



**REMERCIEMENTS**

*Mes plus vifs remerciements vont à mes directeurs de thèse, professeur Harek Yahia et professeur Larabi Lahcène, qui m'ont accueilli au sein du laboratoire de Chimie Analytique et d'Electrochimie. Je les remercie pour la confiance qu'ils m'ont accordée, de m'avoir proposé cette thèse et leur encadrement remarquable.*

*Toute ma gratitude va également aux membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail, je remercie également monsieur Tabti Boufeldja professeur et doyen de la Faculté des Sciences à l'U.A.B.T-Tlemcen, d'avoir accepté de présider mon jury de thèse et d'examiner mes travaux.*

*Merci également aux professeurs Dahmani Benamar directeur du laboratoire " Spectrochimie et Pharmacologie Structurale " de l'U.A.B.B-Tlemcen et à Hadjel Mohamed professeur à l'Université des sciences et de la technologie Mohamed Boudiaf d'Oran d'avoir accepté d'être les examinateurs attentifs de ce travail et d'avoir apporté un éclairage nouveau sur ces résultats. Merci également à monsieur Bahmani Abdellah maître de conférences à l'Université des sciences et de la technologie Mohamed Boudiaf d'Oran, qui a accepté de faire partie de ce jury de thèse.*

*Je ne puis qu'associer à ces remerciements mes collègues au cours de ces quatre années (A. Reguig, C. Selles, I. Ichchou et N. Medjati). Qu'il me soit permis de les remercier un à un pour l'excellente ambiance dans laquelle j'ai évolué tout au long de mon doctorat.*

*Cette thèse m'a permis de rencontrer beaucoup de monde au sein de ce laboratoire et un peu plus loin. J'ai une pensée pour tous. Merci à tous les thésards, magister, ingénieurs, masters qui m'ont apporté à un moment ou à un autre, d'une façon ou d'une autre leur soutien et leur amitié.*

*ATTAR Tarik*

<b>Table des matières</b>
---------------------------

<b>LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX</b>	i
<b>LISTE DES PRINCIPAUX SIGLES ET ABBREVIATIONS UTILISES</b>	v
<b>INTRODUCTION GENERALE</b>	1
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	4
<b>CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE</b>	5
I.1- GÉNÉRALITÉS SUR LA POLAROGRAPHIE	5
I.2- DETERMINATION DE LA CARACTERISTIQUE D'UNE ELECTRODE	7
I.3- COURANT DE DIFFUSION	9
I.4- RELATION ENTRE LE POTENTIEL ET LE COURANT DE DIFFUSION	11
I.5- TYPES D'ELECTRODES	12
I.5.1- ELECTRODES DE TRAVAIL	13
I.5.1.1- LES METAUX	13
I.5.1.2- MATERIAUX NON METALLIQUES	17
I.5.1.3- MATERIAUX ORGANIQUES	17
I.5.2- ELECTRODES DE REFERENCE	18
I.5.3- ELECTRODES AUXILIAIRES	18
I.6- ELECTRODES MODIFIEES	19
I.7- CHOIX D'ELECTRODE	21
I.8- TYPES DE LA POLAROGRAPHIE	21
I.8.1- LA POLAROGRAPHIE CLASSIQUE	21
I.8.2- POLAROGRAPHIE A ECHANTILLONNAGE DU COURANT	21
I.8.3- VOLTAMMETRIE CYCLIQUE	22
I.8.4- POLAROGRAPHIE IMPULSIONNELLE	25
I.8.5- POLAROGRAPHIE A SIGNAUX CARRES	25
I.8.6- POLAROGRAPHIE DIFFERENTIELLE IMPULSIONNELLE	26
I.9- LA VOLTAMMETRIE INVERSE	28
I.10- CHOIX DE LA TECHNIQUE POLAROGRAPHIQUE EN ANALYSE	33
I.11- INTERFÉRENTS SUR LA TECHNIQUE D'ANALYSE ET LE DOSAGE	34
I.11.1- EFFET DE L'OXYGENE	34
I.11.2- EFFET DES DEUX COURANTS FARADIQUE ET CAPACITIF	35
I.11.3- INTERFÉRENCE MÉTALLIQUE	36
I.12- INFLUENCES DES CONDITIONS OPERATOIRES SUR LA	37
REPRODUCTIBILITÉ DES ANALYSES	
I.12.1- ÉLECTROLYTE SUPPORT	37
I.12.2- POTENTIEL D'ACCUMULATION	38
I.12.3- TEMPS D'ACCUMULATION	38
I.12.4- VITESSE D'AGITATION	38
I.12.5- VITESSE DE BALAYAGE	39
I.12.6- AMPLITUDE ET LA DUREE D'IMPULSION	39
I.13- GENERALITES SUR LES ELEMENTS TRACES	39
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	42
<b>CHAPITRE II : MATÉRIELS ET METHODES</b>	51
II.1- REACTIFS UTILISES ET ELIMINATION DES CONTAMINANTS	51
II.1.1- ELECTROLYTE SUPPORT	51
II.1.2- REACTIFS ET PRODUITS UTILISES	51
II.1.3- ELIMINATION DES CONTAMINANTS	52
II.2- APPAREILLAGE UTILISE	52

II.3- PROCEDURE DE MINERALISATION DU SANG	53
II.4- CHOIX DES AJOUTS DOSES	55
II.5- OPTIMISATION DES PARAMETRES ET DES CONDITIONS OPERATOIRES	56
II.5.1- DETERMINATION DU TEMPS DE BULLAGE D'AZOTE	56
II.5.2- TAILLE DE LA GOUTTE	56
II.5.3- DUREE D'EQUILIBRAGE	56
II.5.4- AMPLITUDE ET LA DUREE D'IMPULSION	57
II.6- VALIDATION D'UNE METHODE ANALYTIQUE	57
II.6.1- LIMITE DE DETECTION ET DE QUANTIFICATION	57
II.6.2- FIDELITE	58
II.6.3- SENSIBILITE	59
II.6.4- LINEARITE	59
II.6.5- CALCUL DU TAUX DE RECOUVREMENT	59
II.6.6- EXACTITUDE	60
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	62
<b>CHAPITRE III : DETERMINATION DE QUELQUES ELEMENTS TRACE</b>	<b>64</b>
<b>PAR LA VOLTAMPEROMETRIE A REDISSOLUTION</b>	
INTRODUCTION	64
III.1. DETERMINATION DES CONDITIONS OPTIMALES POUR LE DOSAGE DU CADMIUM ET PLOMB PAR VOLTAMPEROMETRIE ANODIQUE INVERSE A IMPULSION DIFFERENTIELLE	65
III.2.1- GENERALITES SUR LE CADMIUM ET LE PLOMB	65
III.1.2- PRINCIPE DE LA TECHNIQUE UTILISEE	66
III.2.3- EFFET DE L'ELECTROLYTE SUPPORT	67
III.2.4- EFFET DU POTENTIEL D'ACCUMULATION	67
III.2.5- EFFET DU TEMPS D'ACCUMULATION	68
III.2.6- EFFET DE LA VITESSE D'AGITATION	69
III.2.7- CALCUL DE VALIDATION ANALYTIQUE ET APPLICATION	70
III.2.8- CONCLUSION	71
III.2. DETERMINATION DES CONDITIONS OPTIMALES POUR LE DOSAGE DU ZINC PAR VOLTAMPEROMETRIE ANODIQUE INVERSE A IMPULSION DIFFERENTIELLE	72
III.2.1- GENERALITES SUR LE ZINC	72
III.2.2- PRINCIPE DE LA TECHNIQUE	73
III.2.3- EFFET DE L'ELECTROLYTE SUPPORT	73
III.2.4- EFFET DU POTENTIEL D'ACCUMULATION	74
III.2.5- EFFET DU TEMPS D'ACCUMULATION	75
III.2.6- EFFET DE LA VITESSE D'AGITATION	76
III.2.7- CALCUL DE VALIDATION ANALYTIQUE ET APPLICATION	76
III.2.8- CONCLUSION	78
III.3. DETERMINATION DES CONDITIONS OPTIMALES POUR LE DOSAGE DU CUIVRE PAR VOLTAMPEROMETRIE ANODIQUE INVERSE A IMPULSION DIFFERENTIELLE	78
III.3.1- GENERALITES SUR LE CUIVRE	78
III.3.2- PRINCIPE DE LA TECHNIQUE	79
III.3.3- EFFET DE L'ELECTROLYTE SUPPORT	80
III.3.4- EFFET DU POTENTIEL D'ACCUMULATION	80
III.3.5- EFFET DU TEMPS D'ACCUMULATION	81
III.3.6- EFFET DE LA VITESSE D'AGITATION	82
III.3.7- CALCUL DE VALIDATION ANALYTIQUE ET APPLICATION	82
III.4.8- CONCLUSION	84

III.4. DETERMINATION DES CONDITIONS OPTIMALES POUR LE DOSAGE DU SELENIUM PAR VOLTAMPEROMETRIE CATHODIQUE INVERSE À IMPULSION DIFFERENTIELLE	85
III.4.1- GENERALITES SUR LE SELENIUM	85
III.4.2- PRINCIPE DE LA TECHNIQUE	86
III.4.3- EFFET DE L'ELECTROLYTE SUPPORT	87
III.4.4- EFFET DU POTENTIEL D'ACCUMULATION	88
III.4.5- EFFET DU TEMPS D'ACCUMULATION	89
III.4.6- EFFET DE LA VITESSE D'AGITATION	89
III.4.7- CALCUL DE VALIDATION ANALYTIQUE ET APPLICATION	90
CONCLUSION CHAPITRE III	92
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	93
<b>CHAPITRE IV : DETERMINATION DU CUIVRE PAR LA VOLTAMPEROMETRIE A REDISSOLUTION DU COMPOSE ADSORBE</b>	<b>98</b>
INTRODUCTION	98
IV.1. DETERMINATION DES CONDITIONS OPTIMALES DU DOSAGE DU CUIVRE EN PRESENCE D'HYDRAZIDE DE BENZENE SULFONYLE PAR VOLTAMPEROMETRIE A REDDISSOLUTION A IMPULSION DIFFERENTIELLE	100
IV.1.1- INTRODUCTION	100
IV.1.2- APPROCHES PRELIMINAIRES	101
IV.1.3- CHOIX DE L'ELECTRODE DE TRAVAIL	102
IV.1.4- EFFET D'ELECTROLYTE SUPPORT	103
IV.1.5- EFFET DU POTENTIEL D'ACCUMULATION	104
IV.1.6- EFFET DU TEMPS DE PRECONCENTRATION	105
IV.1.7- EFFET DE LA VITESSE D'AGITATION	105
IV.1.8- EFFET DE LA VITESSE DE BALAYAGE	106
IV.1.9- EFFET DE LA CONCENTRATION D'HYDRAZIDE DE BENZENE SULFONYLE	107
IV.1.10- EFFET DE L'INTERFERENCE	108
IV.1.11- VALIDATION ET APPLICATION DE LA METHODE	108
IV.1.12- CONCLUSION	111
IV-2. DETERMINATION DES CONDITIONS OPTIMALES DU DOSAGE DU CUIVRE EN PRESENCE DE -4-ETHYLE-3-THIOSEMICARBAZIDE PAR VOLTAMPEROMETRIE A REDDISSOLUTION A IMPULSION DIFFERENTIELLE	112
IV-2.1-INTRODUCTION	112
IV-2.2-APPROCHES PRELIMINAIRES	112
IV-2.3-EFFET DE L'ELECTRODE DE TRAVAIL	114
IV-2.4-EFFET DU PH	115
IV-2.5-EFFET DU POTENTIEL DE PRECONCENTRATION	116
IV-2.6-EFFET DU TEMPS DE PRECONCENTRATION	117
IV-2.7-EFFET DE LA VITESSE D'AGITATION	118
IV-2.8-VITESSE DE BALAYAGE	119
IV-2.9-EFFET DE LA CONCENTRATION DU 4-ETHYLE-3- THIOSEMICARBAZIDE	119
IV-2.10-EFFET DE L'INTERFERENCE	121
IV-2.11-VALIDATION ET APPLICATION DE LA METHODE	122
IV-2.12-CONCLUSION	123
CONCLUSION CHAPITRE IV	125
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	127
<b>CONCLUSION GENERALE</b>	<b>130</b>
<b>ANNEXE : PUBLICATIONS</b>	<b>133</b>

<b>SOMMAIRE DES FIGURES ET DES TABLEAUX</b>
---

### LISTE DES FIGURES

<b>Figure I.1.</b> Variation du potentiel en fonction du temps en voltampérométrie impulsionnelle différentielle.	27
<b>Figure I.2.</b> Voltammogramme représentatif des courbes obtenues avec les méthodes impulsionnelles.	28
<b>Figure I.3.</b> Domaines de concentrations relatives accessibles pour les différentes techniques polarographiques.	34
<b>Figure II.1</b> Exemple d'une courbe de dosage obtenue par la méthode des ajouts dosés.	55
<b>Figure III.1.1.</b> Effet de l'électrolyte support sur l'intensité du pic dans une solution contenu $0,85 \mu\text{g L}^{-1}$ du Cd et $75\mu\text{g L}^{-1}$ du Pb. $E_{acc} = -900 \text{ mV}$ , $u = 400 \text{ tr min}^{-1}$ , $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ , $t_{dép} = 320 \text{ s}$ , $t_p = 20 \text{ ms}$ , $\Delta E = 50 \text{ mV}$ .	67
<b>Figure III.1.2.</b> Effet du potentiel d'accumulation sur l'intensité du pic. Condition Fig.III.1.1.	68
<b>Figure III.1.3.</b> Variations des courants de pics pour différents temps d'accumulation. Condition Fig.III.1.1.	68
<b>Figure III.1.4.</b> Effet de la vitesse d'agitation. Condition Fig.III.1.1.	69
<b>Figure III.1.5.</b> Détermination du cadmium et du plomb dans le sang. Condition Fig.III.1.1.	70
<b>Figure III.2.1.</b> Effet de l'électrolyte support sur l'intensité du pic dans une solution contenue $70 \mu\text{g L}^{-1}$ . $E_{acc} = -1150 \text{ mV}$ , $u = 400 \text{ tr.min}^{-1}$ , $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ , $t_{dép} = 60 \text{ s}$ , $t_p = 20 \text{ ms}$ , $\Delta E = 25 \text{ mV}$ .	74
<b>Figure III.2.2.</b> Effet du potentiel d'accumulation. Condition Fig. III.2.1.	74
<b>Figure III.2.3.</b> Variations des courants de pics pour différents temps de d'accumulation. Condition Fig. III.2.1.	75
<b>Figure III.2.4.</b> Effet de la vitesse d'agitation. Condition Fig. III.2.1.	76
<b>Figure III.2.5.</b> Détermination du zinc dans le sang. Condition Fig. III.2.1.	77
<b>Figure III.3.1.</b> Effet d'électrolyte support sur l'intensité du pic dans une solution contenus $35\mu\text{g L}^{-1}$ . $E_{acc} = -150 \text{ mV}$ , $u = 525 \text{ tr.min}^{-1}$ , $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ , $t_{dép} = 175 \text{ s}$ , $t_p = 20 \text{ ms}$ , $\Delta E = 25 \text{ mV}$ .	80

<b>Figure III.3.2.</b> Effet du potentiel d'accumulation. Condition Fig.III.3.1.	81
<b>Figure III.3.3.</b> Variations des courants de pics pour différents temps de d'accumulation. Condition Fig.III.3.1	81
<b>Figure III.3.4.</b> Effet de la vitesse d'agitation. Condition Fig.III.3.1.	82
<b>Figure III.3.5.</b> Détermination du cuivre dans le sang. Condition Fig.III.3.1	83
<b>Figure III.4.1.</b> Effet du cuivre sur sélénium. $u = 400 \text{ tr min}^{-1}$ , $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ , $t_{\text{dép}} = 300 \text{ s}$ , $t_p = 20 \text{ ms}$ , $\Delta E = -50 \text{ mV}$ .	87
<b>Figure III.4.2.</b> Effet du potentiel d'accumulation. Condition Fig.III.4.1.	88
<b>Figure III.4.3.</b> Variations des courants de pics pour différents temps d'accumulation. Condition Fig.III.4.1.	89
<b>Figure III.4.4.</b> Effet de la vitesse d'agitation. Condition Fig.III.4.1.	90
<b>Figure III.4.5.</b> Détermination du sélénium dans le sang. Condition Fig.III.4.1.	91
<b>Figure IV.1.1.</b> Structure d'hydrazide de benzène sulfonyle.	100
<b>Figure IV.1.2.</b> Voltampérogramme à redissolution d'adsorption cathodique, a) Electrolyte support $\text{HClO}_4$ (Ligand HBS sans ions de cuivre); b) Ions de Cuivre ( $75 \text{ ng mL}^{-1}$ ) sans ligand; c) ions cuivre ( $75 \text{ ng mL}^{-1}$ ) avec ligand (HBS); Conditions: $0,03 \text{ M HClO}_4$ , HBS : $7,5 \times 10^{-5} \text{ M}$ ; temps d'accumulation, $50 \text{ s}$ ; potentiel d'accumulation, $-350 \text{ mV}$ ; Vitesse de balayage $50 \text{ mV s}^{-1}$ .	102
<b>Figure IV.1.3.</b> Effet d'électrode de travail sur l'intensité du pic de cuivre (II). Conditions: $0,03 \text{ M HClO}_4$ , Cu (II): $75 \text{ ng mL}^{-1}$ ; HBS : $7,5 \times 10^{-5} \text{ M}$ ; temps d'accumulation $50 \text{ s}$ ; potentiel d'accumulation $-350 \text{ mV}$ ; Vitesse de balayage $50 \text{ mV s}^{-1}$ .	103
<b>Figure IV.1.4.</b> Effet d'électrolyte support sur l'intensité du pic. Conditions: Fig. IV.1.2.	104
<b>Figure IV.1.5.</b> Effet de potentiel d'accumulation sur l'intensité du pic. Conditions: Fig. IV.1.2.	104
<b>Figure IV.1.6.</b> Effet du temps d'accumulation sur le signal du cuivre (II). Conditions: Figure IV.1.2.	105
<b>Figure IV.1.7.</b> Influence de la vitesse d'agitation sur l'intensité du pic de cuivre (II). Conditions: Fig. IV.1.2.	106
<b>Figure IV.1.8.</b> Influence de la vitesse de balayage sur l'intensité du cuivre (II). Conditions: Figure IV.1.2.	107

