9,5 mL de réactif : **pipette graduée de 10 ml**
- Pour 4,5 mL d'un réactif dangereux : **pipette graduée de 10 ml**
- Pour 1 mL de lait à doser : **pipette de 1 ml à écoulement total.**

### ► Protocole d'utilisation

- 1- Adapter une propipette et rincer la pipette** à l'eau distillée puis avec la solution à prélever.
- 2- Aspirer lentement la solution jusqu'au-dessus du zéro ou du volume souhaité** en plongeant pas plus de 1 cm de l'extrémité de la pipette dans le liquide.
- 3- Essuyer les parois extérieures** avec du papier filtre : la pipette est préférentiellement tenue horizontalement.
- 4- Ajuster le volume** en éliminant l'excès de solution dans le bécher initial et **en plaçant le trait de jauge à hauteur de l'oeil. La pipette est maintenue verticalement, son extrémité tout contre la paroi du récipient, sans toucher la solution et en formant un angle de 10° à 40° avec le récipient.**
- 5- Délivrer régulièrement la solution contre la paroi du récipient de destination, en respectant rigoureusement les mêmes précautions énoncées précédemment.**
  - Pour une pipette à un trait, laisser toute la solution s'écouler.
  - Pour une pipette jaugée à 2 traits, placer l'œil à la hauteur du 2<sup>ème</sup> trait de jauge et arrêter l'écoulement à ce niveau.
  - Pour une pipette graduée à écoulement partiel, placer l'œil à la hauteur de la graduation voulue et y arrêter l'écoulement.
- 6- Remise en place** : éliminer le reste de solution, rincer la pipette immédiatement à l'eau distillée et la ranger.

## M 4

## LES PIPETTES AUTOMATIQUES

(Eviter le terme pipetman qui est une marque)

### ► Différents types

*Pipettes automatiques* de grand volume : P 5000, P1000...

*Micropipettes* : P200, P100, P50, P20...

Choisir évidemment une pipette adaptée au volume à prélever.

Ex : une P200 pour prélever 150µL et non pas une P1000.

### ► Protocole d'utilisation

#### ► **Régler le volume à prélever et placer l'embout approprié.**

#### ► **Rincer l'embout ou cône :**

- cône en dehors de la solution, appuyer sur le bouton poussoir de la pipette jusqu'à la première butée,
- introduire 2 à 5 mm de l'extrémité du cône dans la solution à prélever et relâcher lentement le bouton poussoir pour aspirer la solution sans faire de turbulences,
- rejeter le liquide aspiré dans la solution ou dans une poubelle en appuyant à fond sur le bouton poussoir.

***Lors de ce rinçage, bien vérifier l'étanchéité entre le cône et la pipette ainsi que le bon état du de l'embout.***

#### ► **Prélever la solution et la délivrer :**

- cône en dehors de la solution, appuyer sur le bouton poussoir jusqu'à la première butée,
- pipette tenue verticalement, introduire l'extrémité du cône dans la solution et relâcher lentement le bouton poussoir pour aspirer la solution,
- vérifier l'absence de bulles d'air et essuyer avec du papier filtre les éventuelles gouttelettes de liquide sur la paroi extérieure du cône sans toucher l'orifice.
- délivrer lentement la solution en pressant complètement sur le bouton poussoir. La pipette est maintenue verticalement, l'extrémité du cône s'appuie contre la paroi du récipient tenu en main selon un angle de 10° à 40°.

***L'écoulement de la solution se fait contre la paroi du récipient, sans toucher le liquide déjà présent.***

#### ► **Remise en place** : relâcher le bouton poussoir, jeter le cône souillé dans une poubelle et poser la pipette sur son support.

**M 5****REALISATION D'UNE PESEE****► PREPARATION DE LA BALANCE :**

**1- Nettoyer le plateau** et l'intérieur de la balance à l'aide du pinceau.

**2- Les portes étant fermées, allumer la balance puis**

- attendre l'**affichage du zéro**

- ou faire le **réglage du zéro** en appuyant sur le bouton correspondant.

