

Processus d'étalonnage

⇒ Analyse quantitative

Laetitia Lê

Mars 2021

Définitions

Analyse quantitative

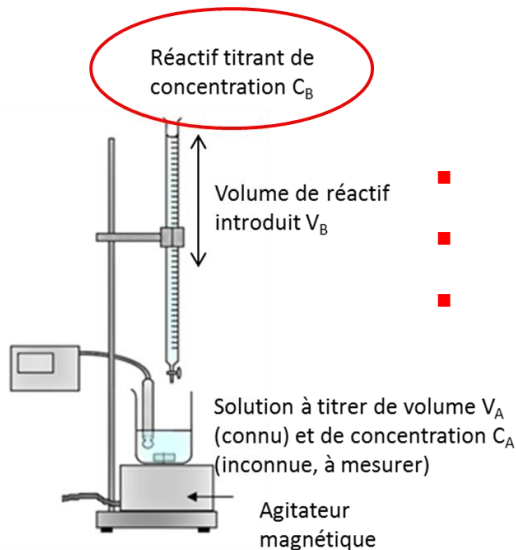
Processus d'étalonnage fonction de la méthode d'analyse

« Méthode absolue »

Etalon $\neq$ espèce chimique analysée



Ex. Titrage



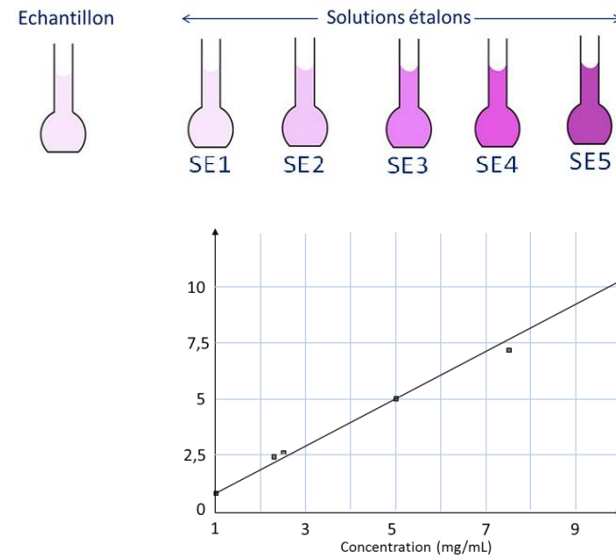
- Exactitude
- Précision +++
- Peu spécifique

« Méthode relative »

Etalon = espèce chimique analysée



Courbe d'étalonnage



Plan

1. Procédure d'étalonnage ⇒ Méthode de l'étalonnage externe

2. Erreurs lors d'un étalonnage et stratégies de minimisation

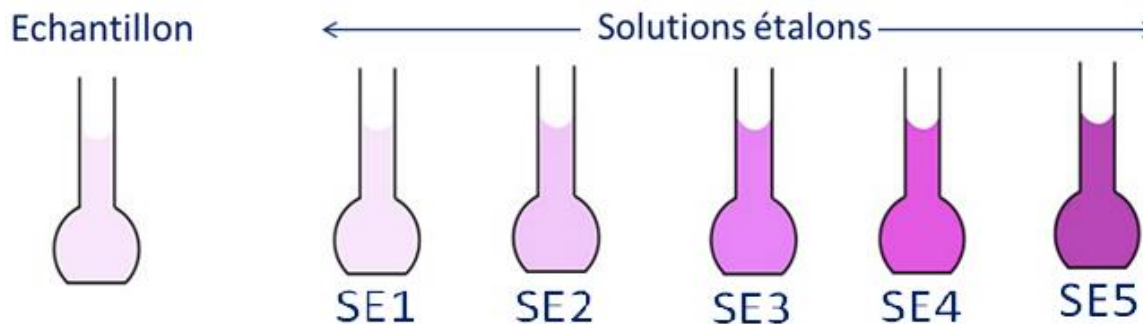
- Erreurs liées à l'étalon
 - Erreurs liées au traitement des échantillons
 - Erreurs liées à l'instrumentation
 - Erreur liée à la matrice
- } ⇒ Méthode de l'étalon interne
- } ⇒ Analyse en matrice reconstituée
⇒ Méthode des ajouts dosés

3. Conclusion

1) Méthode relative $\Rightarrow$ Etalonnage (1/2)

Aussi appelé « étalonnage externe »

- 1) Préparation d'une série de solutions étalons de concentrations croissantes connues (de SE1 à SE5) séparément de l'échantillon

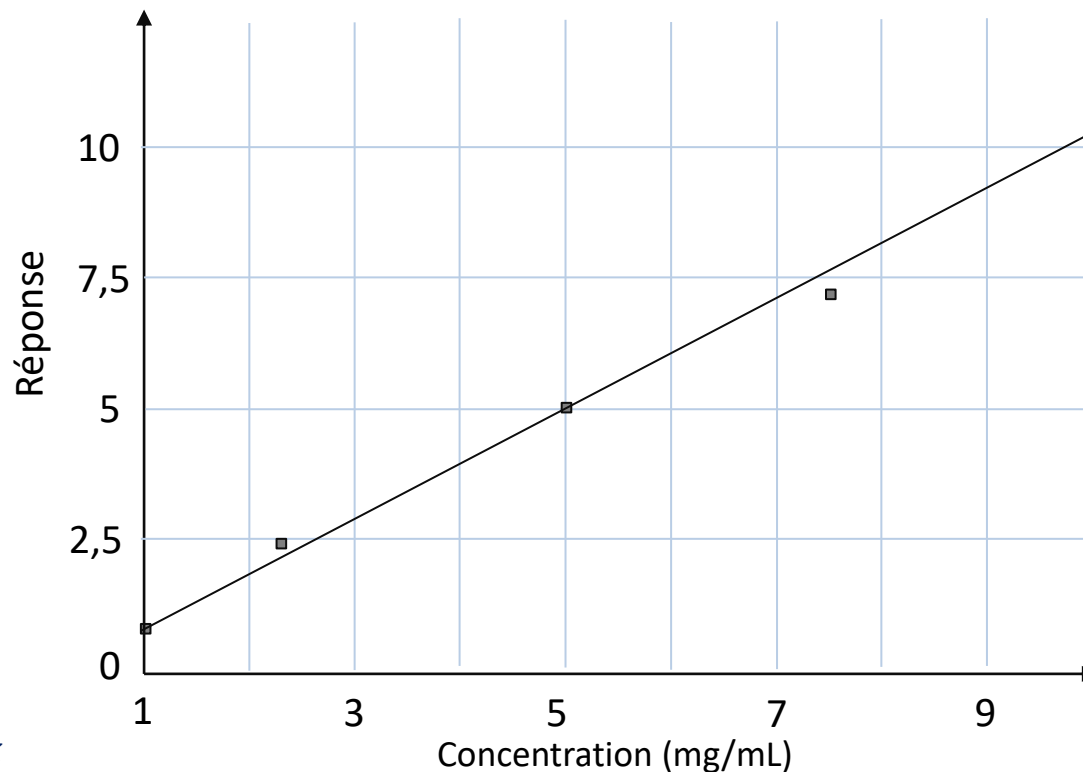


- 2) Mesure du signal des solutions étalons
- 3) Détermination de la fonction de réponse $Signal = f(concentration)$

