

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

Théorie des Ajouts dosés



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

l.godin@etsl.fr

TP n°4 : MÉTHODE DES AJOUTS DOSÉS

PRINCIPE ET APPLICATIONS

1. PRINCIPE DE LA MÉTHODE DES AJOUTS DOSÉS	1
2. LIMITES DE LA MÉTHODE DES AJOUTS DOSÉS	3
3. MISE EN OEUVRE DE LA MÉTHODE DES AJOUTS DOSÉS	4
3.1. Mise en oeuvre expérimentale	4
3.2. Détermination de la concentration inconnue en analyte : C_x	4
3.3. Détermination de l'écart-type sur la concentration inconnue en analyte : s_{C_x}	5

1. PRINCIPE DE LA MÉTHODE DES AJOUTS DOSÉS

La méthode des ajouts dosés, aussi appelé méthode des additions connues, consiste en une méthode de dosage d'une espèce chimique en solution. Elle constitue une alternative à la méthode de la droite d'étalonnage (ou de la gamme d'étalonnage) notamment lorsque le milieu contenant l'analyte (ou la "matrice", ensemble de tous les constituants présents dans l'échantillon) est complexe (c'est-à-dire constitué de plusieurs espèces) ou lorsque sa composition exacte n'est pas connue avec précision. La préparation de solutions étalons dans les mêmes conditions que celles de l'échantillon est alors délicate, voire impossible. L'utilisation de la méthode des ajouts dosés prend alors tout son sens.

Un des critères pour que la méthode des ajouts dosés puisse être utilisée est l'existence d'une relation de linéarité entre le **signal S** (la réponse) et la **concentration C** :

$$S = k.C$$

Avec k une constante de proportionnalité.

Il arrive souvent que cette relation de linéarité ne soit valable que pour une gamme donnée de concentration. Ainsi, pour de fortes concentrations en analyte, il est fréquent que cette relation linéaire ne soit plus vérifiée. L'utilisateur devra donc veiller à se situer dans le **domaine de linéarité de la méthode** pour l'analyte.



Remarque

Cette vérification n'est pas propre à cette méthode mais doit être également effectuée dans le cadre de la méthode de la gamme d'étalonnage pour les mêmes raisons.

La présence d'espèces physico-chimiques autres que l'analyte dans la "matrice" peut entraîner une modification notable (augmentation ou diminution) du signal S donné par l'analyte en comparaison de celui obtenu lorsque celui-ci se trouve seul dans une solution étalon. Ceci conduit donc, entre autre, à un changement de la **sensibilité de la méthode**.

La **sensibilité de la méthode** représente la pente de la droite d'étalonnage. Si la courbe d'étalonnage n'est pas une droite, la sensibilité à une concentration donnée sera définie comme la pente de la tangente à la courbe à cette concentration. Plus la sensibilité sera élevée et plus il sera facile de distinguer deux échantillons de concentrations voisines.

Ce type de perturbation peut se retrouver dans différents types d'analyses tels que :

- La **spectrophotométrie d'absorption atomique** où des interférences chimiques vont augmenter (effet d'exaltation) ou diminuer (effet de dépression) le rendement d'atomisation.

- La **spectrophotométrie d'absorption UV-Visible** où la présence de certaines espèces possédant des groupements chromophores va augmenter (effet hyperchrome) ou diminuer (effet hypochrome) l'absorbance à la longueur d'onde d'analyse. Des déplacements et/ou des modifications de la forme des spectres d'absorption peuvent également avoir lieu.

- La **spectrofluorimétrie** où des espèces physico-chimiques peuvent induire une augmentation (exaltation) ou diminution (inhibition) de l'émission de fluorescence à la longueur d'onde d'analyse. Des déplacements et/ou des modifications de la forme des spectres d'émission peuvent également avoir lieu.
- La **potentiométrie et les mesures électrochimiques** de manière générale où des espèces peuvent perturber les réactions aux interfaces des électrodes.
- La **chromatographie** où des espèces peuvent entraîner une modification des interactions entre l'analyte et les phases mobile et stationnaire

Si de telles perturbations existent, la droite D_1 (figure 1) issue de la méthode de la gamme d'étalonnage n'est alors plus pertinente. De plus, il est impossible de tracer une droite qui prendrait en compte les effets de matrice. En effet, il faudrait donc tracer une droite D_2 (figure 1) pour l'analyte considéré dans son milieu de mesure, ce qui n'est pas réalisable. La méthode des ajouts dosés apparaît alors comme la méthode de choix.

