

Chapitre III :

PARTIE

PRATIQUE

MCours.com

III.1. Introduction

Le présent travail a pour objet de valider une méthode d'analyse de mercure contenu dans l'acide phosphorique industriel 85% H_3PO_4 , par la Spectrophotométrie d'absorption atomique à four graphite. Et ce par la méthodologie d'erreur totale.

En effet les principales caractéristiques à déterminer pour évaluer les performances de cette méthode sont les suivantes :

- ❖ La spécificité ;
- ❖ L'exactitude ;
- ❖ Les limites de détection et quantification.

III.2. Analyse de mercure dans l'acide phosphorique par spectrophotométrie d'absorption atomique

III.2.1. Instrument de mesure [8]

L'analyseur de mercure automatique DMA-80 est un instrument innovant qui permet l'analyse du mercure à très basse teneur dans des échantillons solides et liquides en cinq minutes, sans nécessiter d'étapes préalables de prétraitement par voie humide. Cet instrument est utilisable en laboratoire ou en extérieur pour une réponse rapide lors de l'expertise de décharges, de matériaux stockés ou de sites contaminés.



Figure 13: L'instrument de mesure DMA-80

III.2.2. Passeur d'échantillons solides et/ou liquides intégré

Le passeur automatique dispose de 40 positions et permet d'introduire automatiquement des échantillons solides et liquides au moyen de coupelles en inox de grande capacité. La masse

maximale de solides est égale à 700 mg, tandis que le volume de liquide maximum est égal à 1000 μl , ce qui permet d'atteindre une limite de détection en liquide de 10 ng/l, soit 10 ppt de Hg. Il est possible de réaliser l'étalonnage de l'instrument avec des étalons solides (matériaux de référence certifiés) ou liquide pour l'analyse de solides et de liquides.



Figure 14: Passeur d'échantillons solides et/ou liquides intégré

III.2.3. Principe de fonctionnement [9]

La teneur en mercure dans l'acide phosphorique est déterminée par spectrométrie d'absorption atomique à four graphite après incinération sous flux d' O_2 grâce à la détermination de la quantité d'énergie absorbée lors de l'excitation des atomes de mercure. Cette absorbance (A_λ) est en fonction de la concentration de mercure présente selon la loi de Beer-Lambert :

$$A_\lambda = \log I_0/I_t = \epsilon.l.c$$

- Où ϵ_λ le coefficient d'absorption molaire ;
- l la longueur du trajet optique ;
- I_0 l'intensité initiale de la source lumineuse (rayonnement de référence) ;
- I_t l'intensité transmise après avoir traversé l'échantillon.

La technique utilisée pour l'analyse de Hg est constituée d'un premier four dans lequel va avoir lieu le séchage et la combustion de l'échantillon à 200°C sous flux d' O_2 , puis un deuxième four à 650°C contenant un tube catalytique permettant la décomposition des gaz résultant de la combustion ainsi que la réduction de mercure en Hg° . Les vapeurs d' Hg° entraînées par le flux d'oxygène sont fixées et ainsi pré-concentrées sur un piège d'or. Celui-ci est alors chauffé très rapidement par un troisième four à 650° (Technique d'amalgamation). Les atomes de mercure sont capturés de façon sélective à la surface du collecteur en or (GoldTrap). Le mercure libéré est

transporté à travers la cellule de mesure où sa masse est déterminée quantitativement par absorption atomique (les vapeurs de mercure sont envoyées vers le détecteur) où la hauteur du pic d'absorbance est mesurée à 253.7 nm en tant que fonction du contenu en mercure (ng).

