

Année 2025 - 2026

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

Réalisation des analyses au laboratoire dans le cadre d'un contrôle qualité Activité pratique N°4



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

l.godin@etsl.fr

TP n°4 : COMPARAISON DE MÉTHODES DE DOSAGE

1. BUT	2
2. PRODUITS, MATÉRIELS & GÉNÉRALITÉS	2
2.1. Produits	2
2.2. Matériel et réactifs fournis	2
2.3. Généralités	3
3. MODE OPÉRATOIRE DANS LE CAS DE L'UTILISATION DE LA MÉTHODE DE LA DROITE D'ÉTALONNAGE	4
3.1. Mode opératoire	4
3.1.1. Préparation de la solution mère S_0	4
3.1.2. Préparation et mesure des solutions filles	4
3.1.2.1. Gamme d'étalonnage	4
3.1.2.2. Obtention de la droite d'étalonnage	4
3.1.3. Préparation et mesure de l'étalon de contrôle et de la solution S_{Sch}	5
4. MODE OPÉRATOIRE DANS LE CAS DE L'UTILISATION DE LA MÉTHODE DES AJOUTS DOSÉS	5
4.1. Mode opératoire	5
4.1.1. Préparation et mesure des solutions filles	5
4.1.2. Résultats	5
4.2. Conclusion et comparaison des résultats	6
5. CONCLUSION GÉNÉRALE	6
6. RAPPORT D'ACTIVITÉ : UTILISATION DE LA MÉTHODE DE LA DROITE D'ÉTALONNAGE	7
6.1. Mode opératoire	7
6.1.1. Préparation de la solution mère S_0	7
6.1.2. Préparation et mesure des solutions filles	7
6.1.2.1. Gamme d'étalonnage	7
6.1.2.2. Obtention de la droite d'étalonnage	7
7. UTILISATION DE LA MÉTHODE DES AJOUTS DOSÉS	10
7.1. Résultats	10
7.2. Conclusion et comparaison des résultats	12
8. CONCLUSION GÉNÉRALE	13

1. BUT

Ce Tp expose les principes et fondements de la méthode des ajouts dosés (aussi nommée méthode des additions connues).

Cette méthode constitue une alternative intéressante à la méthode de la droite d'étalonnage afin de déterminer la concentration d'un analyte donné. Celle-ci possède notamment comme avantage la **prise en compte des effets matrice** (c'est-à-dire du réel milieu environnant de l'analyte).

Le but du Tp est d'appliquer cette méthode à la spectrofluorimétrie.

2. PRODUITS, MATÉRIELS & GÉNÉRALITÉS

2.1. Produits

- Sulfate de quinine monohydraté (CAS n° 6119-70-6)
- Solution aqueuse d'acide sulfurique molaire H_2SO_4 (1 mol.L^{-1})
- Schweppes®

2.2. Matériel et réactifs fournis

- 6 fioles jaugées de 20 mL
- 1 cuve 4 faces optiques
- 2 fioles jaugées de 100 mL
- 1 P1000 et une pipette jaugée de 4 mL
- Spectrofluorimètre Shimadzu 1501
- Une balance de précision



Remarque

Les cuves en quartz à quatre faces optiques sont extrêmement fragiles et coûtent très cher. Les manipuler avec le plus grand soin et ne les utiliser que pour le **spectrofluorimètre**.

2.3. Généralités

Le Schweppes® Indian Tonic est une boisson gazeuse rafraîchissante aux extraits d'écorces de Quinquina et d'oranges amères.

Il est composé d'eau gazéifiée, de sirop de glucose-fructose, de sucre (8,7 %), d'un acidifiant : l'acide citrique et d'arôme naturel tel que la quinine.

La quinine est une molécule organique de formule $C_{20}H_{24}N_2O_2$ ($M = 782,94 \text{ g.mol}^{-1}$) dont la structure est représentée ci-dessous :

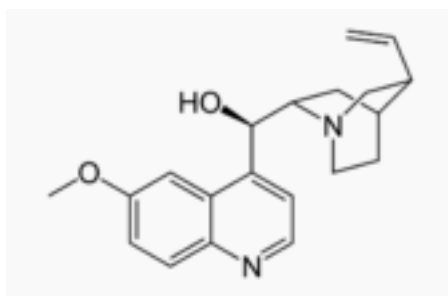


Figure 4. Structure moléculaire de la quinine

Elle présente des propriétés pharmacologiques (antipyrétique, analgésique et antipaludique). C'est une molécule fluorescente extraite naturellement de l'écorce du Quinquina (arbuste) sous forme d'une poudre blanche. C'est un composant aromatique de l'"eau tonique" (goût amer) présente dans le Schweppes® et dans les boissons gazeuses portant la mention "tonic". Ces boissons peuvent contenir jusqu'à 100 mg.L^{-1} de quinine sans inconvénient pour la santé.