*Remarque : sur certains modèles, il est prévu de vérifier l'horizontalité de la balance grâce à un niveau à bulle.*

**► TARAGE :**

**3- Poser le sabot ou la coupelle** sur le plateau de la balance.

**4- Réaliser la tare, portes fermées**, en appuyant sur le bouton correspondant.

**► PESEE :**

**5- Ajouter le produit petit à petit à l'aide d'une spatule**, en évitant de dépasser la masse désirée.

**6- Noter la valeur de la pesée en gardant les portes fermées.**

**► REMISE EN PLACE :**

**7- Retirer le récipient de pesée.**

**8- Balance éteinte, nettoyer si nécessaire et fermer les portes.**

Exemples de pesées :

Consignes de pesée	Masse à peser
Peser environ 1 g de colorant pour préparer 100 ml de solution indicatrice.	
Peser exactement 0,1 g de produit pour faire 200 ml de solution étalon.	
Peser environ exactement 70 mg de produit à mettre dans un Erlenmeyer pour un titrage.	

**M 6****CONFECTION D'UNE SOLUTION  
EN FIOLE JAUGEE**

**1- Placer le produit dans la fiole jaugée propre et rincée.** Il s'agit :

- soit directement d'un soluté pesé s'il présente une bonne solubilité,
- soit du soluté à solubiliser préalablement dans un petit bécher avec un minimum de solvant et un agitateur,
- soit une solution initiale à diluer prélevée à l'aide d'une pipette.

*On pourra éventuellement utiliser un entonnoir.*

**2- Rincer avec le solvant tout le matériel ayant contenu le soluté en récupérant le liquide de rinçage dans la fiole.**

**3- Ajouter du solvant jusqu'au 2/3 de remplissage de la fiole** puis homogénéiser la solution par rotation en vérifiant que son contenu prend un aspect homogène dépourvu de grains de produit.

**4- Poursuivre le remplissage jusqu'à environ 1 cm en dessous du trait de jauge.**

**5- Essuyer l'intérieur du col** de la fiole avec du papier filtre pour éliminer les gouttelettes résiduelles.

**6- Ajuster le volume jusqu'au trait de jauge avec un compte-gouttes et sans toucher la surface du liquide. La fiole est posée sur un plan horizontal et le trait de jauge se trouve à hauteur des yeux.**

**7- Obturer la fiole avec un bouchon ou un film plastique et l'agiter par rotation et retournement** pour bien homogénéiser la solution.

Remarque importante : avant utilisation, transvaser une partie du contenu de la fiole dans un bécher propre et sec. On ne prélève jamais directement dans une fiole à l'aide d'une pipette.

## M 7

## LA DISPENSETTE OU DISTRIBUTEUR



Utilisé pour délivrer rapidement et sans grande précision un volume de réactif dans un tube à essai, un vase à réaction...

Très utile pour les réactifs dangereux : acides forts, bases fortes...

### ► Protocole d'utilisation

- 1- Régler le volume à délivrer.
- 2- **Amorcer le piston** par un ou deux prélèvements à rejeter et **s'assurer de l'absence de bulles d'air** dans la tubulure.
- 3- **Poser la tubulure de la dispensette contre la paroi du récipient de destination**, ce dernier étant maintenu incliné.
- 4- **Aspirer et délivrer le liquide** en procédant de la façon suivante selon le type de modèle :

#### 1<sup>er</sup> cas :

- Relever le piston à fond sans faire de turbulences.
- Appuyer jusqu'à la butée avec un mouvement à vitesse régulière et ni trop rapide, ni trop lent.

#### 2<sup>ème</sup> cas :

- Presser lentement et sans à-coups le piston jusqu'à la butée.
- Laisser revenir le piston à sa position initiale. Bien attendre le retour complet du piston avant d'effectuer un nouvel ajout.

- 5- **Remise en place** : récupérer la dernière goutte dans le récipient de destination ou dans une poubelle qui sera toujours disposée sous la tubulure en absence d'utilisation de la dispensette.

## M 8

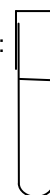
## UTILISATION D'UNE CENTRIFUGEUSE

La centrifugation est une technique utilisant un champ de force en rotation rapide pour séparer :

- soit une dispersion d'un solide au sein d'un liquide
- soit une dispersion d'un liquide au sein d'un autre liquide non miscible et de densité différente.

*Exemple* : centrifugation d'un tube de sang total pour séparer les cellules de la phase liquide.

Aspect  
au départ :



Aspect après  
centrifugation :



### ► Règles d'utilisation d'un centrifugeur

#### 1. **Choix des tubes et disposition dans l'appareil :**

- Les tubes à *fond conique* généralement de faible capacité permettent de concentrer le culot dans un *tout petit volume* alors que les tubes à *fond rond* sont prévus pour traiter des *volumes plus grands*. Pour les tubes en verre, il faut adapter dans les godets de centrifugation des protections en caoutchouc afin d'éviter la casse.
- Déposer les tubes deux à deux dans les emplacements prévus au niveau des godets et de façon symétrique par rapport à l'axe central.

