

Année 2025 - 2026

2^{ème} année BTS Bioanalyses
en Laboratoire de Contrôle

Activité technologique en gestion opérationnelle et documentaire du laboratoire

Activité pratique N°6



L. GODIN
<http://ligodin.free.fr>

l.godin@etsl.fr

TP n°6 : QUALIFICATION OPÉRATIONNELLE d'une CPG

1. BUT ET CONTEXTE	2
1.1. But de la manipulation	2
1.2. Composés de la solution test	2
1.3. Toxicité des composés de la solution test	3
1.4. Caractéristiques physico-chimiques des composés de la solution test	3
2. MATERIEL ET REACTIFS	3
3. MODE OPERATOIRE	4
3.1. Prise de température four à 60 et 140 °C	4
3.1.1. Justesse des températures du four	4
3.1.2. Stabilité des températures du four	4
3.2. Contrôle des débits "référence" et "make up"	5
3.2.1. Contrôle du débit "référence"	5
3.2.2. Contrôle du débit "make up"	5
3.3. Etude de la dérive de ligne de base et du bruit de fond	6
3.4. Vérification de la répétabilité de mesure	6
3.4.1. Préparation de la solution test	6
3.4.2. Analyser 6 fois la solution test	6
3.5. Etude de la linéarité du détecteur	7
3.5.1. Préparation de la gamme à partir de la solution test	7
3.5.2. Passage de la gamme et traitements des résultats	7
3.5.3. Résultats	7
4. CONCLUSION GENERALE	7
5. RAPPORT D'ACTIVITÉ	9
5.1. Prise de température four à 60 et 140 °C	10
5.1.1. Justesse des températures du four	10
5.1.2. Stabilité des températures du four	10
5.2. Contrôle des débits "référence" et "make up"	11
5.2.1. Contrôle du débit "référence"	11
5.2.2. Contrôle du débit "make up"	12
5.3. Etude de la dérive de ligne de base et du bruit de fond	14
5.4. Vérification de la répétabilité de mesure	15
5.4.1. Préparation de la solution test	15
5.4.2. Analyser 6 fois la solution test	16

5.5. Etude de la linéarité du détecteur	17
5.5.1. Préparation de la gamme à partir de la solution test	17
5.5.2. Courbes d'étalonnage	18
5.5.3. Résultats	21
5.6. Conclusion générale	22

1 BUT ET CONTEXTE

1.1. But de la manipulation

Le but de la manipulation est de qualifier la CPG :

La qualification opérationnelle est la preuve documentée établissant que l'appareil est capable de fonctionnements répétés dans les limites déterminées par le cahier des charges du constructeur.

La qualification opérationnelle est de la responsabilité de l'utilisateur.

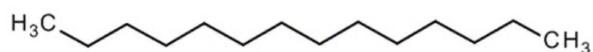
Elle se traduit par une série d'essais, en dynamique, des sous-systèmes :

- Vérifier l'exactitude et la stabilité des températures du four.
- Vérifier l'exactitude et la stabilité des débits de gaz.
- Montrer que la dérive de ligne de base, ainsi que le bruit de fond sont à l'intérieur des spécifications du fabricant.
- Étudier la répétabilité en aires et en temps de rétention d'un échantillon test.
- Étudier la linéarité du détecteur.

1.2. Composés de la solution test

On utilisera une solution de tétradécane (C14), pentadécane (C15) et hexadécane (C16) en solution dans l'iso-octane.

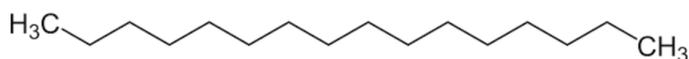
Le tétradécane est un alcane linéaire de formule brute C₁₄H₃₀ :



Le pentadécane est un alcane linéaire de formule brute C₁₅H₃₂ :



L'hexadécane est un alcane linéaire de formule brute C₁₆H₃₄ :



L'Iso-octane (2,2,4-triméthylpentane) est un hydrocarbure de formule brute C₈H₁₈. C'est un isomère de l'octane :



1.3. Toxicité des composés de la solution test

Le tétradécane, le pentadécane et l'hexadécane et l'iso-octane sont toxiques par aspiration.