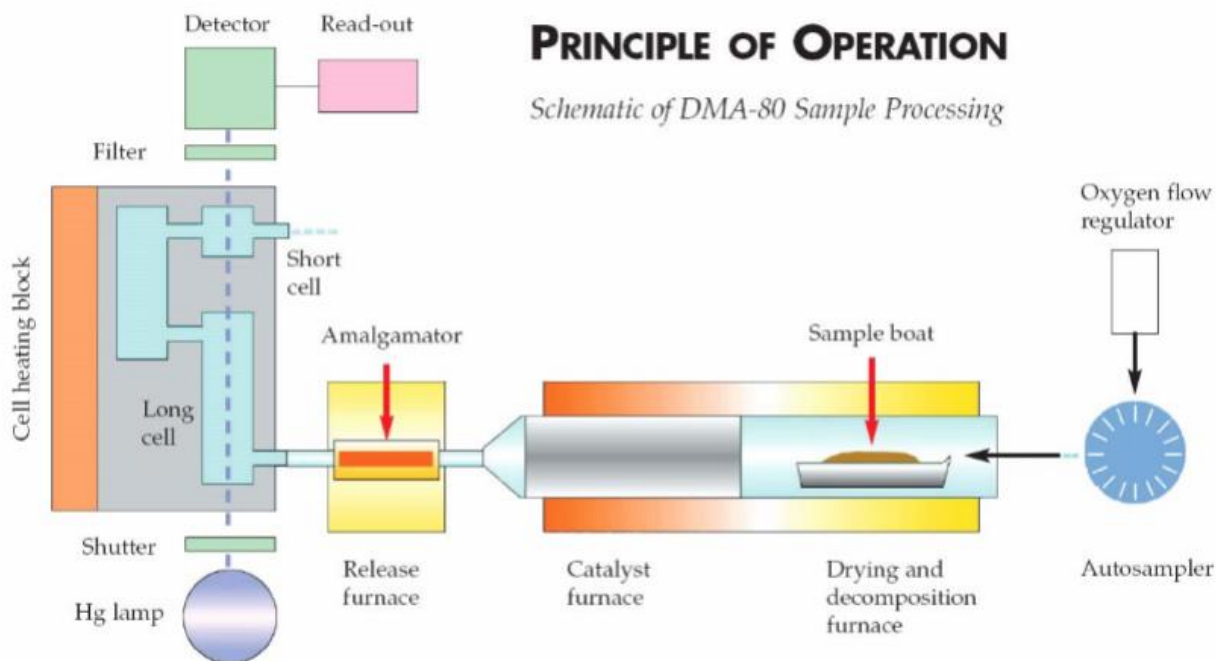


Figure 15: Principe de mesure

III.2.4. Appareillage

Le matériel utilisé est cité dans le paragraphe suivant :

- ✓ Matériel courant de laboratoire ;
- ✓ Spectrophotomètre GFAAS (Direct Mercury Analyzer) ;
- ✓ Microordinateur et le Logiciel de traitement des données (Jalon terminal DMA-80, 660-1660 l avec Logiciel DMA-80 ou DMA-80 PC) ;
- ✓ Des cuves en quartz, et métallique ;
- ✓ Balance analytique, Micropipette (200±1) µl, Micropipette (1000 ±1) µl ;
- ✓ Fiole jaugée (1000±0,04) ml ; fiole jaugée (50±0,06) ml;
- ✓ Fiole jaugée (100±0,1) ml.

III.2.5. Domaine d'application

Le domaine d'application pour valider cette méthode est défini par les points suivants :

- Matrice d'analyse : l'acide phosphorique industriel 85% H_3PO_4 dont les composantes sont inconnues ;

- L'intervalle de dosage dans lequel la linéarité est vérifiée est bien déterminé (0,5-14) ng ;
- Les limites d'acceptation sont fixées à $\pm 10\%$;
- La proportion β est fixée à 80%.

III.2.6. Mode opératoire

III.2.6.1. Préparation des standards d'étalonnage

La gamme d'étalonnage est préparée à partir d'un MRC : solution mono-élément de mercure : $1 \pm 0,002 \text{ g/Kg}$

- Puis on prépare une solution mère de 50 ng/L de Hg;
- A partir de cette solution on prépare 7 solutions étalons de concentration variant entre 0.5 ng/L et 20 ng/L.