#### 2. **Equilibrage** : Les godets placés symétriquement par rapport à l'axe de rotation ne doivent pas présenter une différence de poids supérieure à 0,1 g. Veiller à vérifier, si nécessaire au moyen d'une balance Roberval, et à compléter le manque de poids par addition d'eau distillée dans le godet le plus léger.

#### 3. **Mise en route de l'appareil** : Consulter la notice de l'appareil et régler la durée et la vitesse selon les indications du protocole opératoire.

#### 4. **Récupération des tubes** : procéder avec précaution pour éviter les blessures par bris de verre et la contamination par du matériel biologique s'il y a eu de la casse en cours de centrifugation.

Utilisées pour effectuer des dosages volumétriques ou éventuellement pour la distribution d'un grand volume de réactif.

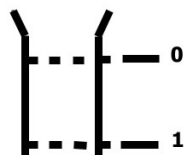
► **Différentes burettes et précision**

	Tolérances en mL pour le matériel de classe A
Macroburettes	
50 mL	+/- 0,050
25 mL	+/- 0,030
Semi- microburettes	
10 mL	+/- 0,020
5 mL	+/- 0,015
2 mL	+/- 0,010
1 mL	+/- 0,007
Microburettes	Capillaires, seringues

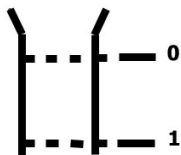
La macroburette de 25 ml est la plus utilisée, elle délivre des gouttes de 0,05 mL.

► **Ajustage au zéro et lecture du volume versé**

Si solution incolore :



Si solution très colorée :



De nombreuses burettes sont équipées d'une bande photophore (trait bleu vertical) facilitant l'ajustage et la lecture des volumes. Au niveau du ménisque la bande devient plus étroite et semble former deux flèches se touchant par leurs pointes; c'est au niveau de ce point de contact que s'effectuent l'ajustage et la lecture des volumes.



► **Protocole d'utilisation**

**Consignes de sécurité :**

- Porter toujours des lunettes de protection pour éviter les projections de liquide dans les yeux.
- Porter des gants uniquement lorsque la manipulation de la solution présente des risques chimiques ou biologiques.

**1- Remplissage de la burette avec la solution :**

- Rejeter l'eau distillée qu'elle contient dans une poubelle.
- Rincer plusieurs fois à l'eau distillée en utilisant une pissette et une fois avec un peu de solution de remplissage (*pour éviter le gaspillage, faire couler un mince filet de solution contre la paroi en tournant la burette sur son support*).
- Remplir la burette jusqu'à environ 5 mm au-dessus de la graduation zéro. (*Procéder de manière à éviter les bulles d'air*).
- Essuyer la pointe de la burette avec du papier filtre et si nécessaire toute la hauteur du tube.
- Ajuster le volume au niveau de la graduation zéro et essuyer l'intérieur du col de la burette avec du papier filtre.

**2- Réalisation du dosage :**

- Engager la pointe de la burette dans le vase à réaction et prendre en main le robinet. Pour un technicien droitier, le robinet est placé à droite et tenu avec la main gauche qui entoure le bas de la burette. La main droite tient et agite le récipient. Pour un technicien gaucher, c'est l'inverse.
- Ouvrir le robinet entièrement pour délivrer la solution et au voisinage du point final, fermer partiellement le robinet pour obtenir un débit au goutte-à-goutte.
- Tout au long du dosage, agiter le récipient par rotation.

**3- Remise en place :**

- Vider complètement la solution restant dans la burette (dans une poubelle ou dans le flacon d'origine pour les réactifs onéreux).
- Rincer plusieurs fois à l'eau distillée.
- Ranger la burette toujours pleine d'eau distillée.



C'est un appareil optique mesurant l'absorption des radiations électromagnétiques par une solution placée dans une cuve ou directement aspirée à l'aide d'un cathéter relié à l'appareil. L'absorbance de la solution est proportionnelle à sa concentration dans des conditions bien définies (voir cours). **C'est en général une méthode par comparaison de l'absorbance des essais à l'absorbance d'un ou plusieurs étalons.**

## 1. PREPARATION DES CUVES

On confectionne au préalable dans une série de tubes, diverses solutions réactionnelles étalons, témoin et essai qui sont ensuite transvasées en cuve. **La préparation se fait en même temps et dans les mêmes conditions opératoires pour tous les tubes.**

### ► Réalisation des étalons

Il s'agit d'un ou plusieurs tubes contenant la substance à doser en concentration connue. On opère par dilution d'une solution initiale concentrée en répartissant dans une série de tubes :

- des volumes croissants de solution initiale *avec une même pipette*,
- puis de l'eau distillée *également avec une même pipette* de manière à atteindre le *même volume final dans tous les tubes*.

