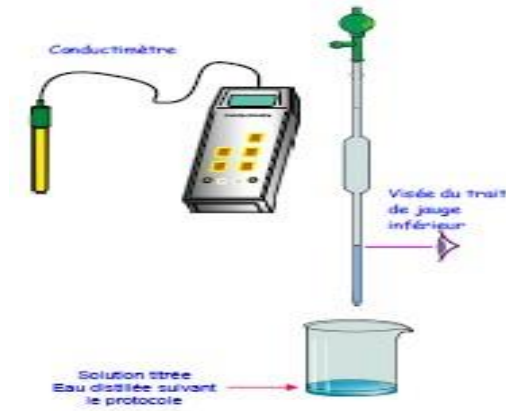




Institut des Sciences de la Nature et de la Vie
Département d'écologie et environnement

Cours : Analyses et laboratoire



Destiné aux Etudiants de 3^{ème} année licence

Spécialité Agroécologie

Réalisé par : Dr. Bouaroudj Sara

E-Mail : sara.bouaroudj@centre-univ-mila.dz

Année Universitaire 2024/ 2025

I- INTRODUCTION

La fiabilité de la surveillance de la qualité nutritionnelle et sanitaire des aliments dépend notamment des méthodes utilisées pour effectuer les analyses. Différents types de méthodes d'analyse peuvent être distingués, en fonction de l'objectif analytique poursuivi (détection/quantification, caractérisation ...) ou du statut de la méthode (méthode de référence normalisée, méthode alternative commercialisée, méthode interne).

Ce cours traite de techniques d'analyse utilisées dans les pratiques agroécologiques. Il présente l'analyse instrumentale réglementée en mettant l'accent sur les méthodes générales de test et d'analyse des sols et des eaux.

Le choix de la méthode d'analyse doit tenir compte de la nature des résultats recherchés.

C'est pourquoi, il est important de connaître les caractéristiques de performance "interne" d'une méthode analytique pendant la période considérée lorsqu'on l'utilise sur des substances à analyser. Toute méthode analytique utilisée sur des substances à analyser doit être appliquée de manière cohérente.

Le cours est scindé en un ensemble de chapitres qui permettent d'acquérir des connaissances et des compétences en matière de techniques d'analyses utilisées dans les pratiques agroécologiques.

Le cours permettra d'acquérir des connaissances théoriques concernant la description et le principe de fonctionnement des appareils d'analyses ainsi qu'un aspect pratique de la méthode d'analyse via des TPs au niveau du laboratoire en analysant certains éléments.

Ce cours permet, également, d'acquisition d'un savoir-faire et d'un savoir-être indispensables lors de contrôle agroécologies, et cela en respectant les bonnes pratiques de laboratoire et en maîtrisant certains principes de base tels que : les méthodes de préparations des solutions et des réactifs et la manière d'interprétation des résultats.

CHAPITRE 1

Rappel des notions élémentaires

1. Généralités sur les Bonnes Pratiques au Laboratoire (BPL)

1.1. Définition

Les BPL sont un ensemble de règles rédigées sous forme de procédures dont

L'application doit permettre la qualification d'un travail dans le cadre des normes de qualité.

Elles forment un système de garantie de la qualité portant sur le mode d'organisation des études de sécurité non-clinique.

Elles définissent également la responsabilité du personnel, la gestion et la maintenance des équipements, la validation des procédés et des méthodes, les règles d'hygiène et de sécurité.

1.2. Champ d'application

Les Principes relatifs aux bonnes pratiques de laboratoire devront s'appliquer aux essais de sécurité non cliniques pratiqués sur des éléments contenus dans des produits pharmaceutiques, des pesticides, des cosmétiques, des médicaments vétérinaires, des additifs pour l'alimentation humaine et animale et des produits chimiques industriels. Ces éléments soumis à des essais sont souvent des produits chimiques de synthèse, mais peuvent avoir une origine naturelle ou biologique et être des organismes vivants dans certaines circonstances. Les essais effectués sur ces éléments visent à fournir des données sur leurs propriétés et/ou leur innocuité du point de vue de la santé humaine et/ou de l'environnement.

1.3. Intérêt

Leur but principal est d'aider les scientifiques à obtenir des résultats qui sont fiables, reproductibles, vérifiables, reconnus sur le plan international.