Figure 16: Matériels utilisés pour la préparation des solutions étalonnage et validation

- *Etalon 1 : 0.5 ng/L*

$$C_i V_i = C_f V_f \text{ donc } V_i = \frac{C_f V_f}{C_i} \rightarrow V_i = \frac{0,5 \times 500}{50} = 1 \text{ ml}$$

- Dans une fiole jaugée de 500 ml, on prélève donc 1 ml de solution mère de concentration 50 ng/L puis on ajuste le volume avec de l'eau distillée ;
- De la même façon on prépare les 6 autres étalons, les résultats de démarche d'étalonnage sont résumés dans le tableau suivant :

Pour la calibration d'Hg en g. 10⁻⁹	volume des standards mesuré pour atteindre cette calibration
0.5	1mL d'une solution mère de 50ng/L
1	10mL d'une solution mère de 50ng/L
2	20mL d'une solution mère de 50ng/L
3	30mL d'une solution mère de 50ng/L
5	50mL d'une solution mère de 50ng/L
10	100mL d'une solution mère de 50ng/L
20	200mL d'une solution mère de 50ng/L

Tableau 2: Résumé de la démarche de calibration

- On introduit les cuves dans le plateau à échantillon, et on démarre le programme pour faire une calcination des cuves ;
- Après la calcination on injecte 0,1ml de chaque solution étalon à l'aide d'une micropipette dans des cuvettes en quartz ;



Figure 17: Introduction d'échantillon dans le plateau à échantillon

- On démarre le programme jusqu'à la fin.

Les conditions expérimentales d'analyse par le DMA-80 sont présentés sans le tableau 3 :

Numéro de l'étape	Temps	Température
1	00:01:00	200°C
2	00:02:00	650°C
3	00:01:00	650°C
Purge: 60 secondes		

Tableau 3: programmation de l'appareil pour la matrice d'acide phosphorique

III.2.6.2. Gamme des standards de validation

La préparation de la gamme de validation consiste à préparer 8 niveaux de concentration variant entre 0 ng/L et 14 ng/L par la méthode des ajouts dosés, le plan de préparation est donné par le tableau 4 :

Essai n°	0	1	2	3	4	5	6	7
Volume solution d'essai (ml)	0,1ml d'acide phosphorique	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Volume solution étalon (ml)	0 ml d'étalon	0,1 0,5ng/L	0,1 1ng/L	0,1 2ng/L	0,1 3ng/L	0,1 5ng/L	0,1 8ng/L	0,1 14ng/L
Qsp avec de l'eau distillée	500ml	500ml	500ml	500ml	500ml	500ml	500ml	500ml

Tableau 4: Résumé de la démarche de validation

- Après calcination des cuvettes on injecte 0,1ml de standard de validation à l'aide d'une micropipette ;
- On démarre le programme DMA-80 dans les mêmes conditions de temps et de température que les standards d'étalonnage ;

III.3. Résultats et interprétations

III.3. 1. Les données brutes

Standards d'étalonnage ont été analysés pendant trois jours différents (p=3), avec des niveaux de concentration (m=7) et chaque niveau étant répété deux fois (n=2).

Niveau	Cint	Réponse analytique (Abs)		
		Série 1	Série 2	Série 3
1	0,5	0,0237	0,0224	0,0227
	0,5	0,0229	0,0274	0,025
2	1	0,0498	0,0452	0,043
	1	0,0472	0,0439	0,0419
3	2	0,1142	0,1111	0,0798
	2	0,1142	0,0839	0,0824
4	3	0,1666	0,1712	0,1189
	3	0,1802	0,1477	0,1183
5	5	0,2066	0,2011	0,2114
	5	0,182	0,2182	0,2115
6	10	0,3578	0,3729	0,3698
	10	0,3123	0,3626	0,3741
7	20	0,7578	0,6676	0,7322
	20	0,7296	0,7634	0,7269

Tableau 5: Gamme de standard d'étalonnage

Standards de validation ont été analysés pendant trois jours différents (p=3), avec des niveaux de concentration (m=8) et chaque niveau étant répété deux fois (n=2).

