

# Chimie

## Chemistry

### 1. Introduction

Dans ce domaine de métrologie, les missions sont confiées à la Division Métrologie chimique et biomédical du LNE/CMSI. Quatre sous-domaines, correspondants aux disciplines classiques de la chimie analytique, sont couverts par des activités de métrologie : préparation et analyse de mélanges gazeux, analyse inorganique, analyse organique, et électrochimie. Les champs d'application de ces domaines touchent des enjeux sociétaux essentiels, comme la protection du consommateur, la qualité de l'environnement et la santé. Fin 2006, la division a été renommée Métrologie chimique et biomédical compte-tenu des nouvelles orientations prises par le laboratoire dans le domaine de la santé.

### 2. Métrologie dans le domaine des gaz : Détermination de la concentration en argon dans l'air ambiant

La détermination de la masse volumique de l'air ambiant représente à l'heure actuelle la source principale d'incertitude intervenant lors de la comparaison d'un étalon national de platine iridié avec un étalon de référence en acier inoxydable.

Une méthode utilisée couramment pour déterminer la masse volumique de l'air lors de la comparaison de deux étalons de masses est basée sur la formule 81/91 du CIPM (Comité international des poids et mesures) [1], elle conduit à une valeur qui est fonction des concentrations des différents constituants de l'air ambiant. En 2004, la concentration en argon dans l'air ambiant a été déterminée par le KRISS (*Korea Research Institute of Standards and Science*) qui a mesuré une concentration de  $0,933 \cdot 10^{-2}$  mol/mol avec une incertitude type de  $3 \mu\text{mol/mol}$  [2]. L'écart entre cette valeur et la constante ( $0,917 \cdot 10^{-2}$  mol/mol) utilisée dans la formule du CIPM peut expliquer les écarts observés avec la méthode gravimétrique pour la détermination de la masse volumique de l'air ambiant (écart de l'ordre de  $0,64 \cdot 10^{-4} \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ ).

Le laboratoire de métrologie chimique du LNE a développé une nouvelle méthode d'analyse chromatographique pour la détermination de la concentration de l'argon dans l'air ambiant et a comparé la valeur obtenue à celle fournie par le KRISS.

Le LNE a choisi d'utiliser une colonne chromatographique qui permet de séparer l'argon et l'oxygène, comme l'illustre la figure 1. Cette colonne est commercialisée sous la dénomination de CTR III par la société Alltech. Elle est constituée de deux colonnes de diamètres différents (1/4 de pouce et 1/8 de pouce) imbriquées l'une dans l'autre permettant une séparation simultanée des différents composés de l'air.

La détermination de la concentration moyenne en argon dans l'air ambiant réalisée par le LNE, par chromatographie en phase gazeuse, conduit à une valeur de  $0,932 \cdot 10^{-2}$  mol/mol  $\pm$   $0,002 \cdot 10^{-2}$  mol/mol ( $k = 2$ ). Cette valeur confirme à 0,1 % près les travaux réalisés par le KRISS en 2004 par mesure spectrométrique ( $0,933 \cdot 10^{-2}$  mol/mol  $\pm$   $0,000 \cdot 10^{-2}$  mol/mol).

Ces résultats démontrent que la concentration en argon dans l'air ambiant est constante quels que soient le lieu du prélèvement, l'hygrométrie de l'air ; ainsi que, l'opérateur, les étalons et la méthode analytique utilisée pour sa détermination.

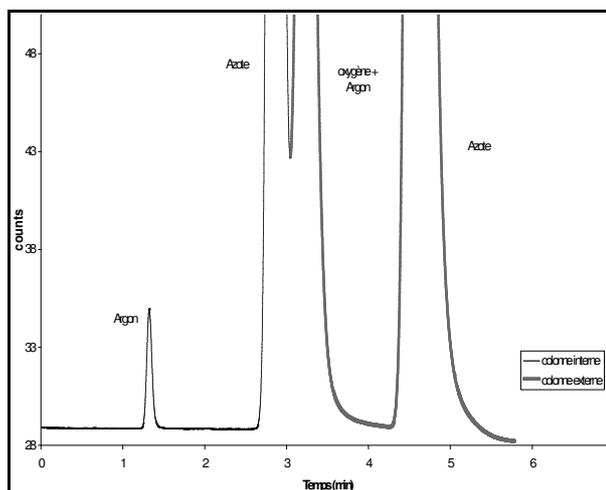


Fig. 1. – Séparation de l'argon avec une colonne CTR III.

