

Vérification par méthode gravimétrique des qualités métrologiques de micropipettes à piston de deux marques différentes

Matériel à disposition :

- quatre balances de précisions
- quatre petits béchers
- deux pipettes de la marque n°1
- deux pipettes de la marque n°2
- une solution d'eau distillée
- une solution visqueuse d'huile d'olive

Objectifs :

La séance a pour but de vérifier les qualités métrologiques des pipettes à piston, à savoir la **justesse** et la **fidélité** de l'instrument.

Chaque élève utilisera une seule pipette sur une seule balance en effectuant 5 mesures pour chacune des deux solutions.

Les résultats pourront être traités mathématiquement et statistiquement sous plusieurs angles simultanément :

- en comparant les résultats obtenus par des élèves ayant utilisé la même pipette (influence « Manipulateur »),
- en comparant les résultats obtenus par des élèves ayant utilisé des pipettes différentes et en comparant également les marques de pipette (influence « Moyen »),
- en comparant également les résultats obtenus pour les deux solutions (influence « Matière »).

Dans ce dernier cas, l'ensemble des mesures de tous les élèves sur toutes les pipettes pourra être analysé afin de comparer justesse et fidélité des pipettes sur les deux solutions de viscosité différente.

1 Rappel sur l'utilisation d'une pipette

- Relire la fiche technique d'utilisation d'une pipette à piston (cf. documents annexes)

2 Obtention des données : mesurages

- Réglage de la pipette sur le volume de 1000 μL

- Placer le récipient de pesée contenant un peu de solution sur le plateau de la balance

- Effectuer 5 mesurages de la manière suivante :

- a) ajuster la balance à zéro
- b) adapter un cône et le rincer une fois avec la solution à prélever en pipetant et rejetant la solution **AVEC PRECAUTION** (veiller à ne pas laisser de gouttes dans le cône)
- c) effectuer un prélèvement de 1000 μL
- d) sortir le récipient de la balance pour y éjecter le liquide
- e) replacer le récipient de pesée sur le plateau de la balance
- f) noter la masse m_1 dans le cahier
- g) ajuster la balance à zéro
- h) recommencer 4 fois les étapes c) à g) en notant à chaque fois la nouvelle masse (m_2 à m_5)

Remarque : Procéder de même pour les deux solutions à tester.

3 Traitement numérique des données

2.1 Conversion des masses en volume

La méthode gravimétrique consiste à peser un volume mesuré avec la pipette à contrôler. Il faut ensuite convertir les masses mesurées en volumes.

Vous disposez des masses volumique de l'eau $\rho_{\text{eau}} = 0,998205 \text{ g.mL}^{-1}$ et de l'huile $\rho_{\text{huile}} = 0,918349 \text{ g.mL}^{-1}$.

2.2 Calcul du biais

-Calcul de la moyenne des volumes déterminés V

-Calcul du biais : $\text{biais} = (\text{moyenne des } V_{\text{mesurés}}) - V_{\text{référence}}$; avec $V_{\text{référence}} = \text{Volume réglé sur la pipette}$

-Calcul du biais relatif (en %) : $\text{biais relatif} = (\text{biais}/V_{\text{référence}}) \times 100$

2.3 Calcul de l'écart-type

-Calcul de l'écart-type expérimental s

-Calcul de l'écart-type relatif ou coefficient de variation (en %) : $\text{CV} = s/V_{\text{moyenne}} \times 100$

2.4 Evaluation de la conformité par rapport aux données fournisseurs

La conformité est évaluée en vérifiant la **justesse** et la **fidélité** d'une pipette en condition de répétabilité. Il s'agit ainsi de comparer les données obtenues aux données fournies dans la notice technique du fournisseur.

La justesse est évaluée en comparant le biais à l'erreur maximale tolérée.

La fidélité est quant à elle évaluée en comparant l'écart-type expérimental à l'écart-type maximal toléré.

-Evaluer la justesse et la fidélité de la pipette utilisée

-Conclure quant à sa conformité

4 Exploitation statistique des données

La classe sera divisée en trois groupes.