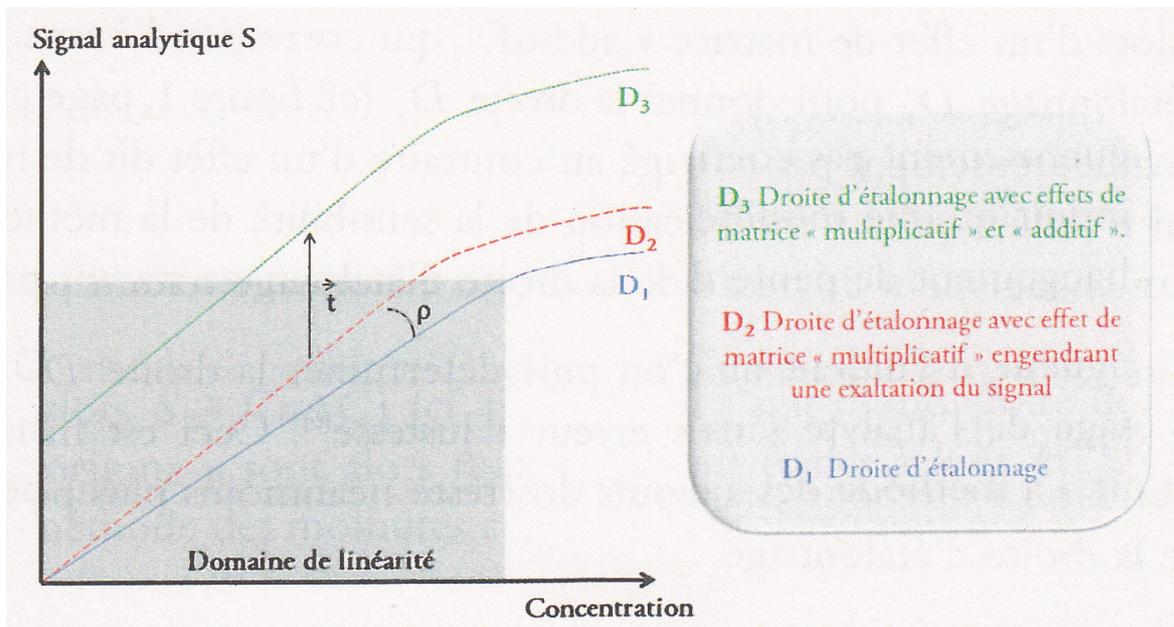
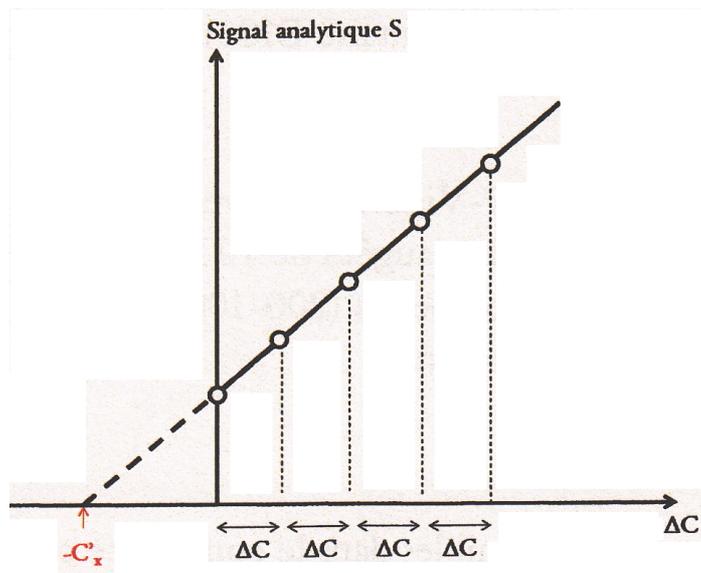


Figure 1. Droites d'étalonnages selon le type d'effets matrice

En pratique pour cette méthode, on mesure dans un premier temps le signal analytique sur le milieu de mesure (c'est-à-dire l'échantillon). Puis on ajoute au même milieu une quantité connue de l'analyte qui, après correction de volume, devient une concentration connue. Après cet ajout, on mesure de nouveau le signal analytique en s'assurant bien qu'il reste inférieur au signal le plus élevé mesuré pour D_1 dans son domaine de linéarité.

On obtient alors la droite représentée en figure 2 :



$$\text{Avec } \Delta C = \frac{C_s \cdot V_s}{V_t}$$

Par extrapolation ou par la détermination du rapport entre la pente et l'ordonnée à l'origine, à la condition que la droite d'étalonnage D_1 (et donc D_2) passe par l'origine, elle permet d'accéder à la concentration de l'analyte C_x .

En résumé, pour pouvoir utiliser la méthode des ajouts dosés, il faut s'assurer (expérimentalement) d'une relation linéaire entre le signal S et la concentration de l'analyte. Il faudra également veiller à rester dans le domaine de linéarité lors des ajouts dosés.

Il apparaît donc dans un souci de rigueur que les méthodes par ajouts dosés et droite d'étalonnage doivent être conduites en parallèle notamment lorsque le domaine de linéarité n'est pas connu avec exactitude.