- Figure IV.1.9.** Effet de la concentration du ligand sur l'intensité du cuivre (II). 107  
Conditions: Fig. IV.1.2.
- Figure IV.1.10.** Détermination du Cuivre dans le sang minéralisé par la 110  
méthode des ajouts dosés. Condition Fig. IV.1.1.
- Figure IV.2.1.** Structure 4 éthyle-3-thiosemicarbazide. 112
- Figure IV.2.2.** Voltampérogramme à redissolution d'adsorption cathodique, (a):  
Electrolyte support acétate de potassium pH 10,3 (Ligand ETSC sans ions de  
cuivre); (b): ions de Cuivre ( $50 \text{ ng mL}^{-1}$ ) sans ligand; (c): ions cuivre ( $50$  113  
 $\text{ng.mL}^{-1}$ ) avec ligand (ETSC); Conditions: acétate de potassium pH 10,3; ETSC  
:  $3,25 \times 10^{-6} \text{ M}$ ; temps d'accumulation 60 s; potentiel d'accumulation -100 mV;  
Vitesse de balayage  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .
- Figure IV.2.3.** Effet d'électrode de travail sur l'intensité du pic de cuivre (II).  
Conditions: pH 10,3 d'acétate de potassium, Cu (II):  $50 \text{ ng mL}^{-1}$ ; ETSC : 114  
 $3,25 \times 10^{-6} \text{ M}$ ; temps d'accumulation 60 s; potentiel d'accumulation -100 mV;  
Vitesse de balayage  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .
- Figure IV.2.4.** Effet du pH sur l'intensité et le déplacement du pic de potentiel 115  
de cuivre (II). Condition Fig. IV.2.2.
- Figure IV.2.5.** Effet du pH en fonction de l'intensité du pic d'adsorption de 116  
cuivre (II)  $50 \text{ ng mL}^{-1}$ . Condition Fig. IV.2.2.
- Figure IV.2.6.** Effet de potentiel d'accumulation de pic de cuivre (II)  $50 \text{ ng mL}^{-1}$  117  
. Condition Fig. IV.2.2.
- Figure IV.2.7.** Effet du temps de pré-concentration sur le signal du cuivre (II). 118  
Condition Fig. IV.2.2.
- Figure IV.2.8.** Effet de la vitesse d'agitation sur l'intensité du cuivre (II). 118  
Condition Fig. IV.2.2.
- Figure IV.2.9.** Effet de la vitesse de balayage sur l'intensité du cuivre (II). 119  
Condition Fig. IV.2.2.
- Figure IV.2.10.** Effet de la concentration d'ETSC sur l'intensité du cuivre (II). 120  
Condition Fig. IV.2.2.
- Figure IV.2.11.** Réponse voltampérométrique à redissolution cathodique de  
composé adsorbé de 0, 25, 50, 75, 100 et  $125 \text{ ng mL}^{-1}$  concentration de cuivre et  
 $C_{\text{ETSC}} = 3,25 \times 10^{-6} \text{ M}$ , mesurée sur une électrode de mercure en pH = 10,3 122  
d'acétate de potassium en utilisant un temps d'accumulation s 60 à un potentiel  
de -100 mV (vs Ag/AgCl, 3 M), vitesse d'agitation et de balayage sont  
respectivement  $400 \text{ tr.min}^{-1}$  et  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .



**LISTE DES TABLEAUX**

<b>Tableau III.1.1</b> Le dosage de 33 échantillons de sang total des sujets sains.	71
<b>Tableau III.2.1</b> Dosages 53 échantillons des sujets sains.	77
<b>Tableau III.3.1</b> Paramètres obtenus par le calcul de validation analytique.	83
<b>Tableau III.3.2</b> Récapitulatif du 48 échantillons des sujets sains.	84
<b>Tableau III.3.3</b> Le taux de cuivre dans quelque pays.	84
<b>Tableau III.4.1</b> Pourcentage de récupération du sélénium variant concentration du cuivre.	87
<b>Tableau IV.1.1</b> Influences des ions ajoutés sur la quantité du cuivre (II) 75 ng mL <sup>-1</sup> .	108
<b>Tableau IV.1.2</b> Exactitude, précision et le taux de récupération par l'utilisation deux niveaux de matériels de références certifiées.	109
<b>Tableau IV.1.3.</b> Dosage de 31 échantillons des sujets sains.	110
<b>Tableau IV.2.1</b> Comparaison de ce travail par rapport à certains travaux antérieurs effectués par voltampérométrie d'adsorption inverse pour la détermination du cuivre.	121
<b>Tableau IV.2.2</b> Influences des ions ajoutés sur la quantité du cuivre (II) 50 ng mL <sup>-1</sup> .	121
<b>Tableau IV.2.3</b> Exactitude, précision et le taux de récupération par l'utilisation matériel de référence certifier.	123
<b>Tableau IV.2.4</b> Dosage de 15 échantillons des sujets sains.	123

**LISTE DES PRINCIPAUX SIGLES ET ABREVIATIONS UTILISES**

**Notations :**

$A$	Surface de l'électrode
$C_0, C_R$	Concentrations des espèces Ox et Red à l'interface électrode-solution
$C_{M(Hg)}$	Concentration du métal dans le mercure
$C$	Concentration mesurée de l'échantillon non fortifié
$C_a$	Concentration de la substance ajoutée
$C_f$	Concentration mesurée de l'échantillon fortifié
$CV$	Coefficient de variation
$C_d$	Capacitance du condensateur
$D$	Coefficient de diffusion
$D_0, D_R$	Coefficients de diffusion des espèces Ox et Red
$E^\bullet$	Potentiel standard apparent du couple redox
$E_{acc}$	Potentiel d'accumulation
$E_{1/2}$	Potentiel de demi-vague polarographique
$E_p$	Potentiel de pic (sommet d'une courbe différentielle)
$E_{pa}$	potentiel de pic anodique
$E_{pc}$	potentiel de pic cathodique
$E^{\bullet'}$	potentiel standard apparent
$E_i$	Potentiel initial
$E_{Sup}$	Potentiel supérieur
$E_{Inf}$	Potentiel inférieur
$\Delta E$	Amplitude d'impulsion
$\Delta E_s$	Différence de potentiel entre deux paliers successifs
$F$	Constante de Faraday
$f$	Fréquence
$i$	Courant
$i_c$	Courant de capacitif
$i_d$	Courant de diffusion
$i_f$	Courant faradique
$i_{lim}$	Courant limite
$i_p$	Intensité du pic
$i_r$	Courant résiduel
$K$	Facteur de proportionnalité

$K_R, K_0$	Constantes de proportionnalité du réduction et oxydation
$M$	Métal
$m$	Débit du mercure dans le capillaire
$n$	Nombre d'électrons impliqués dans la réaction électrochimique
$R$	Constante des gaz parfaits
$R_s$	Résistance de la solution
$r_0$	Rayon de l'électrode à goutte de mercure
$S$	Écart type
$T$	Température absolue
$t$	Temps
$t_{dép}$	Temps de dépôt (accumulation ou préconcentration)
$t$	Durée des impulsions
$u$	Vitesse d'agitation
$v$	Vitesse de balayage
$V_o$	Moyenne des valeurs observées
$V_s$	Valeur certifiée
$VS$	Versus
$x$	Distance à partir à la surface de l'électrode
$\bar{X}$	Moyenne du dix répliqués
$\alpha$	Coefficient de transfert de charge anodique ou cathodique
$\tau$	Durée d'échelon
$\mathfrak{R}$	Ratio de conformité $4 < \mathfrak{R} < 10$
$\xi, \theta, \sigma$	Adimensionnels

**Abréviations :**

<b>DPASV</b>	<i>Voltampérométrie différentielle à impulsion en redissolution anodique (Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry)</i>
<b>DPCSV</b>	<i>Voltampérométrie différentielle à impulsion en redissolution cathodique (Differential Pulse Cathodic Stripping Voltammetry)</i>
<b>AdSV</b>	<i>Voltampérométrie par redissolution après adsorption (Adsorptive Stripping Voltammetry)</i>
<b>AdSP</b>	<i>Polarographie par redissolution après adsorption (Adsorptive Stripping Polarography)</i>
<b>P.S.A</b>	<i>Potentiométrie par redissolution (Potentiometric Stripping Analysis)</i>
<b>C.C.S.A</b>	<i>Ampérométrie par redissolution (Constant Current Stripping Analysis)</i>
<b>DPP</b>	<i>Polarographie impulsionnelle différentielle (Differential Pulse Polarography)</i>
<b>SV</b>	<i>Voltampérométrie par redissolution (Stripping Voltammetry)</i>

<b>SWV</b>	<i>Voltampérométrie à signaux carrée (Square Wave Voltammetry)</i>
<b>SWP</b>	<i>Polarographie à signaux carrée (Square Wave Polarography)</i>
<b>NPP</b>	<i>Polarographie impulsionnelle normale (Normal Pulse Polarography)</i>
<b>DPV</b>	<i>Voltampérométrie impulsionnelle différentielle (Differential Pulse Voltammetry)</i>
<b>DSV</b>	<i>Voltampérométrie à escalier de potentiel différentielle (Differential Staircase Voltammetry)</i>
<b>DCP</b>	<i>Polarographie à courant direct (Direct Current Polarography)</i>
<b>DC<sub>T</sub>P</b>	<i>Polarographie directe à échantillonnage (Direct Current Tast Polarography)</i>
<b>DME</b>	<i>Électrode à goutte de mercure tombante (Dropping Mercury Electrode)</i>
<b>HMDE</b>	<i>Électrode à goutte de mercure pendante (Hanging Mercury Drop Electrode)</i>
<b>SMDE</b>	<i>Electrode à goutte de mercure statique (Static Mercury Drop Electrode)</i>
<b>TMFE</b>	<i>Électrode à film mince de mercure (Thin Mercury Film Electrode)</i>
<b>ECS</b>	<i>Électrode au calomel saturée (Saturated Calomel Electrode)</i>
<b>ICP-MS</b>	<i>Spectrométrie de masse couplée à un plasma inductif (Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry)</i>
<b>GFAAS</b>	<i>Spectrophotométrie d'Absorption Atomique en Four à graphite (Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry)</i>
<b>LDM</b>	<i>Limite de détection d'une méthode</i>
<b>LDM<sub>estimée</sub></b>	<i>Limite de détection estimée</i>
<b>LID</b>	<i>Limite instrumentale de détection</i>
<b>LQM</b>	<i>Limite de quantification d'une méthode</i>
<b>MRC</b>	<i>Matériel de référence certifié</i>
<b>HBS</b>	<i>Hydrazide de benzène sulfonyle</i>
<b>ETSC</b>	<i>4-Ethyle-3-Thiosemicarbazide</i>

### الخلاصة:

العناصر ذات المقدار الضئيل هي عناصر غير عضوية، وجود فائض أو نقص في هذه العناصر تسبب اضطرابات بيولوجية هامة يمكن التنبؤ بها سريريا. إن العديد من الأساليب الفيزيوكيميائية المتاحة للمحلل، فإن الطريقة الكهروكيميائية تحتل مكاناً خاصاً في أساليب التحليل. تم تطوير أسلوب الفولتامترية إعادة الانحلال فهي حساسة ويمكن الاعتماد عليها لتحديد الزنك، الكاديوم، الرصاص، النحاس و السيلينيوم في دم الإنسان. يعتمد أسلوب تحديد عنصر النحاس على تراكم من المجمع هذا النحاس مع يغاندس بقطب قطره الزئبق المثبتة ومن ثم حملة سلبية. لتحقيق حساسية عالية، تم التحقيق في مختلف المتغيرات التجريبية مثل الالكتروليت الداعمة ودرجة الحموضة وتراكم الوقت والإمكانات، تفحص معدل، مطال النبض، معدل التحريك و القطب الكهربائي العامل. هذه الطرق تتميز بحساسية جيدة بالنسبة لتحليل هذا العنصر. إن النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة تعتبر هي الأفضل مقارنة مع تلك التي استعملت

**مفتاح الكلمات:** الأقطاب المعدلة ؛ فولتامترية إعادة الانحلال ذات نبض التفاضلية ؛ العناصر ذات المقدار الضئيل؛ التحقق من صحة التحليلية ؛ الدم.

### Abstract :

Essential trace elements are inorganic substances : insufficient or excess intakes cause predictable biological and clinical alterations. Many physicochemical methods available to the analyst, the electrochemical method occupies a special place in the methods of analysis. A sensitive and reliable stripping voltammetric method was developed to determine the rate of zinc, cadmium, lead, selenium and copper in human blood. The determination of copper is based on the adsorptive accumulation of the complex of this copper with ligand at a hanging mercury drop electrode and then a negative sweep was initiated. To achieve high sensitivity, various experimental and instrumental variables were investigated such as supporting electrolyte, pH, accumulation time and potential, scan rate and stirring, working electrode. The detection limits obtained are, indeed better compared to those reported in the literature.

**Key words:** Electrodes modified ; Differential pulse stripping voltammetry ; Trace elements ; Analytical Validation ; Blood.

### Résumé :

Les éléments traces sont des éléments inorganiques dont l'excès ou le déficit causent de manière prévisible des perturbations biologiques cliniquement significatives. Parmi les nombreuses méthodes physico-chimiques à la disposition de l'analyste, la méthode électrochimique occupe une place particulière dans les méthodes d'analyse. La voltampérométrie par redissolution est une méthode sensible et fiable, elle a été développée pour déterminer le taux du zinc, cadmium, plomb, sélénium et cuivre dans le sang humain.

La détermination du cuivre repose sur l'accumulation d'adsorption du complexe du cuivre avec le ligand à un accrochage électrode de goutte de mercure et suivi d'un balayage négatif. Pour obtenir une haute sensibilité, diverses variables expérimentales et instrumentales telles que l'électrolyte, le pH, le temps d'accumulation, le potentiel, la vitesse de balayage, l'agitation et l'électrode de travail ont été testées. Les limites de détections obtenus sont, en effet, meilleures par rapport à celles rapportées dans la littérature.

**Mots clés:** Electrodes modifiées ; Voltampérométrie de redissolution à impulsion différentielles ; Eléments traces ; Validation analytique ; Sang.

# *INTRODUCCION GENERALE*

## **INTRODUCCION GENERALA**

L'analyse de traces et d'ultra-traces constitue depuis de longues années un moteur de progrès important en chimie analytique. La détection des éléments traces a toute son importance dans deux domaines : l'environnement et la médecine. En effet, la présence de ces éléments dans la nature influe directement sur la santé des êtres vivants.

L'importance des éléments traces est de plus en plus reconnue, d'une part à cause de l'amélioration des techniques analytiques, d'autre part à cause de la connaissance de plus en plus accrue du rôle de ces éléments. Il est nécessaire de pouvoir les identifier et les quantifier au niveau de traces et d'ultra-traces à l'aide de méthodes d'analyses fiables, sensibles et reproductibles et si possible peu coûteuses. Le développement de nouvelles méthodes de détection et de dosage de ces espèces cibles est donc un objectif de première importance. Le choix d'une méthode dépendra en particulier de la nature du milieu étudié, du nombre d'éléments à doser et de leurs concentrations, du nombre d'analyses à effectuer, de la rapidité exigée de l'analyse, de la précision imposée au dosage et enfin de l'appareillage dont on dispose ou dont on peut disposer [1].

L'électrochimie se présente notamment comme une méthode d'analyse intéressante qui relie des mesures électriques à des paramètres chimiques. L'exploitation analytique des lois de cinétique électrochimique a trouvé écho dans un grand nombre de domaines, comme l'environnement, l'agroalimentaire, l'industrie et l'analyse biomédicale [2-4]. En effet, l'analyse en laboratoire est souvent coûteuse et nécessite beaucoup de temps (prélèvement, transport et stockage des échantillons à analyser, coût du prétraitement et de l'équipement, personnel qualifié). Ces méthodes électrochimiques présentent de nombreux avantages comparées aux méthodes spectrométriques, l'équipement étant moins coûteux et les mesures pouvant être réalisées directement sur site [5]. De plus, les techniques spectroscopiques analysent la quantité totale en métal tandis que les techniques voltampérométriques permettent d'analyser les métaux sous différents nombre d'oxydation. Par ailleurs, la limite de détection et la reproductibilité des techniques électroanalytiques sont comparables à la GFAAS et l'ICP. Enfin, les

techniques spectroscopiques ne permettent l'analyse que des métaux, des sulfures et des composés du phosphore en solution tandis que les techniques voltampérométriques permettent d'analyser aussi des anions, des composés organiques et en général tout composé électroactif.

Le principe de base d'une mesure électrochimique repose sur le fait que certaines molécules ou ions peuvent échanger des électrons avec une électrode, ceci dans des conditions analytiques bien définies en particulier par le potentiel auquel cet échange a lieu [6]. Parmi les méthodes électrochimiques les plus récentes, la voltampérométrie à redissolution est une méthode électrochimique précise, sensible et sélective [7]. Cette technique occupe une place particulière car ses applications peuvent être extrêmement variées, aussi bien dans le domaine de l'analyse minérale que dans celui de l'analyse organique [8]. La polarographie à redissolution anodique a permis d'accroître les possibilités d'analyse avec des limites de détection pouvant atteindre, selon les cas, des concentrations en solution de  $10^{-9}$  à  $10^{-12}$  mol L<sup>-1</sup> [9]. Son principe est habituellement basé sur la préconcentration de métaux par réduction électrochimique sur électrode de mercure, suivie de leur analyse qualitative et quantitative. Il est alors possible de doser toutes sortes d'ions dès lors qu'ils peuvent être réduits ou oxydés électrochimiquement.

