

Année 2025 - 2026

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

Expertise au laboratoire pour l'optimisation de méthodes de bioanalyse

Activité pratique N°1



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

l.godin@etsl.fr

TP n°1 : VALIDATION D'UNE MÉTHODE DE DOSAGE DU PLOMB DANS L'EAU PAR SPECTROPHOTOMÉTRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE (S.A.A)

| | |
|---|----|
| 1 BUT | 2 |
| 2. DÉTERMINATION DE LA CONCENTRATION EN PLOMB ET EN CUIVRE | 2 |
| 2.1. Solutions et matériel | 2 |
| 2.2. Mode opératoire | 2 |
| 2.3. Détermination de la concentration inconnue en Pb par gamme d'étalonnage et validation de méthode | 3 |
| 3. CONCLUSION GÉNÈRALE | 3 |
| 4. RAPPORT D'ACTIVITÉ | 4 |
| 4.1. Détermination de la concentration inconnue en Pb par gamme d'étalonnage | 4 |
| 4.2. Détermination de la concentration inconnue en Cu par gamme d'étalonnage | 11 |
| 4.3. Conclusion générale | 18 |

1. BUT

Prise en main d'un appareil de spectroscopie d'absorption atomique électrothermique (à four avec correction par lampe deutérium).

Programmation de la méthode de dosage d'éléments atomiques : dans notre cas, le plomb.

Obtention de la courbe de calibration, et analyse de l'inconnue (plusieurs fois).

Validation de la méthode de dosage par l'étude de la série de résultats (valeurs aberrantes, ...), la linéarité de la courbe de calibration, et l'étude de l'exactitude (justesse et répétabilité).

2. DÉTERMINATION DE LA CONCENTRATION en Pb

2.1. Solutions et matériel

- Des godets ;
- de l'eau ultrapure ;
- Solution étalon de Plomb à 100 µg/L ;
- Un échantillon inconnu contenant du cuivre et du plomb dans l'eau, à doser ;
- Spectrophotomètre d'absorption atomique VARIAN AA240 ;
- Un système de refroidissement ;
- Une tête de four ;
- Un ordinateur équipé du logiciel de pilotage de la SAA : spectrAA.

2.2. Mode opératoire

Faire réaliser par le Spectrophotomètre d'absorption atomique une **gamme automatique d'étalonnage en cinq points** (de 0, 20, 40, 60, 80 et 100 µg/L) pour chacun des éléments (deux mesures par point de gamme). L'échantillon inconnu lui sera mesuré 12 fois.

Pour cela utiliser la **notice technique**.

2.3. Détermination de la concentration inconnue en Pb par gamme d'étalonnage et validation de méthode



Rapport
d'Activité

Donner les résultats de la gamme d'étalonnage (allure de la fonction, valeurs obtenues pour les étalons, ...). Le rapport informatique sera collé au verso des feuilles du **Rapport d'Activité**. Rassembler dans un tableau les résultats de la mesure des échantillons. Indiquer à quoi correspondent les différentes étapes de la programmation de température du four (séchage, décomposition, atomisation, nettoyage et refroidissement)

Étudier la série de résultats obtenus (test de valeurs aberrantes (**test de Dixon**), calcul de la valeur moyenne et de l'écart-type, calcul de l'intervalle de confiance bilatéral et expression probabiliste).

Vérification de la linéarité (**test de Fischer-Snedecor**).

Étudier l'exactitude (justesse + répétabilité).

3. CONCLUSION GÉNÉRALE



Rapport
d'Activité

Conclure sur les résultats obtenus, et donc sur la **validation de méthode**.

4. TP n° 1 : RAPPORT d'ACTIVITÉ : DÉTERMINATION de la CONCENTRATION en Pb

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

Rendre les 3 feuilles du rapport imprimé, et le coller ci-dessous :

Rapport imprimé à coller ici

Rapport imprimé à coller ici

Rapport imprimé à coller ici

- Donner les résultats de la gamme d'étalonnage (allure de la fonction, valeurs obtenues pour les étalons, ...).

- Rassembler dans le tableau ci-dessous, les résultats des valeurs d'absorbance des échantillons et les classer par valeurs croissantes. Calculer C_{Pb} à partir de l'équation de droite :

| n° d'échantillon | A | C_{Pb} ($\mu\text{g.L}^{-1}$) |
|------------------|------------|-----------------------------------|
| 1 | $A_1 =$ | $C_1 =$ |
| 2 | $A_2 =$ | $C_2 =$ |
| 3 | $A_3 =$ | $C_3 =$ |
| 4 | $A_4 =$ | $C_4 =$ |
| 5 | $A_5 =$ | $C_5 =$ |
| 6 | $A_6 =$ | $C_6 =$ |
| 7 | $A_7 =$ | $C_7 =$ |
| 8 | $A_8 =$ | $C_8 =$ |
| 9 | $A_9 =$ | $C_9 =$ |
| 10 | $A_{10} =$ | $C_{10} =$ |
| 11 | $A_{11} =$ | $C_{11} =$ |
| 12 | $A_{12} =$ | $C_{12} =$ |

- Étudier la série de résultats obtenus (test de valeurs aberrantes, calcul de la valeur moyenne et de l'écart-type, calcul de l'intervalle de confiance bilatéral et expression probabiliste).
- ☛ Concentration moyenne en Plomb de l'échantillon :

☛ Test de valeurs aberrantes de Dixon (assimiler la variable x_i à la concentration C_i) :

☛ Calcul de l'écart-type :

☛ Calcul de l'intervalle de confiance bilatéral :

☛ Expression probabiliste :

- Étudier de la linéarité à l'aide du coefficient de corrélation :

Relever la valeur du coefficient de corrélation r .

Conclure sur la linéarité sachant qu'un coefficient de corrélation supérieur à 0,98 est nécessaire pour valider la linéarité de la méthode.

Indiquer l'intervalle de concentrations.

- Étudier de la linéarité à l'aide du Test de Fischer-Snedecor :

Calculer la variance expérimentale s^2_{exp} et la variance s^2_{def} .

Calculer la statistique F de Fischer-Snedecor, puis conclure sur la linéarité.

- Étudier l'exactitude (justesse + répétabilité), puis conclure :

4.3. Conclusion générale

Conclure sur l'ensemble des manipulations réalisées, et donc sur la **validation de la méthode** de dosage.