

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

Qualification d'appareil



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

l.godin@etsl.fr

TP n°7 : QUALIFICATION D'APPAREIL

PRINCIPE ET APPLICATIONS

1. INTRODUCTION	1
2. FILTRE EN VERRE D'OXYDE D'HOLMIUM POUR LA VERIFICATION DE L'EXACTITUDE EN LONGUEUR D'ONDE	1
2.1. Application	1
2.2. Description de l'étalon	1
3. FILTRE EN VERRE NEUTRE POUR LA VERIFICATION DE L'EXACTITUDE EN ABSORBANCE	2
3.1. Application	2
3.2. Description des filtres gris neutres	2
3.3. Utilisation des filtres gris neutres	3
4. FILTRE LIQUIDE POUR LA VERIFICATION DE L'EXACTITUDE EN ABSORBANCE	4
4.1. Application	4
4.2. Description du filtre	4
5. FILTRE LIQUIDE POUR LA VERIFICATION DE LA LUMIERE PARASITE	5
5.1. Application	5
5.2. Description des filtres	5
6. FILTRE LIQUIDE POUR LA VERIFICATION DU POUVOIR DE RÉOLUTION	6
6.1. Application	6
6.2. Description du filtre	6

1. INTRODUCTION

Il est important que les instruments de précision que sont les spectrophotomètre UV-Visible soient considérés comme des instruments de mesure avec une obligation de contrôle selon la norme DIN EN ISO 9001. La norme formule une exigence claire à ce sujet. Les instruments de mesure doivent être calibrés ou vérifiés à des intervalles déterminés ou avant leur utilisation. Pour ceci, il faut utiliser des étalons renvoyant à des standards internationaux ou nationaux.

Les normes pour l'assurance qualité et le contrôle qualité, comme par exemple ISO 9000, les bonnes pratiques de laboratoire (BPL) et bonnes pratiques de production (BPP) ainsi que les pharmacopées, exigent la vérification de la performance constante des spectrophotomètres utilisés. Les deux facteurs les plus importants pour obtenir des données spectrophotométriques correctes sont l'exactitude de l'absorbance et l'exactitude en longueur d'onde du spectrophotomètre qui doivent être vérifiées régulièrement.

2. Filtre en verre d'oxyde d'holmium pour la vérification de l'exactitude en longueur d'onde

2.1. Application

Lors de la mesure de l'exactitude en longueur d'onde, les filtres utilisés atténuent de façon plus importante l'intensité du faisceau lumineux du spectrophotomètre pour certaines longueurs d'ondes (pics). Un matériau de référence pour déterminer l'exactitude en longueur d'onde dispose, dans le meilleur des cas, de pics fins, bien définis pour plusieurs longueurs d'onde dans le domaine UV-Vis.

2.2. Description de l'étalon

Le filtre en verre d'oxyde d'holmium AC500 montre une série de pics fins et bien définis dans le domaine UV-Vis. Grâce à cette caractéristique, l'holmium est très bien adapté au contrôle de l'échelle de longueurs d'onde des spectrophotomètres. Comparé au filtre avec une solution d'oxyde d'holmium, le filtre en verre d'oxyde d'holmium dispose d'un spectre un peu plus atténué avec moins de pics. Dans le domaine UV bas en particulier, les pics d'holmium sont masqués par l'absorption de la matrice en verre. Le principal avantage du filtre en verre comparé au filtre liquide est qu'il est plus robuste.

Remarque : 1 : La position des pics peut légèrement varier en fonction du lot de verre d'oxyde d'holmium utilisé. C'est la raison pour laquelle chaque filtre en verre d'oxyde d'holmium est certifié individuellement.