Elle permet de :

- Promouvoir une harmonisation internationale pour l'essai des produits chimiques ;
- Aider les pays à développer des méthodes d'évaluation et à partager le travail ;
- Évaluation des différents produits chimiques ;
- Offrir un cadre dans lequel les pays peuvent échanger des informations.

1.4. Principes de bonnes pratiques de laboratoire

1. Organisation et personnel de l'installation d'essai
2. Programme d'assurance qualité

3. Installations
4. Appareils, matériaux et réactifs
5. Systèmes d'essai
6. Eléments d'essai et de référence
7. Modes opératoires normalisés
8. Réalisation de l'étude
9. Etablissement du rapport sur les résultats de l'étude
10. Stockage et conservation des archives et des matériaux

1.4.1. Organisation et personnel de l'installation d'essai

❖ La direction de l'installation

Elle doit s'assurer qu'un nombre suffisant de personnes qualifiées, ainsi que d'installations, équipements et matériaux appropriés, sont disponibles pour que l'étude se déroule en temps voulu et de façon adéquate.

❖ Le Directeur de l'étude

Le Directeur de l'étude est seul en charge du contrôle de l'étude et assume la responsabilité de la conduite générale de l'étude et de l'établissement du rapport final.

Il approuve, par une signature datée, le plan de l'étude. **❖ Responsable principal des essais**

Il s'assurera que les phases de l'étude qui lui sont déléguées se déroulent conformément aux Principes applicables de bonnes pratiques de laboratoire.

❖ Personnel de l'étude

✓ Il doit être bien informé des parties des Principes de bonnes pratiques de laboratoire applicables à sa participation à l'étude.

✓ Il aura accès au plan de l'étude et aux modes opératoires normalisés qui s'appliquent à sa participation à l'étude.

✓ Il doit enregistrer les données brutes de manière rapide et précise, conformément aux

BPL, et d'assumer la responsabilité de la qualité de ces données.

✓ Il doit prendre les précautions d'hygiène nécessaires pour réduire au minimum le risque auquel il est exposé et pour assurer l'intégrité de l'étude.

