

Chimie

Chemistry

1. Introduction

Les missions de développement de la métrologie en chimie sont confiées à la Division métrologie chimique et biomédical du LNE. Les activités recouvrent quatre sous-domaines: préparation et analyse de mélanges gazeux, analyse inorganique, analyse organique et électrochimie. La Division a pour ambition de conduire des activités visant à développer une métrologie appliquée aux domaines de la santé, de l'environnement et de l'agroalimentaire. Il est à noter qu'au mois de novembre 2007, un nouveau responsable a pris en charge la Division Métrologie chimique.

2. Métrologie dans le domaine des gaz : mise en conformité de la production de matériaux de référence gazeux selon le Guide ISO 34

Les Laboratoires nationaux de métrologie producteurs de matériaux de référence doivent se conformer au Guide ISO 34 (*General requirements for the competence of reference material producers*). Ce guide décrit les compétences que doivent remplir les producteurs de matériaux de référence tant sur le plan technique que sur le plan de l'assurance de la qualité.

La conformité à ce guide conditionne le maintien des CMC (*Calibration and Measurement Capabilities*) déposés au CIPM par le LNE.

Cette mise en conformité, dans le cas des mélanges de gaz, implique principalement une meilleure information sur le matériau de référence (certificat et étiquette) et une étude de la stabilité dans le temps des mélanges de gaz préparés. La démonstration de la stabilité dans le temps des matériaux de référence produits est un point clé imposé par le guide ISO 34. Il est nécessaire de suivre dans le temps le matériau de référence considéré en effectuant une analyse de sa concentration par rapport à un nouveau matériau de référence « fraîchement » préparé et indépendant. Ce nouveau matériau de référence est préparé, selon la norme ISO 6142, par pesées successives des composés gazeux purs introduits dans la bouteille. Cette procédure permet d'obtenir des incertitudes relatives sur la concentration du mélange préparé de l'ordre de 0,1 %.

Il est judicieux d'exploiter également les analyses réalisées sur d'anciens matériaux de référence lors de leur validation après fabrication.

Les comparaisons analytiques des mélanges gazeux font intervenir différentes techniques analytiques comme la chromatographie en phase gazeuse ou la spectrométrie infrarouge.

Les matériaux de référence soumis à cette étude sont les mélanges gazeux de monoxyde de carbone, de dioxyde de carbone, de propane, de benzène, de toluène, d'ortho-xylène, de monoxyde d'azote et d'éthanol.

Un matériau de référence de toluène dans l'azote à un niveau de concentration donné a été suivi dans le temps : mélange toluène/N₂ 0009 préparé le 24/01/2006 à $2,1819 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1} \pm 0,0045 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Les résultats d'analyse sont présentés dans le tableau 1, et la stabilité du mélange au cours du temps est présentée sur la figure 1.

Tableau 1

Date	Étalon utilisé	Écart relatif (analyse-gravimétrie) %	Incertitude relative sur l'écart %
06/03/2006	Tol/N ₂ 0007	0,42	0,39
11/10/2006	Tol/N ₂ 0011	0,28	0,23
11/05/2007	Tol/N ₂ 0013	-0,06	0,28
04/06/2007	Tol/N ₂ 0013	-0,07	0,26

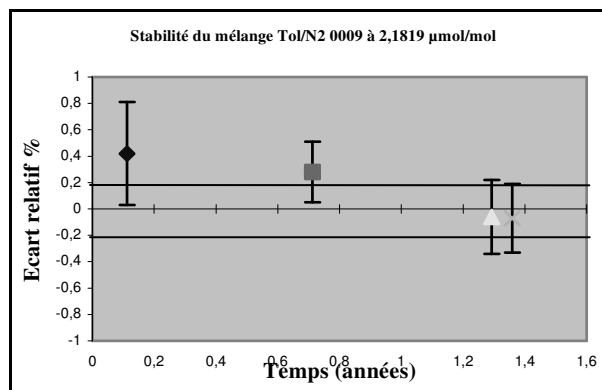


Fig. 1. – Stabilité du mélange de toluène dans l'azote.

La figure 1 montre que le mélange Tol/N₂ 0009 présente une faible décroissance de sa concentration au cours du temps. Par conséquent, il sera nécessaire de poursuivre les essais de stabilité en 2008 pour confirmer cette évolution.

