

2^{ème} année BTS Bioanalyses et Contrôles

Notice Technique SAA240



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

godin.lionel@orange.fr

TP n°1 : DOSAGE DU PLOMB ET DU CUIVRE DANS L'EAU PAR SPECTROPHOTOMÉTRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE

1. DÉTERMINATION DE LA CONCENTRATION EN PLOMB ET EN CUIVRE	2
1.1. Mise en route du matériel de SAA	2
1.2. La programmation électrothermique pour le Pb	2
1.3. Détermination de la concentration inconnue en Pb par gamme d'étalonnage	6
1.4. Détermination de la concentration inconnue en Cu par gamme d'étalonnage	6
1.5. Fin de manipulation	6
2. ÉLÉMENTS DE RÉPONSE AUX QUESTIONS	7

1.1. Mise en route du matériel de SAA

Appareil de SAA Varian AA240

Vérification avant mise sous tension (En principe : déjà réalisé)

- Ouvrir l'alimentation d'argon ;
- Vérifier que la pression d'alimentation d'argon soit sur 2 bars ;
- Vérifier le niveau de liquide dans le bidon de rinçage et le bidon de récupération des déchets liquides ;
- Remplir le bidon de rinçage si nécessaire avec de l'eau ultra-pure ;

Mise sous tension (En principe : déjà réalisé)

- Allumer le refroidisseur ;
- Allumer le spectromètre ;
- Allumer le four ;
- Allumer le système d'extraction (aspiration) ;
- Allumer l'ordinateur ;
- Ouvrir le logiciel spectrAA, en cliquant sur l'icône :
-



1.2. La programmation électrothermique pour le Pb

Mesure concentration : gamme automatique

Réglages

- Cliquer sur "feuille de travail" :



- Cliquer sur "nouveau"
- Remplir le champ "nom" et le champ "analyste", puis OK ;
- Cliquer sur l'icône "ajouter des méthodes" ;
- Sélectionner le bouton "charger de base de données", si ce n'est déjà fait ;
- Sélectionner l'élément Pb dans la liste, puis OK ;
- Cliquer sur l'icône "éditer des méthodes".

Gamme automatique pour le Pb

- Dans l'onglet *Type/mode* :
 - ☞ Sélectionner " automélange "
- Dans l'onglet *mesure* :
 - ☞ Choisir le mode de mesure " hauteur du pic "
 - ☞ Dans la partie répliques, entrer le nombre de fois où l'étalon et l'échantillon seront analysés : **1 fois pour l'étalon et 10 fois pour l'échantillon.**

Q Justifier le choix du mode de mesure.

- Dans l'onglet *Optique* :
 - ☞ Dans la partie " lampe CC ", régler la valeur optimale de l'intensité du courant nécessaire au fonctionnement de la lampe ; régler la position de la lampe (1, 2, 3 ou 4)
 - ☞ Le logiciel sélectionne automatiquement la longueur d'onde optimale correspondant à l'élément analysé. Si la longueur d'onde est inférieure à 350 nm, sélectionner la correction de fond " **CF active** "

Q Quel est l'intérêt de la correction par lampe deutérium ?


- Dans l'onglet *Four* :
 - ☞ Dans le tableau de programmation de température, il faut ajouter **1 étape supplémentaire de nettoyage** :
Pour cela, il faut sélectionner la dernière ligne et cliquer sur " insérer étape " (**ATTENTION** : la ligne précédente a été modifiée, il faut rétablir les valeurs qu'elle avait précédemment, en mettant le débit à 0 !) : afficher une température de 100 °C de plus que la ligne précédente, une durée de 2 s, et un débit de valeur 0,3 L.min⁻¹.
 - ☞ Dans le tableau de programmation de température, il faut ajouter **1 étape supplémentaire de descente en température** :
Pour cela, il faut sélectionner la dernière ligne et cliquer sur " insérer étape " (**ATTENTION** : la ligne précédente a été modifiée, il faut rétablir les valeurs qu'elle avait précédemment !) : afficher une température de 40 °C, taper sur Entrée, la durée s'affiche automatiquement (le débit reste à 0,3 L.min⁻¹)
 - ☞ Régler la sauvegarde des étapes de 6 à 9.
 - ☞ Régler la lecture des étapes de 7 à 9.