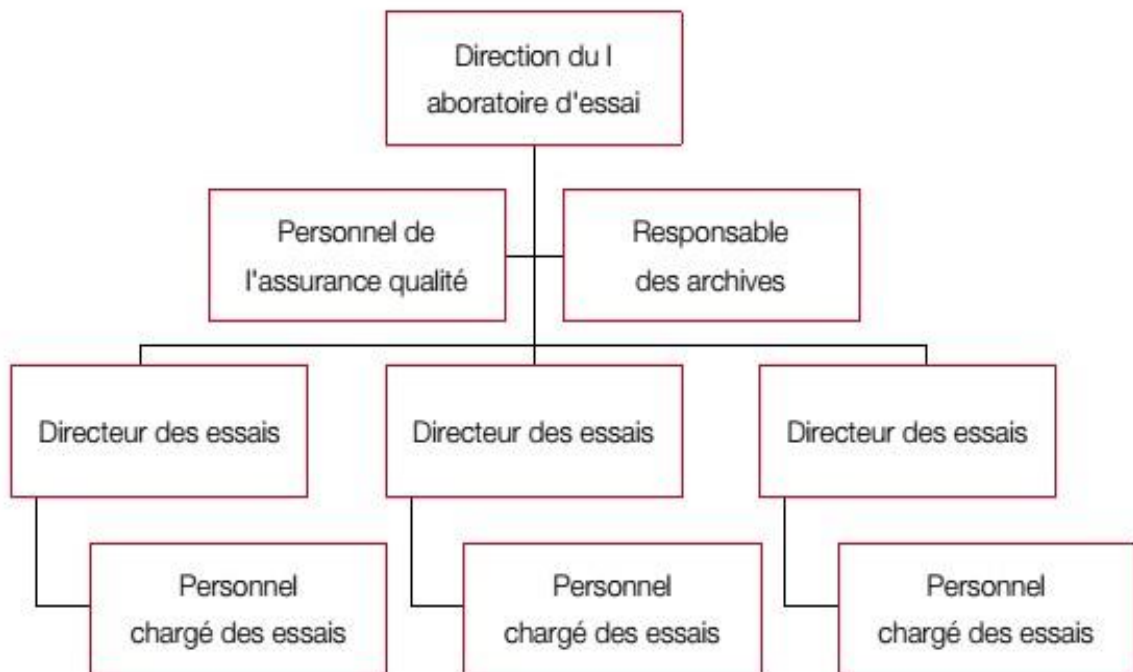


Figure 1. Diagramme d'organisation d'un laboratoire d'essai conforme aux BPL

1.4.2. Programme d'assurance qualité

Un système précis englobant le personnel correspondant, qui est indépendant de la conduite de l'étude et vise à donner à la direction de l'installation d'essai l'assurance que les principes de BPL sont bien respectés.

Un programme d'A.Q. faisant appel à tout document utile qui permette de vérifier que les études sont réalisées conformément aux principes de BPL.

Une ou des personnes désignées par la direction doit - doivent être responsable(s) de l'A.Q. Ces personnes ne doivent pas participer à la réalisation de l'étude visée par le programme.

Le personnel chargé de l'A.Q. doit : conserver les copies de tous les plans d'étude, vérifier que le plan de l'étude contient les informations nécessaires au respect des principes de BPL, procéder à des inspections pour vérifier si toutes les études se déroulent conformément aux principes de BPL.

1.4.3. Installations

L'installation d'essai doit comporter un nombre suffisant de salles ou de locaux pour assurer la séparation des systèmes d'essai.

Elle doit disposer de salles ou de locaux appropriés pour le diagnostic, le traitement et le contrôle des maladies, de sorte que les systèmes d'essai subissent pas un degré inacceptable de détérioration.

Elle doit disposer de salles de stockage en suffisance pour les fournitures et pour les équipements séparés des salles ou locaux accueillant les systèmes d'essai et suffisamment protégées contre la contamination et/ou la détérioration.

Il faut prévoir des salles d'archives pour le stockage et la consultation en toute sécurité des plans d'étude, des données brutes, des rapports finals.

1.4.4. Appareils, matériaux et réactifs

Les appareils utilisés dans une étude doivent être périodiquement inspectés, nettoyés, entretenus et étalonnés conformément aux modes opératoires normalisés.

Les systèmes informatiques doivent occuper un emplacement correct, être de conception appropriée et avoir une capacité suffisante.

Il faut étiqueter les produits chimiques, réactifs et solutions et en mentionner la nature (Avec la concentration, le cas échéant), la date d'expiration et les instructions particulières pour le stockage.

1.4.5. Systèmes d'essai

Le système d'essai désigne tout système biologique, chimique, physique ou toute combinaison de ceux - ci ou animal et végétal qui est utilisé dans une étude.

Il faut créer et maintenir des conditions convenables pour le stockage, la manipulation et l'entretien des systèmes d'essai biologiques et chimique afin de s'assurer de la qualité des données.

Les systèmes d'essai animaux et végétaux récemment reçus doivent être isolés jusqu'à leur état sanitaire sera évalué.

Il faut tenir des registres mentionnant l'origine, la date d'arrivée et l'état à l'arrivée des systèmes d'essai.

1.4.6. Eléments d'essai et de référence

Il faut tenir des registres mentionnant la caractérisation des éléments d'essai, la date de réception, la date d'expiration et les quantités reçues et utilisées dans l'étude.

Il faut définir des méthodes de manipulation, d'échantillonnage et de stockage qui assurent le maintien de l'homogénéité et de la stabilité dans toute la mesure du possible et évitent une contamination ou un mélange.

1.4.7. Modes opératoires normalisés

L'installation d'essai doit posséder des modes opératoires normalisés écrits, approuvés par la direction de l'installation, qui doivent assurer la qualité des données obtenues par cette installation. Les révisions des modes opératoires normalisés doivent être approuvées par la direction de l'installation d'essai.

Chaque section distincte de l'installation d'essai doit avoir un accès immédiat aux modes opératoires normalisés correspondant aux travaux qui s'y effectuent. Des ouvrages peuvent servir de compléments à des modes opératoires normalisés.

