



L'appareillage de laboratoire

LES PREMIERS LABORATOIRES

Les premiers laboratoires (du latin *laborare*, travailler, et *orare*, prier) ont été conçus par les alchimistes. Selon eux, la transformation de la matière était autant un acte scientifique empirique qu'un acte magique. Dès le 1^{er} siècle de notre ère, leur principal objectif fut la fabrication de « l'Élixir de Longue Vie », ainsi que de la pierre philosophale censée transmuter le fer ou le plomb en or ; ces recherches teintées d'ésotérisme améliorèrent néanmoins la connaissance des propriétés chimiques des métaux.

DE L'ŒUF PHILOSOPHIQUE À L'ACCÉLÉRATEUR DE PARTICULES

L'appareillage utilisé dans les laboratoires des alchimistes était le suivant :

- un creuset ;
 - un fourneau alchimique, l'athanor, en forme de tour munie d'une fenêtre d'observation ;
 - une cornue ovoïde nommée « œuf philosophique » (ou aludel), chauffée dans l'athanor et dans laquelle les substances étaient transformées. Elle pouvait être en terre cuite, en verre ou en cristal ;
 - un appareil de distillation nommé « pélican » en raison de sa forme ;
 - des outils permettant d'entretenir le feu du fourneau, tels qu'un soufflet ou un tisonnier ;
 - des outils servant à préparer la matière, tels que des pinces, un marteau, des récipients divers et variés ;
 - une desydyre ou un cadran solaire pour mesurer le temps des réactions ;
 - enfin des objets servant au mysticisme inhérent à l'alchimie, comme des miroirs (censés mimer l'influence de la lune), ou même des instruments de musique.
- Le thermomètre n'existant pas encore, la température dans l'athanor était évaluée au jugé... L'ancêtre du microscope, quant à lui, existait déjà sous la forme de gouttelettes de verre solidifiées. Dans les siècles qui suivirent, et notamment sous l'action des alchimistes chinois et arabes, de nouveaux réactifs furent découverts et l'appareillage de laboratoire fut perfectionné. L'appareil à distillation bénéficia largement des progrès effectués dans le travail du verre. Ainsi, à partir du 17^{ème} siècle, de nouveaux réactifs tels que l'alun, le phosphore, l'eau régale (capable de solubiliser l'or), ou bien encore les acides sulfurique et chlorhydrique,

purent être obtenus par distillation. À partir du 17^{ème} siècle, les avancées de la métallurgie et de la médecine nécessitèrent le perfectionnement des méthodes de quantification (telles que la balance de laboratoire), de même que des méthodes de séparation de la matière. Au 18^{ème} siècle, les premiers microscopes « simples » virent le jour, grâce à des lentilles dont la régularité de la courbure permettait des grossissements allant jusqu'à 160 fois ; sous l'inspiration de Johannes Kepler, des microscopes dits « composés » furent ensuite mis au point par conjugaison de plusieurs lentilles.

Aux 19^{ème} et 20^{ème} siècles, l'explosion des découvertes scientifiques eut pour corollaire des innovations considérables dans le domaine des techniques de laboratoire. Ainsi :

- en 1855, Robert Wilhelm Bunsen donna son nom au fameux **bec à gaz** qui est toujours généralement



- utilisé dans les laboratoires ;
- en 1881, Robert Koch cultiva pour la première fois des bactéries sur de la gélatine ; ce procédé donna naissance 6 ans plus tard à la boîte de Pétri, cet outil incontournable des laboratoires de microbiologie actuels ;
- en 1883, Carl de Laval inventa la première véritable centrifugeuse (en fait, une écrémeuse) ;
- en 1906 Mikhaïl Tswett inventa la chromatographie sur colonne, en séparant les pigments de plantes grâce à des colonnes d'adsorption contenant de la craie pulvérisée ;
- en 1924, Antoine Lacassagne et Jeanne Lattès mirent au point la première méthode d'autoradiographie afin de localiser le polonium radioactif dans des échantillons biologiques, inaugurant ainsi l'ère de l'imagerie médicale ;
- en 1926, Theodor Svedberg inventa la première ultracentrifugeuse ;
- en 1931, Ernest Orlando Lawrence mit au point le cyclotron, un accélérateur à particules ;
- entre 1931 et 1933, Ernst Ruska et Max Knoll développèrent le premier microscope électronique à transmission, lequel fut perfectionné dans les années 40 grâce à l'invention de la technique dite de « balayage » ;
- en 1933, Arne Tiselius parvint à séparer des protéines en solution par le principe d'électrophorèse, une technique très largement employée aujourd'hui en biochimie et en biologie moléculaire ;