Il existe une variante plus récente de la voltampérométrie par redissolution, la voltampérométrie à redissolution après adsorption (VRAd). Cette méthode est tout à fait similaire aux méthodes de redissolution anodique et cathodique [10] à l'exception de la présence d'un ligand qui joue un rôle intermédiaire entre l'électrode de travail et l'analyte. Le choix de la fonction complexante est primordial. Il faut en effet que cette fonction ait une forte affinité et une certaine sélectivité vis-à-vis des cations métalliques pour obtenir une bonne préconcentration de ces espèces. Cette méthode est largement utilisée ces dernières années en voltampérométrie à cause de sa sensibilité et sélectivité [11].

La technique que nous avons utilisée est plus classique, puisqu'elle concerne l'analyse de cations métalliques par voltampérométrie à redissolution. Cette technique est habituellement basée sur la préconcentration de métaux sur électrode de mercure, suivie de leur analyse qualitative et quantitative. L'originalité du ce présent



travail a été d'étudier la possibilité de remplacer l'électroréduction des cations métalliques sur électrode de mercure par leur préconcentration sur électrode de mercure après adsorption.

Ce manuscrit est composé de quatre chapitres.

Le premier chapitre introduit les principes des différentes méthodes électrochimiques basées sur l'électrode de mercure, ainsi que les paramètres chimiques et électrochimiques qui peuvent influencer la sensibilité et la reproductibilité des méthodes électroanalytiques.

Le deuxième chapitre a pour objectif de présenter des généralités sur les paramètres de validation d'une méthode analytique, ainsi que les conditions opératoires.

Le troisième chapitre présente la détermination des conditions optimales pour le dosage du zinc, cadmium, plomb, sélénium et cuivre par voltampérométrie à redissolution anodique ou cathodique à impulsion différentielle à goutte de mercure. Chaque dosage a été suivi par un calcul statistique afin de valider les méthodes d'analyse utilisées.

Le chapitre IV est consacré à la voltampérométrie à redissolution après adsorption pour la détection et la quantification de cuivre (II) en milieu aqueux par l'utilisation de l'hydrazide de benzène sulfonyle et du 4-éthyle-3-thiosemicarbazide sur électrode de mercure. La dernière partie de ce chapitre concerne la validation puis l'application de cette méthode à des échantillons réels.

- [1] M. Pinta. Méthodes physico-chimiques utilisées dans la détermination des traces. *Extrait de la revue du GAMS.*, 2(1965)179-192.
- [2] J. Castillo et al. Biosensors for life quality-design, development and applications. *sens. Actuators B.*, 102(2004)179-194.
- [3] I.J. Allan et al. A "toolbox" for biological and chemical monitoring requirements for the european union's water framework directive. *Talanta.*, 69 (2006) 302-322.
- [4] C. Spegel et al. Chip based electroanalytical systems for cell analysis. *Electroanalysis.*, 20(2008)680-702.
- [5] M.L. Tercier et al. Novel voltammetric in situ profiling system for continuous real-time monitoring of trace elements in natural waters. *Electroanalysis.*, 10(1998)355-363.
- [6] P. Brossier et al. Les colloïdes d'or et leur detection electrochimique : interet en immunoanalyse et en biologie moleculaire. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée.*, 19 (2004) 121-125.
- [7] R.J.C. Brown et al. Stripping voltammetry using sequential standard addition calibration with the analytes themselves acting as internal standards. *Analytica Chimica Acta.*, 635(2009)1-5.
- [8] P.A.M. Farias et al. Cathodic adsorptive stripping voltammetry of nickel complexed with hydroxynaphthol blue at a static mercury drop electrode. *Talanta.*, 40(1993)1167-1171.
- [9] D. Hauchard. Polarographie-techniques polarographiques en analyse. *Éditions Techniques de l'Ingénieur.*, p2135 (2008) 1-5
- [10] S.A Ozkan. Principles and techniques of electroanalytical stripping methods for pharmaceutically active compounds in dosage forms and biological samples. *Current Pharmaceutical Analysis.*, 5(2009)127-143.
- [11] E.P Achterberg, C. Braungardt. Stripping voltammetry for the determination of trace metal speciation and in-situ measurements of trace metal distributions in marine waters. *Analytica Chimica Acta.*, 400(1999)381-397.

# *CHAPITRE : I*

## **CHAPITRE I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE**

### **INTRODUCTION**

L'électrochimie est la discipline d'étude des processus qui régissent les transferts de charge entre deux types de conducteur : un conducteur électronique qui assure le transport de charge par le déplacement d'électrons et un conducteur ionique, qui permet le transport de charge par le déplacement des ions [1]. Pour affronter les nouveaux défis liés aux problèmes analytiques, il y a un grand besoin d'effectuer plusieurs analyses simultanément et rapidement sur les mêmes échantillons, par une méthode analytique performante avec une haute sensibilité et une haute sélectivité. Les techniques électrochimiques offrent l'avantage d'être rapides, sensibles et faciles à mettre en œuvre.

L'électrochimie analytique est particulièrement sollicitée par notre société actuelle, avide de proposer des outils de contrôle de la qualité des produits chimique ou agroalimentaire, de suivi de l'environnement et d'aide au diagnostic des problèmes de santé inhérent au vieillissement de la population et à son mode de vie. Cette discipline est née avec la polarographie dans les années 1920 et s'est fortement développée à partir des années 1990. Cette date coïncide avec le développement des microélectrodes qui apportent une nouvelle dimension à cette méthode d'analyse. La polarographie n'est qu'un cas particulier de voltampérométrie où les courants sont mesurés par rapport à une électrode indicatrice liquide, faite de gouttes de mercure s'écoulant à l'extrémité d'un canal capillaire de faible diamètre. Elle trouve son application dans plusieurs domaines, entre autres, d'oxydation et de réduction, d'adsorption et de transfert d'électrons sur électrodes chimiquement modifiées [2].

### **I.1- GÉNÉRALITÉS SUR LA POLAROGRAPHIE**

La voltampérométrie est une technique électrochimique qui s'appuie sur une mesure du courant en fonction du potentiel appliqué [3], dans des conditions qui permettent la réduction ou l'oxydation de l'espèce à l'électrode de travail choisie [4]. Le

graphique qui représente l'intensité du courant en fonction du potentiel appliqué à l'électrode, et qui est obtenu expérimentalement, est appelé voltampérogramme [5]. Son tracé renseigne, d'après sa forme, sur les propriétés du système électroactif étudié [6]. De façon générale, cette méthode permet d'identifier et de mesurer quantitativement un grand nombre de composés (cations, certains anions, composés organiques) qui, en solution, peuvent être réduits et/ou oxydés à la surface d'une électrode [7], et également d'étudier les réactions chimiques incluant ces composés [8]. Ces expériences ne peuvent être réalisées de façon fiable que sous certaines conditions ; l'électrode indicatrice doit être polarisée pour que le courant qui traverse l'électrode soit proportionnel à la concentration de l'analyte, ce qui est généralement obtenu en utilisant une microélectrode. Pour que les phénomènes se déroulant à sa surface soit reproductibles, il ne faut pas qu'elle puisse être facilement contaminée [9]. Ces difficultés ont été maintenant surmontées grâce au travail de l'électrochimiste tchécoslovaque Jaroslav Heyrovsky au début des années 1922 [10], qui a suggéré d'utiliser une microélectrode de mercure à gouttes tombantes fonctionnant en continu, travail qui lui a valu le prix Nobel en chimie, en 1959 [11]. Du fait de la forte surtension de l'hydrogène sur le mercure, la polarographie était initialement dédiée à l'étude des phénomènes de réduction difficiles à mettre en évidence sur des électrodes classiques. L'intérêt de la polarographie analytique réside dans la bonne reproductibilité du régime de diffusion pseudo-stationnaire. En effet, chaque goutte correspond à une nouvelle électrode, identique à la précédente du point de vue géométrique mais ne gardant pas mémoire du phénomène électrochimique ayant affecté les gouttes antérieures. Cela autorise l'application rigoureuse des lois mathématiques régissant les phénomènes. L'exploitation des polarogrammes donne accès aux principaux paramètres thermodynamiques et cinétiques que sont les coefficients de diffusion, les énergies d'activation relatives aux dits phénomènes de diffusion, ainsi que les valeurs des potentiels d'amalgame [10].

Historiquement, elle se référait à une mesure directe, c'est à dire sans préconcentration, de la réduction des métaux sur des gouttes successives (tombantes) de mercure. Par abus de langage, on nomme ainsi aujourd'hui les techniques plus récentes travaillant sur des gouttes de mercure pendantes. Ces techniques sont très souvent

utilisées pour l'analyse d'espèces réductibles. A la fin de l'étape de dépôt, la concentration de l'élément réduit à la surface ou dans le mercure (goutte ou film) est supérieure à celle de l'échantillon. Les quantités des métaux ainsi amalgamés sont mesurés dans une seconde étape, par l'application d'un balayage de potentiel vers les valeurs positives (potentiel anodique) et par mesures des pics d'oxydation formés, au potentiel standard  $E^\circ$ . Il a été montré théoriquement que le courant de pic était proportionnel à la concentration du métal dans la solution, dans la mesure où les conditions de dépôts sont inchangées [12].

La voltampérométrie utilisant cette électrode est appelée polarographie, et, jusqu'à récemment, c'était la forme de voltampérométrie la plus courante [13]. A présent, les techniques voltampérométriques utilisent un système de trois électrodes plongées dans un électrolyte support placé dans la cellule électrochimique [14]. La caractéristique principale de l'électrode de travail est que son potentiel peut varier dans le temps ; par conséquent, elle devrait être facilement polarisable contrairement à l'électrode de référence dont le potentiel reste constant pendant la mesure [15].

L'électrode auxiliaire ou la contre-électrode qui conduit l'électricité jusqu'à l'électrode de travail à travers la solution est généralement une électrode de platine [16]. Dans le cas d'un système à deux électrodes (indicateur et référence), le potentiel de l'électrode indicatrice ne peut être connu de façon exacte, compte tenu de la chute ohmique au sein de la solution et des possibles variations du potentiel de référence [17]. La résistivité du milieu devient un facteur limitatif important pouvant rendre dans certains cas les polarogrammes inexplicables. Ceci explique la présence d'une troisième électrode [18].

## **I.2- DETERMINATION DE LA CARACTERISTIQUE D'UNE ELECTRODE**

Il s'agit d'établir la relation entre le potentiel qui représente le niveau énergétique de l'électrode et l'intensité qui est une mesure de la vitesse de réaction de transfert électronique hétérogène d'oxydation ou de réduction. Par convention les intensités d'oxydation sont comptées positivement et les intensités de réduction négativement. Les réactions électrochimiques dépendent de l'ensemble des paramètres

qui régissent les réactions chimiques (T, pH, concentration de ligands...) mais aussi de paramètres liés à la nature du matériau d'électrode, à son état de surface et notamment à la présence d'espèces adsorbées. En effet, une réaction globale par exemple de réduction obéit à un mécanisme à étapes consécutives du type :



Les étapes 1 et 5 sont des étapes de transport qui peuvent intervenir sur les effets de gradient de potentiel électrique (migration), de gradient de potentiel chimique (diffusion) et de gradient de vitesse du fluide (convection).

L'étape 3 représente le transfert électronique hétérogène dont la vitesse est une fonction exponentielle du potentiel avec des constantes obéissant aux (Equation 1 et 2).

Les constantes de vitesse de transfert de charge  $k_a$  et  $k_c$  à température constante font intervenir le potentiel appliqué [19]:

$$\text{Pour l'oxydation} \quad k_a = k_0 \exp\left(\frac{\alpha n F}{R T}(E_a - E^0)\right) \quad \text{Equation (I.1)}$$

$$\text{pour la réduction} \quad k_c = k_0 \exp\left(\frac{-\beta n F}{R T}(E_c - E^0)\right) \quad \text{Equation (I.2)}$$

$k_0$  ( $\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$ ) représente la constante intrinsèque de la vitesse de transfert électronique hétérogène.  $\alpha$  et  $\beta$  sont les coefficients de transfert de charge respectivement anodique et cathodique dont la somme, pour un système redox rapide, est en général égale à l'unité. Plus la constante intrinsèque de vitesse d'un système est élevée, plus la réaction est rapide et plus l'état d'équilibre interfacial est atteint rapidement.

Les étapes 2 et 4 sont respectivement des étapes d'adsorption et de désorption. Afin de simplifier les couplages entre les phénomènes de transfert, il est courant d'opérer avec un électrolyte support en grande concentration dont les ions ne participent pas au transfert électronique hétérogène et qui permet de négliger les phénomènes de migration des ions électroactifs. Un premier groupe de méthodes de mesure met en œuvre des solutions totalement immobiles pendant le temps de mesure ;

le seul phénomène de transport est la diffusion qui peut s'étendre sur des distances importantes (diffusion semi-infinie). Le deuxième groupe repose sur une agitation de la solution de façon à produire un gradient de concentration uniforme sur toute la surface de l'électrode ; les outils les plus utilisés pour assurer un tel couplage sont l'électrode à disque tournant ou l'électrode de mercure à goutte tombante.

### **I.3- COURANT DE DIFFUSION**

Que ce soit dans la matière solide ou la matière liquide, il est nécessaire pour étudier le transport et le transfert de matière de considérer les 3 modes suivants :

- La diffusion : c'est le mouvement des espèces électroactives provoqué par un gradient de concentration créé à la suite d'oxydoréduction des espèces à la surface de l'électrode;
- La migration : correspond au déplacement des espèces chargées, électroactives ou non, sous l'influence d'un gradient de potentiel. Elles participent ainsi au transport du courant. Les anions vers l'anode et les cations vers la cathode.
- La convection : correspond au mouvement des espèces dû à une agitation mécanique ou à l'existence d'un gradient de température ou de viscosité. Elle augmente l'apport à l'électrode classique et rend ainsi le régime transitoire. La convection n'est plus nécessaire à une microélectrode car l'apport de matière est déjà très important par diffusion pure.

En polarographie, si l'on utilise une solution non agitée contenant un excès d'électrolyte support, les intensités de migration et de convection sont toutes deux proches de zéro, et le seul mécanisme de transport de matière à la surface de l'électrode est la diffusion [20]. Quel que soit le système, la diffusion obéit aux lois de Fick qui lient le flux au gradient de la concentration et la variation du profil de la concentration au cours du temps. La première équation de Fick permet d'effectuer le bilan de matière sur un plan parallèle à la surface de l'électrode et situé à une distance  $x$  de celle-ci [10]:

$$J = -D.\text{grad}(C) = -D.\frac{\partial C(x)}{\partial x} \quad \text{Equation (I.3)}$$

où  $J$  est le flux de matière en  $\text{mol cm}^{-2} \text{s}^{-1}$



La vitesse de diffusion d'un ion en direction de la surface d'une électrode est donnée par la seconde loi de Fick, qui s'écrit [10] :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \cdot \frac{\partial^2 C(x)}{\partial x^2} \quad \text{Equation (I.4)}$$

où  $D$  est le coefficient de diffusion de l'ion,  $C$  sa concentration,  $t$  le temps et  $x$  la distance à partir de la surface de l'électrode.

Dans les conditions de diffusion sphérique, la résolution de la seconde loi de Fick en coordonnées sphériques au voisinage d'une microélectrode de rayon  $r_0$  portée à un potentiel constant induisant une concentration interfaciale nulle, conduit à l'équation suivante [21]:

$$i(t) = n F A D C \left( \frac{1}{\sqrt{\pi D t}} + \frac{1}{r_0} \right) \quad \text{Equation (I.5)}$$

Le courant est la somme de deux termes : le premier terme transitoire est dû à la diffusion plane semi-infinie (identique à l'expression du courant en diffusion linéaire) ; le second indépendant du temps est dû à la diffusion sphérique.

Cette équation présente deux formes limites :

\* Pour des temps courts, le premier terme est prépondérant par rapport au second. Le transport de matière est régi par la diffusion linéaire et le courant d'électrolyse décroît avec le temps en accord avec l'équation de Cottrell [22]:

$$i(t) = n F A D^{1/2} \pi^{-1/2} t^{-1/2} C \quad \text{Equation (I.5)}$$

où  $D$ ,  $t$ ,  $C$ ,  $n$ ,  $A$ ,  $F$  et  $i_d$  représentent respectivement le coefficient de diffusion (en  $\text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ ), la durée de vie de la goutte (en s), la concentration interfaciale (en  $\text{mmol L}^{-1}$ ), le nombre de Faraday nécessaire à la réduction d'une mole de substance réductible, la surface de l'électrode ( $\text{cm}^2$ ), la constante de Faraday ( $96485 \text{ C mol}^{-1}$ ) et le courant de diffusion (en  $\mu\text{A}$ ).

\* Pour des temps longs, le second terme est prédominant et la contribution du premier terme est négligeable. Le transport de masse est dominé par la diffusion hémisphérique. Le courant est décrit par le second terme indépendant du temps [21].

$$i_{\text{lim}} = \left( \frac{n F A D C}{r_0} \right) \quad \text{Equation (I.6)}$$

Dans le cas d'une microélectrode sphérique, l'expression du courant d'électrolyse découle directement de l'équation (I.6) :

$$i_{lim} = 4 \pi n F D C r_0 \quad \text{Equation (I.7)}$$

Dans le cas d'une microélectrode à disque plan, il n'est pas possible de résoudre algébriquement la deuxième loi de Fick. Une solution approchée est souvent adoptée, à partir de l'équation de Saito [23].

$$i_{lim} = 4 n F D C r_0 \quad \text{Equation (I.8)}$$

Le courant de diffusion  $i_d$  est directement proportionnel à la concentration de l'analyte dans la solution, qu'il soit réduit ou oxydé. Ilkovic, en examinant les différents facteurs qui influencent le courant de diffusion, a déduit l'équation suivante [24] :

$$i_d = 607 n D^{1/2} (m^{2/3} t^{1/6}) C \quad \text{Equation (I.9)}$$

où  $D$ ,  $t$ ,  $m$ ,  $C$ ,  $n$  et  $i_d$  représentent respectivement le coefficient de diffusion (en  $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ ), la durée de vie de la goutte (en s), le débit du mercure dans le capillaire (en  $\text{mg s}^{-1}$ ), la concentration de l'analyte (en  $\text{mmol L}^{-1}$ ), le nombre de Faraday nécessaire à la réduction d'une mole de substance réductible et le courant de diffusion (en  $\mu\text{A}$ ).