1.4.8. Réalisation de l'étude

Pour chaque étude, il convient d'établir un plan écrit avant le début des travaux. Le plan de l'étude comprend la description du déroulement de l'essai, mais aussi les méthodes de contrôle et la fréquence d'exécution. Toute modification du plan doit être consignée ; il faut indiquer la raison du changement avec la date, la signature ou le paraphe de la personne qui y procède.

L'étude doit se dérouler conformément au plan arrêté.

Un essai BPL s'achève par un rapport final. Même lorsque l'essai a été interrompu, un rapport sommaire doit être créé.

1.4.9. Etablissement du rapport sur les résultats de l'étude

Dans le rapport final, il faut traiter les données brutes rassemblées durant l'étude. Il faut en outre faire figurer dans ce rapport les éléments suivants :

- Dates du début et de la fin de l'étude
- Nom du directeur de l'étude
- Objectifs de l'étude
- Description du système d'essai
- Détails concernant méthodes utilisées
- Résumé des résultats
- Etude statistique
- Discussion
- Références
- Déposition de conformité aux BPL par le directeur de l'étude
- Déposition d'assurance qualité des inspecteurs (Déclaration)
- Signature et date

1.5.10. Stockage et conservation des archives et des matériaux

Le plan de l'étude, les données brutes, les échantillons des éléments d'essai et de référence, les spécimens et le rapport final de chaque étude ;

Des rapports sur toutes les inspections réalisées conformément au programme d'assurance qualité ;

Les relevés des qualifications, de la formation, de l'expérience et des descriptions des tâches du personnel ;

Des comptes rendus et des rapports relatifs à l'entretien et à l'étalonnage de l'équipement ;

Les documents relatifs à la validation des systèmes informatiques ; Les modes opératoires normalisés.

2. Généralités sur les solutions

2.1. Définitions (soluté, solvant, concentrations)

2.1.1. Phénomène de dissolution

Lorsqu'on dissout une substance dans un liquide, on obtient une solution qui est un mélange homogène.

La substance dissoute est appelé **soluté**, et le liquide dans lequel la substance est dissoute est appelé **solvant**.

NB : Si le solvant est l'eau, la solution sera dite solution aqueuse.



Figure 2. Préparation d'une solution

2.1.2. Solution aqueuse ionique et solution aqueuse non ionique

Une solution aqueuse qui conduit le courant électrique contient des ions (cations et anions). On l'appelle **solution aqueuse ionique**. Le soluté est un cristal ionique. Exemple : Le mélange entre le sel et eau est une solution aqueuse ionique contenant des ions Na^+ et des ions Cl^- .

Une solution aqueuse qui ne conduit pas le courant électrique est une **solution aqueuse non ionique**. Exemple : La solution de saccharose (sucre) est une solution non ionique.

2.1.3. Etapes de la dissolution

La dissolution d'un électrolyte dans un solvant se fait en trois étapes distinctes : la dissociation, la solvatation puis la dispersion.

a. Dissociation

Le solvant étant polaire, ses molécules se comportent comme de petits dipôles électrostatiques. Les cations du cristal ionique sont donc attirés par les côtés positifs des molécules du solvant, et les anions par les côtés négatifs. Ces attractions extérieures au cristal déséquilibrent les interactions internes et affaiblissent sa cohésion : les ions qui sont à la surface du cristal sont peu à peu arrachés par les molécules du solvant. On parle de dissociation du cristal ionique. C'est le phénomène de dissociation.

NB. Dans le cas d'un électrolyte non pas ionique mais moléculaire, il se passe la même chose puisque chaque molécule de l'électrolyte est polaire donc présente un côté positif et un côté négatif.

b. Solvatation

Une fois arraché du cristal, chaque ion est entouré de molécules du solvant. Celles-ci forment un bouclier et empêchent toute interaction entre les ions en solution. C'est le phénomène de solvatation. Dans le cas où le solvant est l'eau, l'étape de solvatation porte aussi le nom d'hydratation.

c. Dispersion

Une fois solvatés, les ions se déplacent avec leur cortège de molécules du solvant librement dans la solution et celle-ci devient peu à peu homogène. Cette étape est considérablement accélérée si l'on agite la solution.