- en 1948, Daniel Pease et Richard Baker obtinrent, grâce à un microtome, des coupes de matériel biologique d'une épaisseur de 0,1 à 0,2 µm ;
- en 1976, Erwin Neher et Bert Sakmann mirent au point la technique de patch-clamp, qui



permet d'enregistrer les courants électriques transmembranaires des cellules ;

- en 1983, Kary Mullis développa la technique de **PCR** (ou réaction de polymérisation en chaîne de l'ADN).

L'APPAREILLAGE EN CHIMIE

L'appareillage de base des laboratoires de chimie se compose, principalement, de récipients servant à stocker, à transvaser, à mélanger ou à mesurer les solutions. Leur contenance est variable, puisqu'elle peut aller de quelques ml à plusieurs litres. Ils sont généralement en Pyrex ou en matière plastique (telle le polypropylène), mais certains peuvent être réalisés dans des matières résistant à la corrosion. Voici les plus utilisés.

LA VERRERIE

- La **cornue** : elle sert à la distillation. Elle est composée d'une partie sphérique, contenant le liquide, et d'un étroit col recourbé.



- La **ballon** : il comporte une partie sphérique et un ou plusieurs cols droits susceptibles d'être raccordés à d'autres instruments de laboratoire (thermomètre, réfrigérant, etc.). Sa forme arrondie permet, lorsqu'il est couplé à un chauffe-ballon, de chauffer de façon uniforme la solution qu'il renferme.
- La **colonne de Vigreux** : très utilisée en pétrochimie, elle se connecte à un ballon et sert à séparer par condensation les différents composants obtenus dans celui-ci. Elle se présente sous la forme d'un long tube de verre muni de conduits orientés vers le bas, dans lesquels les composants se condensent successivement, en fonction de leurs points d'ébullition respectifs.
- La **fiolle jaugée** : elle se compose

d'une partie renflée et d'un long col droit. Elle est graduée avec une grande précision.

- L'**erlenmeyer** (du nom du chimiste Emil Erlenmeyer, son inventeur en 1861) : il affecte la forme d'un cône à fond plat, surmonté d'un col plus ou moins étroit facile à obstruer par un bouchon ou par un film plastique. Il est grossièrement gradué ;
- Le **bécher** : il est cylindrique et muni d'un bec verseur. À l'instar de l'erlenmeyer, il est souvent grossièrement gradué et ses usages sont multiples ; cependant, la largeur de son ouverture permet de plonger plusieurs instruments de mesure à la fois dans le liquide qu'il contient (thermomètres, sonde d'un pH-mètre, etc.).
- L'**éprouvette**, ou **tube à essai** :



- C'est un récipient tubulaire étroit, en verre ou en plastique, gradué ou non, dont le fond peut être arrondi ou conique, et dont l'ouverture peut être soit droite, soit légèrement évasée.
- L'**éprouvette graduée** : c'est un haut et étroit cylindre, souvent muni d'un bec verseur en haut et d'un pied en bas. Comme son nom l'indique, elle est graduée de façon précise ;



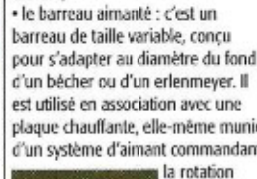
- La **pipette** : elle se présente sous la forme d'une longue paille qui sert à prélever des solutions par aspiration. Elle peut être :
 - soit graduée, afin de mesurer une quantité variable de liquide,
 - soit munie d'un renflement, ou jauge, qui n'autorise que la prise d'un volume fixe.
 Afin d'éviter d'aspirer à la bouche des solutions toxiques ou corrosives, la pipette peut être insérée, soit dans une propipette (ou poire) en caoutchouc dont la compression provoque l'aspiration, soit dans un pipeteur muni d'une molette.
- La **burette** : elle ressemble à une pipette graduée, mais est équipée à son embouchure d'un robinet permettant d'ajouter au goutte à goutte un liquide dans un récipient. À cette verrerie spécialisée, il faut bien sûr ajouter des accessoires plus

communs tels que les entonnoirs ou les thermomètres.