Etalonnage (2/2)

Courbe d'étalonnage *

Relation fonctionnelle reliant la valeur attendue du signal observé (variable réponse) à la quantité de substance à analyser

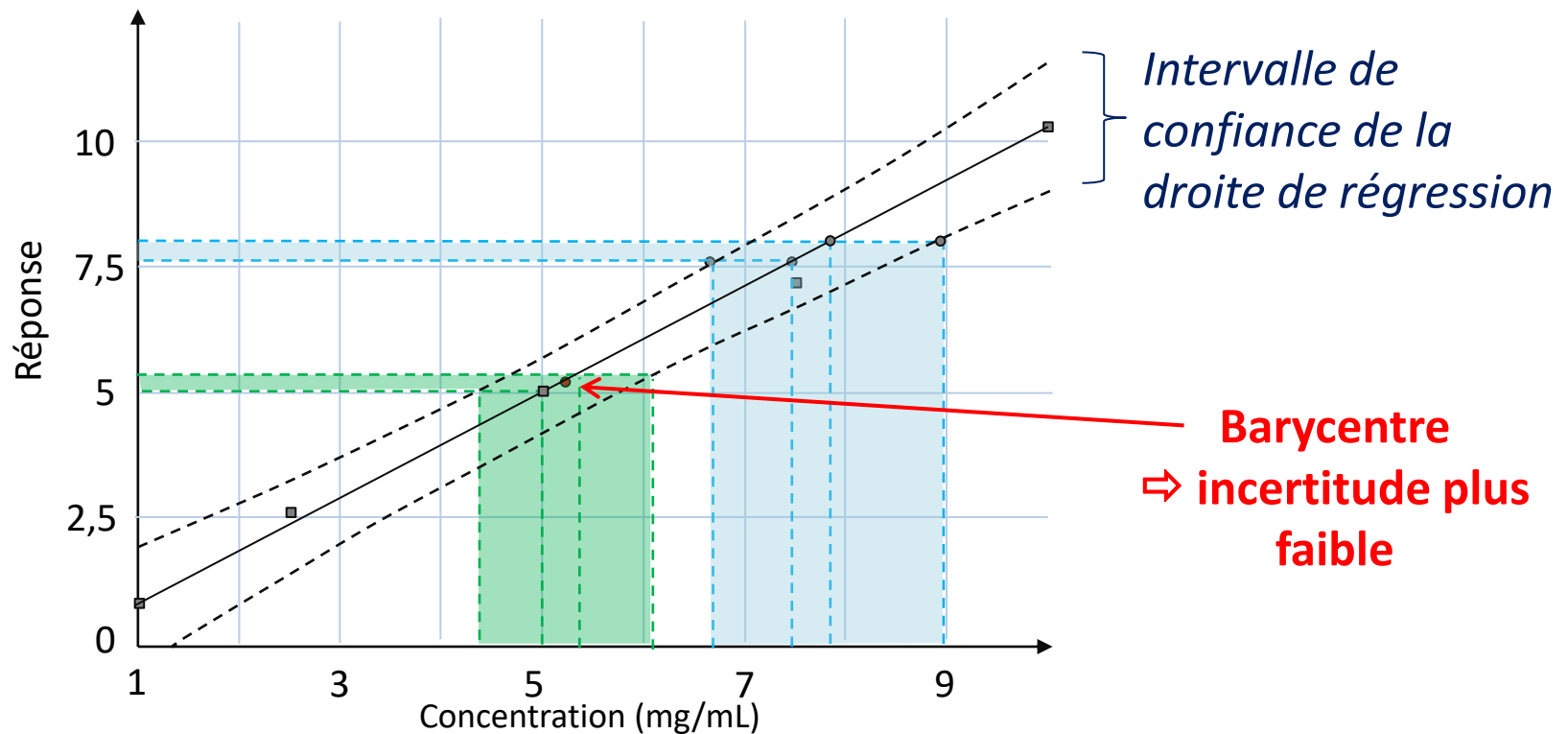


* IUPAC Gold Book

2) Erreurs lors d'un étalonnage

Erreurs aléatoires et systématiques

⇒ Incertitude de mesure



Erreurs lors d'un étalonnage

- 1) Erreurs sur les étalons
- 2) Erreurs liées à l'étape de traitement de l'échantillon
- 3) Erreurs liées à l'instrumentation
- 4) Erreurs liées au milieu de mesure (Effet de matrice)

⇒ Différentes stratégies de minimisation des erreurs

Erreurs lors d'un étalonnage

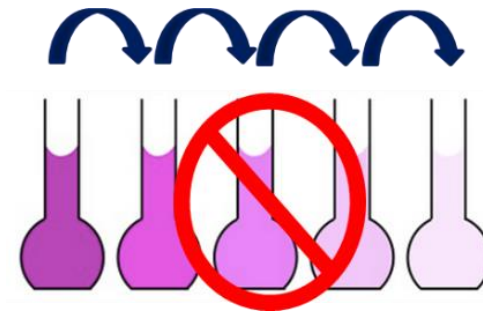
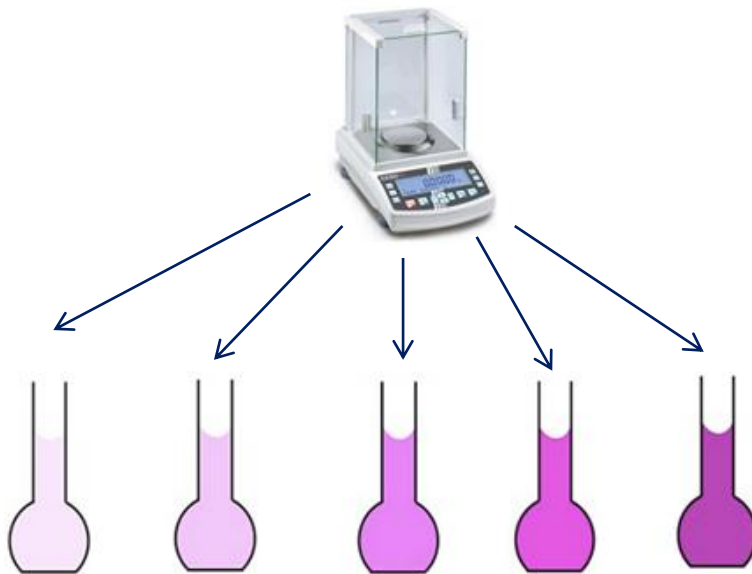
- 1) Erreurs sur les étalons
- 2) Erreurs liées à l'étape de traitement de l'échantillon
- 3) Erreurs liées à l'instrumentation
- 4) Erreurs liées au milieu de mesure (Effet de matrice)