Après homogénéisation à l'aide du vortex, on obtient des solutions connues de concentrations croissantes auxquelles il suffit d'ajouter les réactifs réagissant avec la substance à mettre en évidence.

### ► Réalisation du témoin-réactifs

C'est un tube permettant de régler le *zéro de l'appareil*. On l'obtient en mélangeant de l'eau distillée avec les réactifs de révélation.

### ► Réalisation des essais

La solution à doser est mélangée avec les réactifs de révélation. On réalise en général *deux essais*.

### ► Choix et remplissage des cuves

- En fonction du protocole opératoire prendre des microcuves ou des macrocuves, pour dosage dans le **visible** (cuve en plastique) ou pour dosage dans l'**UV** (cuve en quartz ou en plastique spécial).
- Vérifier la propreté, l'absence de rayures, l'état sec et ne pas poser les doigts sur les faces transparentes des cuves. Les nettoyer avec du papier Joseph si nécessaire.
- **Homogénéiser les différentes solutions** avant de procéder au remplissage des cuves et juste avant la lecture au spectrophotomètre.
- **Remplir les cuves aux 2/3 de la hauteur** ou même moins pour éviter tout renversement dans l'appareil.

**Consigne de sécurité : porter des gants et des lunettes de protection uniquement lorsque la manipulation de la solution expose à des risques chimiques ou biologiques.**

## 2. LECTURE AU SPECTROPHOTOMETRE :

- Mettre l'appareil sous tension et sélectionner la longueur d'onde de travail adaptée au dosage.
- Faire le zéro de l'appareil sur le témoin ou blanc-réactifs.  
*Remarque : dans certains cas, le zéro est réalisé sur l'eau distillée. On mesure ensuite l'absorbance du témoin-réactifs et on la retranche par calcul aux valeurs d'absorbance des étalons et des essais.*
- Etalonner l'appareil en faisant passer les cuves contenant les solutions réactionnelles étalons par ordre croissant de concentration.
- Passer les cuves des solutions essais.
- Refaire les mesures si la progression des absorbances ne semble pas logique.

**Reporter sur une feuille toutes les valeurs d'absorbance affichées par l'appareil au fur et à mesure de la lecture.**

## 3. NETTOYAGE ET RANGEMENT

- Vider le contenu des cuves dans des poubelles adaptées.
- Les rincer à l'eau et les faire tremper dans une solution de nettoyage si elles doivent être réutilisées.
- Eteindre l'appareil.

Ils permettent l'isolement d'une substance à partir d'un mélange.

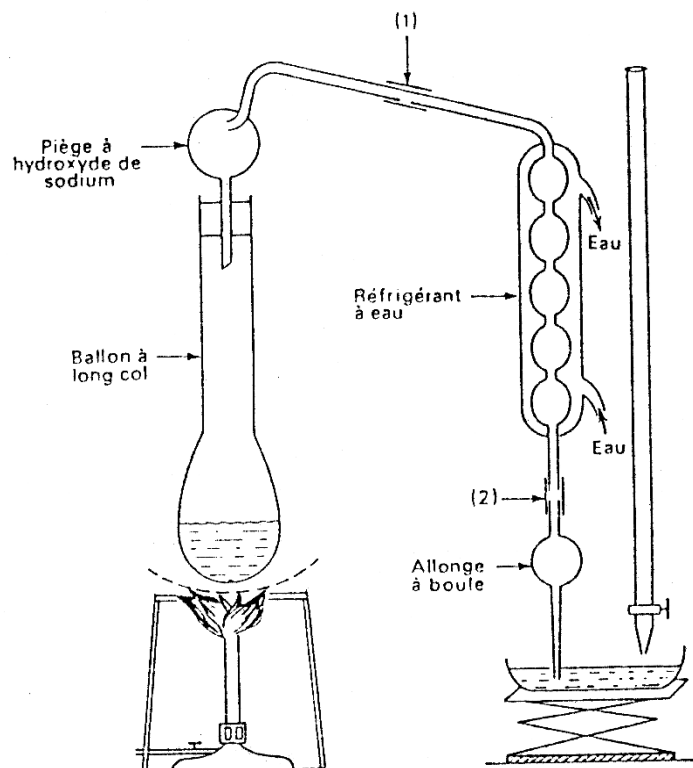
Exemples : récupération de l'alcool du vin, isolement de l'azote du lait ...