AUTRES OUTILS

En plus de la verrerie, les laboratoires de chimie contiennent également des outils incontournables tels que :

- le **bec Bunsen** : il s'agit d'un brûleur à gaz muni d'une cheminée verticale, qui émet une petite flamme à la chaleur facilement contrôlable puisque sa température varie entre 250 °C et 1 000 °C. En effet, des orifices situés à la base du brûleur permettent une entrée d'air, lequel se mélange au gaz ; une fois enflammé à l'aide d'un briquet ou d'une allumette, ce mélange brûle à l'entrée de la cheminée. Une bague mobile sert à obstruer plus ou moins complètement ces orifices, ce qui influence la richesse en air du mélange et, par conséquent, la chaleur de la flamme (plus il y a d'air et plus cette dernière est chaude).
- le **barreau aimanté** : c'est un barreau de taille variable, conçu pour s'adapter au diamètre du fond d'un bécher ou d'un erlenmeyer. Il est utilisé en association avec une plaque chauffante, elle-même munie d'un système d'aimant commandant



la rotation plus ou moins rapide du barreau et, par conséquent, l'agitation de la solution contenue dans le récipient.

- des

balances, dont certaines autorisent des pesées de très haute précision.

APPAREILLAGE PLUS PERFECTIONNÉ

À côté de ce matériel de base, les laboratoires de chimie contiennent également des appareillages plus perfectionnés.

Les chromatographes

Les chromatographes permettent d'effectuer des analyses par chromatographie. Celle-ci est une technique permettant de séparer les composants d'un mélange, certains étant adsorbés par une phase stationnaire (ou fixe) tandis que les autres sont entraînés par un éluant. Elle sert, soit à analyser, soit à purifier une solution. Il en existe différents types.

- La chromatographie en phase liquide consiste en l'éluant, à l'aide d'un liquide, d'un échantillon à travers une colonne contenant la phase stationnaire ; cette dernière est généralement formée par de petites billes de silice portant des composants offrant une forte affinité

Prêt à appareiller

1 million

Le microscope électronique peut agrandir un million de fois une image.

7 nm

Le microscope à balayage possède une résolution de 7 nm (7 milliardièmes de mètre).

1 µL



Une pipette automatique peut prélever précisément un volume de 1 µL (1 milliardième de litre) de liquide.

75 000

L'ultra-centrifugeuse peut atteindre une vitesse de rotation de 75 000 tours par minutes.

250 à 1 000 °C

Chaleur de la flamme du bec Bunsen.

Ernest Orlando Lawrence



1929

pour certains des analyses du mélange (par exemple, dans le cas d'une chromatographie d'échanges d'ions, des particules de charge opposée à celle que l'on souhaite isoler). Ces derniers sont donc retenus dans la colonne, tandis que le reste de l'échantillon est élué à l'extérieur.

- La chromatographie sur couche mince est surtout utilisée à des fins d'analyse. La phase stationnaire est une mince couche de gel de silice, de cellulose ou d'oxyde d'aluminium, fixée sur une plaque de verre, de plastique ou d'aluminium. Une petite quantité du mélange à séparer est déposée sur la phase stationnaire, laquelle est ensuite mise verticalement au contact de l'éluant (qui peut être un solvant ou un mélange de solvants). L'éluant migre de bas en haut, par capillarité, le long de la phase fixe ; il entraîne et, donc, sépare, les constituants du mélange.