Dans un tableau :

- **Groupe 1 « Une pipette donnée (influence manipulateur) »**
regrouper les données propres à chaque pipette
- **Groupe 2 « Une marque de pipette donnée (influence moyen) »**
regrouper les données propres à chaque marque
- **Groupe 3 « Nature de la solution (influence matière) »**
regrouper les données propres à chaque liquide

Chaque groupe devra, à l'aide des outils statistiques usuels (moyenne, médiane, écart type, écart interquartile) comparer les données et déterminer :

- dans le cas du groupe 1 : si les pipettes donnent des résultats semblables ou si une pipette semble défectueuse ;
- dans le cas du groupe 2 : si une marque de pipette semble plus performante que l'autre ;
- dans le cas du groupe 3 : si l'erreur est plus importante pour un liquide plus visqueux ou non.

Rappels : *L'écart type mesure l'écart à la moyenne ; plus l'écart type est petit, plus les mesures sont fidèles.*

La moyenne devra être proche de 1 000 μL qui est le volume théorique.

- Fiche d'utilisation d'une micropipette à piston
- Données fournisseurs concernant les pipettes utilisées

Comment utiliser une micropipette à piston ?

Avant le prélèvement

Régler le volume en respectant les directives du fabricant et adapter un cône à l'extrémité de la pipette ;
Prérincer le cône avec le liquide à prélever.

Prélèvement du liquide : aspiration

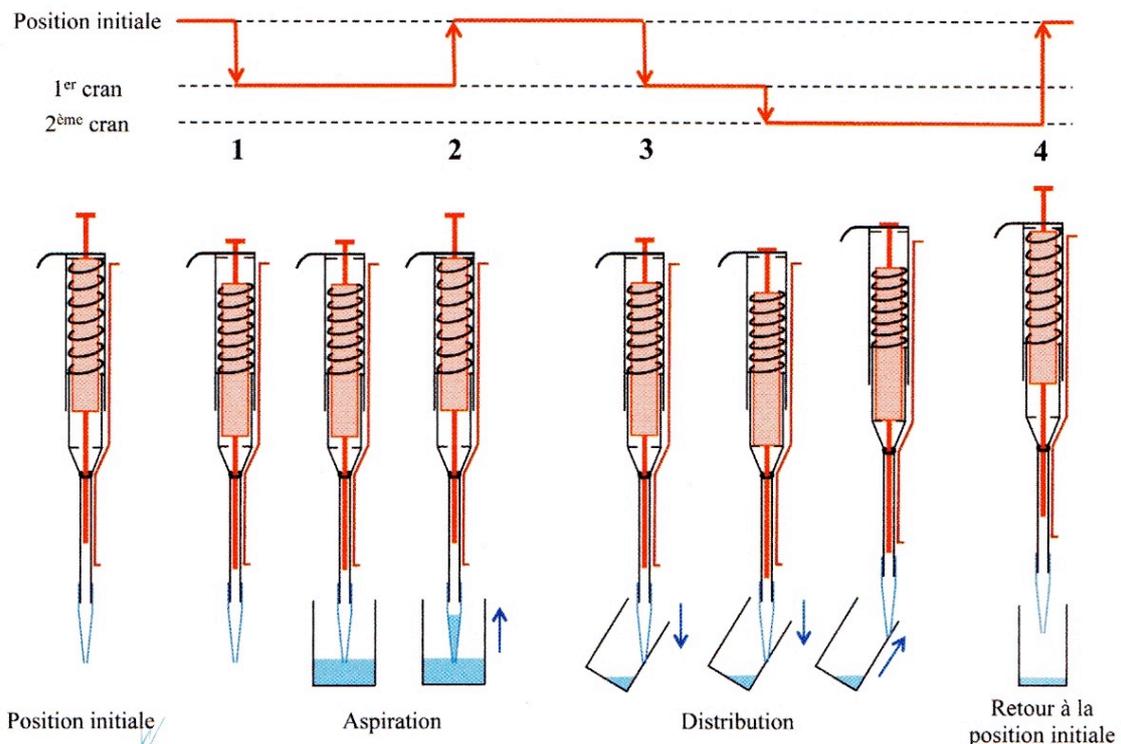
1. Tenir la pipette **verticale** et appuyer jusqu'au **1^{er} cran** ;
2. Plonger le cône dans le liquide (environ à 2 mm en dessous de la surface du liquide) et **relâcher doucement** le bouton poussoir. Attendre 1 à 2 s puis sortir le cône du liquide et le faire glisser contre la paroi du tube pour essuyer la goutte éventuelle.