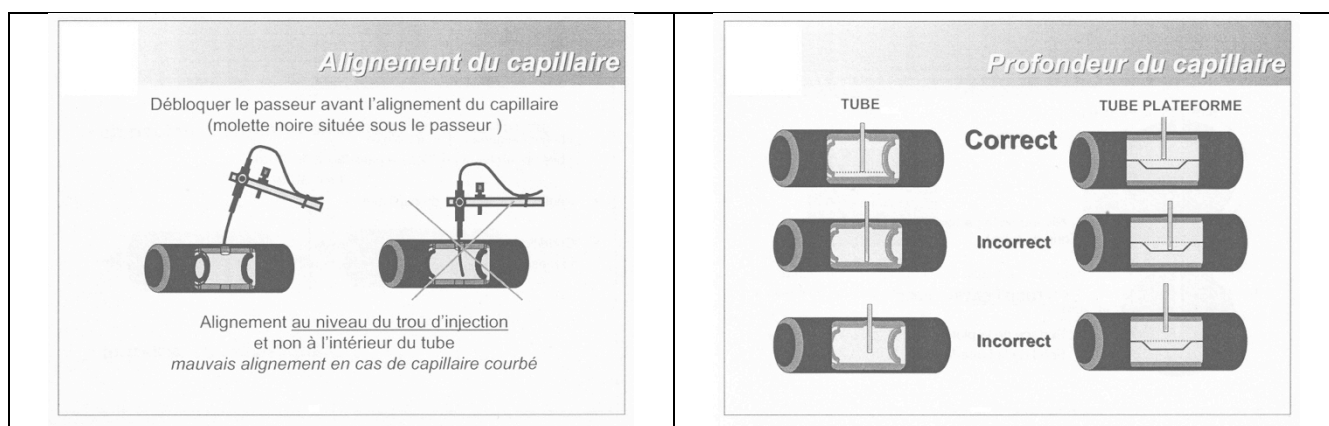
Q Pourquoi ajoute-t-on une étape de nettoyage supplémentaire ? Même question pour la descente en température ?

Q À quoi correspondent les symboles R et S dans le tableau de programmation ?

- Dans l'onglet *Etalons* :
 - ☞ Remplir les 5 concentrations de la gamme étalon dans l'ordre croissant (sans le zéro).

- Dans l'onglet **Etalonnage** :
 - ☞ Algorithme : linéaire Test pente Etalonnage : 30 % - 150 %
- Dans l'onglet **Passeur d'échantillons** :
 - ☞ Entrer la valeur de la concentration de la solution mère, 100 µg/L. (Attention à l'unité)
 - ☞ Dans la partie tubes réactifs, indiquer le numéro du godet contenant le blanc servant aux dilutions (eau ultra-pure). Par exemple : 41 pour la solution mère et 42 pour le blanc.
 - Remarque : inscrire sur le godet à l'aide d'un stylo adéquate, le contenu de ce dernier !**
 - ☞ Positionner les 2 godets sur le carrousel.
 - ☞ Positionner sur le " cercle " extérieur du carrousel l'échantillon inconnu (positions 1).
 - ☞ Cliquer sur OK en bas à droite de la fenêtre.
- Dans l'onglet **Échantillons** :
 - ☞ Cliquer sur " nombre d'échantillons " et vérifier qu'il est indiqué la valeur **1**. Si ce n'est pas le cas, modifier la valeur à **1**.
- Cliquer sur l'icône de la barre d'outils représentant une **caméra** et positionner la fenêtre qui s'ouvre en haut à droite de l'écran, après l'avoir réduite de moitié. **Appeler le professeur !**
- Cliquer sur l'onglet **Analyse**