- La chromatographie en phase gazeuse est utilisée pour analyser des échantillons gazeux ou capables d'être vaporisés. À l'aide d'un injecteur, le gaz est introduit dans une longue colonne très fine (on parle de « colonne capillaire ») contenant la phase stationnaire ; celle-ci peut être un liquide – il s'agit alors d'une chromatographie de partage – ou bien un solide dans le cas d'une chromatographie d'adsorption. L'échantillon est élué à l'aide d'un gaz dit « vecteur », qui peut être de l'hélium, de l'argon, de l'azote ou de l'hydrogène. Le mélange échantillon-éluant (ou éluat) est ensuite analysé par un détecteur à ionisation de flamme, dans lequel une flamme transforme les composés organiques en particules chargées (ou ions). Ceux-ci sont récupérés par deux électrodes entre lesquelles est appliquée une différence de potentiel. Le courant électrique obtenu est ensuite analysé grâce à un logiciel spécialisé.

Le spectromètre de masse

Enfin, la chimie bénéficie également d'un appareil qui permet les analyses les plus fines : le spectromètre de masse. Il permet de ioniser une molécule qui, ayant perdu un électron, devient donc positivement chargée. Elle est ensuite scindée en plusieurs autres ions plus ou moins chargés, lesquels sont accélérés par un champ électrique avant d'être déviés par un champ magnétique. Ils sont recueillis sur la plaque d'un collecteur et, leur déviation étant proportionnelle au quotient de leur masse par leur charge, les ions de même type percutent la plaque au même endroit (sachant que, plus il y a d'ions similaires à un endroit et plus le signal est intense). Le résultat est traduit informatiquement sous la forme d'une succession de pics, ou spectre de masse ; chaque pic représente un ion et indique son abondance relative dans l'échantillon de base.

L'APPAREILLAGE EN BIOLOGIE

L'appareillage de laboratoire utilisé en biologie est, dans les grandes lignes, le même que celui utilisé en chimie, notamment au niveau de la verrerie. La chromatographie est également utilisée, surtout celle en phase liquide (ainsi, la fixation de groupement poly-thymidine

sur les microbilles de résine de la phase stationnaire permet de retenir les queues de poly-alanine des ARN messagers par exemple).

Cependant, l'étude des protéines, lipides, glucides et autres acides aminés nécessite l'usage d'outils spécialisés. C'est notamment le cas de ceux permettant de travailler avec de très petites quantités de matière.

APPAREILLAGE ADAPTÉ AUX PETITES QUANTITÉS

- les pipettes Pasteur : elles sont fabriquées par l'expérimentateur lui-même, à l'aide d'un capillaire de verre dont les extrémités sont élargies tandis que le centre est chauffé dans une machine spéciale, ou étireuse. Cela permet d'obtenir des pipettes dont la pointe est suffisamment étroite pour être posée à même la membrane des cellules. Elles sont utilisées en électrophysiologie, dans le cadre de la technique de « patch-clamp », afin d'aspirer de minuscules portions de cette membrane ; elles servent également en biologie moléculaire où elles permettent d'injecter des fragments d'ADN dans des pores cellulaires ouverts par électroporation ;
- les **pipettes automatiques** : munies



d'un piston, elles servent à prélever un volume défini de réactif, parfois aussi faible qu'un millionième de litre. Chacune d'elles est caractérisée par une contenance minimale (en dessous de laquelle le prélèvement devient imprécis) et par une contenance maximale. En fonction de cette dernière, elles sont d'ailleurs nommées P10, P200, P1000, etc. (ainsi, la P1000 peut prélever de 200 à 1000 µL). Le réglage du volume à pipeter est effectué à l'aide d'une molette. Contrairement aux pipettes classiques, elles ne doivent surtout pas être contaminées par le liquide qu'elles prélèvent. Pour cette raison, leur pointe est au préalable enfoncée dans un embout jetable (ou « cône »), lequel est seul à contenir le réactif et dont on se débarrasse ensuite à l'aide d'un système d'éjecteur ;

- le tube Eppendorf : il s'agit d'un petit tube à essais de forme conique, réalisé en matière plastique et fermé par un couvercle auquel il demeure relié par une languette ; ce couvercle peut donc facilement être ouvert et fermé avec le seul pouce, le tube étant tenu par l'index et le majeur. Sa contenance est généralement d'1,5 ml, mais il en existe de 1 ml, utilisés dans l'analyse par PCR.

LES MICROSCOPES

Par ailleurs, différentes sortes de microscopes (du grec *mikros*, petit, et *skopein*, observer) permettent aux biologistes d'appréhender l'infra-visible.