niveau	Cint	Réponse analytique (Abs)		
		Série 1	Série 2	Série 3
0	0	0,2012	0,2002	0,1928
	0	0,1999	0,1995	0,1925
1	0,5	0,2198	0,2186	0,2123
	0,5	0,2174	0,2176	0,2119
2	1	0,2376	0,2348	0,2310
	1	0,2347	0,2352	0,2303
3	2	0,2753	0,2742	0,2680
	2	0,2679	0,2686	0,2680
4	3	0,3101	0,3086	0,3067
	3	0,3066	0,3030	0,3059
5	5	0,3767	0,3724	0,3703
	5	0,3684	0,3677	0,3705
6	8	0,4827	0,4844	0,4934
	8	0,4899	0,4870	0,4934
7	14	0,6910	0,6920	0,7064
	14	0,7050	0,6989	0,7124

Tableau 6: Gamme de standard de validation

III.3. 2. Sélection du modèle de régression approprié/Modèle d'étalonnage

En vue de transformer les réponses instrumentales mesurées en concentrations par prédiction inverse, il faut sélectionner le modèle convenable d'étalonnage.

Pour choisir le modèle le plus adéquat qui est capable de produire une proportion suffisante de futures mesures qui se situeront à l'intérieur de la zone d'acceptabilité, nous avons généré plusieurs modèles reliant l'absorbance à la concentration de mercure.

Le tableau 7 regroupent les résultats statistiques de tous les modèles générés :

	Série	a0	a1	a2	R ² %	R ² ajusté %	R ² prédite%
Linéaire simple	1	0,0244	0,03522	-	98,48%	98,35	97,95
	2	0,02578	0,03467	-	98,78	98,68	97,45
	3	0,01166	0,03608	-	99,88	99,86	99,84
Linéaire pondérée 1/C	1	0,01472	0,03685	-	96,07	95,74	95,06
	2	0,01252	0,03691	-	97,61	97,41	96,78
	3	0,00662	0,036931	-	99,74	99,72	99,67
Linéaire pondérée 1/C ²	1	0,00396	0,04329	-	93,06	92,48	91,11
	2	0,00494	0,04144	-	95,74	95,38	94,17
	3	0,004897	0,037959	-	99,6	99,56	99,34
Transformation racine	1	0,0562	0,1776	-	97,85	97,67	97,25
	2	0,0495	0,17945	-	98,8	98,7	98,26
	3	0,02409	0,18642	-	99,88	99,87	99,85
Transformation logarithmique	1	-2,9869	0,8952	-	97,83	97,65	97,21
	2	-3,0232	0,9088	-	98,84	98,75	98,49
	3	-3,1285	0,9368	-	99,86	99,84	99,8
Linéaire quadratique	1	0,0361	0,02977	0,000268	98,63	98,38	97,77
	2	0,0178	0,03838	- 0,00018	98,86	98,65	96,77
	3	0,00568	0,03888	- 0,000137	99,91	99,9	99,86

Tableau 7: Résultats statistiques obtenus au près de chaque model généré

D'après les résultats obtenus et en se basant sur le paramètre R² (%), on peut déduire que le modèle le plus adéquat est le modèle linéaire simple.

III.3. 3. Prédiction inverse

Les calculs de la justesse et de la fidélité se fait par des concentrations prédites et non pas avec les réponses. La prédiction inverse se s'effectue via la fonction inverse de la fonction de réponse choisie à partir des données de calibration, selon le modèle mathématique suivant :

$$C_{ret} = f^{-1}(Y) \text{ avec } C_{ret} \text{ est la concentration retrouvée,}$$

et $f^{-1}(Y)$ est l'équation de prédiction inverse.

L'équation de prédiction inverse pour le modèle linéaire simple est :

$$C_{ret} = \frac{Y - a_0}{a_1}$$

Et Z_{ret} qui correspond à la concentration retrouvée sans effet de matrice et donnée par la formule suivante : $Z = C_{ret} - C_0$, avec C_0 est la concentration de niveau 0 c'est-à-dire de l'acide phosphorique seul.