De plus, ils confirment l'écart avec la valeur conventionnelle de  $0,917 \cdot 10^{-2}$  mol/mol utilisée dans la formule 81/91 du CIPM pour le calcul de la masse volumique de l'air ambiant.

### 3. Analyse inorganique

#### 3.1. Collaboration avec les organisateurs d'essais d'aptitude

Les partenariats avec les organisateurs d'essais d'aptitude français se sont poursuivis en 2006 dans le but d'assurer la traçabilité des valeurs consensuelles lors d'essais inter laboratoires. Ceci est réalisé par le biais de valeurs de référence obtenues par la mise en œuvre de la dilution isotopique par ICP-MS (*Inductively Coupled Plasma – Mass Spectrometry*).

Cette collaboration s'est traduite en 2006 par la participation du LNE à différents essais inter laboratoires. Ces campagnes ont porté sur l'analyse du cadmium et du plomb dans un produit carné et l'analyse du mercure dans un produit de la pêche.

Les valeurs de référence obtenues par dilution isotopique et ICP-MS sont comparées aux moyennes robustes en calculant l'écart normalisé  $E_N$  :

$$E_N = \frac{X_{\text{labos}} - X_{\text{ref}}}{\sqrt{u_{\text{labos}}^2 + u_{\text{ref}}^2}}, \text{ où :}$$

$X_{\text{labos}}$  : moyenne robuste des laboratoires ;

$X_{\text{ref}}$  : valeur de référence donnée par le LNE ;

$u_{\text{labos}}^2$  : incertitude-type des laboratoires ;

$u_{\text{ref}}^2$  : incertitude-type de mesure du LNE.

Si  $E_N < 2$ , il n'y a pas de différence significative, à 95 % de niveau de confiance.

L'analyse des résultats a indiqué qu'un écart est clairement mis en évidence sur le dosage du cadmium dans le produit carné, les laboratoires fournissent des résultats par défaut :  $0,0363 \pm 0,0019 \mu\text{g/g}$  pour la valeur de référence contre  $0,028 \pm 0,002 \mu\text{g/g}$  pour la moyenne des laboratoires et  $E_N = 5,4$ .

La figure 2 présente la courbe de distribution des résultats. Les barres horizontales correspondent à la tolérance calculée en prenant deux fois l'écart type robuste de reproductibilité. Des investigations sont en cours pour expliquer ce biais analytique.

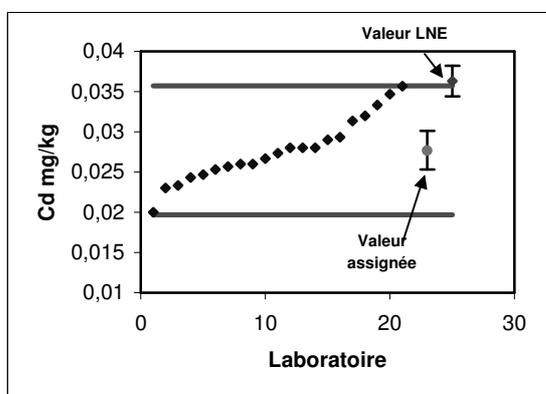


Fig. 2. – Courbe de distribution des résultats de la campagne interlaboratoire, analyse du cadmium dans un produit carné.

#### 3.2. Spéciation du sélénium

L'analyse de spéciation, c'est-à-dire l'étude de la répartition des formes chimiques d'un élément donné dans un échantillon, permet de mieux connaître les différents mécanismes d'interactions de cet élément avec l'environnement. En effet, les dispositifs d'accumulation, d'incorporation, d'expulsion ou de stockage au sein d'un organisme sont fortement dépendants de l'espèce chimique de l'élément mis en jeu. Ce qui explique que son éventuelle nocivité varie en fonction de sa forme chimique. Plusieurs études sont menées actuellement par l'industrie agroalimentaire pour démontrer le rôle bénéfique du sélénium sur la santé. Particulièrement présente dans les sujets de recherche, la sélénométhionine démontre tout l'intérêt d'un apport sous forme organique.