- Le microscope photonique est le plus simple, il est également le plus connu. Il se compose d'un tube nommé oculaire, contenant plusieurs lentilles, et fixé sur un socle, ou « polence ». Des objectifs (soit d'autres lentilles de grossissements différents), montés sur

une plaque tournante, sont adaptés en dessous de l'oculaire. Ces objectifs surmontent une platine, laquelle est une **plate-forme** supportant



l'échantillon à observer. Celui-ci est monté entre une lame et une lamelle de verre, et il est éclairé par une lampe située en dessous de la platine, la lumière passant

à travers un orifice aménagé dans cette dernière.

- Le microscope confocal utilise un laser comme source d'éclairage, il permet de reconstituer des images tridimensionnelles de l'échantillon en positionnant le plan focal à des profondeurs successives de celui-ci. On obtient ainsi une vision « en tranches » de l'échantillon, « tranches » qu'un ordinateur assemble ensuite en une image globale. De plus, en provoquant la fluorescence d'anticorps traités de façon spécifique et dirigés contre certaines structures protéiques (par exemple, des protéines du cytosquelette), le microscope confocal permet de visualiser lesdites structures à l'intérieur même de l'échantillon.

- Le microscope électronique à transmission fonctionne sur le même principe que son homologue photonique, sauf que les rayons lumineux sont remplacés par des électrons. Il peut agrandir jusqu'à un million de fois l'image d'un objet. Il se présente sous la forme d'une tour montée au-dessus d'une plaque photographique. Les électrons sont produits par chauffage d'un filament de tungstène ou d'un cristal d'hexaborure de lanthane. Ils sont ensuite accélérés, puis focalisés vers l'échantillon à l'aide de lentilles magnétiques. Ils traversent l'échantillon, lequel les absorbe plus ou moins, selon son épaisseur et sa densité. Ils vont ensuite impressionner la plaque photographique. Cette technique nécessite des échantillons très fins, et préalablement déshydratés.
- Le microscope électronique à balayage permet d'obtenir des images en trois dimensions, présentant une très haute résolution de la surface de l'échantillon. Les électrons balayent l'échantillon, lequel émet alors des électrons secondaires qui sont collectés et analysés. Sa résolution peut atteindre 7 nm.

ÉTUDES DES ACIDES NUCLÉIQUES ET DES PROTÉINES

Les molécules telles que les acides nucléiques ou les protéines sont étudiées, entre autres, à l'aide des appareils suivants :

- Chaque molécule d'ADN peut être répliquée de façon exponentielle par la méthode de PCR (pour Polymerisation Chain Reaction). Celle-ci, qui fait appel à l'enzyme Taq polymérase, a lieu dans un appareil de petite taille nommé un thermocycler. Ce dernier possède un bloc muni de petits trous, dans lesquels sont insérés des tubes eppendorfs, d'une contenance maximale de 1 ml. Ils renferment l'ADN à répliquer, des désoxy-ribo-nucléotides (constituants des futurs ADN synthétisés), des

amorces et l'enzyme. Selon les modèles de thermocycler, les tubes peuvent ou non être chapeautés par un couvercle. Le bloc chauffe les tubes à des températures successives :

- environ 95 °C pour séparer les brins de la double hélice d'ADN,
- une température propre aux amorces, qui leur permet de s'hybrider avec l'ADN (généralement entre 50 et 70 °C),
- 72 °C, qui est la température dite « d'élongation », à laquelle l'enzyme fonctionne.

Ce cycle est répété un nombre de fois programmé par l'expérimentateur.

- Les fragments d'ADN ou d'ARN, ou encore les protéines, sont séparés les



uns des autres en fonction de leur taille dans une **cuve d'électrophorèse**. Celle-ci est un récipient parallélépipédique muni d'une électrode à chacune de ses extrémités.

Un gel réticulé (généralement de l'agarose dans le cas des acides nucléiques, ou du polyacrylamide dans le cas des protéines) est coulé dans la cuve, puis recouvert par un liquide, le tampon de migration. Des puits sont pratiqués à une extrémité du gel, dans lesquels sont déposés les échantillons. Les électrodes étant connectées à un générateur, les molécules migrent dans le gel en direction de l'anode. En fonction de leur taille, elles sont freinées par les réticulations du gel, aussi les plus petites migrent-elles le plus vite et le plus loin. Les cuves à électrophorèses réservées aux acides nucléiques sont horizontales, tandis que celles consacrées aux protéines sont verticales.