⇒ Différentes stratégies de minimisation des erreurs

Erreur sur les étalons

■ Erreur de préparation des étalons, de blanc

Préparation indépendante des solutions étalons à partir de pesées séparées



*Eviter les dilutions en cascade
(erreur expérimentale +++)*

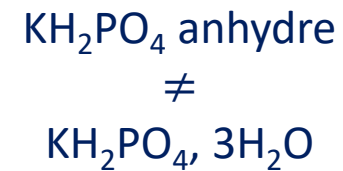
Erreur sur les étalons

- **Erreur de préparation des étalons, de blanc**

Préparation indépendante des solutions étalons à partir de pesées séparées

- **Erreur dans la forme chimique de l'étalon**

↪ Ex. : Forme cristalline, Etat d'hydratation



Erreur sur les étalons

- **Erreur de préparation des étalons, de blanc**

Préparation indépendante des solutions étalons à partir de pesées séparées

- **Erreur dans la forme chimique de l'étalon**

↳ Ex. : Forme cristalline, Etat d'hydratation

- **Variation de la concentration des étalons dans le temps**

↳ Adsorption, dégradation, évaporation, sédimentation

Erreurs lors d'un étalonnage

- 1) Erreurs sur les étalons
- 2) Erreurs liées à l'étape de traitement de l'échantillon**
- 3) Erreurs liées à l'instrumentation**
- 4) Erreurs liées au milieu de mesure (Effet de matrice)

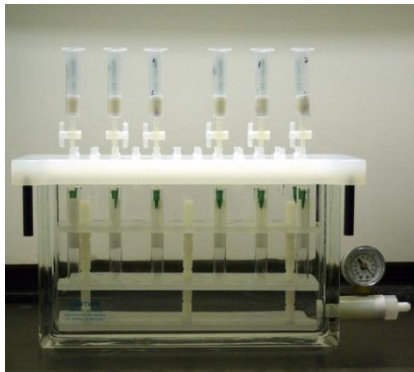
⇒ Différentes stratégies de minimisation des erreurs

Erreurs de traitement de l'éch. et d'instrumentation

Erreurs de traitement de l'échantillon

Extraction, filtration, ...

⇒ *Fluctuation de la fraction extraite*



Rendement d'extraction

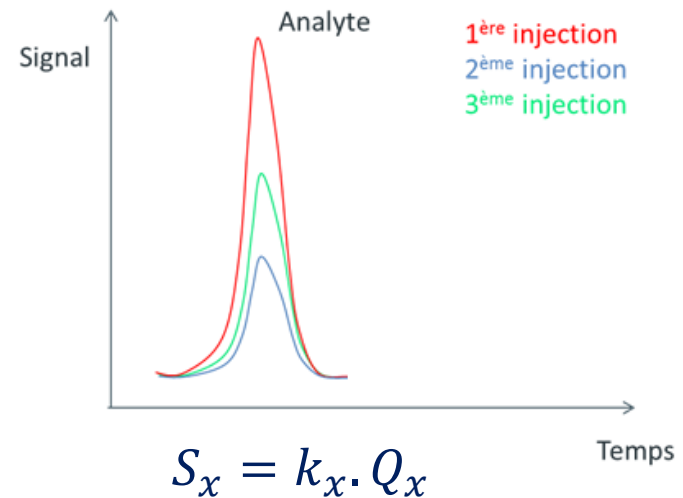
$$R(\%) = \frac{Q_B}{Q_{A0}} \times 100$$

⇒ **Fluctuation de la quantité d'analyte analysée**

Erreurs liées à l'instrumentation

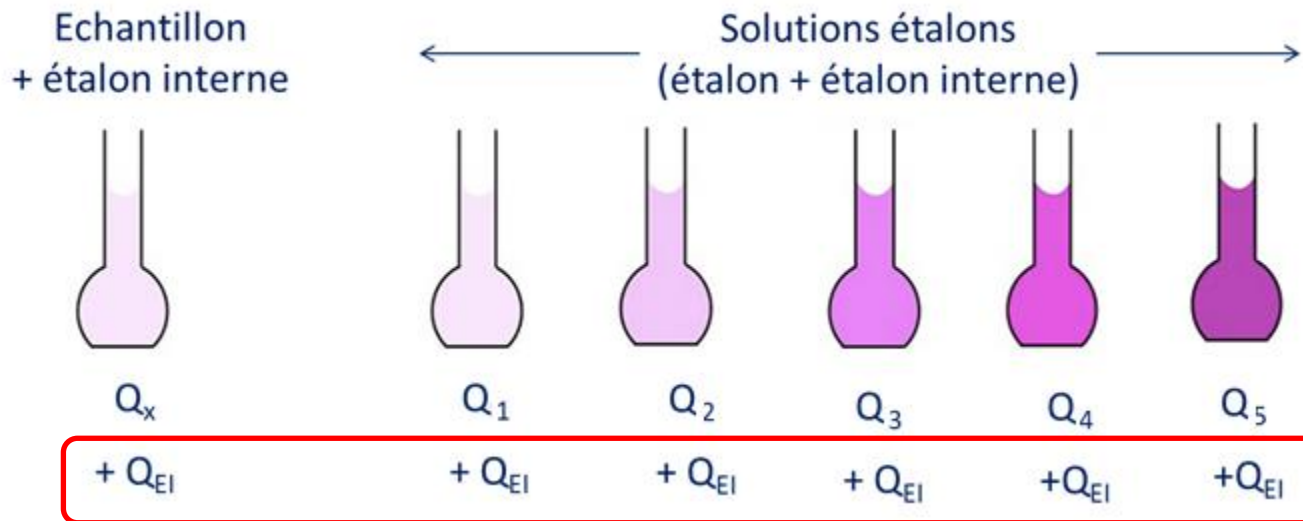
Chromatographie en phase gazeuse

⇒ *Fluctuation du volume injecté*



Méthode de l'étalon interne (1/4)