La mise en conformité de l'activité selon le guide ISO 34 a été consolidée (à la suite d'un audit interne), notamment par une modification du contenu du certificat d'étalonnage et de celui des étiquettes.

L'étude de stabilité a été réalisée sur huit types de matériaux de référence à différents niveaux de concentrations. Elle a permis de définir des périodes de stabilité des matériaux de référence pour l'éthanol, l'ortho-xylène et le monoxyde de carbone. En revanche, pour les autres mélanges (dioxyde de carbone, propane, benzène, toluène et monoxyde d'azote), il sera nécessaire de poursuivre l'étude de stabilité en 2008.

3. Analyse inorganique : Mise en place de la dilution isotopique en analyse de spéciation du sélénium dans la levure et du mercure dans des produits de la mer

3.1. Contexte

L'analyse de spéciation est l'étude de la répartition des formes chimiques d'un élément donné dans un échantillon. Elle permet de mieux connaître les différents mécanismes d'interactions de cet élément avec l'environnement car les phénomènes d'accumulation, d'incorporation, d'expulsion ou de stockage au sein d'un organisme sont fortement dépendants de l'espèce chimique de l'élément. Le projet « spéciation » est développé au sein d'une thèse menée en collaboration avec l'Université de Pau et des Pays de l'Adour.

3.2. Étude sur le sélénium

En 2007, le travail a principalement consisté à mettre en place la dilution isotopique en analyse de spéciation du sélénium. La sélénométhionine (SeMet) a été l'espèce visée par cette étude car elle est la forme la plus récurrente dans le type de complément alimentaire étudié. L'apport métrologique a été abordé par l'évaluation de l'incertitude de mesure et la démonstration de la traçabilité au SI du résultat. La question s'est aussi posée sur la stabilité de SeMet pendant le traitement de l'échantillon par la recherche des produits issus de l'oxydation de SeMet.

Enfin, les premiers travaux portant sur l'analyse de spéciation du mercure ont débuté avec la mise en place de la technique séparative et l'étude d'un premier protocole d'extraction depuis un échantillon de poisson.

La première étape a été la détermination du sélénium total contenu dans les échantillons de levure.

L'efficacité de la mise en solution du sélénium par les différents traitements a pu être évaluée grâce au calcul du rendement d'extraction. Deux protocoles d'extractions

séquentielles (avec différentes enzymes) ont été testés sur chaque échantillon.

L'analyse de certaines levures sélénées peut s'avérer délicate de part le nombre d'espèces mises en solution. L'utilisation de la dilution isotopique (DI) permet d'identifier les évolutions d'espèces au cours de l'analyse de spéciation. L'une des principales dégradations qui peut survenir pendant le traitement des échantillons est l'oxydation de la SeMet. L'étude des produits issus de l'oxydation de SeMet a été réalisée pour s'assurer que le protocole expérimental mis en place préserve l'intégrité de cette espèce de sélénium.

Avec la comparaison des chromatogrammes obtenus avant et après la réaction menée sur SeMet, il est observé que le protocole d'oxydation se révèle quantitatif : il n'y a plus de trace en fin de réaction de la SeMet. Il est suggéré que l'oxydation de SeMet conduit à la formation de quatre produits dont le diméthyle-diséléénide qui se volatilise. Ce raisonnement explique la présence des trois produits observés, ainsi que la diminution d'intensité des pics par la volatilisation de deux atomes de sélénium avec le diméthyle-diséléénide, comme illustré sur la figure 2.

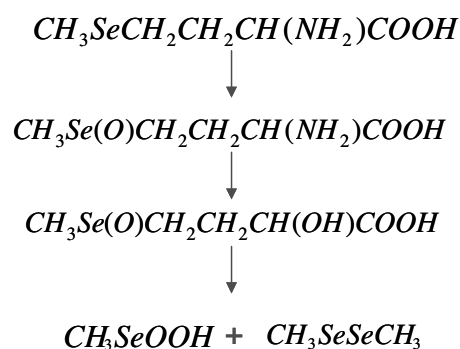


Fig. 2. – Schéma de dégradation de la sélénométhionine.