Plusieurs paramètres influent sur le courant de diffusion, à savoir la température, la composition et la viscosité de l'électrolyte support, la dimension du capillaire et la pression sur la goutte de mercure [25]. Ce courant est égal à la différence entre le courant limite et le courant résiduel.

#### **I.4- RELATION ENTRE LE POTENTIEL ET LE COURANT DE DIFFUSION**

Le potentiel d'une électrode polarisée est donné par l'équation de Nernst, et le courant de diffusion est directement fonction de la concentration de l'espèce électroactive. L'équation d'Heyrovsky-Ilkovic relie le courant diffusion au potentiel pour les systèmes électrochimiques réversibles [26]:

$$E = E_{1/2} + \frac{RT}{nF} \ln \left( \frac{i_d - i}{i} \right) \quad \text{Equation (I.10)}$$

avec 
$$E_{1/2} = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{k_R}{k_o} \quad \text{Equation (I.11)}$$

où  $k_R$  et  $k_o$  sont des constantes de proportionnalité de réduction et d'oxydation respectivement, R : constante des gaz parfaits ( $8,32 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$ ), T : température (K), F : nombre de Faraday ( $96485 \text{ C mol}^{-1}$ ).

A partir de l'équation (eq.I.11), on note que  $E_{1/2}$  est indépendant de la concentration.

L'équation (eq.I.12) prend la forme suivante à  $25^\circ\text{C}$  :

$$E = E_{1/2} + \frac{0.0591}{n} \log \left( \frac{i_d - i}{i} \right) \quad \text{Equation (I.12)}$$

où  $i$  est le courant mesuré en un point (corrigé du courant résiduel).

Cette équation appelée équation de vague polarographique, montre clairement que, pour une réaction réversible, le potentiel est égal à  $E_{1/2}$  quand  $i = i_d/2$ .

L'équation (eq.I.12) montre que lorsque  $i = i_d/2$  alors  $E = E_{1/2}$ . Ainsi, le potentiel de pic  $E_{1/2}$  est fonction du potentiel redox standard  $E^0$  (eq.I.13) ; il est donc caractéristique de l'élément à doser [26]. Pour une réaction irréversible, on introduit le coefficient de transfert  $\alpha$  dans l'équation approchée (eq.I.12) [28] :

$$E = E_{1/2} + \frac{0.0591}{\alpha n} \log \left( \frac{i_d - i}{i} \right) \quad \text{Equation (I.13)}$$

où  $E_{1/2}$  : potentiel de demi-vague en volts,  $n$  : nombre d'électrons échangés, et  $\alpha$  : coefficient de transfert.

## **I.5-TYPES D'ELECTRODES**

Tous les appareils électrochimiques possèdent en commun une installation constituée par un électrolyseur avec ou sans séparateur et des électrodes reliées par l'intermédiaire de collecteurs de courant à une alimentation électrique. En raison de la complexité du comportement d'une électrode, il n'est pas possible de sélectionner un matériau d'électrode, pour un procédé donné, uniquement sur des considérations théoriques générales de cinétique électrochimique (e.g. courant d'échange, surtension d'électrode, courbes intensité-potentiel). Donc pour effectuer une réaction électrochimique donnée, le choix des matériaux d'électrodes est important.

### **I.5.1-ELECTRODES DE TRAVAIL**

L'électrode de travail est encore nommée électrode indicatrice, c'est à son contact que va se produire la réaction d'oxydation ou de réduction de l'analyte suite à la variation de potentiel. En règle générale, l'électrode de travail doit être stable pendant une très grande période, doit posséder un bon rapport signal/bruit du fond et doit être également simple à manipuler et à conditionner. De plus, les solutés à analyser doivent y développer une cinétique de réaction électrochimique rapide dans un large domaine de potentiel accessible [29]. Elle peut être de différentes natures, c'est-à-dire réalisée dans des matériaux conducteurs différents, tel que :

\*/- Les métaux (mercure, platine, or, argent, cuivre ou nickel par exemple, ou des alliages) ;

\*/- Les matériaux non métalliques (graphite ou carbone vitreux par exemple) ;

\*/- Les matériaux organiques tels que les polymères conducteurs par exemple. L'électrode de travail utilisée pour l'analyse peut alors être choisie notamment en fonction du potentiel d'oxydation ou de réduction d'une espèce particulière que l'on souhaite analyser.

#### **I.5.1.1- LES METAUX**

Un métal est un élément chimique issue le plus souvent d'un minerai doté d'un éclat particulier, bon conducteur de chaleur et d'électricité, ayant des caractéristiques de dureté et de malléabilité.

##### ***a/ Electrode à goutte de mercure***

Elle est encore nommée électrode indicatrice, c'est à son contact que va se produire la réaction d'oxydation ou de réduction de l'analyte suite à la variation de potentiel. Plusieurs types d'électrodes existent :

✓ **Électrode à goutte de mercure tombante DME (*Dropping Mercury Electrode*) :**

C'est le mode classique en polarographie. En 1903, la DME a été introduite par Kucera [10]. 22 ans plus tard, Heyrovsky est le premier à l'appliquer comme électrode en polarographie [10]. Le mercure tombe goutte à goutte à un rythme contrôlé.

C'est l'électrode la plus utilisée en analyse polarographique et permet d'appliquer des potentiels très négatifs avant d'observer la réduction des protons contrairement aux électrodes solides. Sa limitation principale vient du fait que l'oxydation du mercure limite rapidement l'utilisation de tensions positives. Cependant, on peut facilement exploiter une échelle de potentiel allant de + 0,2 V à - 1,8 V par rapport à l'ECS. Les premiers chercheurs à se lancer dans l'étude de la faisabilité d'une transposition des techniques polarographiques aux milieux fondus sont Steinberg et Nachtrieb [30]. Ces derniers ont étudié le comportement électrochimique du  $\text{Ni}^{2+}$ , du  $\text{Cu}^{2+}$  et du  $\text{Bi}^{3+}$  sur DME, et ont publié deux ans plus tard un article décrivant le comportement de divers cations métalliques ( $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  et  $\text{Zn}^{2+}$ ) en milieu nitrate [31]. Ils obtiennent des vagues polarographiques reproductibles qui vérifient la relation d'Ilkovic [32].

✓ **Électrode à goutte de mercure pendante** HMDE (*Hanging Mercury Drop Electrode*) :

La HMDE a été développée pour la première fois par Gerischer [33]. Ce mode utilise une goutte de mercure suspendue au capillaire en verre, à laquelle est imprimé tout le balayage de tension. Ce mode à goutte pendante est spécialement utilisé dans les méthodes voltampérométrie de redissolution et dans la voltampérométrie cyclique. Chaque nouvelle mesure est réalisée avec une « nouvelle » électrode, c'est-à-dire avec une goutte fraîche de mercure. Le principal atout de l'HMDE est donc la persistance de l'électrode pendant l'ensemble du processus. Ceci permet de réaliser une préconcentration avant la mesure et donc d'améliorer la sensibilité de la méthode. Cette électrode est surtout utilisée pour le dosage des traces tant organiques qu'inorganiques [10]. Son principal avantage est la possibilité d'accumulation de l'analyte à sa surface comme dans le cas de la redissolution anodique et/ou cathodique et une baisse de consommation du mercure [34].

✓ **Électrode à goutte de mercure statique** SMDE (*Static Mercury Drop Electrode*)

Ce mode est utilisé pour les analyses polarographiques directes. Des microvalves qui contrôlent l'écoulement du mercure sont montées directement sur le capillaire. Pendant la mesure, la surface de la goutte de mercure reste constante et

statique malgré le fait qu'elle soit remplacée régulièrement (une à deux fois par seconde) comme dans le cas du mode DME [35]. Cette électrode, la plus récente, combine les propriétés de la DME et de la HMDE. Le mode SMDE permet l'établissement d'une ligne de base plus stable que dans le cas du mode DME, ce qui permet une augmentation du rapport signal sur bruit. Malheureusement, l'intensité du signal enregistré par l'intermédiaire de ce mode est généralement plus faible qu'en DME. Dans les méthodes HMDE et SMDE, la goutte de mercure est nécessairement plus petite que dans la méthode DME car elle ne doit pas tomber sous l'effet de son poids. Une vanne à aiguille commandée par un système électropneumatique obture généralement le capillaire dès que la goutte a atteint une taille convenable.

### **Les principaux avantages de l'électrode à goutte de mercure**

L'électrode à goutte de mercure est très utilisée pour les dosages car elle possède de nombreuses propriétés permettant aux techniques polarographiques d'occuper une place de choix parmi les méthodes électrochimiques d'analyse. Elle trouve tout d'abord son intérêt dans la nature du métal (le mercure est liquide à température ordinaire). En effet, le mercure a l'avantage de présenter une forte surtension par rapport à la réduction des ions  $H^+$ . Ainsi, les réactions de réduction deviennent observables et la limite négative n'est imposée que par la réduction de l'électrolyte indifférent [36]. La formation des gouttes par écoulement dans un capillaire est très reproductible et la surface de l'électrode est constamment renouvelée [37]. L'aire superficielle des gouttes peut être calculée à partir de leur masse [38]. Les problèmes de contamination de l'électrode sont par conséquent évités et l'électrode ne se trouve pas modifiée en permanence par les réactions électrochimiques conduisant à un dépôt sur ou dans l'électrode, ce qui est observé avec des électrodes solides au cours de la réduction, conduisant à une non-reproductibilité dans les résultats [39]. L'électrode à goutte de mercure a également la capacité de former des amalgames, rendant la mesure polarographique sensible pour la quantification d'éléments faiblement concentrés [40]. L'oxydation du mercure impose cependant une limite d'électroactivité en oxydation proche de 0,4 V par rapport à l'ECS. Il est donc impossible d'opérer à des potentiels légèrement supérieurs. L'électrode de mercure présente néanmoins quelques

inconvenients, principalement liés au fait que, la taille des gouttes change en fonction du temps [41]. Certains appareils modernes réduisent l'importance de ce problème en utilisant une série de gouttes pendantes (ou même une seule goutte) au lieu d'une succession continue [42].

#### ***b/ Electrode de platine***

L'électrode de platine est très fréquemment utilisée, car elle présente une grande résistance à l'oxydation. En solution aqueuse, en absence d'oxygène dissous, l'électrode de platine permet de travailler, suivant le pH, de -1,1 V à +1 V (par rapport à l'électrode normale à hydrogène, ENH). Elle se recouvre aux potentiels positifs ( $E > 1 \text{ V} / \text{ENH}$ ) d'oxyde de platine qui ne se redissout qu'au dessous de 0,65 V / ENH. Elle peut, de plus, adsorber de nombreuses substances ce qui entraîne l'existence d'un courant résiduel important et des phénomènes de blocage de surface irréversible. Quelques applications sur les électrodes de platine incluent la détermination du cadmium [43], des ions argent [44], et du mercure [45].

#### ***c/ Electrode d'or***

L'électrode d'or présente des propriétés similaires à celle de l'électrode de platine mais est plus inerte aux potentiels positifs et permet d'atteindre des potentiels un peu plus négatifs que ceux atteints par l'électrode de platine. L'électrodes d'or occupent actuellement une place importante dans le domaine électroanalytique tant pour leur performances électrochimiques en analyse organique et inorganique [46]. Plusieurs chercheurs ont montré que l'électrode d'or peut être utilisée comme un support à un film mince de mercure pour la détermination simultanée du plomb, du cadmium et du cuivre [47, 48].

#### ***d/ Electrodes d'argent***

Les électrodes d'argent sont utilisés comme substrat pour l'électrode à film de mercure ou électrodes électroactifs. Ces électrodes possèdent une très bonne sensibilité particulièrement pour le plomb. Parmi les exemples d'application des électrodes d'argent, la détermination de concentrations nanomolaires de plomb et de

cadmium dans l'eau de rivière et potable [47] et de concentrations sub-nanomolaires de plomb dans l'eau des rivières et de l'eau potable [49].

### **I.5.1.2-MATERIAUX NON METALLIQUES**

Les électrodes à base de carbone occupent une position importante dans l'électroanalyse tant par leur faible coût et leur mise en œuvre aisée que par leurs performances électrochimiques en analyses organiques et inorganiques [50, 51].

#### ***a/ Electrodes à pâte de carbone (Graphite)***

Les électrodes à pâte de carbone sont souvent utilisées comme capteurs dans le domaine analytique [52]. Elles possèdent un meilleur rapport surface/volume que les gouttes de mercure [53]. Plusieurs auteurs ont montré que l'électrode à pâte de carbone peut être utilisée comme un support à un film mince de mercure pour la détermination simultanée du plomb, du cadmium et du cuivre [54].

#### ***b/ Electrodes de carbone vitreux***

Le carbone vitreux est connu comme étant le substrat le mieux adapté à des plusieurs utilisations, ce qui se justifie par la supériorité de ce matériau sur les autres types de carbone proposés [55]. Elle est plus utilisée à cause de ses excellentes propriétés mécaniques et électriques, large fenêtre de potentiel, inertie chimique (résistance aux solvants) et une performance reproductible [56]. L'amélioration de la performance analytique de l'électrode de carbone vitreux passe par un traitement de la surface d'électrode (polissage) afin de la rendre plus reproductible et plus active. Parmi les applications des électrodes de carbone vitreux, la détermination de manganèse [57] et le dosage du plomb dans le sang [58].

### **I.5.1.3- MATERIAUX ORGANIQUES**

Les polymères sont des matériaux qui suscitent un très grand intérêt. Leur légèreté, leur résistance, leur faible coût de production et leur facilité de transformation font que leurs domaines d'applications se sont considérablement multipliés [59].



C'est ainsi qu'en 1977, Mac Diarmid, Heeger et Hirakawa ont découvert l'oxydation partielle du film du polyacétylène par l'iode mettant ainsi en évidence les propriétés de conduction du premier polymère organique conducteur : le polyacétylène. C'est la naissance des polymères conducteurs [60]. Les travaux de ces trois pionniers ont d'ailleurs été récompensés par le prix Nobel de chimie en 2000. Le terme " polymère conducteur " est aujourd'hui devenu un terme générique qui recouvre l'ensemble des polymères conjugués, que leur conductivité soit très élevée ou pas.

### **I.5.2-ELECTRODES DE REFERENCE**

C'est une électrode dont le potentiel est remarquablement stable même lorsqu'elle débite de faibles courants. Comme son nom l'indique, elle sert de référence au potentiostat afin d'appliquer une différence de potentiel exacte entre cette électrode et l'électrode de travail, et ainsi de faire varier de façon exacte et connue le potentiel appliqué à l'électrode de travail. Par le passé, l'électrode au calomel saturé était la plus souvent utilisée. Les valeurs de potentiel de référence  $E_{ref}$  par rapport à l'électrode normale à hydrogène (ENH) sont respectivement égales à 0,244V pour l'électrode au calomel (KCl sat.) et à 0,197V pour celle au chlorure d'argent (KCl sat.) à 25 °C. Il existe entre l'électrode de référence au calomel et l'électrode au chlorure d'argent la relation suivante:  $(E_{1/2})_{Ag} = (E_{1/2})_{ESC} + (-0,042)$ , les potentiels étant exprimés en volt.

### **I.5.3-ELECTRODES AUXILIAIRES**

L'électrode auxiliaire est choisie pour que ses propriétés électrochimique n'affectent pas le comportement de l'électrode de travail : lors de l'électrolyse, il ne doit pas y avoir de production d'espèces qui puissent atteindre l'électrode de travail et y engendrer des réactions parasites. En analyse, ce montage à trois électrodes est proposé pour minimiser les effets de la chute ohmique, ce qui a pour conséquence de diminuer la déformation des voltampérogrammes. Généralement l'électrode auxiliaire est de grande taille par rapport à l'électrode de travail de façon à ne pas limiter le courant traversant le circuit d'électrolyse. Cette électrode assure le passage du courant engendré par les réactions étudiées à l'électrode de travail.

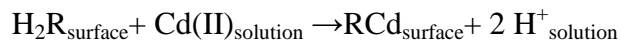
## **I.6.-ELECTRODES MODIFIEES**

C'est dans les années 70 qu'est apparu l'intérêt de créer des électrodes modifiées [61]. Le principe des électrodes modifiées consiste à fixer par adsorption ou par liaison covalente des espèces électroactives sur une électrode métallique ou de carbone vitreux. Les électrodes chimiquement modifiées possèdent de multiples applications en électroanalyse et électrocatalyse [62]. Un des avantages de ces systèmes est qu'ils nécessitent l'utilisation d'une quantité minimum de réactifs, souvent coûteux, pour réaliser les analyses. Un autre avantage est la sélectivité des électrode modifiées. En effet, par un choix judicieux du réactif immobilisé, il est possible de contrôler la sélectivité de l'analyse. De plus, ces électrodes permettent d'augmenter la sensibilité grâce à l'étape de dépôt. Pendant cette étape d'accumulation, l'espèce cible est préconcentrée dans un petit volume à la surface de l'électrode, ce qui permet de mesurer de très faibles concentrations. L'étape de préconcentration est aussi une étape de séparation, extrayant l'espèce cible du milieu. Les électrodes à film mince de mercure (TMFE: *Thin Mercury Film Electrode*) sont préparées par l'électrodéposition des ions  $Hg^{2+}$  sur la surface de l'électrode à partir d'une solution mercurique. Les ions du métal à analyser présents à l'état de trace dans la solution forment un amalgame avec le mercure et sont accumulés dans le film de mercure par réduction électrochimique. La redissolution est ensuite réalisée par le retour des ions métalliques amalgamés avec le mercure vers la solution. L'électrode à film mince de mercure a été largement utilisée, combinée avec la voltampérométrie par redissolution anodique (ASV) pour la détermination des métaux lourds à l'état de trace [63]. L'électrode à film mince de mercure peut être formée sur plusieurs substrats tels que le platine [64], l'or [65] et des fibres du carbone [66]. Néanmoins, les performances d'une telle électrode sont déterminées par le soin apporté à la préparation de la surface, qui est tout d'abord polie et ensuite conditionnée électrochimiquement [67]. Ce prétraitement est non seulement délicat et fastidieux, mais il peut être responsable d'un effet de mémoire et constituer ainsi une source de contamination [68]. Ceci justifie donc l'effort réalisé actuellement pour mettre au point de nouveaux matériaux ainsi que l'intérêt suscité par les électrodes modifiées, comme en témoignent les nombreux travaux réalisés actuellement [69].