- Ajout d'une **quantité connue fixe** d'une substance de référence (**étalon interne** Q_{EI}) à tous les échantillons, étalons et blancs
- ⇒ Etalon interne est **différent de l'analyte** mais aussi suffisamment semblable
- ⇒ Correction des fluctuations de fraction d'analyte analysée



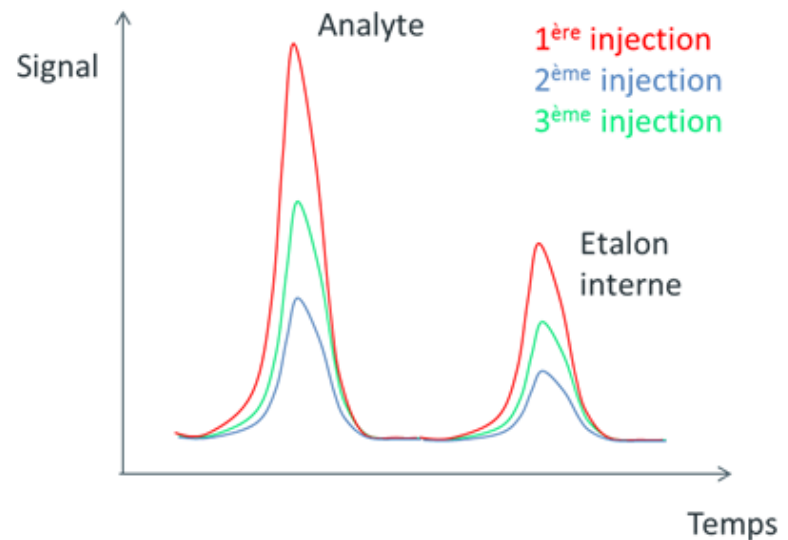
Quantité d'EI ajoutée fixe

Méthode de l'étalon interne (2/4)

Caractéristiques d'un étalon interne

- Structure chimique voisine de l'analyte
- Analysable dans les mêmes conditions
- Non présent dans l'échantillon
- Etre distinguable de l'analyte cible
- Réponse comparable à l'analyte

Rapport $\frac{S_x}{S_{EI}}$ constant

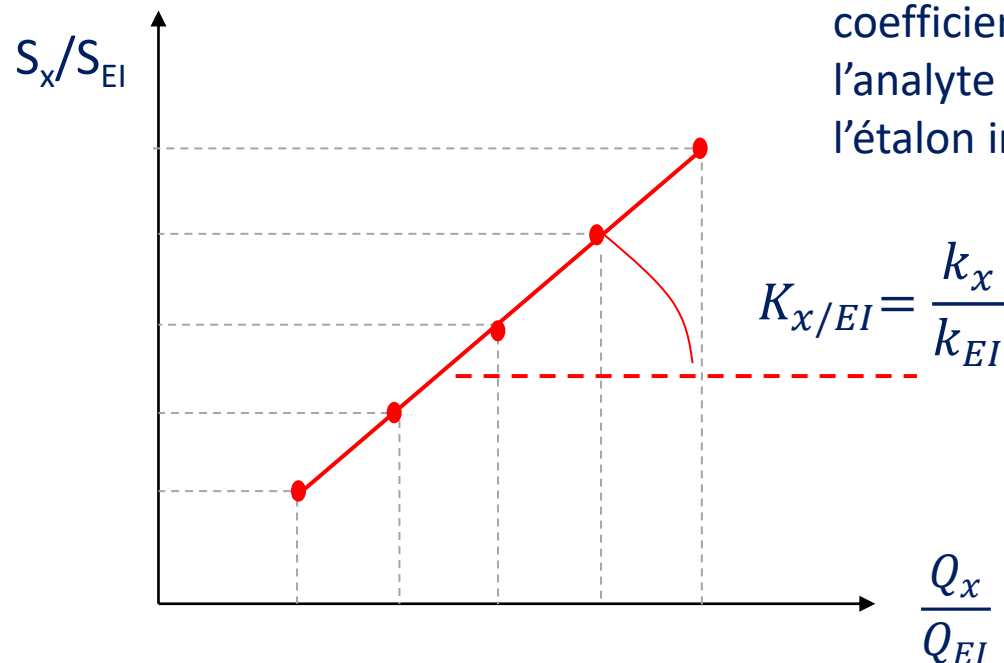


Méthode de l'étalon interne (3/4)

Interprétation du rapport du signal de l'analyte (x) /étalon interne (EI)

$$\begin{cases} S_x = k_x \cdot Q_x \\ S_{EI} = k_{EI} \cdot Q_{EI} \end{cases} \text{ donc } \frac{S_x}{S_{EI}} = \frac{k_x}{k_{EI}} \cdot \frac{Q_x}{Q_{EI}} \iff \boxed{\frac{S_x}{S_{EI}} = K_{x/EI} \cdot \frac{Q_x}{Q_{EI}}}$$

avec $K_{x/EI}$ rapport des coefficients de réponse de l'analyte par rapport à l'étalon interne