1.4. Propriétés physico-chimiques des composés de la solution test

Caractéristiques physico-chimiques du C14, C15 et C16 dans l'iso-octane :

Composés	masse molaire (g.mol ⁻¹)	température d'ébullition (°C)	Masse volumique (g.cm ⁻³)	Aspect	solubilité
Tétradécane (C14)	198,388±0,013	253,58	0,759 à 24,95 °C	Liquide incolore à température ambiante	Faible solubilité dans l'eau
Pentadécane (C15)	212,4146±0,0142	270,68	0,773	Liquide incolore à température ambiante	insoluble dans l'eau
Hexadécane (C16)	226,448	286,9	0,77	Liquide incolore à température ambiante	insoluble dans l'eau
Iso-octane 2,2,4-triméthylpentane	114,2285±0,0077	99,23	0,69	Liquide incolore à température ambiante	Peu soluble dans l'eau

2. MATERIELS ET REACTIFS

- 1 thermomètre électronique Peakmeter de type K et son capteur thermocouple filaire Pt100 (mesure de -50 à 1300 °C) ;
- 1 débitmètre électronique Varian ;
- 1 fiole de 10 mL ;
- Une bouteille de 1L d'iso-octane comme solvant ;
- Des flacons de tétradécane, pentadécane et hexadécane ;
- Une pipette jaugée de 2 mL ;
- Une micropipette P1000 ;
- Des fioles de 5 mL avec leur bouchon.
- Une seringue d'injection de 10 µL.

• **Chromatographe Varian GC450** piloté via réseau par un PC sous windows XP équipé du logiciel **CompassCDS 3.0** ; celui-ci est équipé de deux colonnes, deux injecteurs et un TCD.

Attention à ne jamais mettre en service avant d'avoir vérifié le passage effectif du gaz vecteur dans le TCD

- * Gaz vecteur : Hélium
- * Colonnes : ① Colonne apolaire widebore, (CP CIL 5) 100 % MéthylPolySiloxane, en **position médium** (15 m, 530 μm) ;
② Colonne polaire widebore, (CP WAX 52 CB) en PolyÉthylèneGlycol (PEG), en **position frontale** (15 m, 530 μm).
- * Sortie du signal sur un intégrateur à microprocesseur.
- * Injection via une seringue de 10 μL .

3. MODE OPERATOIRE

3.1. Prise de température four à 60 et 140 °C

3.1.1. Justesse des températures du four

- ☛ Placer la sonde filaire du thermomètre électronique dans le four.

Utiliser la notice technique du chromatographe GC450 Varian

- ☛ Allumer le thermomètre électronique et attendre environ 30 secondes que la stabilisation grossière de l'affichage s'effectue sur le thermomètre. Prendre les mesures de température toutes les 15 secondes pendant une minute.



Rapport

Relever les mesures dans le CL.

Calculer la moyenne des mesures effectuées sur 1min à 60 °C et à 140°C.

Les moyennes obtenues ne doivent pas dépasser $\pm 3 \%$ de la valeur indiquer par le four. Conclure.

3.1.2. Stabilité des températures du four

- ☛ Prendre les mesures de température toutes les minutes pendant 10 minutes.



Rapport

Relever les mesures dans le CL.

Déterminer l'écart entre la plus petite et la plus grande valeur qui sont mesurées à 60 °C et à 140°C.

Les écarts mesurés doivent être inférieurs à 1°C. Conclure.

Remarque : le thermomètre électronique est conçu pour s'éteindre au bout de 5 min d'utilisation, lorsque cela arrive, l'allumer de nouveau et continuer la prise de mesure.

3.2. Contrôle des débits « référence » et « make up »

3.2.1. Contrôle du débit « référence »

☛ Enfoncer le tube en caoutchouc du débitmètre électronique sur la sortie « référence » (sortie gauche) du TCD.

Utiliser la notice technique du chromatographe GC450 Varian

☛ Allumer le débitmètre électronique et attendre environ 30 secondes que la stabilisation grossière de l'affichage s'effectue sur le débitmètre. Prendre les mesures de débit toutes les minutes pendant 10 minutes.



Rapport

Relever les mesures dans le CL.

Déterminer l'écart entre la plus petite et la plus grande valeur de débit qui sont mesurées.

Les valeurs ne doivent pas dépasser $\pm 10\%$ de la valeur indiquée par l'EFC23. Conclure.