Écoulement du liquide : distribution

3. Appuyer la **pointe du cône contre la paroi du récipient**, la pipette étant maintenue **verticale**, puis délivrer le liquide en **appuyant doucement** sur le bouton poussoir jusqu'au **1^{er} cran** ; attendre 1 à 2 s, puis appuyer jusqu'au **2^e cran** (une réserve d'air permet de chasser le petit volume de liquide éventuellement restant dans le cône). Tout en maintenant le bouton poussoir enfoncé, faire glisser le cône contre la paroi puis l'écarter de la paroi et sortir la pipette du récipient.

Après l'écoulement

4. Relâcher alors le bouton poussoir jusqu'à sa position initiale ;
 Éjecter le cône souillé dans la poubelle appropriée et raccrocher la pipette sur son support en position verticale.



- Lors de l'affichage du volume, **ne jamais forcer les graduations au delà de la valeur maximale** de la pipette.
- Manipuler **doucement** le bouton poussoir. Maintenir la pipette **verticale**.
- **Prérincer** le cône avant pipetage pour des performances optimales.
- **Vérifier régulièrement** les qualités de la pipette par méthode gravimétrique.

Données des fournisseurs concernant les limites d'erreurs autorisées

<i>Pipettes</i>	<i>Volume d'essai (μL)</i>	<i>Erreur Maximale tolérée</i>		<i>Ecart-type Maximal toléré</i>	
		<i>Erreurs systématiques</i>	<i>Erreurs aléatoires</i>	<i>Erreurs systématiques</i>	<i>Erreurs aléatoires</i>
		<i>+/- μL</i>	<i>+/- %</i>	<i>+/- μL</i>	<i>+/- %</i>
Biohit 100 - 1000 μL	100	4.0	4	3.0	3
	500	8.0	1.6	3.0	0.6
	1000	8.0	0.8	3.0	0.3
Acura 100 - 1000 μL	100	1,5	1.5	0.5	0.5
	500	5.0	1.0	2.0	0.4
	1000	5.0	0.5	2.0	0.2

**Séance mise en place par Naïck MAURICE (Mathématiques) et Thibault CARRE (Biotechnologies)
Lycée Paul Langevin, SURESNES**

Les objectifs de séances sont décrits en début de documents.

Les élèves ont particulièrement bien apprécié la partie manipulation et notamment l'aspect « contrôle » des manipulations des uns par les autres. Ils sont en effet intransigeants lorsqu'ils regardent leur camarade manipuler et font des remarques et critiques très pertinentes.

Ils ont ensuite bien appréhendé la partie d'analyse de leurs propres résultats, et certains avaient à la fin de la première séance de 2 heures déjà terminé tous les calculs individuels possibles. Ils avaient donc déjà une idée de la justesse et de la fidélité de leur pipette, ainsi que de l'impact de la viscosité du liquide prélevé.

Bien évidemment, ceux ayant des difficultés de calculs n'en étaient pas là, mais ils ont également pu s'entraider pour savoir quels calculs réaliser et comment les faire.

L'analyse statistique de l'ensemble des données de l'ensemble du groupe a ensuite été réalisée en partie dans une séance de Mathématiques, puis poursuivie lors d'une séance supplémentaire de Biotechnologies.

Le bilan de cette séance est très positif car les élèves ont acquis/ou amélioré à la fois leurs connaissances pratiques d'utilisation d'une micropipette, ainsi que la bonne utilisation d'une balance ; leur compréhension de la justesse et de la fidélité d'un instrument de mesure ainsi que la notion de dispersion des résultats avec l'écart-type ; ainsi que l'influence de différents paramètres sur le résultat de mesure.

Cependant, l'ensemble des calculs est très (trop ?) complexe pour certains qui retirent de ce fait un bénéfice moindre d'une telle séance. Mais ces derniers ont tout de même, il me semble, bien assimilé les notions importantes, même sans comprendre vraiment l'aspect purement mathématique.