Remarque : il est à noter qu'une méthode par extrapolation (type ajout dosé) est moins précise qu'une méthode par interpolation graphique. L'utilisateur devra donc dans la mesure du possible comparer les résultats obtenus par une addition d'étalon (ajouts dosés) et une méthode standard de référence (droite d'étalonnage).

2. LIMITES DE LA MÉTHODE DES AJOUTS DOSÉS

Pour que cette méthode soit pertinente et tienne compte pleinement des effets de matrice, il ne faut pas que le milieu de mesure en l'absence d'analyte donne un signal. Il s'agirait alors d'un effet de matrice "additif", qui correspond à une translation t de la droite d'étalonnage D_1 pour donner la droite D_3 (cf figure 1, page précédente). Cet effet n'est malheureusement pas corrigé au contraire d'un effet dit de matrice "multiplicatif" qui n'induit qu'une modification de la sensibilité de la méthode, c'est-à-dire seulement un changement de pente de la droite d'étalonnage traduit par la rotation ρ .

En toute rigueur, il faudrait qu'on puisse déterminer la droite D_3 pour pouvoir effectuer le dosage de l'analyte sans erreur de **justesse** (la **justesse** représente l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue à partir d'une large série de résultats d'essais et la valeur conventionnellement vraie de l'échantillon (la valeur de référence acceptée)). Ceci est malheureusement difficile à obtenir. La méthode des ajouts dosés reste néanmoins plus pertinente que la méthode de la droite d'étalonnage.

3. MISE EN OEUVRE DE LA MÉTHODE DES AJOUTS DOSÉS

3.1. Mise en oeuvre expérimental

La méthode consiste à ajouter des quantités connues d'une solution étalon à des prélèvements identiques d'échantillon. Chaque solution est ensuite diluée jusqu'à un volume donné avant d'effectuer la mesure.

Cette méthode permet de savoir si l'espèce dosée se comporte de la même manière dans le milieu d'analyse et dans la gamme.

Remarque : si la quantité d'échantillon est très limitée, les additions connues peuvent se faire par ajouts successifs de volumes de l'étalon à un seul prélèvement de l'inconnu. On effectue les mesures sur la solution originale et après chaque addition.

3.2. Détermination de la concentration inconnue en analyte : C_x

Supposons que plusieurs prélèvements identiques V_x de solution inconnue de concentration C_x soient transférés dans des fioles jaugées de volume V_t . À chacune de ces fioles, on ajoute un volume variable V_s de solution étalon de l'analyte de concentration C_s . On ajoute ensuite, éventuellement, les réactifs qui permettent de rendre absorbant ou fluorescent l'espèce à doser. Chaque solution est enfin diluée jusqu'au trait de jauge.

L'expression du signal de mesure S (dans la pratique de ce T_p , l'absorbance A ou l'intensité de fluorescence I) est donné par :

$$S = \frac{K \cdot V_s \cdot C_s}{V_t} + \frac{K \cdot V_x \cdot C_x}{V_t}$$

En posant C'_x , et la concentration de la solution inconnue après dilution :

$$C'_x = \frac{C_x \cdot V_x}{V_t}$$

Et en posant : $m = \frac{K \cdot C_s}{V_t}$, on peut écrire : $S = m \cdot V_s + K \cdot C'_x$

On trace alors $S = f(V_s)$ (cf figure 2 page précédente). Il s'agit d'une droite dont **la pente** correspond à **m** et **l'ordonnée à l'origine** à **b = K.C'_x**. Une régression linéaire par la méthode des moindres carrés permet d'avoir accès à **m**, **b**, et au coefficient de régression linéaire R^2 .

On montre qu'en faisant le rapport de l'ordonnée à l'origine sur la pente, on obtient :

$$C_x = \frac{b}{m} \cdot \frac{C_s}{V_x}$$

De manière équivalente, on peut extraire la valeur de C_x' , en extrapolant graphiquement la droite à gauche de l'origine (cf figure 2 page précédente).

3.3. Détermination de l'écart-type sur la concentration inconnue en analyte : s_{C_x}

On peut obtenir une valeur approchée de l'écart-type sur C_x en admettant que les incertitudes sur C_s et V_s sont négligeables par rapport à celles sur m et b . Dès lors, on admet que la variance relative du résultat $\left(\frac{s_{C_x}}{C_x}\right)^2$ est la somme des variances relatives sur m et b :

$$\left(\frac{s_{C_x}}{C_x}\right)^2 = \left(\frac{s_m}{m}\right)^2 + \left(\frac{s_b}{b}\right)^2 \Rightarrow s_{C_x} = C_x \cdot \sqrt{\left(\frac{s_m}{m}\right)^2 + \left(\frac{s_b}{b}\right)^2}$$