3.2.2. Contrôle du débit « make up »

☛ Enfoncer le tube en caoutchouc du débitmètre électronique sur la sortie « make up » (sortie droite) du TCD.

Utiliser la notice technique du chromatographe GC450 Varian

☛ Allumer le débitmètre électronique et attendre environ 30 secondes que la stabilisation grossière de l'affichage s'effectue sur le débitmètre. Prendre les mesures de débit toutes les minutes pendant 10 minutes.



Rapport

Relever les mesures dans le CL.

Déterminer l'écart entre la plus petite et la plus grande valeur de débit qui sont mesurées.

Les valeurs ne doivent pas dépasser $\pm 10\%$ de la valeur indiquée par l'EFC23. Conclure.

Remarque : le débitmètre électronique est conçu pour s'éteindre au bout de 10 min d'utilisation, lorsque cela arrive, l'allumer de nouveau et continuer la prise de mesure.

3.3. Étude de la dérive de ligne de base et du bruit de fond

➤ Après avoir démarré le PC et lancé le logiciel COMPASS, lancer un Run sans injection.

Utiliser la notice technique du chromatographe GC450 Varian



Rapport

Imprimer la ligne de base. Mesurer la dérive de ligne de base.

Celle-ci doit être inférieure à 1000 μV sur 10 min (soit 100 $\mu\text{V}/\text{min}$).

Mesurer le bruit de fond.

Celui-ci doit être inférieur à 500 μV . Conclure.

3.4. Vérification de la répétabilité de mesure

3.4.1. Préparation de la solution test

➤ Utiliser une **fiolle de 10 mL sèche et propre**. La placer sur la balance, et la tarer. Mettre des gants et à l'aide d'un compte-goutte dédié, introduire 2 gouttes de C14, noter la masse mesurée dans le CL, puis tarer la balance. Faire de même avec le C15 et le C16. Enfin pour terminer, compléter la fiolle au trait de jauge à l'aide du solvant iso-octane.



Rapport

Vous calculerez les concentrations massiques exactes des 3 alcanes.

3.4.2. Analyser 6 fois la solution test

➤ Procéder à l'injection de 1 μl d'échantillon test, choisi en fonction du détecteur et de la colonne utilisée, 6 fois de suite.

Utiliser la notice technique du chromatographe GC450 Varian



Rapport

Imprimer les 6 chromatogrammes.

Calculer les coefficients de variation des temps de rétention et des surfaces des pics de C14, C15 et C16.

Les CV% doivent être inférieurs à 0,5 % pour les temps de rétention, inférieurs à 2 % pour les surfaces des pics. Conclure.

3.5. Étude de la linéarité du détecteur

3.5.1. Préparation de la gamme à partir de la solution test

☛ **Préparation de la gamme** : à partir de la solution test :

Préparer la gamme d'étalonnage en fioles de 5 mL avec bouchon adéquat, suivant le tableau ci-dessous :

Fioles	V _{solution test} (mL)	Concentrations solutions filles (%)	Concentration exacte en C14 (g/L)	Concentration exacte en C15 (g/L)	Concentration exacte en C16 (g/L)
1		5			
2		10			
3		20			
4		40			

Vous complétez avec de l'iso-octane, qsp 5 mL.

3.5.2. Passage de la gamme et traitement des résultats

Utiliser la notice technique du chromatographe GC450 Varian

3.5.3. Résultats



Rapport

- Imprimer les 3 droites d'étalonnage avec tous les paramètres utiles.
- Relever les coefficients de détermination R^2 pour chaque droite.
- **Les valeurs de R^2 doivent être supérieures à 0,98.**
- Calculer les déviations pour chaque concentration.
- **Les déviations ne doivent pas dépasser $\pm 5\%$ pour chaque concentration.**

4. CONCLUSION GENERALE



Rapport

Conclure sur l'ensemble des manipulations réalisées, et donc sur la **qualification opérationnelle** de l'appareil.

5. TP N° 6 : RAPPORT D'ACTIVITÉ : QUALIFICATION OPÉRATIONNELLE D'UNE CPG

5.1. Prise de température four à 60 et 140 °C

5.1.1. Justesse des températures du four

Calculer la moyenne des mesures effectuées sur 1min à 60 °C et à 140°C.