Après la mise en place du couplage entre la chromatographie en phase liquide et l'ICP-MS au laboratoire, des tests de séparation des trois principales formes de sélénium ont été entrepris. Ils ont été réalisés avec une phase mobile à différents pH, mais toujours avec une même concentration en citrate d'ammonium de 5 mM contenant 2 % de méthanol (pour augmenter la sensibilité). Les chromatogrammes enregistrés en suivant le rapport  $m/z = 80$  sont regroupés sur la figure 3. Les concentrations des étalons varient en fonction du pH, ce qui explique la différence dans la hauteur des pics.

La modification du pH agit essentiellement sur la rétention des composés inorganiques (SeVI et SeIV), tandis que la sélénométhionine (SeMet) n'est que peu influencée par ce paramètre. Pour réaliser la séparation de ces trois standards de sélénium, le pH de la phase mobile choisi a été de 5,6. Ainsi les trois composés sont séparés en un minimum de temps sans perte de résolution.

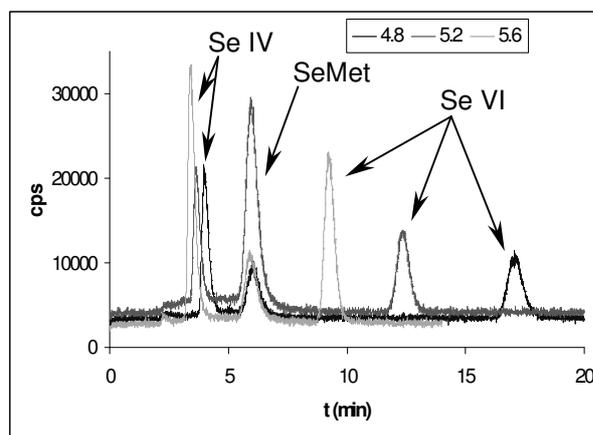


Fig. 3. – Séparation des composés standards du sélénium en fonction du pH de l'éluant.

Les travaux actuels portent sur l'optimisation de la mesure des rapports isotopiques fournis par l'ICP-MS. Différents paramètres peuvent affecter la justesse des rapports isotopiques. Le biais en masse du spectromètre, la formation d'hydrures de sélénium et le temps mort du détecteur sont étudiés dans le but de minimiser et de corriger leur effet sur la mesure.

En parallèle, différents solvants d'extraction sont testés sur un échantillon de levure. L'extraction enzymatique (protéase XIV plus lipase VII) permet d'atteindre le meilleur rendement (80 %), mais l'optimisation se poursuit.

#### 4. Analyse organique : détermination des pesticides dans des matrices environnementales et agro-alimentaires

##### 4.1. Contexte

Utilisés depuis longtemps pour augmenter les rendements agricoles, les pesticides sont susceptibles de polluer différents compartiments environnementaux mais aussi les produits de consommation. Par conséquent, des normes fixant les limites maximales de résidus de pesticides ont été mises en place. Des méthodes analytiques capables d'identifier et de quantifier les pesticides à de très faibles teneurs sont indispensables. Le but de l'étude est de développer et valider une méthode d'analyse multirésidus de pesticides par dilution isotopique associée à la chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (HPLC/MS<sup>2</sup>), pouvant être ensuite appliquée à de nombreux types d'échantillons.

##### 4.2. Validation de la méthode

Après avoir développé et optimisé l'analyse des pesticides par dilution isotopique (DI)/HPLC/MS<sup>2</sup>, différentes caractéristiques de la méthode ont été étudiées. Les limites de détection et de quantification ont été évaluées selon différentes approches et l'adéquation du modèle d'étalonnage a été vérifiée.

L'adéquation du modèle d'étalonnage est vérifiée en analysant plusieurs niveaux de concentration et en répétant les mesures. Dans cette étude, au minimum 5 niveaux de concentration sont réalisés pour chaque analyte. Différentes solutions de concentrations allant de 2 à 225 pg/μl selon les sensibilités des différents composés ont donc été préparées. La méthodologie générale est la suivante :

- estimation de la fonction d'étalonnage : intensité du pic =  $f(\text{concentration})$  ;
- test du caractère significatif du modèle : pour déterminer si le modèle explique les données. Il s'agit d'un test sur les carrés moyens expliqués – étape 1 du test statistique de linéarité ;
- test du caractère non significatif des écarts au modèle, il s'agit du test du *lack of fit* – étape 2 du test statistique de linéarité.