La préconcentration des cations ou sel métalliques peut se faire selon deux types de processus : par échange d'ions ou par complexation.

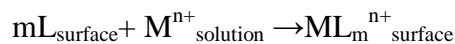
***a- Accumulation par échange d'ions***

L'immobilisation d'un composé échangeur d'ions à la surface d'une électrode permet de collecter les ions métalliques par une réaction d'échange d'ions. La réaction d'échange peut être suivie par voltampérométrie seulement si un des ions impliqués est électroactif. Le cadmium (II) a été accumulé et déterminé avec une électrode à pâte de carbone chimiquement modifiée par une résine Dowex 50W-X8 [70] ; la réaction d'accumulation implique l'échange entre les protons de la résine et les ions cadmium de la solution et la détermination a été faite par voltampérométrie à impulsion différentielle.

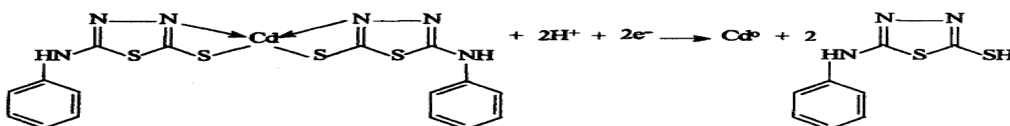


***b- Accumulation par complexation***

La réaction entre des ions métalliques en solution et une surface modifiée par des ligands peut entraîner la formation de complexes métalliques à la surface de l'électrode, selon la réaction :



où  $\text{M}^{n+}$  est le cation métallique, L le ligand et m le nombre de ligands par complexe. Si le complexe est électroactif, il peut être mis en évidence par voltampérométrie. L'électroactivité peut être le fait soit du métal soit du ligand (ligand électroactif), les deux possibilités ayant été démontrées [71]. La voltampérométrie par redissolution après adsorption d'impulsion différentielle de cadmium à goutte pendante de mercure (HMDE) par l'utilisation le 2-mercapto-5-phenil-ammino-1,3,4-thiadiazole (MPATD) est donnée par la réaction suivante [72]:



## **I.7.-CHOIX D'ELECTRODE**

Il est toujours hasardeux de prédire le succès d'un matériau d'électrode et en particulier sa durée de vie sans avoir étudié son comportement dans les conditions réelles de fonctionnement. Il existe néanmoins certains critères scientifiques et technologiques qui peuvent aider dans le choix d'un matériau d'électrode de longévité importante : une densité d'échange élevée et un coefficient de transfert de la réaction électrochimique considérée voisin de l'unité ; une bonne conductivité électronique du matériau ; une bonne résistance à la corrosion ; une grande disponibilité sous une grande diversité de formes (e.g. plaque, métal déployé, liquide, etc) et des propriétés mécaniques compatibles (e.g. rigidité, facilité d'usinage).

## **I.8- TYPES DE LA POLAROGRAPHIE**

### **I.8.1- POLAROGRAPHIE CLASSIQUE**

La polarographie est l'utilisation d'une électrode particulière appelée électrode à gouttes de mercure à la surface de laquelle on réalise une oxydation ou une réduction électrochimique en appliquant un potentiel selon un programme pré-établi. L'analyse polarographique mise en œuvre a été étudiée pour la première fois par J. Heyrovsky en 1922 à l'université de Prague. La dénomination Polarographie classique est restée attachée à la méthode originelle dans laquelle la tension appliquée est une fonction linéaire du temps, avec une vitesse de balayage généralement égale ou inférieure à  $2 \text{ mV s}^{-1}$  [73]. Le courant est mesuré pendant toute la durée de vie de la goutte de mercure, et le balayage en tension est linéaire, décroissant ou croissant [74]. Lorsque la surface de la goutte varie, le courant varie également, ce qui est limite la limite de détection vers des concentrations de l'ordre de  $10^{-5}$  à  $10^{-6}$  M à cause de l'existence du courant capacitif [75].

### **I.8.2- POLAROGRAPHIE A ECHANTILLONNAGE DU COURANT**

Une modification simple de la technique polarographie classique consiste à mesurer le courant à un moment précis de la fin de la vie de la goutte. La durée de vie de la goutte (comprise selon les expériences entre 0,5 et 5 s) est ainsi extrêmement

reproductible [76]. Le terme polarographie à échantillonnage du courant (parfois appelée polarographie tast) est plus descriptif et doit donc être préféré, d'autant plus que l'on utilise actuellement d'autres dispositifs que le marteau pour faire tomber la goutte. Le principe de la polarographie à échantillonnage du courant est basée sur l'équation de Cottrell. L'équation de Cottrell (eq.1.5) montre que, lorsqu'un saut de potentiel est imposé à une électrode, le courant électrique décroît selon l'inverse de la racine carrée du temps. Ainsi le courant de réduction échantillonné à la fin de chaque goutte est donné par l'équation suivante [77] :

$$i(\tau) = -nFAC_0 \frac{\xi\theta}{1+\xi\theta} \sqrt{\frac{D_0}{\pi t}} \quad \text{Equation (I.15)}$$

avec  $\xi = \sqrt{\frac{D_R}{D_O}}$  et  $\theta = \frac{C_R(0,t)}{C_O(0,t)}$  Equation (17,16)

$i(\tau)$  : Courant de diffusion ou courant de Cottrell ( $\mu\text{A}$ ) ;  $\xi$  et  $\theta$  sont adimensionnels.

Cette technique conduit donc à l'obtention d'une courbe en escalier plus lisse constituée de marches plus petites que les oscillations observées en polarographie classique. Malheureusement, cette méthode n'améliore pas suffisamment la précision et les limites de détection de la polarographie classique.

### **I.8.3- VOLTAMPÉROMÉTRIE CYCLIQUE**

La voltampérométrie cyclique est une méthode électrochimique qui utilise des microélectrodes ainsi qu'une solution non agitée. Ainsi le courant mesuré est limité par la diffusion de l'analyte à la surface de l'électrode. L'avantage de la voltampérométrie cyclique résulte de sa capacité à obtenir rapidement des informations sur les processus redox, sur la cinétique des réactions de transfert électronique hétérogène, des réactions chimiques couplées, ou encore des processus d'adsorption. De plus, elle est très employée pour la caractérisation de nouveaux systèmes et l'étude de réactions complexes. Elle consiste en l'application d'un balayage linéaire de potentiel jusqu'à une borne supérieure (balayage aller), puis d'une inversion de celui-ci, tout en conservant la même vitesse de balayage, jusqu'à une borne inférieure de potentiel (balayage retour).

Cette technique électrochimique d'analyse permet notamment de mettre en évidence la réversibilité du système (présence d'un pic aller et d'un pic retour) [78]. Le potentiel est fonction de la vitesse de balayage des potentiels ( $v$ ) et du temps ( $t$ ) :

$$E = E_i \pm v t \quad \text{Equation (I.17)}$$

$E_i$  désigne le potentiel initial, ou potentiel de départ. Dans la plupart des cas, celui-ci est choisi égal au potentiel à intensité nulle ( $E_{i=0}$ ) afin de s'assurer qu'aucune réaction électrochimique n'ait lieu au début du tracé de la courbe intensité-potentiel.

Trois cas sont à considérer : les systèmes dits réversible, irréversible ou quasi-réversible.

### ***a- Système réversible***

Si le transfert électronique est très rapide à la surface de l'électrode, le rapport des concentrations interfaciales en oxydant et en réducteur est donné par la loi de Nernst et est fonction du temps. Ce problème a été résolu numériquement par Randles et Sevcik [79, 80] puis par Nicholson et Shain [81] et permet d'exprimer les différentes caractéristiques de la courbe intensité-potentiel en fonction des différents paramètres du système.

L'intensité du pic  $i_p$  est proportionnelle à la racine carrée de la vitesse de balayage et est donnée par la relation de Randles-Sevcik :

$$i_p = 0,4463 \left( \frac{F^3}{RT} \right)^{1/2} n^{3/2} A D^{1/2} C V^{1/2} \quad \text{Equation (I.18)}$$

où :  $i_p$  : courant de pic ( $\mu\text{A}$ ) ;  $n$  : nombre d'électrons impliqués dans la réaction électrochimique ;  $A$  : surface de l'électrode ( $\text{cm}^2$ ) ;  $D$  : coefficient de diffusion de l'espèce électroactive ( $\text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ ) ;  $C$  : concentration en espèce électroactive ( $\text{mM}$ ) ;  $v$  : vitesse de balayage en potentiel ( $\text{V s}^{-1}$ )

Le potentiel de demi-vague  $E_{1/2}$  est une grandeur thermodynamique permettant d'accéder au potentiel standard apparent  $E^{or}$  des systèmes rapides :

$$E_{1/2} = E^{or} + \left( \frac{R T}{n F} \right) \text{Ln} \left( \frac{D_{Red}}{D_{Ox}} \right)^{1/2} \quad \text{Equation (I.19)}$$

Il peut être évalué expérimentalement (équation I.20):

$$E_p = E_{1/2} \pm 1,109 \left( \frac{R T}{n F} \right) \quad \text{Equation (I.20)}$$

soit, à 25° C

$$E_p = E_{1/2} \pm \frac{28,5}{n} \text{ (mV)} \quad \text{Equation (I.21)}$$

Les signes positifs et négatifs concernent respectivement les balayages anodiques et cathodiques. Le potentiel de pic du signal obtenu lors d'une oxydation,  $E_{pa}$ , est de  $28,5/n$  (mV) plus positif que le potentiel de demi-vague correspondant, et le potentiel de pic du signal en réduction,  $E_{pc}$ , est de  $28,5/n$  (mV) plus négatif par rapport au potentiel de demi-vague correspondant.

### ***b-Système irréversible***

Lorsque la vitesse de transfert de charge devient plus faible comparée à la vitesse de transfert de matière, le système est dit irréversible. Le transfert électronique hétérogène est lent et donc l'équation de Nernst n'est plus applicable. La réaction inverse peut être alors totalement négligée. Il apparaît le coefficient de transfert  $\alpha$  dans l'expression de la densité de courant [82]:

$$i_p = 0,4958 \left( \frac{F^3}{RT} \right)^{1/2} \alpha^{1/2} n_a^{3/2} A D^{1/2} C V^{1/2} \quad \text{Equation (I.22)}$$

où  $\alpha$  : coefficient de transfert;  $n_a$  : nombre d'électrons impliqués dans l'étape limitante de vitesse.

Dans ces conditions, le potentiel de pic varie avec la vitesse de balayage des potentiels selon la relation de Nicholson et Shain [81]:

$$E_p = E^{\circ} - \left( \frac{R T}{\alpha n_a F} \right) \left[ 0,780 + \text{Ln} \left( \frac{D^{1/2}}{K^0} \right) + \text{Ln} \left( \frac{\alpha n_a F V}{R T} \right)^{1/2} \right] \quad \text{Equation (I.23)}$$

### ***c-Système quasi-réversible***

L'étude de ce type de système a été réalisée par H. Matsuda et Y. Ayabe [83] qui ont qualifié de quasi-irréversibles les réactions correspondant à un transfert de charge lent et pour lequel cependant la réaction inverse doit être prise en considération. Pour une telle réaction, l'intensité du courant n'est plus strictement linéaire vis-à-vis de la racine carrée de la vitesse de balayage. Dans la pratique, selon la vitesse de balayage

du potentiel, un système donné peut apparaître réversible, quasi-réversible ou totalement irréversible.

#### **I.8.4- POLAROGRAPHIE IMPULSIONNELLE**

BARKER et GARDNER ont tenté de résoudre le problème de la présence des dents de scie sur la ligne de base, dues au courant capacitif intervenant lorsque la goutte de mercure grossit [84]. La polarographie à impulsions consiste donc à surimposer, pendant un temps bien déterminé (en ms), à la différence de potentiel continue appliquée entre l'électrode à gouttes de mercure et l'électrode de référence, une impulsion de potentiel  $\Delta E$ . Une seule impulsion survient à un instant déterminé de la vie de chaque goutte de mercure. Le courant mesuré à la fin de chaque goutte sera d'autant plus faible que la durée de vie de chaque goutte sera longue. Puisque pour des raisons mécaniques, les durées des gouttes sont de l'ordre de la seconde, il est intéressant de décaler l'application du potentiel par rapport à la naissance de la goutte d'environ deux secondes après la chute de la goutte précédente [77]. L'unique mesure par goutte de mercure est effectuée pendant la deuxième moitié de l'impulsion.

La polarographie à impulsion croissante ou normale fournit des résultats avec un meilleur rapport signal/bruit. Grâce à la polarographie impulsionnelle, on est capable de détecter des quantités de l'ordre de  $10^{-8}$  M, ce qui est beaucoup plus performant qu'en polarographie simple [85].

#### **I.8.5- POLAROGRAPHIE A SIGNAUX CARRÉS**

La polarographie à signaux carrés (SWV) est une méthode caractérisée par une grande vitesse de balayage et une sensibilité élevée. Les impulsions sont déclenchées pendant les dernières millisecondes de la vie de chaque goutte ; la durée de chaque palier et la durée des impulsions  $t_p$  sont identiques [10]. Le courant est mesuré en deux fois, une première fois à la fin de l'impulsion dans le sens direct et une autre fois à la fin de l'impulsion dans le sens inverse. Cette technique permet ainsi de réduire les effets des courants capacitifs en mesurant le courant seulement en fin d'impulsion. De même que pour la polarographie différentielle à tension impulsionnelle, l'appareil



trace la différence des intensités en fonction du potentiel de balayage et fournit donc des pics proportionnels aux concentrations des espèces électroactives.

En polarographie à signaux carrés la vitesse de balayage ( $v$ ) s'écrit comme suit :

$$v = \Delta E_s / \tau \quad \text{Equation (I.24)}$$

$\Delta E_s$  est la différence de potentiel entre deux paliers successifs,  $\Delta E$  est l'amplitude d'impulsion,  $\tau$  est la période de la tension carrée ( $\tau = 2 t_p$ ), l'inverse de  $\tau$  est égale la fréquence  $f$  ( $f = 1/\tau$ ) et  $t_p$  est la durée d'impulsion. Pour un système réversible, comme le montre l'équation (I.25), le courant de pic est dépendant de l'amplitude de l'impulsion de potentiel à vague carrée  $\Delta E$  pour une fréquence donnée [86]:

$$i_p = k n^2 D^{1/2} \Delta E C \quad \text{Equation (I.25)}$$

où:  $i_p$  : courant du pic,  $k$ =constant,  $n$ = nombre d'électron échangé,  $D$  = coefficient de diffusion d'analyte,  $\Delta E$  est l'amplitude d'impulsion et  $C$  concentration d'analyte.

La vitesse de balayage  $v$  est plus grande qu'en polarographie différentielle à tension impulsionnelle classique, cela réduit considérablement la durée d'analyse d'un échantillon et permet d'obtenir en moyenne plusieurs cycles pour accroître le rapport signal/bruit, avec l'avantage de bénéficier de limites de détection abaissées et d'une meilleure précision. En raison de sa rapidité, la voltampérométrie à tension carrée peut être utilisée comme détecteur rapide en chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP) [87]. La limite de détection de la polarographie à tension carrée est de l'ordre de  $10^{-7}$  à  $10^{-8}$  M et peut atteindre  $10^{-9}$  M par redissolution anodique [88].

