

# Méthodes d'étalonnage pour la quantification des polluants

## Introduction

Les méthodes de quantification des polluants chimiques s'appuient généralement sur le principe de comparaison à un étalon. Dans ce cas, l'opération d'étalonnage consiste à déterminer la relation mathématique, souvent linéaire, entre la réponse du détecteur et la quantité de substance analysée. Cette étape est fondamentale dans le processus de quantification, car un mauvais étalonnage conduit forcément à des résultats erronés, il est donc indispensable de maîtriser la réalisation de cette étape de l'analyse.

<b>Principe de l'étalonnage</b> .....	<b>2</b>
<b>Les difficultés de l'étalonnage</b> .....	<b>3</b>
<b>Les différents types d'étalonnage</b> .....	<b>4</b>
L'étalonnage externe .....	4
L'étalonnage interne .....	5
La méthode des ajouts dosés .....	6
<b>Mise en œuvre pratique des étalonnages</b> .....	<b>7</b>
<b>Auteurs</b> .....	<b>8</b>
<b>Historique</b> .....	<b>8</b>

## PRINCIPE DE L'ETALONNAGE

L'étalonnage consiste à préparer, à partir d'une substance pure ou bien d'une solution étalon commerciale, une gamme d'étalonnage qui va couvrir la plage de travail. Les dilutions des solutions sont réalisées par volumétrie ou par gravimétrie. Dans le premier cas, le laboratoire doit disposer de matériel de précision et d'une procédure de vérification de ces matériels. Par exemple, l'utilisation intensive de la verrerie ainsi que les chocs thermiques imposés par les appareils de lavage peuvent altérer sa précision. Dans le second cas, c'est la balance qui doit être contrôlée régulièrement afin de garantir la justesse des pesées. Dans tous les cas, il est préférable de réaliser plusieurs dilutions du produit pur ou de la solution étalon plutôt que de partir d'une seule solution mère diluée successivement (figure 1). Car, pour cette dernière méthode, il existe un risque de propagation d'erreur de dilution qui peut conduire à une erreur systématique sur tous les points de la gamme.

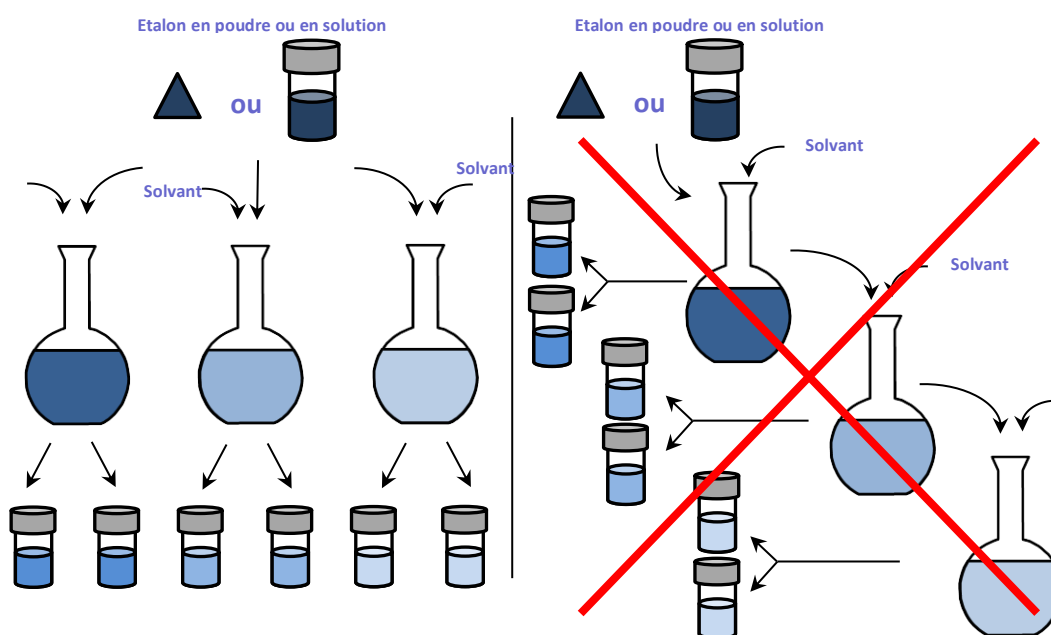


Figure 1 : réalisation de la gamme d'étalonnage : préférer la réalisation de solutions mères multiples plutôt que les dilutions successives.