Ce test statistique permet de vérifier que le modèle explique bien les valeurs observées, dans ce cas cela signifie qu'aucune variable n'est manquante dans le modèle. Cette vérification est réellement effectuée à l'étape 2 du test où la variance des écarts au modèle est comparée à la variance de répétabilité. Si cette variance

n'excède pas la variance de répétabilité, alors le modèle représente le plus mieux possible les données.

Cette étude d'adéquation du modèle a été effectuée pour tous les composés analysés (une quarantaine, de différentes familles chimiques). Pour certaines molécules, le modèle linéaire ne convenait pas, un modèle de degré 2 a donc été testé. Une méthodologie a du être mise en place pour aider à la prise de décision concernant l'adéquation du modèle d'étalonnage. Celle-ci est illustrée par le logigramme présenté sur la figure 4.

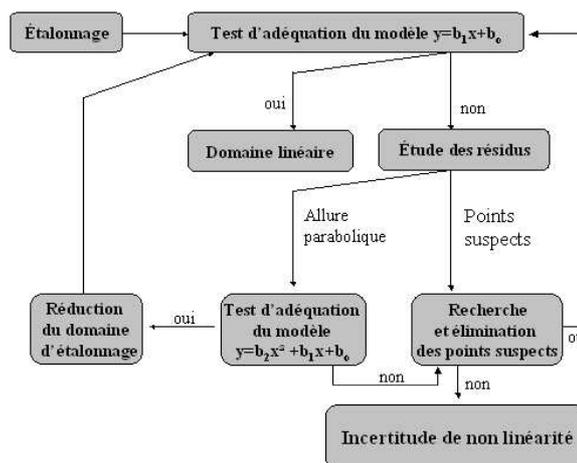


Fig. 4. – Logigramme de décision pour l'adéquation du modèle d'étalonnage.

Pour certains composés, l'absence de points suspects et l'inadéquation du modèle quadratique implique la prise en compte d'une incertitude de non linéarité aux valeurs annoncées. Cette incertitude est en cours de détermination.

## 5. Electrochimie

Le LNE pilote depuis février 2005 le projet Euromet 843 « Recommandations pour l'étalonnage et l'évaluation des instruments de mesure sur site du pH ».

Ce projet a pour but d'établir de nouveaux protocoles pour l'étalonnage et l'évaluation des appareils de mesure *in situ* du pH dans les eaux, basés sur la norme NF ISO 15839:2004 « Matériel d'analyse/capteurs directs pour l'eau - Spécifications et essais de performance ».

La première phase du projet, menée en 2005, avait pour objectif d'établir un questionnaire pour les utilisateurs et pour les producteurs d'appareils afin de recueillir leur avis, leurs besoins et leurs pratiques habituelles en matière d'étalonnage et d'évaluation des appareils de mesure de pH *in situ*.

En 2006, une analyse de ces questionnaires a permis de faire la synthèse des besoins et souhaits exprimés par les utilisateurs et fabricants d'appareils de mesure du pH *in situ*.

La rédaction du protocole d'évaluation des appareils de mesure du pH *in situ* est en cours et sera achevée en

2007. Cette étape sera suivie par des essais effectués sur le terrain, pour mettre en pratique le protocole. L'exploitation des résultats qui en découlera aboutira à la rédaction et à la publication du protocole final, à très large diffusion.

L'exploitation du questionnaire a montré le grand intérêt porté par les utilisateurs et les industriels pour des recommandations concernant l'utilisation et le raccordement des instruments de terrain. Les utilisateurs demandent des documents décrivant la procédure d'évaluation des instruments et ceci pour les aider lors de leur demande d'accréditation. Les protocoles doivent prendre en compte les pratiques réelles des utilisateurs, comme par exemple le fait que la « calibration » est communément réalisée avec seulement deux points.

Le pH n'est pas le seul paramètre d'intérêt pour les utilisateurs. Il existe aussi une forte demande pour l'évaluation des instruments de terrain mesurant la conductimétrie et le potentiel redox.

Les principaux enseignements déjà obtenus ont été présentés à l'ensemble des partenaires européens.

### Références

- [1] CHACKETT K.F., PANETH F.A. et WILSON E.J., "Chemical composition of the stratosphere at 70 km height", *Nature*, **164**, 1949, 128-129.
- [2] PARK S.Y., KIM J.S., ESLER M.B., DAVIS R.S. et WIELGOSZ R.I., "A re-determination of the Argon content of air for buoyancy corrections in mass standard comparisons", *Metrologia*, **41**, 6, 2004, 387-395.