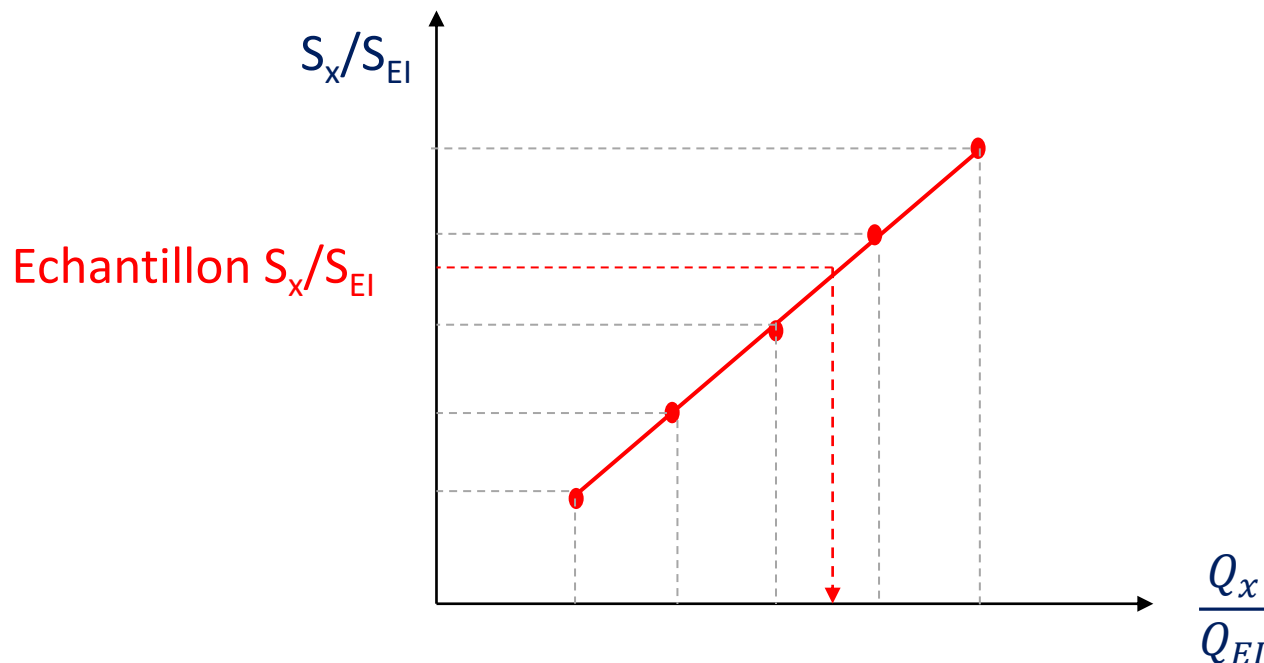


Méthode de l'étalon interne (4/4)

Détermination de la concentration d'un échantillon inconnu C_x

Sachant $V_x = V_{EI}$

$$\frac{S_x}{S_{EI}} = K_{x/EI} \cdot \frac{Q_x}{Q_{EI}} \quad \left\{ \quad \frac{S_x}{S_{EI}} = K_{x/EI} \cdot \frac{C_x}{C_{EI}} \quad \Leftrightarrow \quad C_x = \frac{C_{EI}}{K_{x/EI}} \cdot \frac{S_x}{S_{EI}} \right.$$



Erreurs lors d'un étalonnage

- 1) Erreurs sur les étalons
- 2) Erreurs liées à l'étape de traitement de l'échantillon
- 3) Erreurs liées à l'instrumentation
- 4) **Erreurs liées au milieu de mesure (Effet de matrice)**

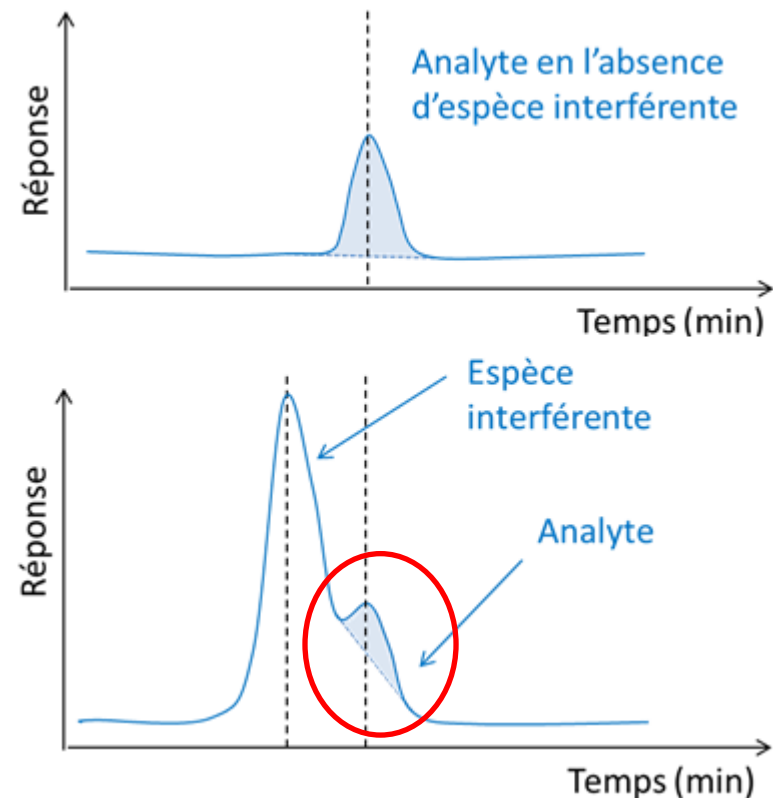
⇒ Différentes stratégies de minimisation des erreurs

Effets de matrice (1/2)