ÉTUDE DES CELLULES VIVANTES

Les cellules vivantes, qu'il s'agisse de bactéries, de cellules cancéreuses ou de cellules isolées à partir d'un organe, sont étudiées à l'aide des outils suivants.

- La **boîte de Pétri** (inventée en 1887 par Julius Pétri) : c'est une boîte



circulaire munie d'un rebord de faible hauteur, ainsi que d'un couvercle. De taille variable, elle contient un milieu nutritionnel (une gélose ou bien un liquide) permettant la

survie et/ou le développement des cellules.

- L'**incubateur** : c'est une étuve en acier inoxydable, utilisée pour maintenir en vie les cellules et leur permettre de se développer. Sa température est réglable, de même que son taux d'humidité (ou hygrométrie) et son taux de CO₂. Il contient des étagères amovibles, sur lesquelles sont posées les boîtes de culture. Il peut également être équipé de lampes, afin de permettre le développement de cellules végétales.

- La **hotte à flux laminaire** : il s'agit d'un meuble clos, muni d'une vitre et d'un système de filtration de l'air. Elle

permet de manipuler des échantillons dans des conditions stériles. Elle peut être équipée d'une lampe à UV, afin de détruire les contaminations par des bactéries. L'air peut être soufflé, soit horizontalement, soit verticalement.

Enfin, les courants électriques transmembranaires des cellules sont étudiés à l'aide d'un appareillage de patch-clamp. Celui-ci consiste en une électrode de verre remplie d'une solution conductrice ; elle est manœuvrée par un micromanipulateur qui permet de la déposer contre la surface d'une cellule. Cette électrode est reliée à un ordinateur qui impose un potentiel électrique afin d'enregistrer ensuite le courant transmembranaire, selon le principe de la loi d'Ohm $U=RI$ (U étant la tension, I l'intensité du courant et R la résistance de la pipette).

L'APPAREILLAGE EN PHYSIQUE

À côté des instruments de base tels que des ampèremètres, des voltmètres, des amplificateurs opérationnels et autres condensateurs, les laboratoires de physique peuvent également être dotés d'appareils de résonance magnétique nucléaire. Celle-ci consiste à exposer les noyaux des atomes à un champ magnétique, et elle permet une étude poussée de la structure des espèces organiques et inorganiques.

Par ailleurs, certains laboratoires possèdent des appareils spécialisés dans la séparation des isotopes. Ce sont :

- le distillateur : les isotopes les plus légers, dont le point d'ébullition est le plus faible, sont recueillis dans la vapeur émise. Ce principe est dit « séparation par distillation fractionnée » ;

- la cuve à électrolyse : elle est utilisée pour obtenir du deutérium, un isotope de l'hydrogène. Elle consiste en une cuve à eau, dans laquelle on fait circuler un champ électrique. L'isotope le plus léger de l'hydrogène s'évapore alors, et l'eau est enrichie en deutérium, plus lourd ;

- le spectromètre de masse : il permet une séparation électromagnétique des isotopes de masses différentes (par exemple, les isotopes 235 et 238 de l'uranium), selon le même principe que celui utilisé pour les analyses chimiques ;

- l'**ultracentrifugeuse** : elle peut atteindre des accélérations de l'ordre de 50 000 à 75 000 rotations par minutes (soit jusqu'à 300 000 g). Afin d'éviter la surchauffe du rotor, elle est munie d'un système de réfrigération et de pompe à vide (assurant une faible pression). La vitesse de rotation est telle que les isotopes les plus lourds sont progressivement projetés en périphérie ;
- le laser : il ionise l'isotope préalablement vaporisé, lequel est collecté sur des plaques chargées négativement.

Enfin, certains laboratoires possèdent des accélérateurs de particules, qui servent à diverses fonctions, dont la recherche fondamentale. Ils accélèrent des particules chargées (protons, électrons...) grâce à des champs magnétiques ou électriques, dans le but d'étudier le résultat de leur collision.