La gamme d'étalonnage est ensuite analysée à l'aide de la technique dans les mêmes conditions que l'analyse des échantillons inconnus. La mesure de l'intensité du signal : hauteur de pic, aire de pic, intensité lumineuse, etc. est mise en relation avec les quantités de substances présentes dans les différentes solutions de la gamme d'étalonnage. L'équation mathématique qui relie la quantité, ou la concentration de substance et le signal est très souvent une droite dont l'équation est déterminée par le logiciel de pilotage de l'appareil. Cette équation va ensuite être utilisée pour convertir l'intensité du signal mesurée lors de l'analyse d'échantillons inconnus pour en déterminer la concentration comme l'indique la figure 2

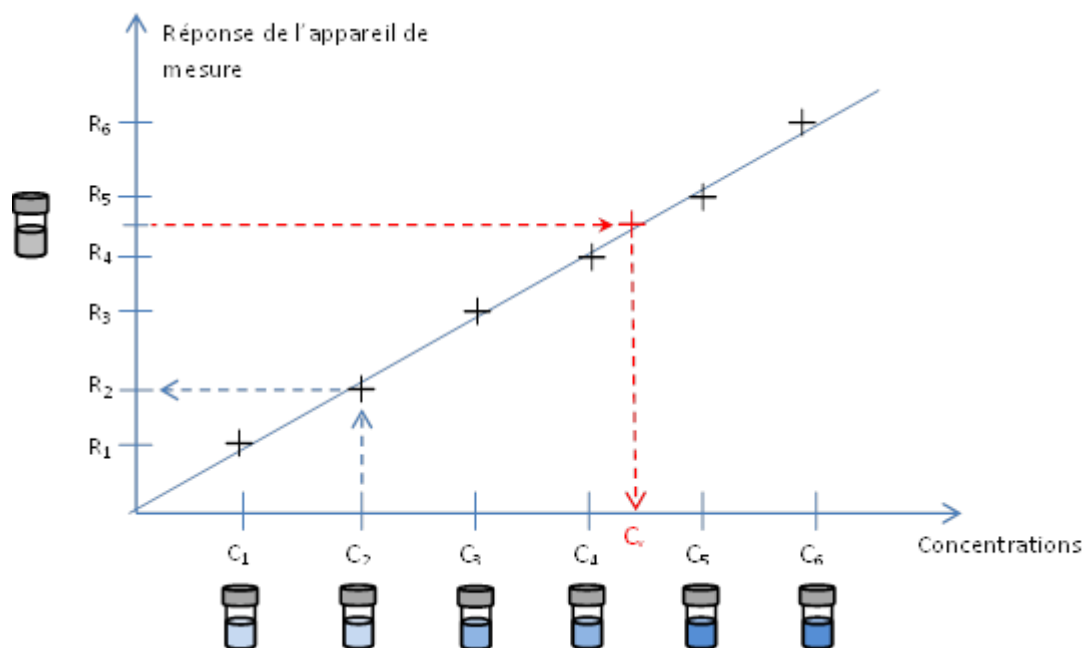


Figure 2 : principe général de l'étalonnage, création de la courbe d'étalonnage à partir de la gamme étalon et détermination de la concentration d'un échantillon à l'aide de cette courbe.

Il existe cependant des cas particuliers, où la grandeur est déterminée directement sans étalonnage comme les analyses par gravimétrie directe ou bien les analyses de comptage de fibres.

## LES DIFFICULTES DE L'ETALONNAGE

Si le principe de l'étalonnage est relativement simple, sa mise en œuvre peut se heurter à des problèmes de taille.

La principale difficulté pour l'étalonnage est la disponibilité de l'étalon. En effet, si un grand nombre de substances chimiques est disponible commercialement soit à l'état pur –ou avec un pourcentage de pureté connu– soit en solution de concentration connue, certaines ne sont pas accessibles et il est nécessaire de les synthétiser pour réaliser un étalonnage. Ce cas de figure reste relativement rare, mais certains produits de dégradation peuvent être concernés ou encore des substances produites naturellement. D'une manière générale, pour les produits dangereux à l'état solide, il est recommandé de travailler avec des solutions étalons, plutôt qu'avec des poudres dont la dispersion dans l'atmosphère représente un risque pour les opérateurs. Lorsqu'il n'existe pas de solutions étalons et que la manipulation de poudres est indispensable, il convient de travailler avec un poste de pesée ventilé pour éviter les expositions potentielles (voir photo 1)

La pureté de l'étalon est un paramètre important, elle est généralement donnée par le fournisseur, mais elle peut évoluer dans le temps si le produit se dégrade. Dans ce cas, il faut contrôler cette pureté et ce contrôle n'est possible que si la nature des impuretés est connue. Les étalons distribués commercialement sont accompagnés d'une date de péremption qui garantit l'absence de dégradation dans les conditions recommandées de stockage. Lorsque cette date est dépassée, la détermination de la pureté est indispensable.