Le tableau 8 présente aux différents niveaux de concentration, les concentrations retrouvées avec effet de matrice (C_{ret}) et sans effet de matrice (Z_{ret})

niveau	C_{int}	C_{ret}			Z_{ret}			Z_{moy}
		Série n°1	Série n°2	Série n°3	Série n°1	Série n°2	Série n°3	
0	0	5,0198	5,0313	5,0195				
	0	4,9817	5,0109	5,0118				
1	0,5	5,5488	5,5603	5,5605	0,5290	0,5290	0,5410	0,5258
	0,5	5,4797	5,5319	5,5488	0,4980	0,5210	0,5370	
2	1	6,0538	6,0273	6,0785	0,9960	1,0340	1,0590	1,0257
	1	5,9707	6,0399	6,0588	0,9890	1,0290	1,0470	
3	2	7,1228	7,1653	7,1045	2,1030	2,1340	2,0850	2,0565
	2	6,9137	7,0029	7,1048	1,9320	1,9920	2,0930	
4	3	8,1118	8,1563	8,1785	3,0920	3,1250	3,1590	3,0893
	3	8,0137	7,9959	8,1548	3,0320	2,9850	3,1430	
5	5	10,0028	9,9963	9,9405	4,9830	4,9650	4,9210	4,9068
	5	9,7677	9,8629	9,9458	4,7860	4,8520	4,9340	
6	8	13,0118	13,2273	13,3515	7,9920	8,1960	8,3320	8,2315
	8	13,2167	13,3039	13,3528	8,2350	8,2930	8,3410	
7	14	18,9258	19,2153	19,2545	13,9060	14,1840	14,2350	14,2470
	14	19,3247	19,4159	19,4208	14,3430	14,4050	14,4090	

Tableau 8: Les concentrations retrouvées par prédiction inverse

III.3. 4. Spécificité

Dans le cas d'un dosage dans une matrice qu'on ne maîtrise pas ses composantes, la méthode graphique reste la meilleure solution pour démontrer l'absence d'interférences.

On trace la concentration introduite en fonction de la concentration retrouvée ainsi qu'en fonction de la concentration retrouvée sans effet de matrice pour avoir la différence. Les tracés sont représentés dans la figure 18.

Cint	Cret	Zmoy
0,5	5,5383	0,5258
1	6,0382	1,0257
2	7,0690	2,0565
3	8,1018	3,0893
5	9,9193	4,9068
8	13,2440	8,2315
14	19,2595	14,247