Remarque : 2 : On peut aussi utiliser un verre de didymium qui présente aussi de nombreux pics caractéristiques. Toutefois, les pics ne montrent pas de bandes aussi étroites que pour les filtres en verre d'oxyde d'holmium. Cette caractéristique lui permet d'être également utilisé en tant que filtre pour la vérification de l'exactitude en absorbance

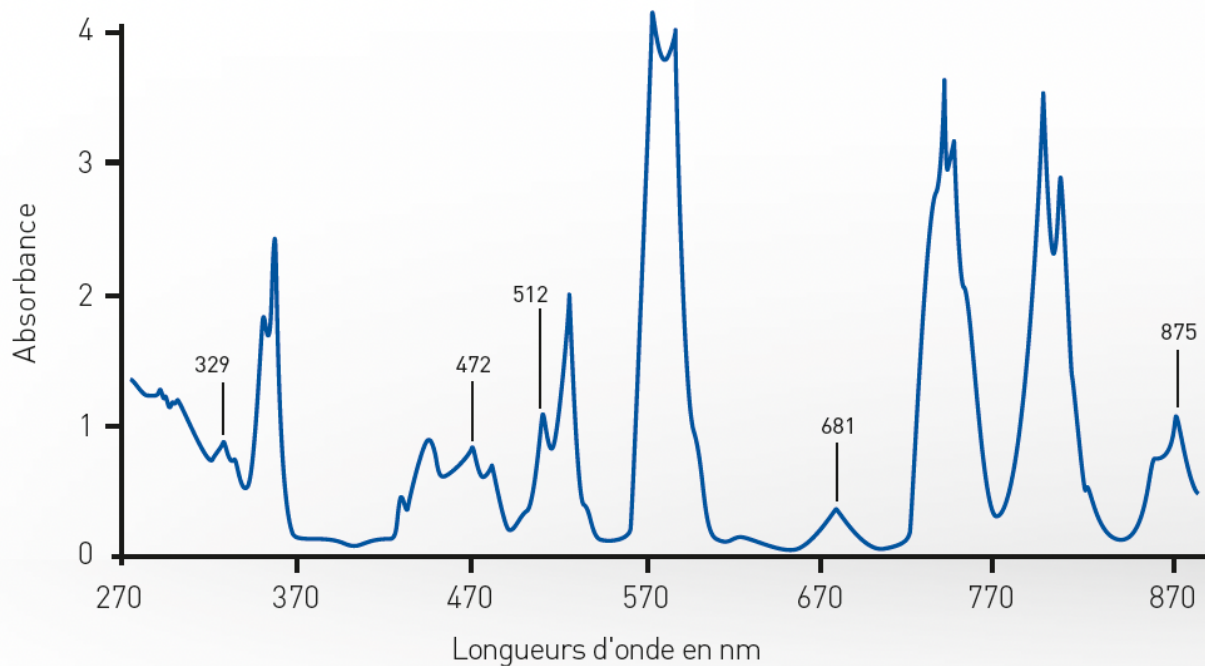


Figure 1. Spectre du verre de didymium

3. Filtre en verre neutre pour la vérification de l'exactitude en absorbance

3.1. Application

Lors de la mesure de l'exactitude de l'absorbance, le faisceau lumineux du spectrophotomètre est atténué par le filtre utilisé. L'atténuation de la lumière occasionnée par le filtre donne l'absorbance (A) ou la transmittance (T).

3.2. Description des filtres gris neutres

Les filtres en verre neutre fabriqués sont conçus dans des matériaux qui ont été sélectionnés pour leur homogénéité et leur stabilité. Ils se caractérisent par une transmission relativement constante dans le domaine de longueurs d'onde de 405 nm à 800 nm et sont utilisés depuis des décennies pour la vérification de l'exactitude de l'absorbance et de la linéarité pour les longueurs d'onde du domaine visible (plus de 405 nm).

Remarque : Si on dispose de plusieurs filtres en verre neutre avec des absorbances nominales différentes, on peut contrôler la linéarité de l'échelle d'absorbance en inscrivant dans un diagramme l'absorbance mesurée à chaque longueur d'onde.