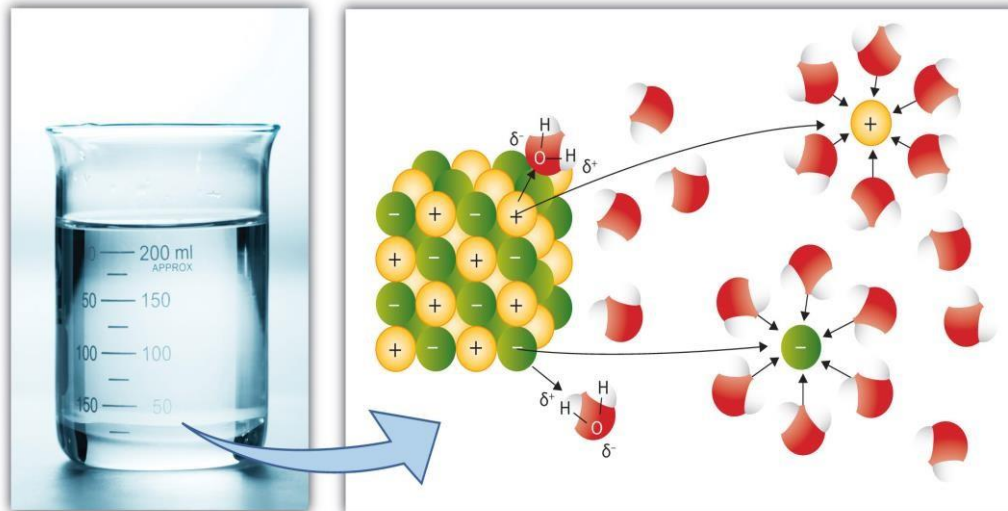


Figure 3. Principe de la dissolution d'un électrolyte.

2.1.4. Effets thermiques de la dissolution

La dissolution de certains solutés s'accompagne :

- ✓ D'une augmentation de température : la dissociation est dite **exothermique** (NaOH dans l'eau).
- ✓ Ou d'une baisse de température : la dissociation est dite **endothermique** (NH₄NO₃).

2.2. Unités de concentration

2.2.1. Concentration massique d'une solution aqueuse

La concentration massique d'une solution est la masse de soluté contenue dans un litre de cette solution. On la note C_m et son unité est le g/L.

$$C_m = \frac{m(\text{soluté})}{V_s} \quad \text{avec} \quad \begin{cases} C_m : \text{la concentration massique de la solution (g.L}^{-1}\text{)} ; \\ V_s : \text{le volume de la solution (L)} ; \\ M : \text{la masse du soluté (g)} \end{cases}$$

2.2.2. Concentration molaire d'une solution.

La concentration molaire d'une solution est la quantité de matière de soluté contenue dans un litre de solution. On la note C et son unité est le mol/L.

$$C = \frac{n(\text{soluté})}{V_s} \quad \text{avec} \quad \begin{cases} n(\text{soluté}) : \text{le nombre de mole de soluté (mole).} \\ V_s : \text{le volume de la solution (L)} ; \\ C : \text{la concentration molaire de la solution.} \end{cases}$$

2.3. Solubilité-Saturation

2.3.1. Saturation d'une solution.

Au fur et à mesure de la dissolution, le nombre de molécules du solvant disponibles pour la dissociation diminue donc la dissolution est de plus en plus lente. Le nombre de molécules d'eau disponibles étant limité, la quantité de soluté qu'une solution peut dissoudre est elle-même limitée. Lorsqu'on atteint cette limite, on parle de solution saturée.

2.3.2. Solubilité

La solubilité d'une substance dans l'eau est la quantité maximale de matière de cette substance que l'on peut dissoudre dans un volume d'eau donné. C'est une grandeur qui dépend de la température.

2.4. Normalité

La normalité est le nombre d'équivalent-gramme d'un soluté (*i*) présents dans un litre de solution. Une solution normale (ou une fois normale) contient un équivalent-gramme par litre.

Normalité (*N*) et concentration molaire (*CM*) sont reliées par la relation suivante :

$N = nCM$; *n* = L'équivalent-gramme est la quantité de substance comprenant une mole des particules considérées (H⁺, e⁻) *nombre de protons échangés au cours des*

Réactions acidobasiques ou d'électrons dans le cas des réactions d'oxydoréduction.