Tableau 9: Les concentrations retrouvées

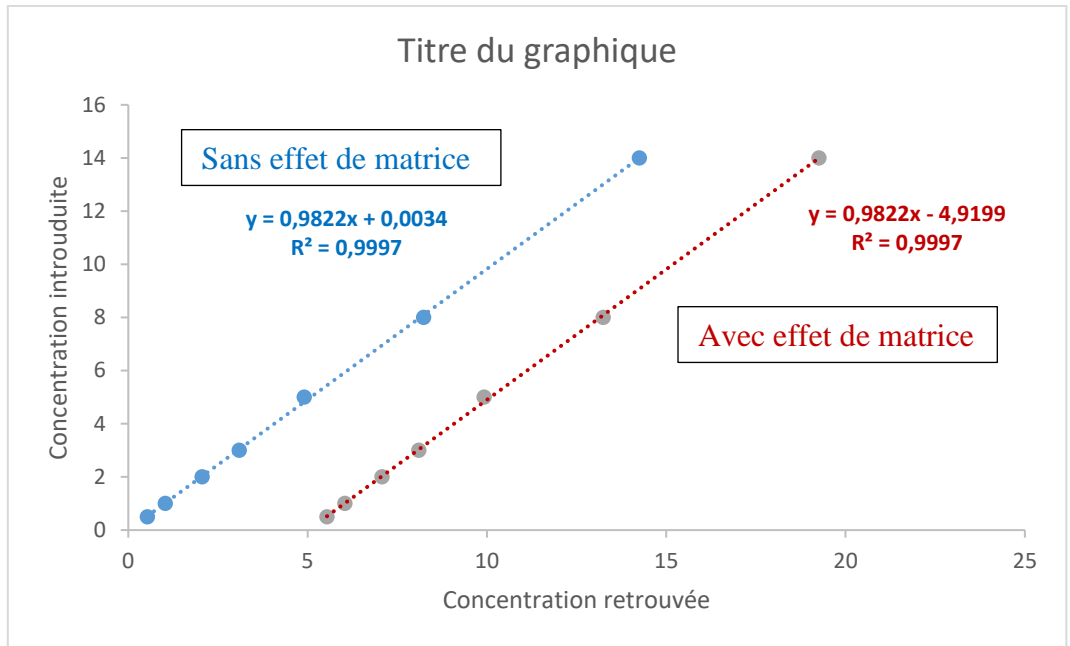


Figure 18: Représentation graphique de concentration introduction en fonction de concentration retrouvée

De ce graphe on observe que les points bleus (les concentrations sans effet de matrice) produisent une droite confondue avec la première bissectrice, ceci montre que la méthode des ajouts dosés a pu surmonter le problème des interférences.

III.3. 5. Calcul de la justesse

La justesse fournit une indication sur les erreurs systématiques de la procédure analytique.

Le tableau 10 présente les résultats de justesse en terme de biais relatif %.

niveau	Cint	Zmoy	Biais%
1	0,5	0,5258	5,1667
2	1	1,0257	2,5667
3	2	2,0565	2,8250
4	3	3,0893	2,9778
5	5	4,9068	-1,8633
6	8	8,2315	2,8937
7	14	14,2470	1,7643

Tableau 10: Calcul de la justesse de la méthode d'analyse de mercure dans l'acide phosphorique

A partir de ce tableau, nous constatons que le biais relatif de chaque niveau est inclus dans les limites d'acceptations [-10%,10%] fixées par le laboratoire central de Jorf-Lasfar. D'où la justesse de la méthode.

III.3. 6. Calcul de la fidélité

Elle est réalisée en calculant la répétabilité et la fidélité intermédiaire à chaque niveau de concentration utilisé en validation.

Les résultats de la fidélité sont regroupés dans le tableau 11. Pour chaque niveau on présente les concentrations introduites, le biais relatif qui lui correspond, la variance de répétabilité, le coefficient de variance de répétabilité, la variance de fidélité intermédiaire et le coefficient de cette dernière.

Niveau	Cint	Biais %	Répétabilité		Fidélité intermédiaire	
			S^2_w	CV_w	S^2_{Fi}	CV_{Fi}
1	0,500	5,16667	0,0002	2,50	0,0002	3,01
2	1,00	2,56667	0,0000	0,59	0,0010	5,30
3	2,00	2,82500	0,0082	4,42	0,0082	4,42
4	3,00	2,97778	0,0039	2,02	0,0048	2,25
5	5,00	-1,86333	0,0086	1,89	0,0086	1,89
6	8,00	2,89375	0,0114	1,30	0,0183	1,64
7	14,00	1,76429	0,0450	1,49	0,0450	1,5

Tableau 11: Calcul de la fidélité et les CV de répétabilité, fidélité intermédiaire

A partir des résultats présentés dans ce tableau, on peut remarquer que le coefficient de variation de la fidélité intermédiaire de tous les niveaux est toujours supérieur au coefficient de variation de répétabilité. D'où la fidélité de la méthode.

III.3. 7. Calcul des intervalles de tolérance et tracé du profil d'exactitude

Pour juger la validation de la méthode par la méthodologie du profil d'exactitude, nous avons calculé les intervalles de tolérance pour chaque niveau de concentration.