L'effet de la matrice constitue un autre point important de vigilance lors de l'opération de l'étalonnage. En effet, la réponse du détecteur à une quantité de produit étalon dans la matrice peut être altérée par rapport à la même quantité de produit solubilisée dans un solvant. Ce phénomène s'observe par exemple quand le support de collecte est traité en même temps que le prélèvement comme pour les analyses de substances minérales. Pour résoudre ce problème, les étalons sont traités de la même manière que les

échantillons. Cette reconstitution de la matrice est systématique pour l'analyse des métaux. Lorsque l'effet matrice est trop important, il peut être utile de recourir à l'étalonnage par la méthode des ajouts dosés dont le détail est expliqué dans le chapitre suivant.

La préparation de la gamme d'étalonnage peut également être rendue complexe lorsque la substance est sous forme gazeuse à pression atmosphérique. Dans ce cas, il faut dissoudre le gaz dans un solvant ou le diluer dans l'air pour remplir des sacs étalons en Tedlar™ ou encore l'adsorber en quantités variables sur des supports qui seront analysés en ligne, de type support de thermodésorption. La préparation d'une gamme d'étalonnage en sac ou sur support thermodésorbable nécessite l'utilisation d'un système de dilution et une parfaite maîtrise de la débitmétrie gazeuse.

## LES DIFFERENTS TYPES D'ETALONNAGE

### L'ETALONNAGE EXTERNE

Ce type d'étalonnage est le plus simple, il est particulièrement adapté aux méthodes utilisant des techniques analytiques très répétables. La gamme d'étalonnage est réalisée en accord avec la plage de travail désirée, c'est-à-dire entre le dixième de la valeur limite et deux fois la valeur limite du polluant. La courbe de calibration ainsi déterminée va convertir directement la mesure de la réponse du détecteur en concentration. A ce stade, la concentration peut être soit la concentration atmosphérique (masse/volume air), soit la concentration en substance dans la solution analysée (masse/volume de solution) le passage à la concentration atmosphérique se fera en utilisant le facteur de dilution correspondant au rapport Volume d'air prélevé/volume d'extraction, comme le détaille l'exemple suivant.

#### Exemple du prélèvement de styrène.

VLEP-8h du styrène = 215mg/m<sup>3</sup>

Prélèvement individuel de 8h à 100cm<sup>3</sup>/min

Le volume prélevé est donc de  $0.1 \cdot 60 \cdot 8 = 48$  L

Prélèvement sur tube de charbon actif dont la plage de mesure sera analysée après désorption dans 3 mL de CS<sub>2</sub>.

Le facteur de dilution est donc égal à :  $V_{\text{air prélevé}}/V_{\text{solvant désorption}} = 48/3 = 16$  L d'air/mL de CS<sub>2</sub>

La plage de travail est donc définie de la manière suivante :