On distingue :  
 - les appareils totalement automatisés,  
 - les appareils à distiller pour les dosages en macro méthode comme l'appareil de Schloesing,  
 - les appareils pour les dosages en micro méthode dits avec entraînement à la vapeur d'eau : appareils de Markham et de Parnas.

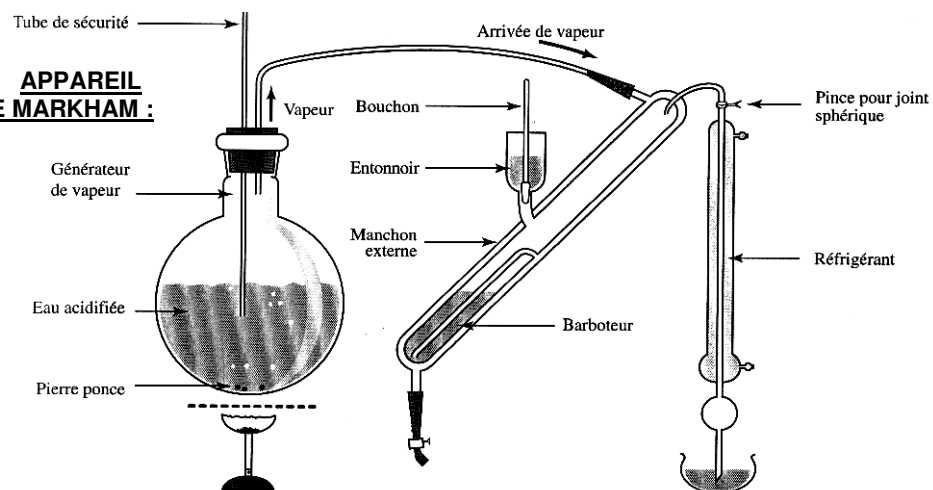
#### Consignes de sécurité :

- Porter des lunettes de protection lors du montage d'un appareil pour protéger les yeux des bris de verre en cas de casse.
- Ne pas forcer lors de l'assemblage des diverses pièces. En cas d'utilisation de tubes en caoutchouc, il est conseillé de les mouiller avec de l'eau avant leur mise en place sur le verre.

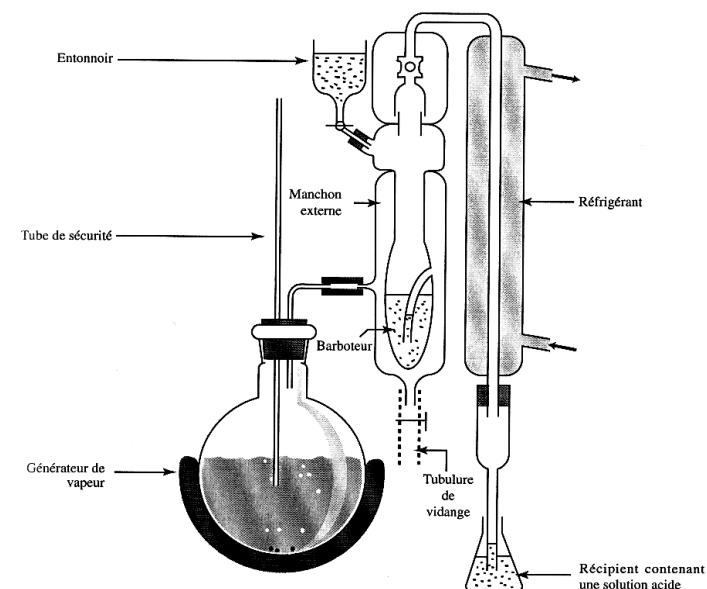
#### ► APPAREIL A DISTILLER DE SCHLOESING :