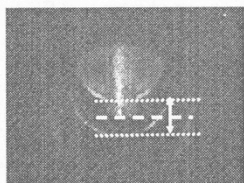
- Cliquer sur l'icône " optimiser " 
- Cliquer sur OK pour la fenêtre qui s'ouvre, et ATTENDRE l'optimisation des lampes (les vue-mètres doivent passer au vert), cliquer sur **Zero inst.**
- Cliquer sur " aligner "
- Vérifier le centrage du capillaire dans le godet puis valider si OK
- Vérifier le centrage et la profondeur du capillaire dans le tube (four) où seront déposées les gouttes d'échantillons :



☞ La position du capillaire est correcte s'il ne frotte pas sur les bords du trou du tube et si son extrémité est positionnée entre les deux arcs de cercle visibles sur l'image donnée par la caméra (possibilité d'allumer la lampe pour mieux voir).

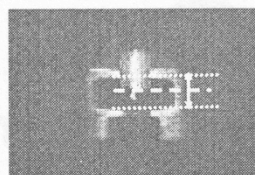
Profondeur du capillaire par caméra

TUBE



L'extrémité du capillaire doit être située à la moitié de la perspective des partitions

TUBE PLATEFORME



L'extrémité du capillaire doit être située à la moitié des deux niveaux du creux de la plate-forme

Q Quel est l'intérêt de l'optimisation de la position du capillaire ?

☞ Si le centrage et la profondeur sont correctes, quitter l'optimisation.

☞ Si le centrage et/ou la profondeur ne sont pas bons, procéder comme suit :

- **Réglage de la profondeur** : dévisser la bague en plastique brun au sommet de " porte-capillaire " puis tirer ou pousser sur le capillaire pour le positionner à la profondeur correcte. Revisser la bague.

- **Réglage du centrage** : dévisser la molette M1 située sous le carrousel puis jouer sur les deux molettes de centrage M2 et M3 (chacune permettant le déplacement selon un axe). Une fois le réglage terminé, revisser la molette M1.

☞ Si le centrage et la profondeur sont correctes, quitter l'optimisation.

- Nettoyer le tube du four en cliquant dans la barre des menus, sur Instrument → Utilitaires four, puis " nettoyer tube ", et enfin " conditionner tube " avec un nombre de cycles de 2 (laisser travailler la machine ! Cela dure environ 6 minutes.)
- Fermer.
- Fermer la fenêtre de la caméra.

1.3. Détermination de la concentration inconnue en Pb par gamme d'étalonnage

Dans l'onglet " Analyse "

- Lancer l'analyse.
- Sélectionner la cellule dans le tableau. Le logiciel lancera la méthode correspondante.
- Cliquer sur " démarrer " pour lancer l'analyse.
- Lorsque l'analyse est terminée, sortir le rapport complet sur l'imprimante.

Fin des mesures

- Dans fenêtre Rapport : imprimer le rapport correspondant à votre analyse ainsi que les paramètres d'étalonnage.
- Quitter le fichier.

1.4. Détermination de la concentration inconnue en Cu par gamme d'étalonnage

**Réitérer la procédure " gamme automatique "
pour l'élément Cu**

1.5. Fin de manipulation

Arrêt final (seulement en fin de séance)

- Vider les godets présents sur le carrousel
- Sauvegarder l'ensemble des données souhaitées
- Fermer le logiciel SpectrAA puis éteindre l'ordinateur
- Éteindre le four
- Éteindre le spectromètre
- Éteindre le refroidisseur
- Éteindre le système d'extraction (aspiration)
- Fermer la bouteille d'Argon

2. Éléments de réponse aux questions

Q Justifier le choix du mode de mesure.

La loi de Beer Lambert n'est valable que pour de faibles concentrations à mesurer, ce qui est notre cas, puisque les concentrations ne dépassent pas 100 µg/L. Cette loi étant linéaire, il est tout à fait justifié d'utiliser un algorithme linéaire de modélisation.