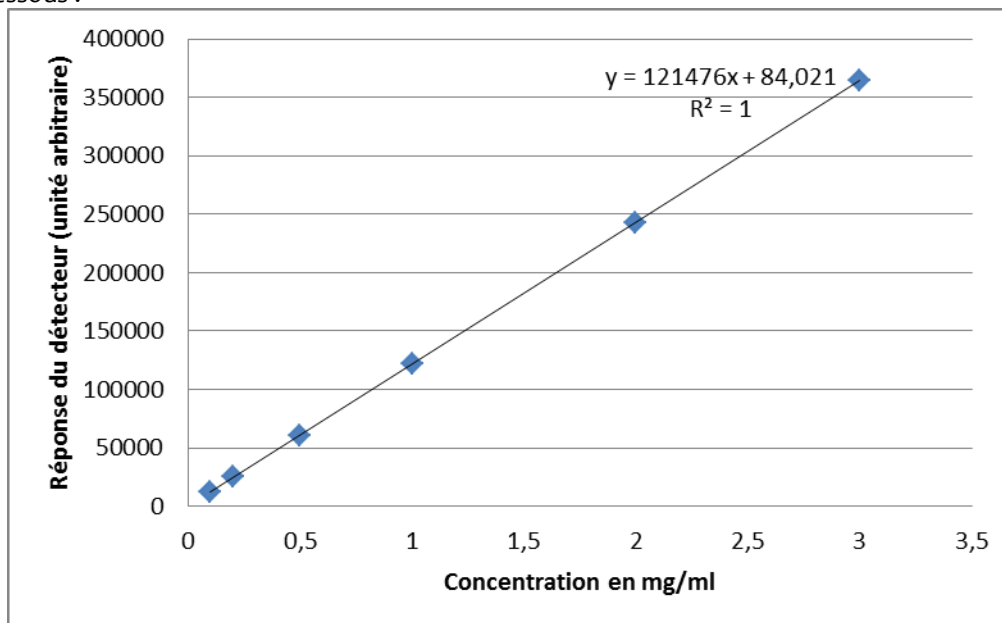
	Valeur basse	Valeur haute
Concentration atmosphérique (mg/m <sup>3</sup> )	21.5	430
Masse de styrène prélevée pour un volume de 48 L (mg)	0.344	6.88
Concentration en styrène dans le CS <sub>2</sub> (mg/mL)	0.115	2.293

La gamme d'étalonnage va donc être réalisée entre 0.1 et 2.5 mg/mL, à partir de trois solutions mères à 0,2 ; 1 et 5 mg/mL de CS<sub>2</sub>. L'injection des 6 points de la gamme de calibration donne les résultats suivants :

Point de la gamme	Concentration (mg/ml)	Réponse du détecteur (aire du pic, unités arbitraires)
1	0.1	12347

2	0.2	25016
3	0.5	60255
4	1	121468
5	2	242520
6	3	364935

La courbe de calibration peut être assimilée à une droite dont l'équation est donnée dans le graphique ci-dessous :



L'échantillon inconnu est à son tour injecté et la réponse du détecteur est de 9668. En utilisant l'équation de la droite d'étalonnage, la concentration de la solution échantillon est déterminée : 0,80 mg/mL.

Le prélèvement de 8 heures, soit 48 L, est extrait dans 3 mL de solvant. Le facteur de dilution est donc égal à  $48/3 = 16$  L d'air/mL de CS<sub>2</sub>.

La concentration atmosphérique est donc égale à  $0,8/16 = 0,05$  mg/L soit 50 mg/m<sup>3</sup>

## L'ÉTALONNAGE INTERNE

Ce type d'étalonnage est utilisé lorsque l'analyse présente une mauvaise répétabilité<sup>1</sup> ou une mauvaise reproductibilité<sup>2</sup>, c'est le cas par exemple, lorsque le solvant utilisé est très volatil et que son évaporation au cours du traitement de l'échantillon risque de modifier de manière significative la concentration des solutions analysées ou encore lorsque la répétabilité des injections automatiques sur l'appareil d'analyse est mauvaise. Ce dernier cas est observé en chromatographie en phase gazeuse, lorsque le solvant utilisé à l'injection possède un coefficient d'expansion volumique élevé et implique un débit de division peu constant.

L'idée générale de l'étalonnage interne est d'ajouter au cours de la préparation des échantillons et des

1 Répétabilité : variabilité entre les résultats d'une même mesure obtenus dans des conditions similaires : même opérateur, même appareillage, même jour, etc.

2 Reproductibilité : Variabilité entre les résultats d'une même mesure obtenus dans des conditions différentes, au moins l'un des paramètres : opérateur, appareillage, matériel de préparation, jour, etc. est différent.

étalons, une substance dont la structure et le comportement est proche de la substance à doser

Ainsi, la courbe d'étalonnage ne sera plus établie en fonction de la concentration de la substance à analyser mais en fonction du rapport des concentrations entre la substance à doser et la substance étalon interne. Si les variations de volume de solvant dues à l'évaporation ou les variations de volume d'injection ont un impact sur les concentrations individuelles des substances, elles en auront beaucoup moins sur le rapport de concentration, voire pas du tout, si le comportement de l'étalon interne est vraiment proche de celui de la substance à analyser.