#### ► APPAREIL DE MARKHAM :



#### ► APPAREIL DE PARNAS :



#### Conseils d'utilisation :

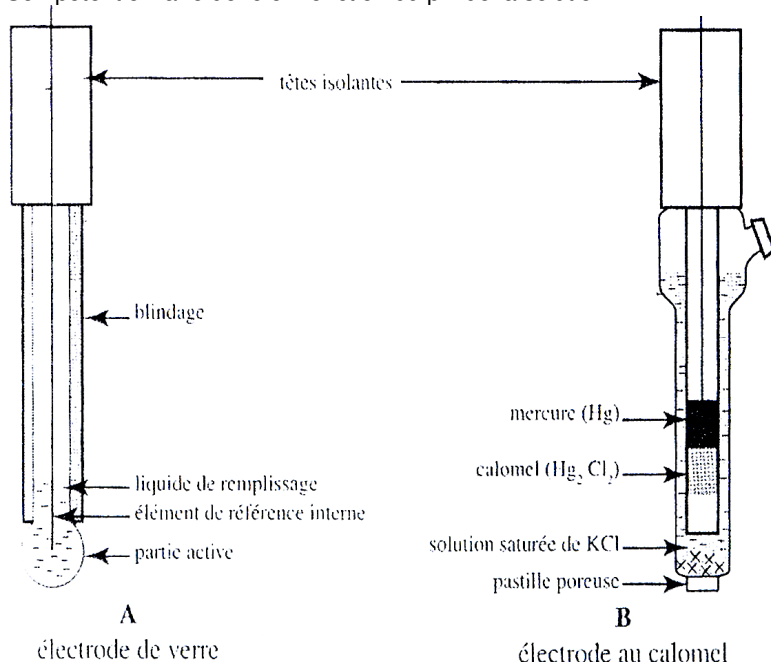
- La circulation d'eau dans un réfrigérant se fait toujours de bas en haut pour assurer son efficacité.
- L'ébullition dans le ballon doit être régulière.
- En cours d'utilisation, certaines pièces du montage sont très chaudes, attendre le refroidissement avant toute action sur l'appareil.



Il s'agit d'un appareil mesurant une différence de potentiel entre deux électrodes plongées dans la solution à étudier puis il en déduit le potentiel d'hydrogène ou pH.

Les électrodes sont :

- une électrode au calomel qui a un potentiel stable, indépendant du pH de la solution. Elle sert d'électrode de référence,
- une électrode de verre possédant une membrane de verre qui laisse passer les ions  $H^+$ . Son potentiel varie donc en fonction du pH de la solution.

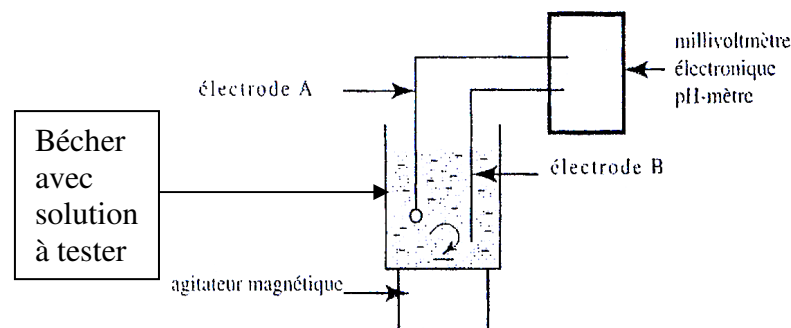


Remarque : Il existe des électrodes dites combinées qui associent électrode de verre et électrode de référence, plus résistantes aux chocs que les électrodes de verre.

#### Précautions techniques :

- L'électrode de verre est très fragile et ne doit pas entrer en contact avec le barreau aimanté de l'agitateur magnétique.
- Entre deux mesures, ne pas laisser les électrodes à l'air mais les immerger dans de l'eau distillée ou les ranger dans leur solution de conservation (eau distillée pour l'électrode de verre, solution saturée de chlorure de potassium pour l'électrode au calomel).

#### ► SCHEMA DU MONTAGE :



Lors d'un dosage potentiométrique, le montage comporte aussi une burette amenant le réactif titrant antagoniste dans la solution à doser.

#### ► PROTOCOLE D'UTILISATION :

Le pH-mètre est gradué directement en unité pH mais pour être fiable, il est préalablement étalonné à l'aide de solutions de pH connu, les solutions tampons.

Pour l'utilisation, on suit le manuel technique variant d'un appareil à l'autre mais d'une manière générale il faut :

- Bien rincer les électrodes à l'eau distillée et les essuyer avec du papier Joseph puis les plonger dans la solution tampon.
- Etalonner l'appareil avec une ou plusieurs solutions tampons.
- Rincer soigneusement les électrodes à l'eau distillée et les essuyer avec du papier Joseph avant de les plonger dans la solution à tester.
- Lire le pH de la solution à tester.
- Bien rincer et ranger les électrodes en fin d'utilisation.