❖ **Pourcentage masse/volume % (m/v) :** C'est le nombre de gramme d'un soluté dans 100 ml (ou 100 cm³) de solution

Exemple : Une solution de 50% (m/v) de H₂SO₄, signifie qu'une telle solution contient 50 g de H₂SO₄ 100 ml d'eau.

Remarque : Le volume des liquides variant avec la température, les titres définis plus haut dépendent donc de la température.

❖ **Expressions se fondant sur un rapport masse/masse (m/m) :**

Les titres ainsi définis ne dépendent pas de la température.

a) Partie par million (ppm) : La concentration en ppm représente le nombre de portions de soluté dissoutes dans 1 millions de parties de solution : $1 \text{ ppm} = 1/10^6$

Cette concentration est souvent utilisés pour quantifier des traces (c'est-à-dire en quantité trop faible) de solutés contenues dans une solution quelconque.

Une partie par million correcepond aussi à un milligramme par kilogramme (1 mg/ kg) ou un milligramme par un litre de solution (1 mg/L).

Application : Calculer, en ppm, la concentration d'une solution aqueuse de NaCl de concentration égale à $26 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$.

Corrigé :

Rappelons : $1 \text{ ppm} = 1 \text{ partie par million} = 1 \text{ mg par million de mg} = 1 \text{ mg/Kg}$.

NaCl a une masse molaire de : $M_{\text{Na}} + M_{\text{Cl}} = 23 + 35,5 = 58,5 \text{ g/mol}$

Une solution $26 \times 10^{-4} \text{ mol/L}$ contient donc $26 \times 10^{-4} \times 58,5 = 0,152 \text{ g/L}$.

Si l'on assimile qu'un volume de 1L de solution de NaCl vaut 1 Kg en masse, alors cela implique que la solution NaCl contient $0,152 \text{ g/Kg}$, c'est-à-dire : $152 \text{ mg/Kg} = 152 \text{ ppm}$.

b) Molalité (Concentration molale) : C'est le nombre de moles de soluté considéré par kilogramme de solvant (eau). Elle est donnée par la relation suivante :

$$\text{Molalité} = \frac{n \text{ soluté}}{m \text{ solvant}} = \frac{n \text{ soluté (mol)}}{m \text{ eau (Kg)}}$$

Application :

On dispose d'une solution aqueuse d'acide acétique à 856 g d'acide par litre de masse volumique $1,07 \text{ Kg/L}$. Quelle est la molalité de cette solution ?

Corrigé :

Masse de soluté $\text{CH}_3\text{COOH} = 856 \text{ g}$

Masse molaire de soluté = 60 g/mol

Nombre de moles d'acide contenues dans un litre de solution :

$$N \text{ soluté} = m \text{ soluté} / M \text{ soluté} = 856 / 60 =$$

14,26 mole 1 litre de solution pèse 1070 g :

$$\text{Masse de l'eau} = \text{masse solution} - m \text{ soluté} = 1070 - 856 = \mathbf{214 \text{ g}} = \mathbf{0,214 \text{ Kg}}$$

$$\text{Molalité} = n \text{ soluté} / m \text{ eau} = 14,26 / 0,214 = 66,63 \text{ mol/ Kg}$$

c) Pourcentage masse/ masse (% m/m) (% pourcentage massique) : C'est le nombre de gramme d'un soluté quelconque contenues dans cent grammes de solution.

Exemple : Une solution de 15% m/m de KOH, signifie qu'une telle solution contient 15 g de KOH dans 100g d'eau.

d) fraction molaire (X)

La fraction molaire du soluté est le rapport du nombre de moles de soluté par le nombre de moles de la solution (solvant+soluté).

3. Méthodes de préparation des solutions

3.1. Méthode par pesée

+ Détermination de la masse de soluté à peser

Soit à préparer un volume V d'une solution contenant l'espèce X, de masse molaire M(X), à la concentration [X]. Il faut, en général, déterminer la masse de l'espèce X à peser.