Les résultats de ces calculs sont présentés dans le tableau 12. Pour chaque niveau on donne la concentration introduite, le biais relatif, le coefficient de variation de la fidélité intermédiaire, la limite de tolérance inférieure L_j et la limite de tolérance supérieure U_j .

Niv	Cint	Biais %	CVFI	L_j	U_j
1	0,5	5,167	3,006	2,581	7,753
2	1	2,567	5,297	-2,416	7,549
3	2	2,825	4,415	-0,951	6,601
4	3	2,978	2,247	1,049	4,906
5	5	-1,863	1,893	-3,482	-0,245
6	8	2,894	1,642	1,383	4,404
7	14	1,764	1,489	0,491	3,038

Tableau 12: Calcul des intervalles de tolérance

A partir de ce tableau, nous observons que les intervalles de tolérances sont toujours inclus dans les limites d'acceptation, donc la méthode est exacte (juste et fidèle).

Ceci est illustré par le profil d'exactitude présenté dans la figure 19.

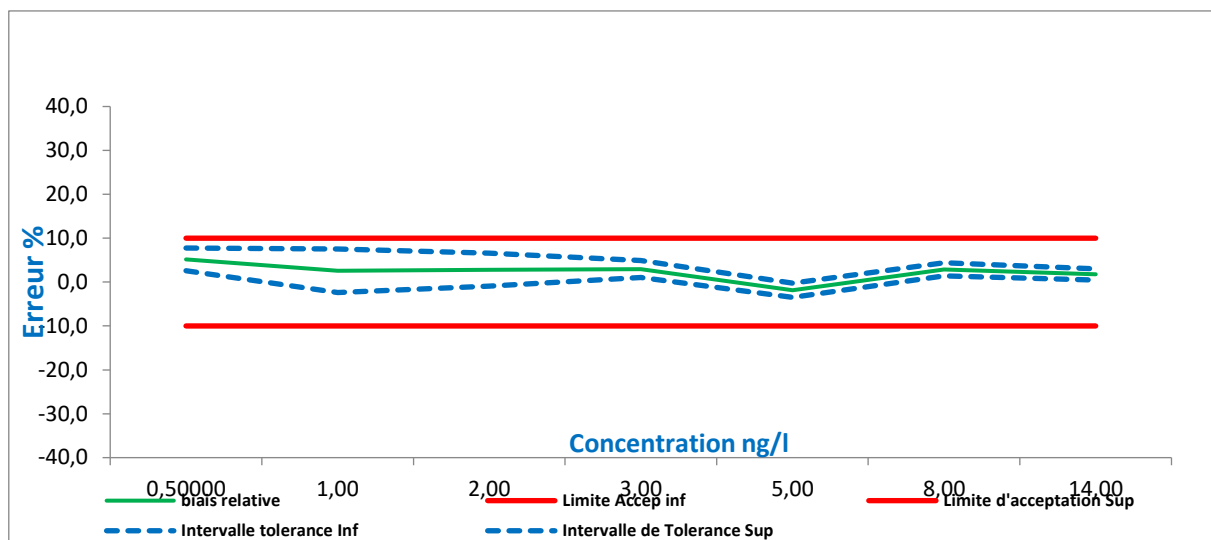


Figure 19: Profil d'erreur totale par la fonction droite linéaire de mercure dans l'acide phosphorique

III.3.8. Calcul de la limite de détection et la limite de quantification

La limite de détection LD et de quantification LQ peuvent être calculées à partir de valeurs de la pente et de l'écart-type de l'ordonnée à l'origine de la courbe (concentration introduite en fonction de la concentration retrouvée sans effet de matrice), les valeurs de ces paramètres ainsi que la limite de détection et la limite de quantification sont présentées dans le tableau 13.

Sa0	a1	LD	LQ
0,011	0,993	0,033	0,111

Tableau 13: Les résultats des LD et LQ

De ces résultats on peut déduire qu'avec cette méthode d'analyse on peut détecter le mercure à partir de 0.033 ng/L et le quantifier à partir de 0.111 ng/L.