3.3. Étude sur le mercure

La seconde étape de l'étude consiste à mettre en place un protocole métrologique pour réaliser l'analyse de spéciation du mercure dans des produits de la mer. Les premiers travaux ont concerné la séparation de plusieurs étalons de mercure, l'extraction du mercure depuis d'un matériau de référence certifié (MRC) de poisson et le passage des extraits au couplage HPLC-ICP-MS (chromatographie en phase liquide, spectroscopie de plasma à couplage inductif, spectrométrie de masse). Une première quantification des espèces présentes a été menée par étalonnage externe.

Suite à la mise en place de la séparation sur des étalons de mercure, la méthode chromatographique a été testée sur des extraits d'un MRC de poisson (BCR 463 de l'IRMM), dans le but d'identifier les espèces présentes et de réaliser une première quantification pour juger de l'efficacité du traitement appliqué sur l'échantillon.

L'extraction est réalisée par l'action d'un agent soufré afin de complexer le mercure présent dans le MRC. Le mode opératoire consiste en une incubation de 2 h à 60 °C

en présence de L-Cystéine à 0,2 %. La figure 3 représente l'extrait analysé en spéciation.

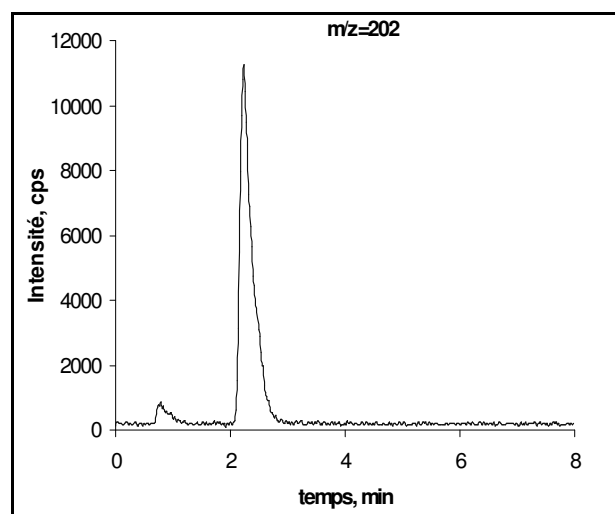


Fig. 3. – Chromatogramme du MRC de poisson.

Deux composés sont présents dans les extraits du BCR 463 et ont été identifiés comme le mercure inorganique et le méthyle-mercure. Ce résultat est en accord avec ceux observés dans les publications où seulement deux espèces ont été déclarées présentes dans cet échantillon.

4. Analyse organique : détermination des pesticides dans des matrices agroalimentaires

4.1. Contexte

Les pesticides, employés massivement depuis longtemps pour augmenter les rendements agricoles, sont susceptibles de polluer durablement différents compartiments environnementaux mais aussi les produits de consommation. Le but de l'étude en cours est de mettre au point une méthode d'analyse « multi-résidus » de pesticides dans les matrices alimentaires par chromatographie en phase liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem (HPLC/MS²). Cette étude fait l'objet d'une thèse qui se termine en 2008.

4.2. Développement d'une méthode d'extraction et d'analyse multi-résidus de pesticides dans les matrices céréalières

Pour analyser les échantillons, il est nécessaire que ceux-ci soient sous forme liquide ; les matrices céréalières étant sous forme de matrice solide, une étape de traitement de l'échantillon avant son analyse a été développée et nécessite la mise en place d'un protocole analytique complexe. Les différentes étapes nécessaires sont les suivantes :

- l'échantillonnage des céréales ;
- le broyage des céréales ;
- l'extraction des pesticides de la matrice ;

- la purification et la concentration par évaporation de l'extrait ;
- l'analyse des pesticides par HPLC/MS².

En 2007, la méthode analytique (HPLC/MS²) a été finalisée et les étapes d'extraction et de purification ont été développées. Au total, 39 molécules sont analysées, mais le but de cette étude est de développer une méthode d'analyse primaire par dilution isotopique. Or, toutes les molécules marquées par un isotope stable ne sont pas disponibles sur le marché. Ainsi, sur les 39 pesticides, seuls 14 d'entre eux possèdent un homologue marqué.

L'une des étapes importantes du processus analytique est l'extraction des composés de la matrice. La technique sélectionnée pour extraire les pesticides dans les matrices alimentaires est l'extraction en solvant chaud pressurisé (ASE, *Accelerated Solvent Extraction*). La méthode a été optimisée et les résultats ont mis en évidence que les comportements des molécules étudiées et de leur homologues marquées sont similaires.