⇒ Erreur liée au milieu

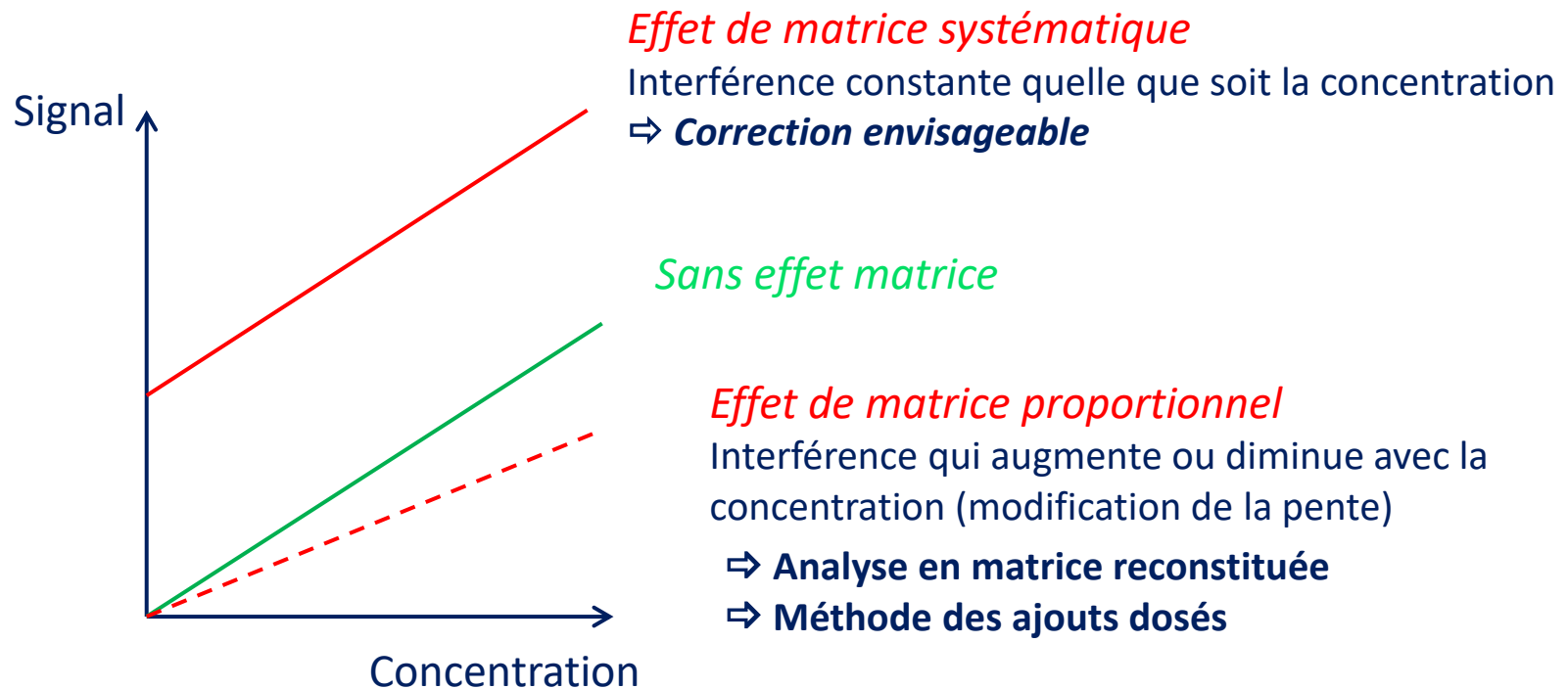
Exemple en CLHP

- **Matrice*** : Les composants d'un échantillon autres que l'analyte
- **Effet de matrice*** : Effet combiné de tous les composants d'un échantillon autres que l'analyte sur la mesure de la quantité



* IUPAC Gold Book

Effets de matrice (2/2)



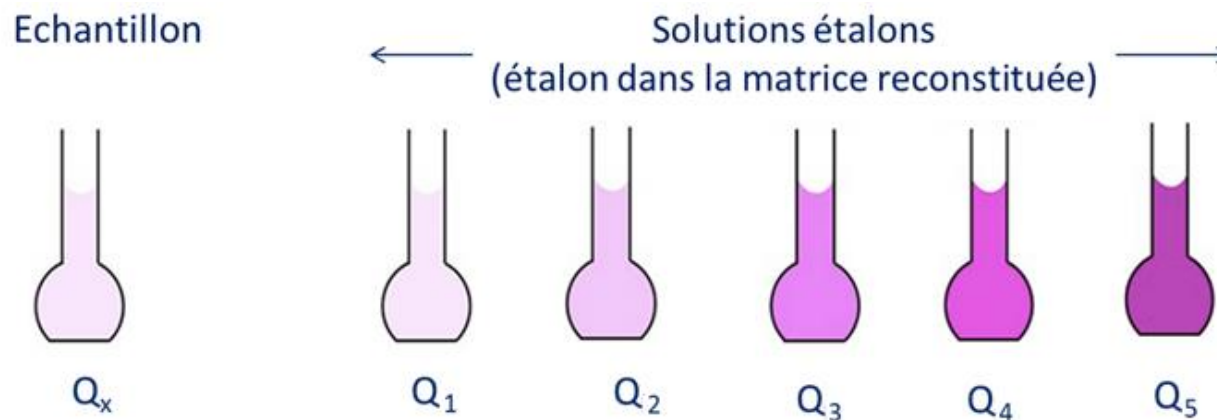
Etalonnage dans la matrice reconstituée (1/2)

- **Effet de matrice proportionnel avec pente constante**

⇒ Analyse de la « **forme reconstituée** »

↪ Ex. Dosage de PA en présence des excipients

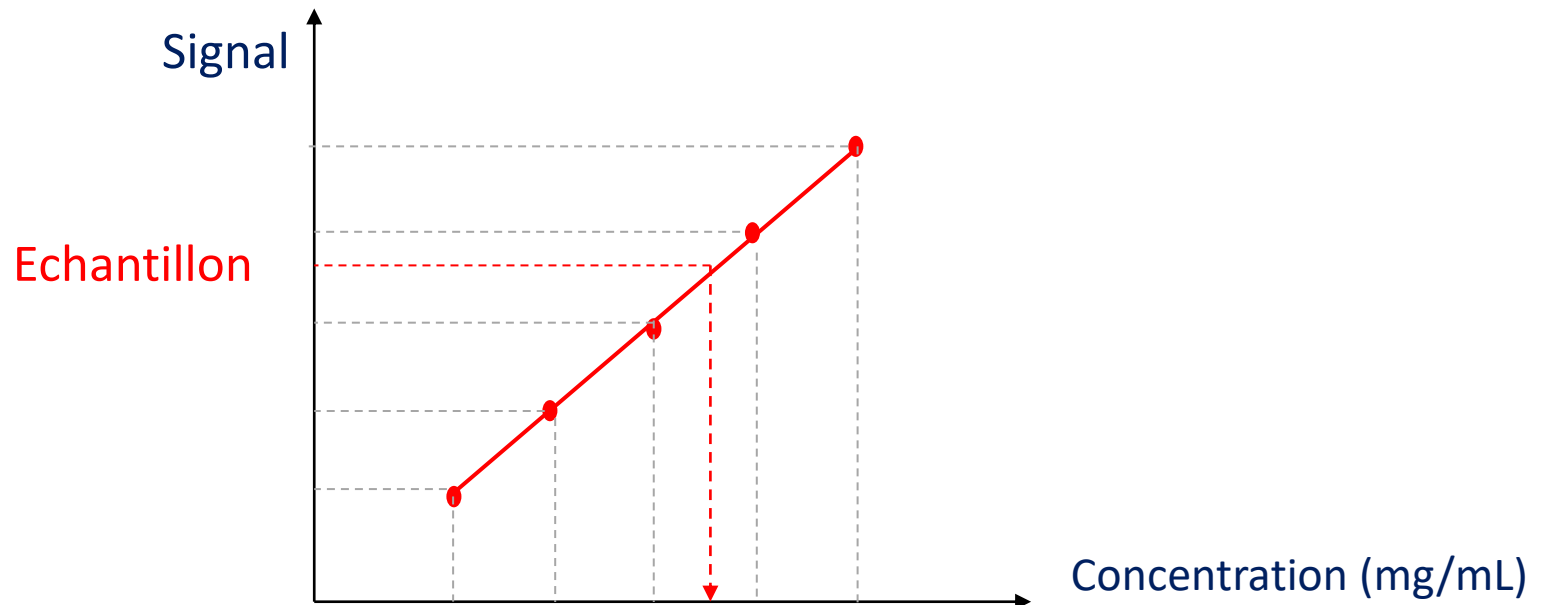
- Duplication de la matrice en **ajoutant les principaux constituants de la matrice aux solutions étalons et au blanc**