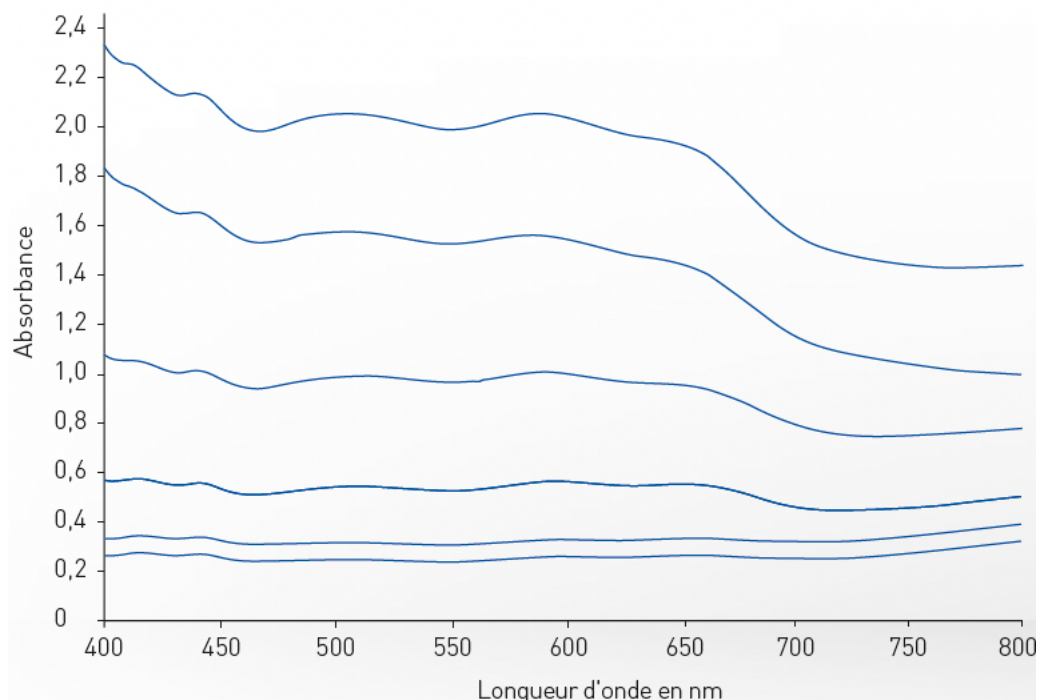


Figure 2. Spectres typiques de filtres neutres enregistré avec une bande passante de 1 nm

3.3. Utilisation des filtres gris neutres

Les filtres en verre sont des verres dotés d'ions métalliques ou de terres rares montés dans des montures de précision en aluminium anodisé noir. Ils sont conçus pour s'adapter à tous les spectrophotomètres disposant d'un support pour cuves standards de 10 mm de trajet optique.

Pour faciliter l'identification : le type de filtre et son numéro de série sont gravés sur chaque monture de filtre. Les valeurs mesurées pour l'absorbance et les positions des pics de chaque filtre peuvent être consultées dans le certificat d'étalonnage correspondant. Veillez à ne pas toucher la surface en verre des filtres. La saleté et la poussière, tout comme les risques d'endommagement, peuvent fausser nettement les résultats de mesure. La monture en aluminium anodisée ne doit pas entrer en contact avec des milieux acides ou alcalins.

STOCKAGE :

Il est vivement recommandé de ranger les filtres après utilisation dans leur boîte et de les stocker dans un endroit sec et exempt de poussière à température ambiante.

AUTRES INFLUENCES SUR LES MESURES :

La saleté (par ex. les traces de doigts) et la poussière ainsi que les risques d'endommagement (rayures, corrosion) des surfaces polies peuvent fausser les résultats de mesure. Il faut toujours conserver les filtres dans l'emballage fourni et éviter toute salissure de la fenêtre optique. Il faut saisir les filtres uniquement au niveau de la monture métallique.

NETTOYAGE :

L'utilisation régulière provoque souvent des salissures sur les surfaces optiques. Il faut les éliminer au mieux à l'aide d'un chiffon ne peluchant pas avec un peu d'alcool ou de solution nettoyante, comme Hellmanex III diluée.