### **I.8.6- POLAROGRAPHIE DIFFERENTIELLE IMPULSIONNELLE**

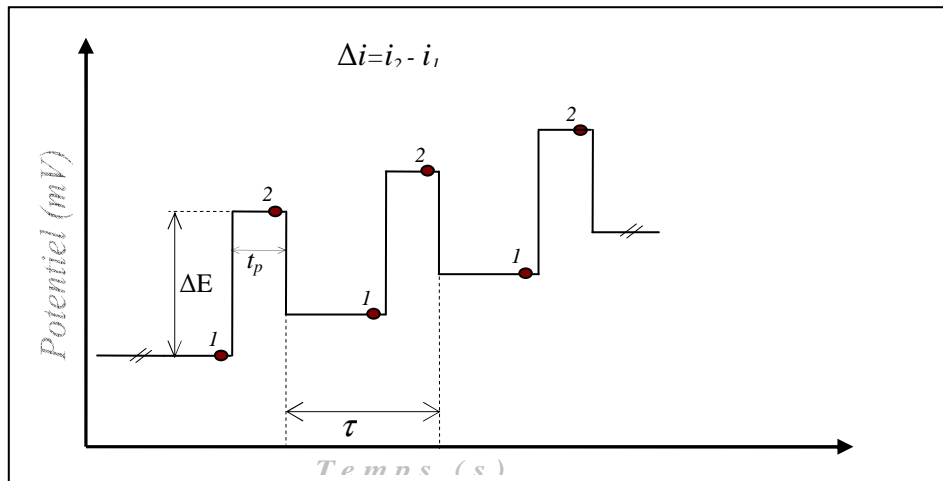
D'un point de vue purement analytique, la polarographie impulsionnelle différentielle (DPP) est actuellement assez couramment utilisée, grâce à la mise sur le marché d'instruments fiables et relativement peu coûteux, plus sensibles et avec une sélectivité plus élevée. Cette technique est particulièrement intéressante dans l'analyse des éléments à l'état de traces et ultra-traces [89]. Elle est une méthode dérivée de la polarographie normale, et permet d'augmenter la sensibilité de 100 à 1000 fois par

rapport à la polarographie classique [90]. Dans cette technique, on applique un potentiel variable en fonction du temps  $E=f(t)$  (figure I.1), périodiquement interrompu par des impulsions de hauteur.  $\Delta E$  représente une augmentation régulière normale de la tension continue. Le courant est mesuré deux fois pendant la durée de vie de chaque goutte de mercure : une première fois avant d'appliquer l'impulsion  $i(t)_1$ , et une deuxième fois, comme presque toujours, près de la fin de l'impulsion  $i(t)_2$ . Le courant en  $i(t)_1$  est le courant qui sera observé en polarographie classique ; sa valeur est mise en mémoire dans le polarographe. Le début de l'impulsion est alors marqué par une soudaine augmentation du courant ; comme en polarographie impulsionnelle normale (NPP), le courant s'affaiblit à mesure que le courant capacitif et faradique décroissent [91], et il est à nouveau mesuré près de la fin de l'impulsion  $i(t)_2$ . La différence des deux courants avant et après l'impulsion est amplifiée et enregistrée. Le courant dû à l'impulsion de potentiel à  $E = E_p + \Delta E$  est alors égal à [92]:

$$[i(t)_2 - i(t)_1]_{max} = -nFAC_0 \sqrt{\frac{D_0}{\pi(t_2 - t_1)}} \frac{(\sigma - 1)}{(\sigma + 1)} \quad \text{Equation (I.26)}$$

avec :

$$\sigma = \exp\left[-\frac{nF}{RT} \frac{\Delta E}{2}\right] \quad \text{Equation (I.27)}$$



**Figure I.1.** Variation du potentiel en fonction du temps en voltampérométrie impulsionnelle différentielle.

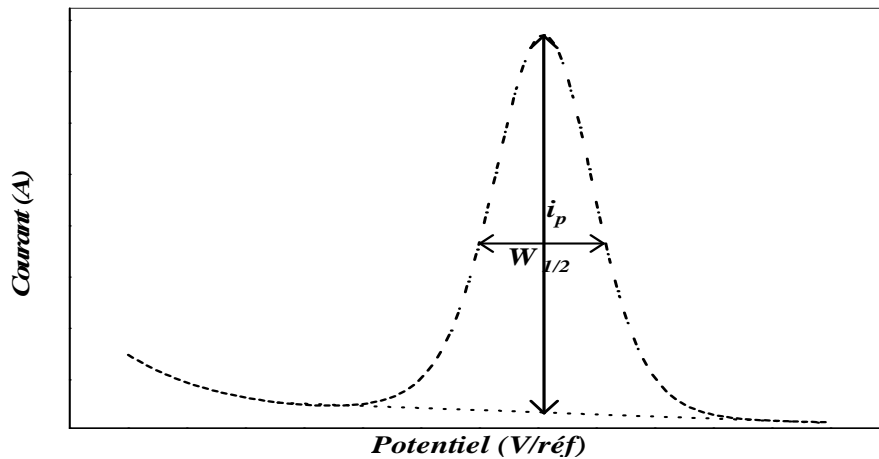
Le voltampérogramme obtenu a une forme gaussienne avec un pic dont l'amplitude est proportionnelle à la concentration de l'espèce électroactive (figure I.2) .

La largeur du pic à mi-hauteur  $W_{1/2}$  permet de déterminer le nombre d'électrons échangés pour un système rapide grâce à la relation de Barker [10] :

$$W_{1/2} = 3,5 \left( \frac{R T}{n F} \right) \quad \text{Equation (I.28)}$$

à 25 °C

$$W_{1/2} = \left( \frac{90,5}{n} \right) \quad \text{Equation (I.29)}$$



**Figure I.2.** voltampérogramme représentatif des courbes obtenues avec les méthodes impulsionnelles.

Les techniques polarographiques ne sont donc utilisables que lorsque la solution à étudier contient une ou plusieurs espèces oxydables ou réductibles au niveau d'une électrode à gouttes de mercure, les concentrations des espèces à analyser étant assez faibles [93]. Parmi l'ensemble de ces techniques, l'une des plus efficaces pour la caractérisation de la spéciation des métaux traces est basée sur des mesures électrochimiques par voltampérométrie, et plus précisément par voltampérométrie différentielle à impulsion en redissolution anodique (i.e. DPASV : Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry) [94].

### **I.9- LA VOLTAMPEROMETRIE INVERSE (REDISSOLUTION)**

C'est une technique d'analyse ultrasensible [95]. Elle consiste à utiliser une électrode de travail, qui peut être une électrode à goutte de mercure pendante (HMDE) ou encore une électrode solide. Cette méthode d'analyse est principalement utilisée pour la détermination quantitative des traces de cations dont le métal peut former un

amalgame avec le mercure (dans le cas où l'électrode de travail est une électrode à goutte de mercure pendante). Parmi ces cations, nous pouvons citer le Pb, Cd, Zn, Cu, Sn, Ti, Mn, Bi, et le Ga [96].

La voltampérométrie à redissolution se fait en deux étapes : accumulation et redissolution. Avant l'étape d'accumulation sur la goutte, un barbotage d'azote est effectué pour chasser l'oxygène présent dans la solution qui est susceptible d'interagir avec la goutte de mercure et donc d'interférer dans la mesure [97].

*Première étape d'accumulation (ou pré-électrolyse)*

Cette phase d'électrodéposition s'effectue en solution agitée avec un potentiel suffisamment élevé pour qu'il y ait réduction et ou oxydation des espèces présentes en solution.

La surface de l'électrode étant petite, la durée d'accumulation est inférieure à celle que nécessiterait une électrolyse complète, et le courant conserve, durant cette phase, une intensité sensiblement constante. A la surface du mercure, il se produit alors une réaction qui forme un amalgame.

On peut montrer que la quantité du métal, déposé en fin d'électrolyse, est proportionnelle à la concentration de l'élément en solution, selon l'équation [98] :

$$m = \frac{K C S t}{n F} \quad \text{Equation (I.30)}$$

où  $K$ ,  $C$ ,  $S$  et  $t$  représentent respectivement le facteur de proportionnalité, la concentration de l'espèce électroactive, la surface de la goutte de Hg et le temps d'électrolyse. Le produit ( $i = KCS$ ) étant le courant d'électrolyse. Les conditions de travail doivent être strictement surveillées si des mesures reproductibles doivent être réalisées. On notera l'importance du temps d'accumulation, du potentiel d'accumulation, de l'agitation, du volume de l'échantillon et de la surface de la goutte de mercure.

Pendant le temps d'attente (repos) qui sépare les deux étapes, il y a homogénéisation de la concentration du métal amalgamé dans la goutte. Plusieurs secondes sont nécessaires avant que la solution ne s'homogénéise parfaitement tout comme la goutte de mercure. La solution témoin n'est plus agitée (ce qui permet l'élimination de toute convection en solution) mais le potentiel d'électrolyse reste appliqué.

*Seconde étape la redissolution*

Les métaux vont alors passer du mercure à la solution pour retourner à l'état initial. Pour ce faire, le potentiel de l'électrode est déplacé de façon à provoquer l'oxydation et ou réduction de l'amalgame. Cette étape est définie par le balayage du potentiel, qui est la vitesse à laquelle le voltampérogramme est enregistré.

L'intensité du courant est proportionnelle à la concentration du métal amalgamé, elle même représentative de la concentration initiale du cation métallique présent dans la solution [99].

A la fin de la période de repos suivant l'électrolyse, la distribution du métal dans le mercure est relativement uniforme et peut être calculée par l'équation suivante [19] :

$$C_{M(Hg)} = \frac{i t}{n F (4/3) \pi r_0^3} \quad \text{Equation (I.31)}$$

où  $C_{M(Hg)}$ ,  $i$ ,  $t$ , et  $r_0$  représentent respectivement la concentration du métal dans le mercure, le courant cathodique de dépôt, le temps de dépôt et le rayon de la goutte de mercure.

L'intérêt de cette technique réside dans le fait que la concentration en amalgame dans la goutte est plus élevée que la concentration de l'élément en solution et elle lui est proportionnelle. On peut donc espérer pouvoir doser des quantités plus faibles que celles dosées par la méthode directe. La redissolution des éléments peut être effectuée par trois méthodes [100] :

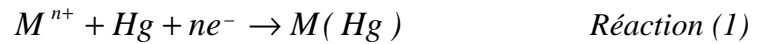
\* ***Redissolution par voltampérométrie (S.V)***

La redissolution après électrolyse se fait par modification graduelle du potentiel appliqué à l'électrode de travail et mesure du courant correspondant. Cette technique peut s'effectuer par un balayage anodique (ASV) ou cathodique (CSV) en potentiel.

- Redissolution anodique (Anodic stripping)

Dans les méthodes de redissolution anodique, la microélectrode se comporte comme une cathode durant l'étape de réduction et comme une anode lorsque l'analyte est réoxydé à son état initial [101]:

*Accumulation* : Application d'un potentiel négatif à la solution, ce qui donne :



*Redissolution* : Balayage de potentiel dans le sens positif (anodique) :

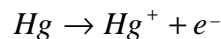


La redissolution anodique permet de détecter plusieurs espèces métalliques, en une seule expérience. Cette méthode est donc très performante quantitativement et qualitativement.

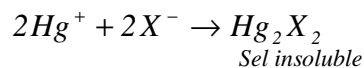
- Redissolution cathodique (cathodic stripping)

Une autre technique de redissolution est également utilisée: la voltampérométrie à redissolution cathodique (CSV). L'élément considéré est préconcentré à la surface de l'électrode, soit directement par oxydation formant alors un film insoluble, soit par le biais d'un autre élément qui est adsorbé à la surface de la goutte au potentiel considéré. L'élément préconcentré est ensuite mesuré pendant une étape de redissolution cathodique par un balayage du potentiel vers les valeurs négatives, on observe alors son pic de réduction. Cette technique permet d'analyser un grand nombre de métaux ne formant pas d'amalgame avec le mercure [102], ou de composés organiques possédant des propriétés d'oxydo-réduction [103]. Cette technique nécessite des conditions d'analyse très strictes, qui peuvent entraîner dans certains cas des imprécisions sur la détermination ultérieure de propriétés de complexation par exemple, notamment par compétition vis-à-vis du métal entre le ligand ajouté et les ligands naturels [104].

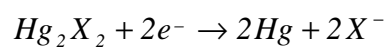
*Accumulation* : Application d'un potentiel positif à la solution, ce qui donne :



puis :



*Redissolution* : Balayage de potentiel dans le sens négatif (cathodique) :



La position des pics est différente car le potentiel redox est différent. Mais l'amplitude aussi est différente alors que les concentrations sont identiques. Cette

variabilité de l'amplitude est en fait due aux variations des coefficients de diffusion et aux différences de solubilité des espèces dans le milieu. La quantité de matière déposée sur l'électrode et issue d'une solution donnée doit donc être parfaitement connue si l'on veut la relier à la concentration dans la solution. Cela nécessite de bien connaître l'aire de l'électrode, le potentiel qui lui est appliqué, la durée de l'étape de dépôt électrolytique, la vitesse d'agitation lors des mesures de la solution d'analyse et des solutions étalons.

- Redissolution après adsorption (Adsorptive stripping voltammetry)

Parallèlement, des recherches [105] vers d'autres modes d'accumulation ont mené au développement de la voltampérométrie par redissolution après adsorption (VRAd), à l'accumulation non électrolytique et à l'utilisation de microélectrodes et plus récemment d'ultramicroélectrodes. Les méthodes de redissolutions après adsorption sont tout à fait similaires aux méthodes de redissolution anodique et cathodique. Une microélectrode, le plus souvent une électrode de mercure à goutte pendante, est immergée pendant plusieurs minutes dans une solution agitée de l'analyte. L'analyte se dépose par adsorption physique sur la surface de l'électrode plutôt que par électrodéposition. Lorsque suffisamment d'analyte s'est déposé, on arrête l'agitation et on dose le matériau déposé par l'une des méthodes voltampérométriques. L'évaluation quantitative est basée sur le recours à des solutions étalons qui sont traitées de la même façon que les échantillons. Généralement, cette technique est utilisée pour l'analyse d'éléments traces et ultratraces qui ne peuvent être accumulés directement par une préélectrolyse. Pour les métaux, il existe des agents complexants spécifiques pour leur analyse par AdSP ou AdSV.

\* ***Redissolution par potentiométrie (P.S.A)***

Cette technique consiste à réaliser une électrolyse à courant constant et à suivre la variation du potentiel de l'électrode de travail en fonction du temps. Cette variation de potentiel est liée au changement de concentration de l'espèce étudiée au niveau de l'électrode. Un temps de transition  $\tau$  est déterminé : il est égal au temps nécessaire pour que la concentration de l'espèce électroactive devienne nulle au

voisinage de l'électrode. Cette méthode permet d'évaluer le nombre de réaction se produisant à l'électrode de travail ; en effet, chaque plateau observé correspond à une réaction.

Si la diffusion des ions est linéaire et si le temps pendant lequel l'intensité est imposée est suffisamment court pour négliger la diffusion des ions du sein de la solution vers la couche de diffusion, le temps de transition  $\tau$  est relié à la densité du courant par la loi de Sand [106]:

$$i_{(\tau)} = 0,5nFC \sqrt{\frac{\pi D}{\tau}} \quad \text{Equation (I.33)}$$

$i$  : la densité de courant ( $A m^{-2}$ ) ;  $\tau$ : le temps de transition (s)

Lorsque cette relation est vérifiée, la limitation de la réaction par la diffusion est démontrée et permet le calcul du coefficient de diffusion.

\* ***Redissolution par ampérométrie (C.C.S.A)***

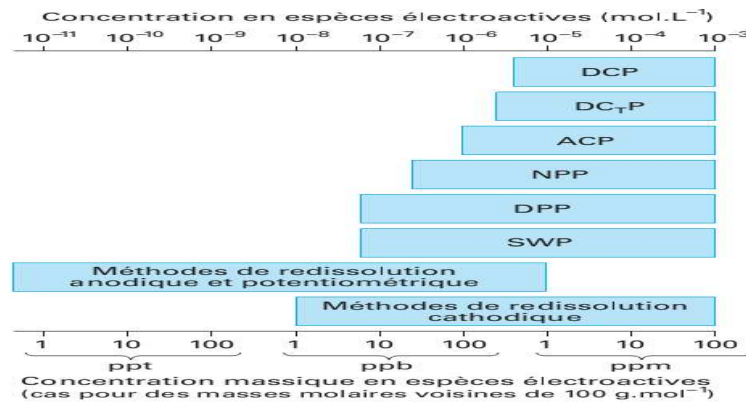
La dénomination ampérométrie est réservée aux mesures du courant quand le potentiel est constant et la variation de courant est due à un changement de concentration de l'espèce électroactive résultant d'une cause extérieure, par exemple un ajout de réactif. L'agitation du milieu est nécessaire mais cela entraîne des fluctuations qui se traduisent parfois par un courant instable. On peut palier cet inconvénient en maintenant une agitation uniforme et en additionnant lentement le réactif. Il est souvent préférable d'appliquer des tensions correspondant au plateau de diffusion afin de minimiser les risques de fluctuations du courant liés à des perturbations au niveau de l'électrode de référence. Toutefois, il est possible et parfois indispensable, de travailler à des potentiels moins élevés afin d'améliorer la sélectivité de la mesure. Le principe de mesure est identique à celui de la (P.S.A) mais la redissolution est contrôlée par application d'un courant constant à l'électrode de travail.

## **I.10- CHOIX DE LA TECHNIQUE POLAROGRAPHIQUE EN ANALYSE**

Le choix de la technique polarographique en analyse dépendra en particulier de la nature du milieu étudié, du niveau de concentration du ou des solutés à analyser en solution et des performances de cette technique. Les techniques polarographiques



impulsionnelles (NPP et DPP) permettent d'obtenir un gain de sensibilité très important par rapport aux techniques de polarographie classique. L'analyse par redissolution anodique est la méthode la plus utilisée dans l'analyse de traces et d'ultratraces ( $10^{-6}$  à  $10^{-12}$  M), notamment pour l'analyse de métaux formant un amalgame avec le mercure. Pour avoir une bonne résolution et un pouvoir séparateur satisfaisant, on utilise généralement pour l'étape de redissolution, les méthodes polarographiques DPP et SWP qui permettent d'obtenir des pics étroits [107]. La figure I.3 présentant la comparaison des domaines de concentrations accessibles pour les différentes techniques polarographiques).



**Figure I.3.** Domaines de concentrations relatives accessibles pour les différentes techniques polarographiques [107].

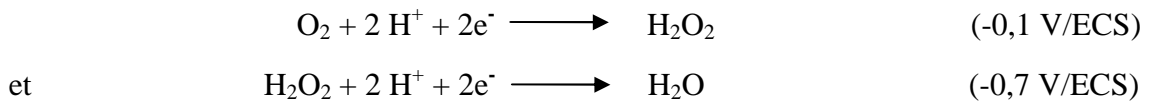
## I.11- INTERFÉRENTS SUR LA TECHNIQUE D'ANALYSE ET LE DOSAGE

Comme toute technique analytique spécifique à la détermination d'éléments traces, les techniques électrochimiques souffrent d'un certain nombre d'interférences.