Soit m(X) cette masse.

$$[X] = n(x)/v \text{ or } n(x) = m(x) / M(x)$$

$$\text{Donc } [X] = m(x) / M(x) * v$$

$$\text{Et } m(x) = [X] * M(x) * v$$

+ Opérations à effectuer

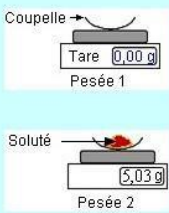
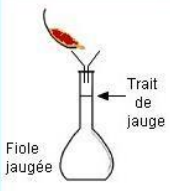

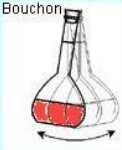
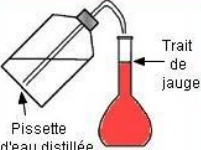
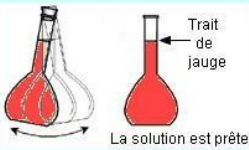
<p>Première étape : À l'aide d'une balance électronique, on détermine la valeur de la masse de soluté</p>	<p>Deuxième étape : On verse le soluté dans la fiole jaugée de volume approprié (ici 250,0 mL)</p>	<p>Troisième étape : On ajoute de l'eau distillée aux $\frac{3}{4}$ de la graduation.</p>
		
<p>Quatrième étape : On agite pour dissoudre, mélanger et homogénéiser</p>	<p>Cinquième étape : On complète avec une pissette d'eau distillée jusqu'au trait de jauge.</p>	<p>Sixième étape : On agite pour homogénéiser. La solution est prête.</p>
		

Figure 4. Mode de préparation des solutions par la méthode par pesée

3.2. Méthode par dilution

Diluer une solution correspond à diminuer sa concentration. Pour cela, il faudra donc ajouter du solvant. Mais il faudra connaître le volume de solvant ajouté afin de connaître la concentration de la nouvelle solution obtenue. Pour désigner la solution la plus concentrée, on utilise souvent le terme de « solution mère » tandis que la solution diluée sera appelée « solution fille ».

Principe

On prélève un volume V_0 de la solution mère de concentration C_0 que l'on dilue avec de l'eau distillée pour obtenir une solution diluée de volume V_1 et de concentration désirée C_1 .

Détermination du volume V_0 à prélever

Lors de la dilution, la quantité de matière du soluté se conserve. On écrit : $n_1 = n_2$

Donc :

$$C_0 \cdot V_0 = C_1 \cdot V_1$$

Opérations à effectuer

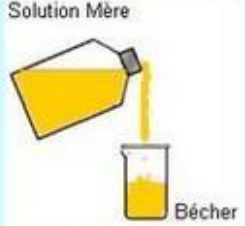


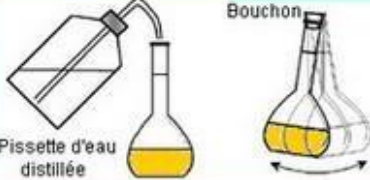
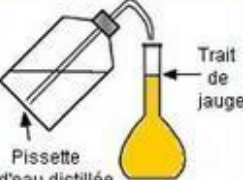
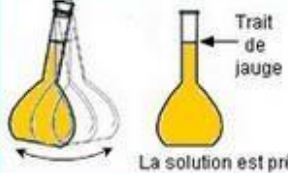
<p>Première étape : Verser suffisamment de solution Mère dans un bécher</p>	<p>Deuxième étape : On prélève le volume nécessaire de solution Mère à l'aide d'une pipette graduée de 20 mL</p>	<p>Troisième étape : On verse le volume nécessaire de solution dans la fiole jaugée de volume approprié..</p>
 <p>Solution Mère</p> <p>Bécher</p> <p>On ne pipette jamais directement dans le flacon qui contient la solution Mère</p>	 <p>Pipette graduée de 20 mL</p> <p>Solution mère</p> <p>Bécher</p>	 <p>On verse 14,4 mL de solution</p> <p>Fiole jaugée de 100 mL</p>
<p>Quatrième étape : On ajoute de l'eau distillée et on agite mélanger et homogénéiser</p>	<p>Cinquième étape : On complète avec une pissette d'eau distillée jusqu'au trait de jauge.</p>	<p>Sixième étape : On agite pour homogénéiser. La solution est prête.</p>
 <p>Pissette d'eau distillée</p> <p>Bouchon</p>	 <p>Trait de jauge</p> <p>Pissette d'eau distillée</p>	 <p>Trait de jauge</p> <p>La solution est prête</p>

Figure 5. Mode de préparation des solutions par dilution