INFLUENCE DE LA TEMPÉRATURE SUR LES MESURES :

L'influence de la température sur les valeurs mesurées certifiées est très minime. Afin de la maintenir au plus bas, il est conseillé d'effectuer les mesures dans une plage de température comprise entre 20°C et 24°C de façon à être le plus proche possible de celle indiquée sur le certificat d'étalonnage.

4. Filtre liquide pour la vérification de l'exactitude en absorbance

4.1. Application

Lors de la mesure de l'exactitude de l'absorbance, le faisceau lumineux du spectrophotomètre est atténué par le filtre utilisé. L'atténuation de la lumière occasionnée par le filtre donne l'absorbance (A) ou la transmittance (T).

4.2. Description du filtre

Le dichromate de potassium dans l'acide perchlorique ou sulfurique est idéal pour la vérification de la justesse de l'absorbance du spectrophotomètre. Le spectre du dichromate de potassium montre dans le domaine UV des valeurs maximales caractéristiques à 257 nm et 350 nm et des valeurs minimales à 235 nm et 313 nm. Le plateau dans le spectre à 430 nm sert à déterminer la justesse de l'absorbance dans le domaine visible de la zone spectrale.

Remarque : Du fait que les filtres sont certifiés individuellement, les résultats de mesure ne comportent pas d'erreurs systématiques en rapport avec la préparation de la solution ou le trajet optique de la cuve.

Pour contrôler la linéarité de l'absorbance, il faut effectuer les mesures avec des filtres de dichromate de potassium de différentes concentrations. Il faut ensuite, inscrire l'absorbance mesurée pour chaque filtre et chaque longueur d'onde dans un diagramme à comparer avec les valeurs mesurées indiquées dans le certificat d'étalonnage.

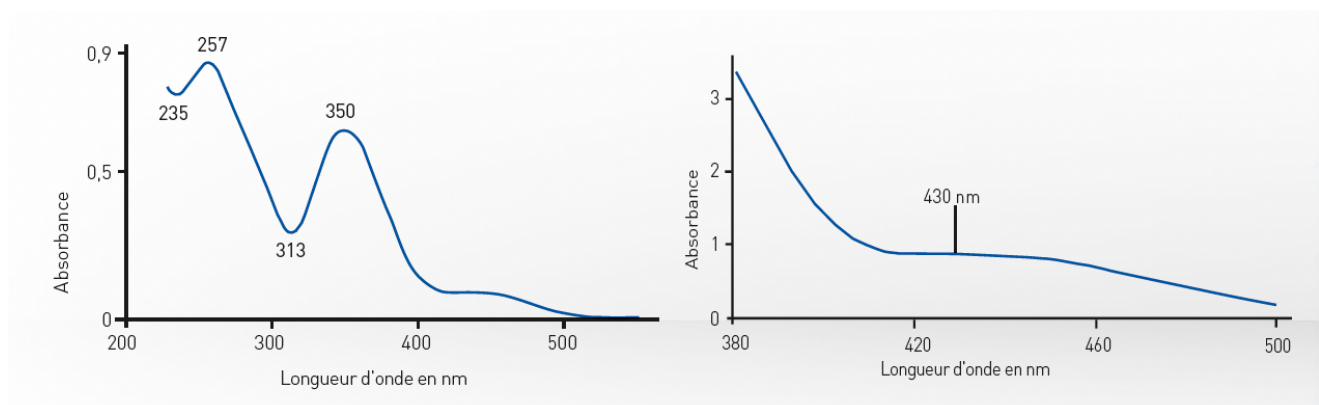


Fig. 3. Spectre d'une solution de 0,006 % de $K_2Cr_2O_7$ – Fig. 4. Spectre d'une solution de 0,06 % de $K_2Cr_2O_7$

5. Filtre liquide pour la vérification de la lumière parasite

5.1. Application

La lumière parasite dans un spectrophotomètre correspond à la lumière qui traverse l'échantillon et atteint directement le détecteur. Ceci peut fausser le résultat de mesure. Les causes possibles de cet effet sont, entre autres, la dispersion, un effet de diffraction ou un mauvais réglage de l'appareil de mesure.