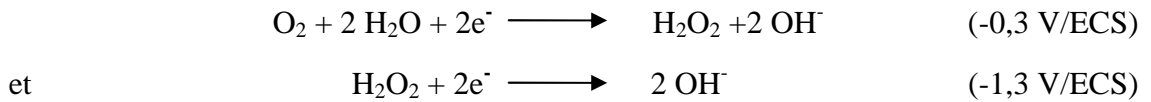
### I.11.1- EFFET DE L'OXYGENE

Avant de décrire les variantes les plus récentes, il nous paraît plus judicieux d'examiner d'abord les processus qui interviennent dans l'appareil classique. En absence de dégazage, un courant d'intensité élevée est obtenu ; ce courant est dû à la réduction de l'oxygène en eau. L'oxygène dissous, réductible à l'électrode à gouttes de mercure, donne deux paliers bien distincts correspondant à la réduction de cet élément en deux étapes selon le processus suivant [107]:

*En milieu acide:*



*En milieu basique:*



Une opération de barbotage est donc indispensable pour éliminer l'oxygène dissous de la solution [108]. Pour cela, la cellule est pourvue de tubulures permettant de purger la solution avec un gaz inerte (N<sub>2</sub>, Ar ou H<sub>2</sub>) avant l'expérience. L'azote étant plus fréquemment utilisé car il est nettement moins onéreux.

### **I.11.2- EFFET DES DEUX COURANTS FARADIQUE ET CAPACITIF**

Le courant résiduel est la somme de deux courants distincts, le courant faradique et le courant capacitif [109] :

$$i_r = i_f + i_c \quad \text{Equation (I.34)}$$

Le courant résiduel dépend de la nature de l'électrode et des traitements chimiques ou électrochimiques qui lui ont été imposées [110].

#### *✓ Le courant faradique*

Le courant faradique résulte des réactions d'oxydoréduction des éléments à analyser à l'interface électrode-solution et constitue donc la composante la plus importante pour l'analyse quantitative des composés tests [111]. Le courant faradique peut être influencé par les vitesses de différents processus :

- La vitesse de transport de masse de l'espèce oxydée électroactive du sein de la solution vers l'électrode (et vice-versa pour une espèce réduite) ;
- La vitesse de transfert d'électrons à l'interface électrode/solution ;
- La vitesse des réactions chimiques qui précèdent ou qui suivent le transfert d'électrons.

Ces réactions obéissent à la loi de Faraday : la quantité d'espèces chimiques transformées est directement proportionnelle à la quantité d'électricité qui traverse la cellule (équation I.35) [10].

$$Q = n F N = i t \quad \text{Equation (I.35)}$$

Q est la quantité de charge électrique (en C) et N est le nombre de moles de réactif consommé ou de produit formé (en mol).

La composante faradique est majoritairement due à l'électrolyse de l'eau et à la réduction de l'oxygène [112].

✓ *Le courant capacitif*

Le courant capacitif est dû à la charge du condensateur représenté par l'interface entre la couche de surface de l'électrode et la couche de la solution adjacente [10]. Lorsqu'on applique un échelon de potentiel, la variation du courant capacitif décroît exponentiellement en fonction du temps t [10]:

$$i_c = \frac{E}{R_s} \exp\left(-\frac{t}{R_s C_d}\right) \quad \text{Equation (I.36)}$$

où  $R_s$  est la résistance de la solution entre l'électrode indicatrice et l'électrode de référence et  $C_d$  la capacitance du condensateur équivalent à la double couche. Le courant capacitif est souvent négligeable devant le courant faradique.

Lorsque la concentration en espèce électroactive est faible ou lorsque le temps d'analyse est court, le courant capacitif peut devenir supérieur au courant faradique ce qui entraîne des erreurs d'interprétation. Il faut donc trouver un moyen d'optimiser le rapport  $i_F/i_C$ . Le développement des techniques électroanalytiques et l'accroissement de leur précision passent donc nécessairement par une minimisation de cette composante capacitive du courant d'électrolyse mesuré à l'électrode de travail.

### **I.11.3- INTERFERENCE METALLIQUE**

Comme toute technique analytique spécifique à la détermination d'éléments traces, les techniques électrochimiques souffrent d'un certain nombre d'interférences. Ainsi, la formation de composés intermétalliques [113], l'adsorption de substances organiques [114] ou le recouvrement de pics [115] peuvent être à l'origine de difficultés

dans l'analyse des résultats obtenus. S'ajoutent également les problèmes inhérents à toutes mesures de traces, i.e. les contaminations qui peuvent aussi bien être dues aux prélèvements et stockages qu'aux mesures elles mêmes, on parle alors de contamination rémanente. Ces interférences et/ou contaminations devront donc être systématiquement minimisées pour pouvoir caractériser la spéciation des métaux traces aux concentrations naturelles.

## **I.12- INFLUENCES DES CONDITIONS OPERATOIRES SUR LA REPRODUCTIBILITE DES ANALYSES**

Il est nécessaire de déterminer de façon très précise les conditions expérimentales puisque nous montrerons que de faibles modifications de certains paramètres entraînent des variations importantes des résultats.

Dans le présent travail, nous avons examiné, pour chaque élément trace (Zn, Cd, Pb, Se et Cu), l'influence des facteurs suivants sur la sensibilité et la reproductibilité de la méthode : la nature de l'électrolyte support, le potentiel d'accumulation, la durée d'accumulation, la vitesse d'agitation de la solution, ainsi que la durée et l'amplitude d'impulsion.

### **I.12.1- ÉLECTROLYTE SUPPORT**

C'est un composé ionique dissocié, de 100 à 1000 fois plus concentré que les espèces électroactives qui participent aux réactions d'électrode [116]. Ses ions doivent être électro-inactifs, c'est-à-dire qu'ils ne doivent pas, dans les conditions expérimentales utilisées, participer aux réactions d'électrode ou modifier la concentration des espèces qui y participent [117]. En présence d'un électrolyte support, on considère donc que le transport des espèces électroactives de la solution vers l'électrode ou de l'électrode vers la solution, s'effectue à proximité de la surface de l'électrode, uniquement par diffusion chimique ou convection mécanique [118]. En théorie, l'électrolyte support seul ne donne aucun courant et ce quel que soit le potentiel appliqué, mais dans la réalité, un faible courant résiduel existe toujours.

### **I.12.2- POTENTIEL D'ACCUMULATION**

Les réactions de réduction ou d'oxydation générées par le potentiel appliqué ont lieu à l'électrode de travail. Plus le potentiel de cette électrode devient négatif, plus elle devient un réducteur fort, donc une source d'électrons [39].

Le potentiel d'électrolyse (ou d'accumulation) correspond à une valeur du potentiel à laquelle on peut réduire le ou les cations à analyser. Son choix est fonction de la nature de l'élément à doser et du milieu électrolytique [119].

### **I.12.3- TEMPS D'ACCUMULATION**

Si la durée d'électrolyse est suffisamment longue, presque tous les ions réductibles de la solution peuvent être déposés sur la cathode de mesure, mais cela n'est pas nécessaire et, en pratique, on effectue l'électrolyse en mesurant soigneusement le temps pour qu'une partie seulement de ces ions soit réduite [120]. La durée d'accumulation dépend de la sensibilité de la méthode et de la quantité d'élément trace en solution [121]. Cette opération est souvent nommée étape de concentration, puisque les métaux se retrouvent concentrés dans le volume relativement petit de la goutte de mercure. Après un certain temps bien déterminé, la surface de l'électrode ne peut plus supporter la charge de ces éléments dû à la saturation [122]. La quantité de métal concentré sur la goutte est proportionnelle à la quantité totale de métal dans l'échantillon.

### **I.12.4- VITESSE D'AGITATION**

Ce paramètre joue un rôle important. En effet, pendant la pré-électrolyse, l'apport du métal vers la goutte est assuré par la diffusion et la convection, ce qui agit sur le rendement du dépôt métallique [123]. Les mesures sont ainsi faites avec une agitation pour homogénéiser la solution le plus rapidement possible, ce qui permet de réduire la couche de diffusion autour de la goutte de mercure [124]. Pour les grandes vitesses d'agitation, on assiste parfois à la chute de la goutte et à la création de bulles d'air dans la solution, ce qui est gênant pour la reproductibilité des mesures. L'application d'un mouvement de rotation à l'électrode de travail (électrode solide) améliore sa sensibilité. La rotation s'effectue autour d'un axe rotatif à une vitesse

constante et tend à réhomogénéiser le liquide appauvri en substances. La durée de l'agitation est fonction de la durée de la préconcentration, car les deux processus sont généralement simultanés.

#### **I.12.5- VITESSE DE BALAYAGE**

Dans les méthodes électroanalytiques la hauteur du pic permet de déterminer la concentration d'analyte dans la solution. D'une façon générale, la hauteur du pic dépend de deux facteurs important : la concentration et la vitesse de balayage. L'intensité du courant (hauteur de pic) est proportionnelle à la concentration d'analyte lors de l'étape du dépôt. Quand la vitesse de balayage varie vers des valeurs supérieures, la hauteur du pic devient plus étroite, donc la hauteur du pic augmentera. Cependant si les mêmes conditions de dépôt sont utilisées et une vitesse de balayage choisie est fixée, la hauteur du pic doit être proportionnelle à la concentration de l'analyte dans la solution. La vitesse de balayage ( $\text{mV s}^{-1}$ ) doit être choisie pour donner une meilleur réponse et une bonne réversibilité.

#### **I.12.6- AMPLITUDE ET LA DUREE D'IMPULSION**

L'amplitude des impulsions doit permettre d'obtenir une bonne sensibilité et une sélectivité satisfaisante [125]. Une impulsion modulée est surimposée à chaque valeur de potentiel dispensée pendant le balayage. L'amplitude d'impulsion dépend de la résolution et de la sensibilité de l'analyse : une amplitude élevée augmente la sensibilité de la méthode mais diminue la résolution, une amplitude plus basse diminue la sensibilité mais augmente la résolution. Il faut donc choisir une valeur d'amplitude adaptée au type d'analyse ou d'échantillon. En polarographie impulsionnelle la mesure du courant se fait avant et après l'application d'impulsion. Pendant ce court intervalle de temps, la surface de la goutte n'a pas changé. Ce choix du moment de la mesure permet à la double couche, qui se charge rapidement, de se décharger [10].

#### **I.13- GENERALITES SUR LES ELEMENTS TRACES**

L'analyse d'éléments à l'état de traces concerne des secteurs d'activité aussi variés que les technologies de pointe, les domaines de la santé, de l'environnement ou

de la géochimie. La demande la plus communément formulée consiste en la détermination de la teneur globale en un ou plusieurs éléments dans des matrices de toutes natures et de toutes origines. Plus de la moitié des analyses concerne des analytes à des concentrations très faibles, dites à l'état de trace et d'ultra-trace. La notion de trace est en relation avec les concentrations massiques correspondantes. Par convention, un composé est dit à l'état de trace dans un échantillon lorsqu'il est présent à une concentration inférieure à 1 000 ppm. Au-dessous du  $\text{mg L}^{-1}$  ou du  $\text{mg kg}^{-1}$ , un analyte est considéré comme étant à l'état d'ultra-trace.

Les organismes vivants ont évolué en présence des éléments métalliques et certains métaux sont mêmes essentiels et nécessaires aux processus biologiques : ce sont les oligo-éléments. Le terme oligoéléments (ou éléments-trace) désigne les éléments trouvés d'une manière constante à l'analyse chimique des organismes vivants, mais en très faibles quantités (de l'ordre du milligramme ou microgramme). À trop faible dose, ils provoquent des carences dans l'organisme, mais ils deviennent toxiques à haute dose. Ils sont des cofacteurs enzymatiques impliqués dans toutes les grandes voies métaboliques et notamment dans la protection contre les espèces radicalaires. Les éléments-trace sont des nutriments sans valeur énergétique mais dont la présence est essentielle au métabolisme.

Les éléments traces peuvent être répartis en deux catégories :

☆ La première rassemble les éléments qui, présents à l'état de traces, sont essentiels à la croissance et au métabolisme. Les éléments suivants en font partie : Fe, Zn, Cu, Se, Cr, Co, Mn, Ni, V, Mo, Sn. Lorsque la concentration de ces éléments est trop faible, un phénomène de carence est donc observable (pour ces organismes). Pour autant, une forte augmentation de la concentration en ces éléments peut aboutir à des phénomènes de toxicité.

Certains minéraux n'existent qu'en quantité faible ou infime, les principaux d'entre eux sont le zinc, le cuivre, le manganèse, le sélénium, le silicium, le cobalt, le chrome, etc. Malgré leur faible dosage, les oligo-éléments jouent un rôle important dans le métabolisme ; la carence ou l'excès en ces oligo-éléments essentiels étant la cause de nombreuses maladies et anomalies [126]. Les troubles dus à leur carence doivent pouvoir être prévenus ou corrigés par l'apport de ce seul élément [127].

D'autres minéraux existent en quantité forte ou assez forte, ce qu'on désigne par quantité pondérale. Citons dans ce cadre le chlore, l'iode, le sodium, le potassium, le calcium, le magnésium et le fer.

☆ La deuxième catégorie est quant à elle constituée d'éléments toxiques, non nécessaires à la croissance des organismes vivants, tels que le cadmium, le plomb, le mercure, l'argent. L'ensemble des ces éléments peut être d'origine naturelle mais leurs concentrations sont généralement soumises aux activités anthropiques générant d'importantes pollutions.

À l'inverse des composés organiques, les éléments traces ne se transforment pas en d'autres composés, néanmoins, ils peuvent se présenter sous différentes formes physico-chimiques dans l'environnement. La détermination de ces éléments, sous ses différentes espèces, permet d'évaluer leur mobilité et leur bio-accumulation, c'est-à-dire, au final, leur toxicité. Par exemple, le chrome se trouve dans le sang, sous deux formes trivalente Cr (III) et hexavalente Cr (VI). L'expérimentation a mis en évidence le caractère très toxique du Cr (VI), comparativement au chrome élémentaire et à ses composés trivalents Cr (III). Certains de ces éléments possèdent un caractère ambivalent, c'est-à-dire qu'ils sont à la fois essentiels et toxiques (par exemple Se, Cr, Ni, Si, I, etc.).

Les éléments métalliques ont en effet la propriété de se fixer sur des protéines et ainsi de modifier la structure moléculaire et le mode d'action de ces dernières. Ces modifications de structure peuvent être essentielles à la bonne fonctionnalité de certaines protéines, ou au contraire induire un effet toxique en les inactivant. Les organismes sont capables, dans une certaine mesure, d'utiliser et de réguler les concentrations en métaux qui leur sont essentiels. Des effets toxiques apparaissent lorsque cette régulation ne peut plus avoir lieu.



- [1] M. Pourbaix. Atlas d'équilibres électrochimiques, Gauthier-Villars, Paris, 1963, p. 40.
- [2] I. Naranjo Rodriguez, J.L. Hidalgo de Cisneros. Organic analysis in environmental samples by electrochemical methods. Encyclopedia of Analytical Chemistry: Instrumentation and Application. John Sons, United Kingdom, 4(2000) 3035-3064.
- [3] Vogel's. Quantitative chemical analysis. Longman Scientific & Technical, 5<sup>ème</sup> édition 1989.
- [4] N. Tiwangye. An overview of electroanalytical methods to trace element speciation in natural waters. Symposium in Analytical Chemistry, Uganda 1995.
- [5] F. Bedioui. Voltampérométrie sur électrode solide: Introduction. *Éditions Techniques de l'Ingénieur.*, P 2125(1999)1-4.
- [6] B. Trémillon. Electrochimie Analytique et réactions en solution, Tome 2 -Réactions et méthodes électrochimiques, éd. Masson (Paris), 1993.
- [7] J.-P. Launay. Réduction électrochimique du tungstène(VI) dans l'acide chlorhydrique concentré. *J. Electroanal. Chem.*, 54(1974)197-207.
- [8] J. Buffle et al. Contribution a l'étude du dosage de submicrotraces de fer par polarographie inverse sur goutte de mercure pendante: II. Étude des réactions secondaires. *J. Electroanal. Chem.*, 23(1969)89-98.
- [9] L. Nyholm, G. Wunark. Anodic stripping voltammetry of copper at ex situ-formed mercurycoated carbon fibre microelectrodes in the presence of low concentrations of supporting electrolyte. *Anal. Chem. Acta.*, 273(1993)41-51.
- [10] Z. Kamala. Introduction to polarography and allied techniques. 2<sup>nd</sup> edition, New Age International Pvt Ltd Publishers. 2006.
- [11] M. Heyrovsky. Jaroslav Heyrovsky and Polarography. Resonance., (Sept 2004)2-7.
- [12] A.J. Bard., L.R. Faulkner. Electrochimie, Principes, méthodes et applications, Masson, (1983)791p.
- [13] H. Lund, O. Hammerich. Organic electrochemistry fourth edition revised and expanded. Marcel Dekker, INC 2001.
- [14] O. Sock et al. Mécanismes de reduction electrochimique de complexes acetylacetonates de metaux de transition. *Electrochimica Acta.*, 26(1981)99-109.
- [15] Z. Borkowska et al. Double layer structure at the mercury/N-methylformamide interface. *J. Electroanal. Chem.*, 124(1981)263-275.
- [16] A.M. Bond et al. Techniques and procedures for polarography in anhydrous hydrogen fluoride: Fabrication of a teflon DME by electrical discharge. *J. Electroanal. Chem.*, 39(1972)137-146.