Les moyennes obtenues ne doivent pas dépasser $\pm 3 \%$ de la valeur indiquée par le four. Conclure.

5.1.2. Stabilité des températures du four

Déterminer l'écart entre la plus petite et la plus grande valeur qui sont mesurées à 60 °C et à 140°C.

Les écarts mesurés doivent être inférieurs à 1°C. Conclure.

5.2. Contrôle des débits « référence » et « make up »

5.2.1. Contrôle du débit « référence »

Déterminer l'écart entre la plus petite et la plus grande valeur de débit qui sont mesurées.

Les valeurs ne doivent pas dépasser $\pm 10\%$ de la valeur indiquée par l'EFC23. Conclure.

5.2.2. Contrôle du débit « make up »

Déterminer l'écart entre la plus petite et la plus grande valeur de débit qui sont mesurées.

Les valeurs ne doivent pas dépasser $\pm 10\%$ de la valeur indiquée par l'EFC23. Conclure.

5.3. Étude de la dérive de ligne de base et du bruit de fond

☛ Imprimer la ligne de base :

Ligne de base à coller ici

Mesurer la dérive de ligne de base.

Celle-ci doit être inférieure à 1000 μV sur 10 min (soit 100 $\mu\text{V}/\text{min}$).

Mesurer le bruit de fond.

Celui-ci doit être inférieur à 500 μV . Conclure.

5.4. Vérification de la répétabilité de mesure

5.4.1. Préparation de la solution test

Calculer les concentrations massiques exactes de C14, C15 et C16 en solution dans l'iso-octane :

5.4.2. Analyser 6 fois la solution test

- Imprimer les 6 chromatogrammes zoomés à l'écran, à l'aide du Workspace :

6 chromatogrammes
superposés à coller ici

Résultats sous forme de
tableaux à coller ici

Calculer les coefficients de variation des temps de rétention et des surfaces des pics de C14, C15 et C16.

Les CV% doivent être inférieurs à 0,5 % pour les temps de rétention, inférieurs à 2 % pour les surfaces des pics. Conclure.

5.5. Étude de la linéarité du détecteur

5.5.1. Préparation de la gamme à partir de la solution test

☛ **Gamme d'étalonnage :**

Remplir le tableau de la gamme d'étalonnage ci-dessous :

Fioles	V _{solution test} (mL)	Concentrations solutions filles (%)	Concentration exacte en C14 (g/L)	Concentration exacte en C15 (g/L)	Concentration exacte en C16 (g/L)
1		5			
2		10			
3		20			
4		40			

Donner pour la fiole n° 2, un exemple de calcul pour V_{solution test} et pour les concentrations exactes en C14, C15 et C16.

5.5.2. Courbes d'étalonnage

Rendre les courbes d'étalonnage pour C14, C15 et C16. Coller les 3 feuilles correspondantes ci-dessous :

Courbe d'étalonnage C14
à coller ici

*Courbe d'étalonnage C15
à coller ici*

*Courbe d'étalonnage C16
à coller ici*

5.5.3. Résultats

- Relever les coefficients de détermination R^2 pour chaque droite.
- Les valeurs de R^2 doivent être supérieures à 0,98.

☛ Calculer les déviations pour chaque concentration de la solution C16

Nom de la solution	C (%)	Height (μV)	Sensibilité relative ($\text{mg}^{-1}.\text{L}$)	Deviation (%)
Fiolle 1	5	$h_1 =$	① = $h_1/5$	
Fiolle 2	10	$h_2 =$	② = $h_2/10$	
Fiolle 3	20	$h_3 =$	③ = $h_3/20$	
Fiolle 4	40	$h_4 =$	④ = $h_4/40$	

$$\text{Déviation (\%)} = \frac{\text{sensibilité relative} - \text{sensibilité relative standard}}{\text{sensibilité relative standard}} \times 100$$

$$\text{Avec sensibilité relative standard} = \frac{\textcircled{1} + \textcircled{2} + \textcircled{3} + \textcircled{4} + \textcircled{5}}{5}$$

- Les déviations ne doivent pas dépasser $\pm 5\%$ pour chaque concentration. Conclure.

5.6. Conclusion générale

Conclure sur l'ensemble des manipulations réalisées, et donc sur la **qualification opérationnelle** de l'appareil.