La lumière parasite est problématique car elle réduit la plage d'absorbance pouvant être mesurée et détériore la linéarité du rapport entre la concentration et l'absorbance. Si l'on souhaite procéder à la vérification de la lumière parasite de l'appareil, on a besoin de filtres possédant un spectre très clairement délimité (aussi baptisés filtres de coupure (cut-off filters)).

5.2. Description des filtres

Les filtres pour la vérification de la lumière parasite ne laissent plus passer la lumière au-dessous d'une certaine longueur d'onde (seuil de coupure). Les valeurs de transmittance affichées dans la plage de longueur d'onde cachée se rapportent ainsi à la lumière parasite.

Grâce à leur spectre délimité de façon très précise, les filtres de chlorure de potassium KCl, les filtres d'iodure de sodium NaI et les filtres de nitrite de sodium NaNO_2 conviennent parfaitement pour mesurer la part de la lumière parasite suivant les spécifications des pharmacopées. La procédure est la même pour tous les filtres destinés à la vérification de la lumière parasite.

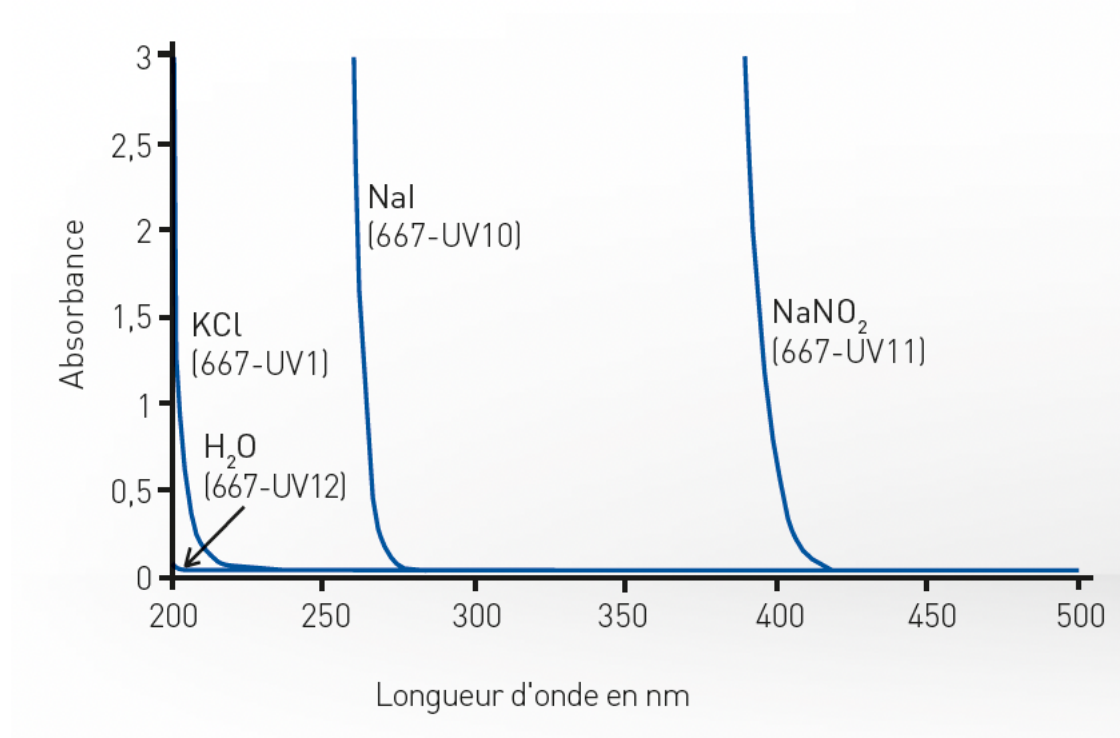


Figure 5. Spectres typiques des filtres de KCl, NaI, et NaNO_2

6. Filtre liquide pour la vérification du pouvoir de résolution

6.1. Application

En vérifiant régulièrement le pouvoir de résolution du spectrophotomètre, on s'assure par exemple que les pics voisins sont résolus et ne se superposent pas avec les pics des longueurs d'onde avoisinantes. On évite en outre des erreurs d'absorbance.