Dans la pratique, on utilise plutôt une modélisation affine, car le blanc de mesure n'est jamais parfaitement à zéro.

Q Quel est l'intérêt de la correction par lampe deutérium ?

Certaines molécules non décomposées provenant de la matrice de l'échantillon ou se formant au cours du programme thermique présentent un spectre d'absorption moléculaire comprenant de larges bandes entre 200 et 350 nm (par exemple les halogénures des éléments alcalins, alcalino-terreux et des métaux de transition tels que Fe, Cr, Mn, Co, Ni, et Cu).

Pour résoudre en partie ce problème, on peut utiliser une lampe Deutérium qui permet d'effectuer des mesures d'absorbance moléculaire si $\lambda < 350$ nm.

Le rayonnement de la raie de travail émise par la lampe à cathode creuse est atténué aussi bien par les atomes que par l'absorption parasite moléculaire, tandis que le rayonnement émis par la lampe deutérium est atténué uniquement par l'absorption parasite moléculaire.

Par simple soustraction de ces deux absorbances mesurées, on obtient l'absorbance causée par les atomes présents dans l'échantillon.

Q Pourquoi ajoute-t-on une étape de nettoyage supplémentaire ? Même question pour la descente en température ?

Après l'atomisation, une **étape de nettoyage sous courant d'argon** pendant 2 secondes à une température un peu plus élevée que la température d'atomisation, **permet d'éviter un éventuel effet mémoire, d'éliminer les éventuels résidus** et les éléments concomitants **dans l'échantillon**.

Cette étape est nécessaire à la préparation du tube pour l'injection suivante.

Le refroidissement à 40 °C permet une redescente contrôlée et progressive de la température de la tête de four grâce au circuit d'eau, de limiter ainsi les chocs thermiques et l'usure du tube. Il permet également de maîtriser la température du four avant l'injection suivante et donc de maîtriser la répétabilité du séchage.

Q À quoi correspondent les symboles R et S dans le tableau de programmation ?

Le symbole R (Read) mentionné dans l'étape de programmation indique à l'appareil qu'il doit faire la mesure d'absorbance utile.

Le symbole S (Save) mentionné dans l'étape de programmation indique à l'appareil qu'il doit montrer à l'opérateur, dans la zone des signaux, le signal en température correspondant :

Onglet « Analyse »

Page de mesure : Analyse

Sélection des échantillons à analyser

The screenshot displays the 'Analyse' software interface with several key components:

- Zone résultats échantillons:** A table listing 17 samples (Sample 001 to Sample 017) with columns for 'Tube' and 'Echantillon'.
- Zone résultats étalonnage:** A table for calibration standards with columns for 'Etalon', 'Abs', 'Conc', and '%RSD'. The data is as follows:

Etalon	Abs	Conc	%RSD
REAGENT BLANK	0.0000	0.000	0.0
ADDITION 1		0.200	
ADDITION 2		0.400	
ADDITION 3		0.800	
ADDITION 0	0.0000	0.000	0.0
- Zone signaux:** A graph showing 'Abs' vs 'Temps' with a peak at approximately 62.0 minutes.
- Journal des données:** A text area containing metadata such as 'Feuille de travail créé', 'Données feuille de trav', 'Nom: Cd rejets', 'Analyse: BF', and 'Commentaires:tube plate'.
- Bottom Panel:** Displays 'Cd' as the element, 'Méthode de 1: Absorbance', 'Lampe 1: Automélange', and 'Rangée 1 de 50'.

Chaque zone peut être redimensionnée ou masquée temporairement

Q Quel est l'intérêt de l'optimisation de la position du capillaire ?

L'intérêt est de faire en sorte que le dépôt de l'échantillon soit le plus "propre" possible c'est-à-dire qu'il n'y ait pas de perte d'échantillon avant l'entrée dans le support four et qu'il n'y ait pas de dispersion de l'échantillon à l'intérieur même du four.