En dose excessive, la quinine peut provoquer des problèmes de surdité et même la mort (dans de rare cas).

Le maximum de la fluorescence est situé à 450 nm et le domaine de linéarité de l'intensité de fluorescence en fonction de la concentration est compris entre 0 et $6,0.10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$.

3. MODE OPÉRATOIRE DANS LE CAS DE L'UTILISATION DE LA MÉTHODE DE LA DROITE D'ÉTALONNAGE

3.1. Mode opératoire

3.1.1. Préparation de la solution mère S_0

☞ Préparer une solution concentrée de sulfate de quinine de concentration environ exactement $C_{\text{quinine}} = 0,1 \text{ g.L}^{-1}$. Pour cela, pesez une masse m_{quinine} de sulfate de quinine que vous introduirez dans une fiole jaugée de 100 mL. Compléter jusqu'au trait de jauge avec la solution aqueuse de H_2SO_4 à 1 mol.L^{-1} .

☞ Prélever 1,5 mL de la solution précédente que vous placerez dans une fiole jaugée de 50 mL. Compléter jusqu'au trait de jauge avec la solution aqueuse de H_2SO_4 à 1 mol.L^{-1} . Cette solution sera appelée S_0 .



Rapport

- Indiquer la masse exacte pesée m_{quinine} .
- Calculer la concentration massique exacte C_{S_0} de la solution mères préparée précédemment.

3.1.2. Préparation et mesure des solutions filles

3.1.2.1. Gamme d'étalonnage

☞ Préparer 6 solutions filles de concentration en quinine par dilutions successives de la solution mère S_0 , préparée précédemment, dans des fioles de 20 mL.

Vous remplirez un tableau du type de celui indiqué ci-dessous :

Solutions filles F_i	Concentration C_i (mg.L^{-1})	$V(F_0)$ (μL)	$V_{\text{acide sulfurique}}$ (mL)
F_0		0	Qsp acide sulfurique molaire
F_1		200	
F_2		400	
F_3		600	
F_4		800	
F_5		1000	

Tableau 1. Récapitulatif des concentrations des solutions F_0 à F_5 et de leur mode de préparation à partir de S_0

3.1.2.2. Obtention de la droite d'étalonnage

☞ Faire les mesures et réaliser la droite d'étalonnage $I = f(C)$ sous excel. Pour cela utiliser la notice fournie directement avec le spectrofluorimètre.

3.1.3. Préparation et mesure de l'étalon de contrôle et de la solution S_{sch}

☞ **Préparation de l'étalon de contrôle** : Préparer une fiole CQ de 20 mL, en utilisant $V(s_0) = 2,5$ mL.

☞ Réaliser 1 fois la mesure de l'étalon de contrôle.



Rapport

Calculer la concentration C_{ref} correspondante.

☞ **Prélever** un volume $V_{Sch} = 1$ mL de Schweppes® que vous introduirez dans une fiole jaugée de 100 mL. Compléter jusqu'au trait de jauge avec la solution aqueuse de H_2SO_4 à 1 mol.L^{-1} . Cette solution sera appelée S_{sch} .

☞ Réaliser 2 fois la mesure sur l'échantillon S_{sch} .



Rapport

Vous donnerez le facteur de dilution de la solution de Schweppes®.

☞ Lorsque tous les résultats sont à l'écran, **imprimer**.



Rapport

- Imprimer la droite d'étalonnage.
- Relever la concentration de l'étalon de contrôle (inconnue-connue) C_{EQ} et rechercher si la valeur (C_{EQ}) est comprise dans l'intervalle d'acceptabilité, soit $C_{ref} \pm 10 \%$.
- En déduire, grâce à la droite d'étalonnage, les concentrations en Quinine pour l'échantillon S_{sch} , C_1 et C_2 , puis vérifier la compatibilité métrologique en répétabilité des deux essais à l'aide de l'annexe métrologique. Donner alors la concentration en quinine retenue.
- Donner alors la concentration en Quinine dans le Schweppes®. Vous exprimerez le résultat comme indiqué dans l'annexe métrologique.