Etalonnage dans la matrice reconstituée (2/2)

Détermination de la fonction de réponse

$$\text{Signal} = f(C)$$



Méthode des ajouts dosés (1/3)

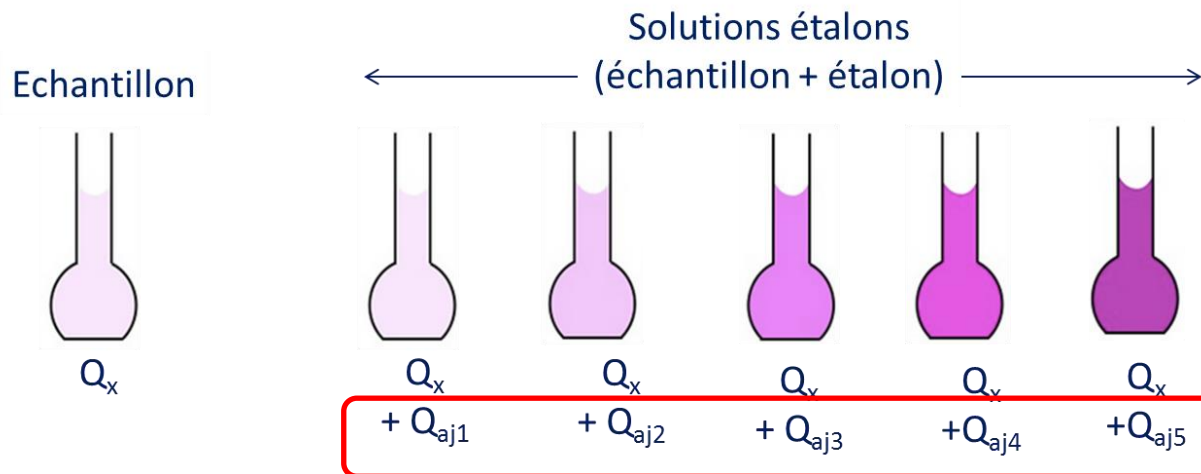
■ Effet de matrice proportionnel avec pente variable

⇒ Analyse dans la matrice échantillon

↪ Echantillon biologique (variabilité inter et intra-individuelle de la matrice+++)

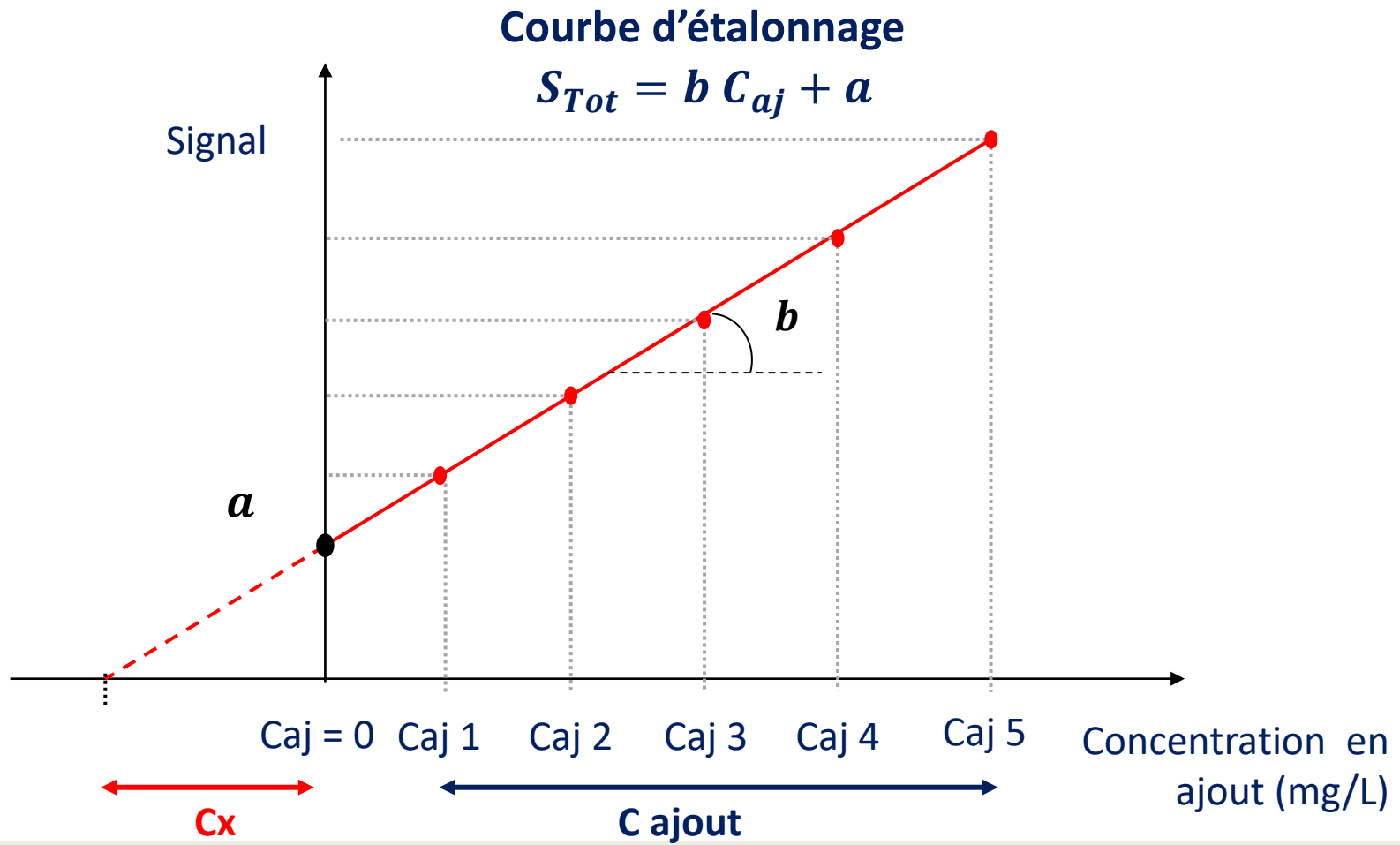
↪ Spectrométrie d'absorption atomique +++

■ Ajout à l'échantillon contenant une quantité d'analyte (Q_x) à définir des quantités connues croissantes de solution étalon de l'analyte (Q_{aj})



$\Delta Q = \text{constant et du même ordre de grandeur que } Q_x$

Méthode des ajouts dosés (2/3)