L'étalon interne peut être introduit de différentes manières en fonction de la nature des variabilités. Si la variabilité de l'injection est importante, il suffira d'ajouter une quantité connue et identique dans les étalons et les échantillons prêts à injecter, d'une solution d'étalon interne. En revanche si la volatilité du solvant implique une variabilité des résultats, l'étalon interne peut être ajouté à la solution de désorption qui servira à la fois à extraire les échantillons et à préparer les étalons. Si le rapport de volume entre ces deux opérations n'est pas identique, il conviendra d'introduire un nouveau facteur de dilution dans le mode de calcul.

Le choix de l'étalon est essentiel, car il doit s'agir d'une substance dont le comportement et/ou la structure est proche des substances à doser, mais il faut également que cette substance ne soit pas présente dans le prélèvement.

En ce qui concerne les calculs de concentration liés à cette méthode, ils sont identiques à la méthode d'étalonnage externe, mais la valeur de la concentration est remplacée par le rapport des concentrations (concentration substance d'intérêt/concentration étalon interne) et la valeur de la réponse du détecteur est remplacée par le rapport des réponses (réponse du détecteur pour la substance d'intérêt/réponse du détecteur pour l'étalon interne).

## LA METHODE DES AJOUTS DOSES

Cette méthode est utilisée lorsque les effets de matrice sont importants et dans les cas où la substance d'intérêt peut difficilement être extraite de la matrice. Dans ce cas, la matrice va être analysée seule puis avec des supplémentations -ou ajouts- connues en substance à doser. Elle est rarement utilisée dans le cas d'analyse de prélèvement atmosphériques. La droite de réponse du détecteur en fonction de la concentration est représentée sur la figure 3. Son équation est la suivante :

$$\text{Réponse}_{\text{totale}} = a \times C_{\text{ajout}} + \text{Réponse}_x$$

Avec :

a : pente de la droite d'étalonnage

$C_{\text{ajout}}$  : concentration de l'ajout réalisé

$\text{Réponse}_{\text{totale}}$  : réponse du détecteur

$\text{Réponse}_x$  : réponse du détecteur pour la solution inconnue sans ajout

Par ailleurs, la concentration totale des solutions dosée est égale à la concentration de la solution inconnue à laquelle il faut ajouter la concentration de l'ajout.

Soit :

$$C = C_x + C_{\text{ajout}}$$

Sur cette droite, pour le point particulier A, où la réponse du détecteur est nulle, la concentration totale est également nulle :

$$\text{Réponse}_{\text{totale}} = 0 \quad \text{et} \quad C = 0$$

Soit :

$$a \times C_{\text{ajout}} + \text{Réponse}_x = 0 \quad \text{et} \quad C_x + C_{\text{ajout}} = 0$$

soit donc :

$$C_{\text{ajout}} = - \text{Réponse}_x / a \quad \text{et} \quad C_x = -C_{\text{ajout}}$$

il vient donc :