4. MODE OPÉRATOIRE DANS LE CAS DE L'UTILISATION DE LA MÉTHODE DES AJOUTS DOSÉS

4.1. Mode opératoire

4.1.1. Préparation et mesure des solutions filles

☞ Préparer 5 solutions filles de concentration croissante en sulfate de quinine par ajout successifs de volumes connus de la solution mère S_0 à la solution S_{Sch} , dans des fioles de 20 mL

Vous utiliserez le tableau ci-dessous, pour réaliser les solutions filles :

Solutions filles X_i	Volume V_x de S_{Sch} (mL)	$V_s(S_0)$ (mL)	$V_{acide\ sulfurique}$ (mL)
X_1	4,0	0	Qsp H_2SO_4
X_2	4,0	0,6	
X_3	4,0	1,2	
X_4	4,0	1,8	
X_5	4,0	2,4	

Tableau 3. Récapitulatif du mode de préparation des solutions X_1 à X_5 à partir de S_0 et S_{Sch}

☞ Paramétrez le spectrofluorimètre comme indiqué dans la notice technique.

☞ Pour chaque mesure, remplir un tableau sous Regressi ou Excel, et imprimer la droite d'étalonnage $I = f(V_s)$

4.1.2. Résultats



Rapport

- Imprimer la droite des ajouts dosés, sous Excel, en choisissant une courbe de tendance affine.



Rapport

- Donner les valeurs obtenues pour la pente m et l'ordonnée à l'origine b ainsi que leurs écart-types s_m et s_b .
- En déduire, la concentration en quinine pour la solution S_{Sch} , ainsi que son écart-type.
- Donner alors la concentration de quinine dans le Schweppes®, ainsi que son écart-type.

4.2. Conclusion et comparaison des résultats



Rapport

- Comparer le résultat obtenu avec celui obtenu par la méthode de la droite d'étalonnage.
- Conclure sur la conformité de la quinine dans le Schweppes®.

5. CONCLUSION GÉNÉRALE



Rapport

Conclure sur tous les résultats obtenus.

TP n°4 : Rapport

6. UTILISATION DE LA MÉTHODE DE LA DROITE D'ÉTALONNAGE

6.1. Mode opératoire

6.1.1. Préparation de la solution mère S_0

- Indiquer la masse exacte pesée m_{quinine} .
- Calculer la concentration massique exacte C_{S_0} de la solution mères préparée précédemment.

6.1.2. Préparation et mesure des solutions filles

6.1.2.1. Gamme d'étalonnage

Remplir le tableau ci-dessous :

Solutions filles F_i	Concentration C_i (mg.L ⁻¹)	$V(S_0)$ (mL)	$V_{\text{acide sulfurique}}$ (mL)
F_0		0	Qsp acide sulfurique
F_1		1	
F_2		2	
F_3		3	
F_4		4	
F_5		5	

Tableau 1. Récapitulatif des concentrations des solutions F_0 à F_5 et de leur mode de préparation à partir de S_0

6.1.2.2. Obtention de la droite d'étalonnage

Imprimer la droite d'étalonnage $I = f(C)$

Droite d'étalonnage

- Donner le facteur de dilution de la solution de Schweppes®.
- Calculer la concentration C_{ref} . Relever la concentration de l'étalon de contrôle (inconnue-connue) C_{EQ} et rechercher si la valeur (C_{EQ}) est comprise dans l'intervalle d'acceptabilité, soit $C_{ref} \pm 10 \%$.
- En déduire, grâce à la droite d'étalonnage, les concentrations en Quinine pour l'échantillon S_{Sch} , C_1 et C_2 , puis vérifier la compatibilité métrologique en répétabilité des deux essais à l'aide de l'annexe métrologique. Donner alors la concentration en quinine retenue.
- Donner alors la concentration en Quinine dans le Schweppes®. Vous exprimerez le résultat comme indiqué dans l'annexe métrologique.

7. UTILISATION DE LA MÉTHODE DES AJOUTS DOSÉS

7.1. Résultats

Imprimer la droite des ajouts dosés $I = f(V_s)$:

Droite des ajouts dosés
à coller ici

- Donner les valeurs obtenues pour la pente m et l'ordonnée à l'origine b ainsi que leurs écart-types s_m et s_b .
- En déduire, la concentration en quinine pour la solution S_{Sch} , ainsi que son écart-type.
- Donner alors la concentration de quinine dans le Schweppes®, ainsi que son écart-type.

7.2. Conclusion et comparaison des résultats

- Comparer le résultat obtenu avec celui obtenu par la méthode de la droite d'étalonnage.
- Conclure sur la conformité de la quinine dans le Schweppes®.

8. CONCLUSION GENERALE

Conclure sur tous les résultats obtenus.