6.2. Description du filtre

Le filtre liquide de toluène à 0,02 % (v/v) dans l'hexane présente dans son spectre un pic caractéristique grâce auquel le pouvoir de résolution et/ou l'ouverture de fente effective d'un spectrophotomètre peut être très bien déterminé selon les recommandations de la pharmacopée européenne.

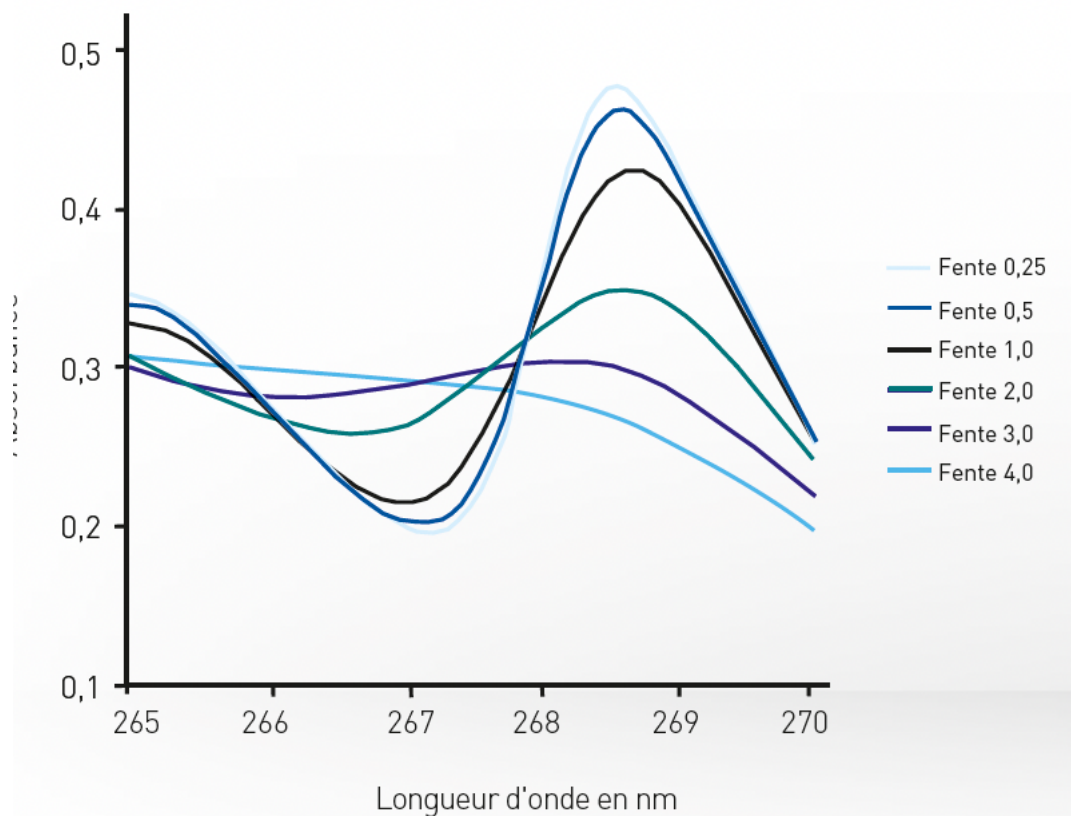


Figure 6. Spectres typiques du filtre liquide de toluène avec différentes ouvertures de fente

Remarque : Le pouvoir de résolution d'un spectrophotomètre dépend beaucoup du réglage correct de l'ouverture de fente et se caractérise par la capacité à résoudre (reconnaître) deux pics situés très près l'un de l'autre. Plus l'ouverture de fente et la bande passante spectrale sont petites plus la résolution est élevée.