$$C_x = \text{Réponse}_x / a$$

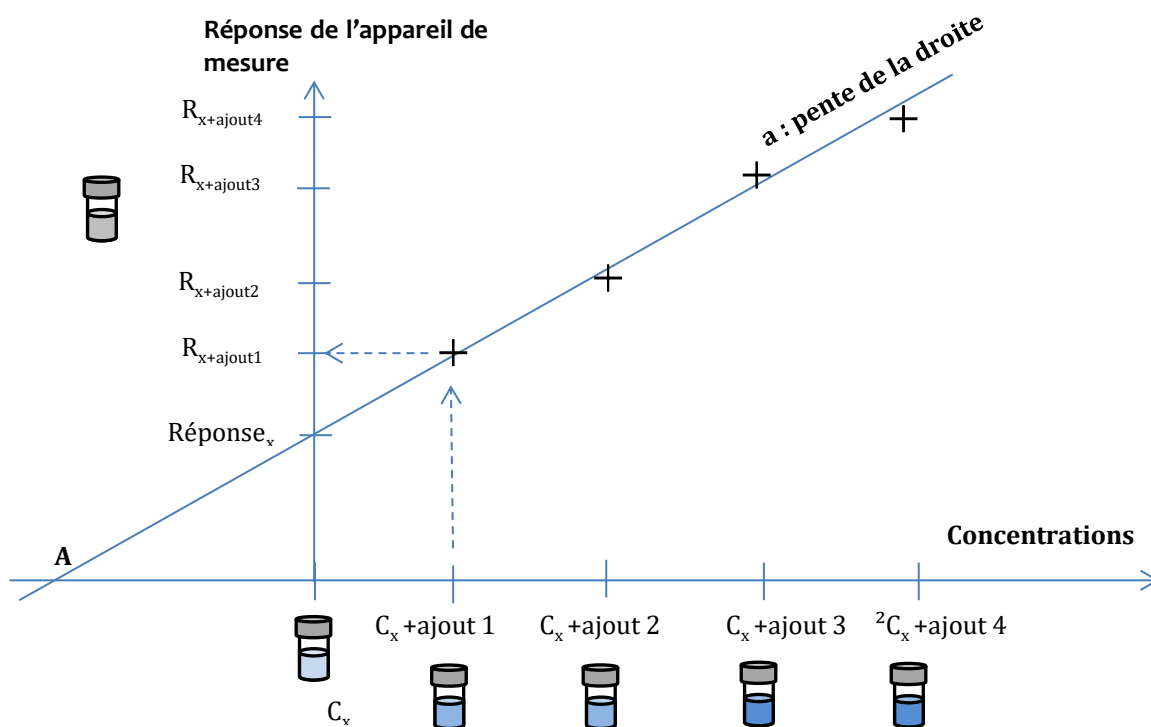


Figure 3 : représentation graphique de l'étalonnage par ajouts dosés

## MISE EN ŒUVRE PRATIQUE DES ETALONNAGES

Les gammes d'étalonnage sont réalisées dans de la verrerie de laboratoire propre ou lorsque cela est possible dans des contenants à usage unique afin d'éviter les contaminations croisées. Les préparations peuvent se faire par volumétrie, dans ce cas il faudra veiller au contrôle régulier des organes de mesure des volumes : pipettes, fioles jaugées, etc. ou bien par gravimétrie. Cette dernière solution est souvent privilégiée en raison de la plus grande facilité de contrôle des balances de précision. Cependant, l'utilisation des balances rend la manipulation des produits toxiques plus délicate. Afin de maîtriser le risque d'exposition lors de la préparation des étalons, certaines dispositions peuvent être mises en place :

- ◆ Eviter la manipulation de poudres.
- ◆ Préférer les étalons primaires déjà vendus sous forme de solution concentrée à diluer. Il est nécessaire de s'assurer, dans ce cas, de la justesse de l'étalon fourni, soit par le biais d'un certificat du fournisseur, soit par une détermination directe comme par exemple, par mesure de l'intensité d'absorption à une longueur d'onde pour laquelle une valeur du coefficient d'extinction est connue.

- ◆ Réaliser les pesées de solutions d'agents chimiques dangereux dans des contenants bouchés et étanches.
- ◆ Manipuler les solutions sous sorbonne,
- ◆ Boucher les contenants sous la sorbonne également et transférer le contenant vers la balance.
- ◆ Dans le cas de solutions d'agents CMR, il est préférable de réaliser les pesées sur un poste ventilé

Pour les analyses de métaux, le substrat de collecte est dissous en même temps que l'échantillon. La présence de cette matrice lors de l'analyse peut avoir un impact sur la qualité de la réponse de l'appareil de mesure. Il est donc indispensable de réaliser les étalons dans un milieu reconstituant cette matrice. Des substrats de collecte seront donc dissous dans les étalons avant analyse.

Dans le cas d'analyses minérales multi élémentaire en ICP optique, il est également nécessaire de réaliser des gammes d'étalonnage croisées, afin que la charge globale en éléments soit constante et rester ainsi dans le domaine de linéarité du détecteur.

Pour l'analyse de l'échantillon, il est également recommandé de réaliser deux analyses à deux niveaux de dilutions différents. Le ratio de réponse doit être identique au ratio de dilution afin de démontrer l'absence d'effet de matrice.

Lorsqu'un échantillon donne une réponse hors de la gamme d'étalonnage il est toujours nécessaire de diluer l'échantillon pour que sa réponse soit compatible avec les réponses de la gamme. Dans le cas des métaux encore, il est nécessaire de diluer dans la matrice reconstitué

## AUTEURS

**E.Langlois, D.Rousset**

*INRS, Métrologie des polluants (metropol@inrs.fr)*

## HISTORIQUE

Version	Date	Modifications
1	Octobre 2015	Création de la fiche