Méthode des ajouts dosés (3/3)

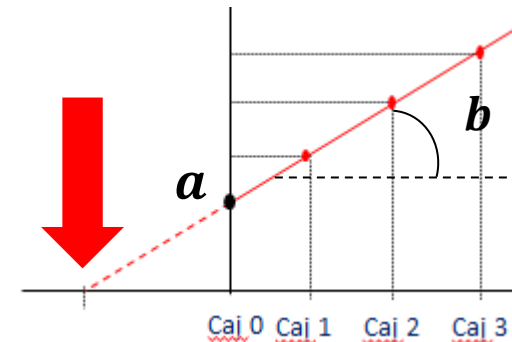
Détermination de la concentration d'un échantillon inconnu C_x

$$S_{Tot} = b C_{aj} + a$$

Avec

$$S_{tot} = S_x + S_{aj}$$

$$C_{tot} = C_{aj} + C_x$$



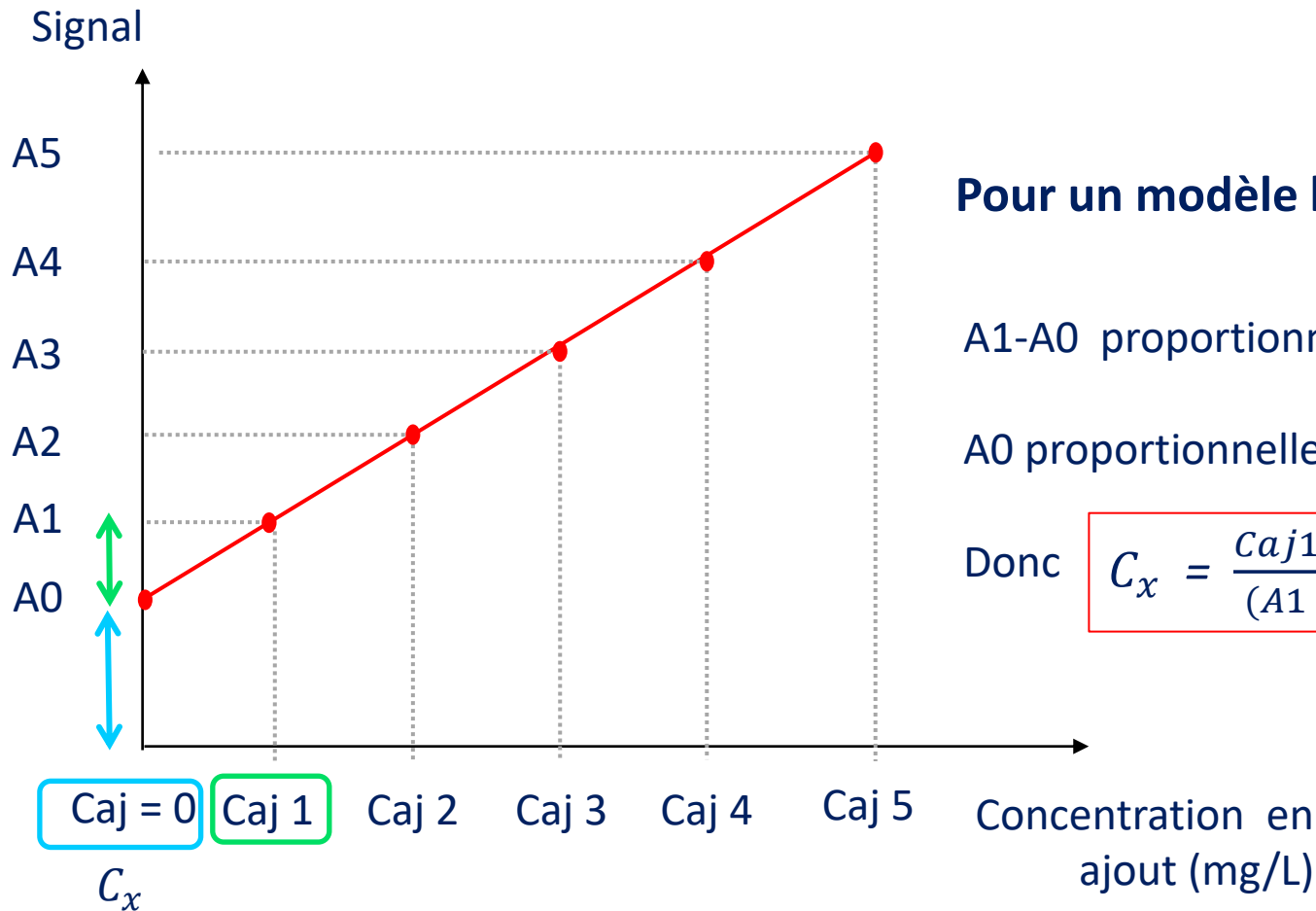
A l'intersection de la droite avec l'axe des abscisses :

$$C_{tot} = 0, \text{ donc } C_{aj} + C_x = 0 \Rightarrow C_x = -C_{aj}$$

$$S_{tot} = 0, \text{ donc } b C_{aj} + a = 0 \Rightarrow C_{aj} = -\frac{a}{b}$$

$$C_x = \frac{a}{b}$$

Méthode des ajouts dosés (2/3)



Pour un modèle linéaire

$A1 - A0$ proportionnelle à Caj1

$A0$ proportionnelle à C_x

Donc

$$C_x = \frac{Caj1 \times A0}{(A1 - A0)}$$

Conclusion

- Etalonnage pour **analyse quantitative (Méthode relative)**
- ***Etalonnage externe***
- Plusieurs sources d'**erreurs lors de l'étalonnage**
 - ↳ *Etalon, traitement des échantillons, méthode d'analyse, matrice*
- Plusieurs stratégies de minimisation des erreurs
 - ↳ *Utilisation d'un **étalon interne***
 - ↳ ***Analyse dans la matrice : reconstituée ou par ajouts dosés***

A retenir

- Connaître les **définitions**
- Connaître les **principales erreurs de l'étalonnage**
- Connaître les **principales stratégies de minimisations des erreurs**
 - **Etalon interne**
 - **Analyse dans la matrice reconstituée**
 - **Méthodes des ajouts dosés**
- Savoir **déterminer en pratique la concentration d'une solution inconnue en fonction des différents étalonnages**



Pour en savoir plus

- Pour les définitions, se référer à l'**International Union of Pure and Applied Chemistry** (IUPAC) <https://iupac.org/>
- Pour en savoir plus sur les techniques, se référer aux **Techniques de l'ingénieur**