L'évaluation du protocole analytique global a été menée sur du blé broyé, dopé avant l'étape d'extraction en solvant chaud pressurisé.

Les taux de récupération obtenus sont tout à fait satisfaisants compte tenu des différentes étapes menées sur l'échantillon. Les travaux de thèse ont abouti à la définition d'une méthode d'analyse de 39 pesticides représentatifs de 26 familles chimiques différentes dans du blé.

Il reste à finaliser deux étapes : la purification, où des essais sur un support moins rétentif de type C18 sont envisagés, et l'extraction où un plan d'expériences va être mené sur trois facteurs à trois niveaux. Les facteurs étudiés seront : la nature du solvant, la température et le temps statique.

5. Mise au point d'une méthode de référence du dosage du glucose

Cette étude s'inscrit dans une thématique large du laboratoire liée à la fiabilité des analyses biomédicales.

La méthode retenue pour le dosage du glucose est basée sur la dilution isotopique associée à la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (DI/GC-MS). Avant de pouvoir être analysé en chromatographie, le glucose nécessite une étape de préparation visant à le rendre stable thermiquement. De même, le fait de travailler sur des échantillons humains comme le sérum et le plasma entraîne de devoir « préparer » l'échantillon en enlevant les protéines présentes. Ces deux étapes ont donc été optimisées, la première, qui consiste en une aldonitration et une acétylation, sur des solutions étalons au LNE ; et la deuxième, par ajout de méthanol, sur des échantillons réels, au CHU de Reims.

La justesse de la méthode développée a été évaluée à l'aide d'un matériau de référence certifié du NIST

« SRM 965a : *glucose in serum* ». Ce matériau est composé de quatre ampoules correspondant à quatre niveaux de concentration différents de glucose dans le sérum. Les résultats sont résumés dans la figure 4.

La méthode de référence mise en œuvre au LNE et au CHU de Reims n'est pas encore validée car il reste à définir quelle est la source prépondérante de la dispersion des résultats.

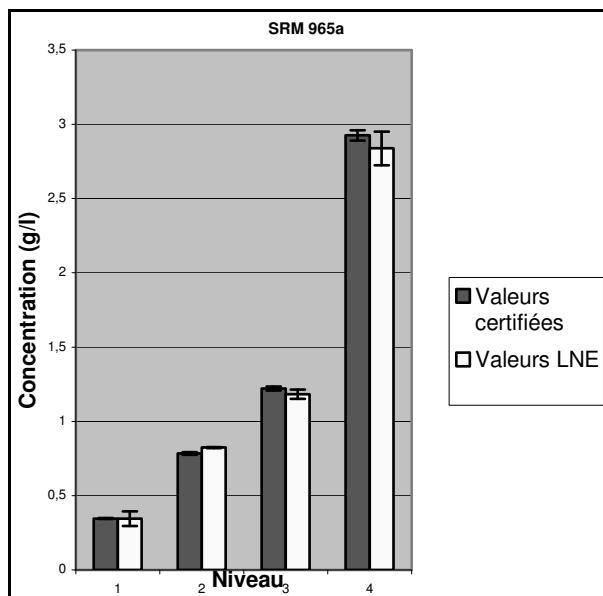


Fig. 4. – Résultats d'analyse du glucose dans des matériaux de référence certifiés.

6. Électrochimie : optimisation d'une cellule secondaire différentielle de pH

Pour le développement de mesures secondaire de pH, une cellule différentielle dont la représentation électrochimique est donnée par l'écriture (II) a été mise en place.



La cellule comporte une partie en U qui est amovible. Les essais précédents ayant montré une instabilité du

potentiel provenant du fritté, plusieurs parties en U avec différentes porosités de fritté ont été imaginées et construites afin de déterminer le fritté le mieux approprié pour les mesures. En outre, la partie amovible permet un nettoyage plus facile de la cellule.

Des essais ont été réalisés avec un fritté de type P4, une solution tampon (pH = 7) a été mise dans la cellule. La nouvelle forme de partie en U a permis de diminuer la différence de potentiel entre les deux compartiments d'un facteur 100. Ces résultats sont à confirmer et à améliorer pour avoir une différence de potentiel de l'ordre de quelques dizaines de microvolts entre les deux compartiments de la cellule. La figure 5 présente la cellule avec sa partie en U.



Fig. 5. – Partie en U amovible contenant le fritté de la cellule secondaire de pH.