- [17] C. Lamy, P. Malaterre. Analyse théorique du fonctionnement et de la stabilité d'un système potentiostatique a large bande passante avec correction automatique de chute ohmique. *J. Electroanal. Chem.*, 32(1971)137-151.
- [18] J. Tacussel. Facteurs déterminant le temps de réponse d'un potentiostat. Technique nouvelle pour la mise en oeuvre de la méthode de la "préimpulsion" potentiostatique. *J. Electrochimica. Acta.*, 11(1966)437-447.
- [19] A.J. Bard, L.R. Faulkner,. Electrochemical methods: Fundamentals and Applications. Wiley J. and Sons(Eds.) 2001, USA. pp 833.
- [20] R. Gauguin et al. Utilisation des courbes de polarisation dans les dosages électrochimiques. *Anal. Chim. Acta.*, 7(1952)172-184.
- [21] C.M.A. BRETT, A.M.O BRETT. Electrochemistry: Principles, Methods and Applications. Oxford Science Publications 1993, New York.
- [22] A.M. Bond, R.J. O'Halloran. Pseudo-derivative d.c. and pulse polarographic methods at short drop times. *J. Electroanal. Chem.*, 68(1976)257-272.
- [23] Y. Saito. Theoretical study of the diffusion current at the stationary electrodes of circular and narrow band. *Rev. Polarogr.*, 15(1968)177-187.
- [24] F. Rouessac, A. Rouessac. Chemical Analysis Modern Instrumental Methods and Techniques. John Wiley & Sons, LTD edition 2000.
- [25] V.M.M. Lobo, R. Mills. Tracer diffusion of cadmium and mercury in mercury over the temperature range 283-333 K. *Electrochimica. Acta.*, 27(1982)969-971.
- [26] H.C. Gaur, H.L. Jindal. On the applicability of the Heyrovsky-Ilkovic equation to polarography in molten salts using a solid microelectrode. *J. Electroanal. Chem.*, 16(1968)437-439.
- [27] H.H. Bauer, G.D. Christian and J.E. O'Reilly. Instrumental Analysis, Edited by, Inc. (1978).
- [28] D.R. Crow, S.L. Ling. Computer calculation of activation energies of irreversible electrode processes at a dropping mercury electrode. *Talanta.*, 19(1972)915-925.
- [29] P.T. Kissinger, W.R. Heinemann. Laboratory techniques in electroanalytical Chemistry. Marcel Dekker 1984, New York.
- [30] M. Steinberg, N.H. Nachtrieb. Characteristics of the dropping mercury electrode in fused salt. *J. American Chemical Society.*, 70 (1948)2613-14.
- [31] M. Steinberg, N.H. Nachtrieb. Polarography in fused salt. *J. American Chemical Society.*, 72 (1950)3558-3565

- [32] D. Ilkovic. Polarographic Studies With the Dropping Mercury Kathode. Part XLIV. The Dependence of Limiting Currents on the Diffusion Constant, on the Rate of Dropping and on the Size of Drops. *Coll. trav. chem. Tchecoslov.*, 6(1934)498-513.
- [33] M. Gerischer. The discharge mechanism of simple and complex zinc ions. *Z. Phys. Chem.*, 202(1953)302-317.
- [34] J.A. Rodrigues et al. Flow injection square wave cathodic stripping voltammetric determination at a hanging mercury drop electrode of rapidly reduced compounds: Determination of diacetyl in wine as 2, 3-dimethylquinoxaline. *Anal. Chim. Acta.*, 449(2001)119-127.
- [35] K.C. Tsaur, R. Pollard. Analysis of the static mercury drop electrode below the limiting current. *J. Electroanal. Chem.*, 172(1984)131-143.
- [36] A. Frumkin et al. Hydrogen evolution from alkaline solutions on metals of high. *Electrochimica Acta.*, 15(1970)289-301.
- [37] V. Vyskočil et al. The Current Role of Polarography in the Light of the Coming 90th Anniversary of Its Discovery (A Reflection). *Sensing in Electroanalysis.*, 6(2011)9-21.
- [38] J. Galceran et al. Agnes a new electroanalytical technique for measuring free. *J. Electroanal. Chem.*, 566(2004)95-109.
- [39] M.A. Ferreira, A.A. Barros. Determination of As(III) and arsenic(V) in natural waters by cathodic stripping voltammetry at a hanging mercury drop electrode. *Anal. Chim. Acta.*, 459(2002) 151-159.
- [40] Ed. Martin, D. Monnier, W. Haerdi. Étude des facteurs intervenant dans le dosage de traces de cadmium par polarographie avec redissolution anodique (ou polarographie inverse; anodic stripping). *Anal. Chim. Acta.*, 34(1966)64-70.
- [41] G.H. Nancollas, C.A. Vincent. The dropping mercury electrode in aqueous potassium chloride solution. *Electrochimica Acta.*, 10(1965)97-105.
- [42] A.M. Shafiqul Alam et al. Étude du sélénium (IV) en milieu acide par polarographie classique, et à tension alternative, et par voltammétrie à balayage linéaire. *J. Electroanal. Chem.*, 61(1975)191-204.
- [43] M.A. El Mhammedi, M. Achak, M. Hbid, M. Bakasse, T. Hbid, A. Chtaini. Electrochemical determination of cadmium(II) at platinum electrode modified with kaolin by square wave voltammetry. *J. Hazardous Materials.*, 170(2009)590-594.
- [44] H. Zejli, J.L. Cisneros, I. Naranjo-Rodriguez, K.R. Temsamani. Stripping voltammetry of silver ions at polythiophene-modified platinum electrodes. *Talanta.*, 71(2007)1594-1598.

- [45] J.M. Pinilla, L. Hernandez, A.J. Conesa. Determination of mercury by open circuit adsorption stripping voltammetry on a platinum disk electrode. *Anal. Chim. Acta.*, 319(1996)25-30.
- [46] F. Mohd, Noh. MD, I. Tohill. Development and characterisation of disposable gold electrodes, and their use for lead(II) analysis. *Anal. Bioanal. Chem.*, 386(2006)2095.
- [47] Y. Bonfil, M. Brand, E. Kirowa-Eisner. Characteristics of subtractive anodic stripping voltammetry of Pb and Cd at silver and gold electrodes. *Anal. Chim. Acta.*, 464(2002)99-114.
- [48] V. Beni et al. Voltammetric behaviour at gold electrodes immersed in the BCR sequential extraction scheme media - Application of underpotential deposition-stripping voltammetry to determination of copper in soil extracts. *Anal. Chim. Acta.*, 502(2004)195-206.
- [49] E. Kirowa-Eisner, M. Brand, D. Tzur. Determination of sub-nanomolar concentrations of lead by anodic-stripping voltammetry at the silver electrode. *Anal. Chim. Acta.*, 385(1999)325-335.
- [50] C. Urbaniczky et K. Lundstrom. Voltammetric studies on carbon paste electrodes: The influence of paste composition on electrode capacity and kinetics . *J. Electroanal. Chem.*, 176 (1984)169-182.
- [51] I. Svancara et al. Perspectives of Carbon Paste Electrodes in Stripping Potentiometry. *Analytical Science.*, 18(2002)301-305.
- [52] I. Svancara et al. Carbon Paste Electrodes in Modern Electroanalysis. *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 31(2001)311-345.
- [53] L.S. Rocha et al. Evaluation of nanometer thick mercury film electrodes for stripping chronopotentiometry. *J. Electroanal. Chem.*, 610(2007)37-45.
- [54] S.B. Khoo, S.X. Guo. Rapidly Renewable and Reproducible Mercury Film Coated Carbon Paste Electrode for Anodic Stripping Voltammetry. *Electroanalysis.*, 14(2002)813-822.
- [55] W.E. Van der Linden, J.W. Dieker. Glassy carbon as electrode material in electro-analytical chemistry. *Anal. Chim. Acta.*, 119(1980)1-24
- [56] J. Wang. Analytical Electrochemistry, Wiley-VCH, 2nd edition 2000. USA.
- [57] J. Di, F. Zhang. Voltammetry determination of trace manganese with pretreatment glassy carbon electrode by linear sweep voltammetry. *Talanta.*, 60(2003)31-36.
- [58] H. Mathieu et al. Développement d'une méthode de dosage de la plombémie par chronopotentiométrie. *Ann. Biol. Clin.*, 61(2003)667-672

- [59] P. Chandrasekhar. Conducting polymers, fundamentals and applications. A practical approach ; Kluwer Academic Publishers, Boston (1999).
- [60] H. Shirakawa et al. Synthesis of electrically conducting organic polymers: halogen derivatives of polyacetylene, (CH)<sub>x</sub>. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 16(1977)578-580.
- [61] R.F. Lane, A.T. Hubbard. Electrochemistry of chemisorbed molecules. I. Reactants connected to electrodes through olefinic substituents. *J. Phys. Chem.*, 77(1973)1401-1410.
- [62] M. Ozsoz et al. Clay/sol-gel-modified electrodes for the selective electrochemical monitoring of 2,4-dichlorophenol. *Langmuir.*, 19(2003)4728-4732.
- [63] M.E. Abdelsalam, G. Denuault, S. Daniele. Calibrationless determination of cadmium, lead and copper in rain samples by stripping voltammetry at mercury microelectrodes – Effect of natural convection on the deposition step. *Anal. Chim. Acta.*, 452(2002)66-75.
- [64] C.L. Colyer, D. Luscombe, K. B. Oldham. Growth of mercury electrodeposits on an inlaid disc. Voltammetric theory and experiments. *J. Electroanal. Chem.*, 283(1990)379-387.
- [65] A.S. Baranski, H. Quan. Potentiometric stripping determination of heavy metals with carbon fiber and gold microelectrodes. *Anal. Chem.*, 58(1986)407-412.
- [66] A.S. Baranski. Rapid anodic stripping analysis with ultramicroelectrodes. *Anal. Chem.*, 59(1987)662-666.
- [67] T.W. Hamilton, J. Ellis, T.M. Florence. Determination of arsenic and antimony in electrolytic copper by anodic stripping voltammetry at a gold film electrode. *Anal. Chim. Acta.*, 119(1980)225-233.
- [68] W.R. Heinemann, P.T. Kissinger. Analytical electrochemistry: methodology and applications of dynamic techniques. *Anal. Chem.*, 52(1980)138R-151R.
- [69] J.P. Riley, Hongkan Guy. A physically coated mercury film electrode for anodic stripping voltammetry. *Anal. Chim. Acta.*, 130(1981)199-201.
- [70] L. Hernandez et al. Determination of cadmium(II) with a carbon paste electrode modified with an ion-exchange resin. *Analyst.*, 114(1989) 397-399.
- [71] D.W. Arrigan. Voltammetric determination of trace metals and organics after accumulation at modified electrodes. *Analyst.*, 119(1994)1953-1966.
- [72] P. Suciú et al. Determination of cadmium by differential pulse adsorptive stripping voltammetry. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 23(2000)99-106.
- [73] O. Vittori. Polarographie. *Edition Techniques de l'Ingénieur.*, P 2135(1988)1-51.

- [74] R. Tamamushi et al. Current-time characteristics of the rapidly dropping mercury electrode. *Anal. Chim. Acta.*, 23(1960)585-591.
- [75] M. Bos. Kalman filtering for the evaluation of the current-time function in d.c. polarography. *Talanta.*, 33(1986)583-586
- [76] A.M. Bond. Some Data for the electroanalytical use of fundamental, second and third harmonic alternating current polarography. *J. Electroanal. Chem.*, 35(1972)343-361.
- [77] H. Girault. Electrochimie physique et analytique. *Presses polytechniques et universitaires romandes.*, 2001.
- [78] S. Ching, R. Dudek, E. Tabet. Cyclic Voltammetry with Ultramicroelectrodes. *J. Chem. Educ.*, 71(1994)602-605.
- [79] J.B. Randles. A cathode ray polarograph. Part II.-The current-voltage curves. *J. Chem. Soc., Faraday Trans.*, 44(1948)327-338.
- [80] A. Sevcik. Oscillographic Polarography with Periodical, Triangular Voltage. *Coll. Czech. Chem. Comm.*, 13(1948)349-377.
- [81] R.S. Nicholson, I. Shain. Theory of Stationary Electrode Polarography. Single Scan and Cyclic Methods Applied to Reversible, Irreversible, and Kinetic Systems. *Anal. Chem.*, 36(1964)706-723.
- [82] Southampton Electrochemistry Group, Instrumental Methods in Electrochemistry, Ellis Horwood, London, 1990.
- [83] H. Matsuda and Y. Ayabe. Zur theorie der Randles-Sevcikschen kathodenstrahl-polarographie. *Z. Electrochem.*, 59(1955)494-503.
- [84] I. Ruzig. On the theory of Kalousek commutator, square-wave and related techniques: I. Equations for current-potential curves. *J. Electroanal. Chem.*, 39 (1972)111-122.
- [85] C. Peker et al. Polarographie à impulsions I. Caractéristiques de la méthode et performances du polarographe À impulsions. *Z.*, (1957)154-276.
- [86] D. Hauchard. Polarographie - principes d'application et mise en oeuvre des techniques polarographiques. *Éditions Techniques de l'Ingénieur.*, p2136(2011)1-30.
- [87] A.M.S. Roque da Silva et al., Electrochemical studies and square wave adsorptive stripping voltammetry of the antidepressant fluoxetine. *Talanta.*, 49(1999)611-617.
- [88] G.C. Barker, A.W. Gardner, M.J. Williams. A multi-mode polarograph. *J. Electroanal. Chem. Interfacial. Electrochem.*, 42(1973)21-26.
- [89] R. Inam, G. Somer, Determination of selenium in garlic by cathodic stripping voltammetry. *Food Chem.*, 66(1999)381-385.

- [90] M. Pinta. Methods physico-chimiques utilisées dans la détermination des traces. *Extrait de la revue du GAMS.*, 2(1968)179-192.
- [91] J.H. Christie, R.A. Osteryoung. Direct current effects in pulse polarography at the dropping mercury electrode. *J. Electroanal. Chem. Interfacial. Electrochem.*, 49(1974)301-311.
- [92] H. Girault. Electrochimie physique et analytique. 2e édition, Presses polytechniques et universitaires romandes 2007.
- [93] V. Lakshminarayanan. polarography. *Resonance.*, (Sept 2004)51-61.
- [94] C. Locatelli, G. Torsi. Voltammetric trace metal determinations by cathodic and anodic stripping voltammetry in environmental matrices in the presence of mutual interference. *J. Electroanal. Chem.*, 509(2001)80-89.
- [95] P. Valenta et al. New potentialies in ultra trace analysis with differential pulse anodic stripping voltammetry. *J. Electroanal. Chem.*, 82(1977)327-343.
- [96] C. Locatelli, G. Torsi. Determination of Se, As, Cu, Pb, Cd, Zn and Mn by anodic and cathodic stripping voltammetry in marine environmental matrices in the presence of reciprocal interference. Proposal of a new analytical procedure. *Microchemical Journal.*, 65(2000)293-303.
- [97] G. Quarin et al. Comportement faradique de la mitoxantrone adsorbée a l'électrode à goutte de mercure. *Electrochimica. Acta.*, 37(1992)2059-2066.
- [98] K.I. Popov et al. Fundamental aspects of electrometallurgy. Kluwer Academic Publishers New York 2002.
- [99] H.C. Gaur, H.L. Jindal. Polarography in molten magnesium chloride-potassium chloride as solvant. *J. Electroanal. Chem.*, 23(1969)289-303.
- [100] K.N. Thomsen et al. A flexible instrument for voltammetry, amperometry and stripping potentiometry. *Anal. Chim. Acta.*, 293(1994)1-17.
- [101] J.A. Rodrigues et al., Increased sensitivity of anodic stripping voltammetry at the hanging mercury drop electrode by ultracathodic deposition. *Anal. Chim. Acta.*, 701(2011)152-156.
- [102] E. P. Achterberg, C. Braungardt. Stripping voltammetry for the determination of trace metal speciation and in-situ measurements of trace metal distributions in marine waters. *Anal. Chim. Acta.*, 400(1999)381-397.
- [103] R. Al-Farawati, C.M.G. Van Den Berg. The determination of sulfide in seawater by flow analysis with voltammetric detection. *Marine Chemistry.*, 57(1997) 277-286.
- [104] I. Pižeta, M. Branica., Simulation and fitting of anodic stripping voltammetry data for determination of the metal complexing capacity. *Anal. Chim. Acta.*, 351(1997)7382.

- [105] J. Wang, Recent advances in stripping analysis. *Fresenius' J Anal Chem.*, 337(1990)508-511.
- [106] P. Delahay, G. Mamantov. Voltammetry at Constant Current: Review of Theoretical Principles. *Anal. Chem.*, 27(1955)478-483
- [107] D. Hauchard. Polarographie-techniques polarographiques en analyse. *Éditions Techniques de l'Ingénieur.*, p2135(2008)1-5.
- [108] A.M. Bond. Polarographic procedures without removal of oxygen, and other approaches to making the determinations more rapidly. *Talanta.*, 20(1973)1139-1152.
- [109] H.B. Mark, C.N. Reilley. A sensitive polarographic technique. *J. Electroanal. Chem.*, 3(1962)54-63.
- [110] B.D. Epstein, E. Dalle-Molle et J.S. Mattson. Electrochemical investigations of functional groups on isotropic pyrolytic carbon. *Carbon.*, 9(1971)609-615.
- [111] G.C. Barker. The influence of interactions between electrode processes on the structure of the equivalent electrical circuit for the electrode-solution interface. *J. Electroanal. Chem.*, 40(1972)45-62.
- [112] T. Yano et al. Electrochemical behavior of highly conductive boron-doped diamond electrodes for oxygen reduction in alkaline solution. *J. electrochemical society.*, 145(1998)1870-1876.
- [113] R. Inam, G. Somer. Simultaneous determination of selenium and lead in whole blood samples by differential pulse polarography. *Talanta.*, 46(1998)1347-1355.
- [114] B. Raspor, P. Valenta. Adsorption of humic substances isolated from marine and estuarine sediments. *Marine Chemistry.*, 25(1988)211-226.
- [115] I. Pizeta, et al. The influence of data treatment on the interpretation of experimental results in voltammetry. *Analytica. Chimica. Acta.*, 401(1999)163-172.
- [116] B. Speiser. Methods to investigate mechanisms of electroorganic Reactions. *Encyclopedia of Electrochemistry.*, 2007.
- [117] M. Ciszowska, Z. Stojek. Voltammetry in solutions of low ionic strength. *J. Electroanal. Chem.*, 466(1999)129-143.
- [118] P. Zanello. Inorganic electrochemistry theory, practice and application. *The Royal Society of Chemistry.*, 2003.
- [119] T.U. Auaitia, W. F. Pickering. Anodic stripping voltammetric study of the lability of Cd, Pb, Cu ions sorbed on humic acid particles. *Wat. Res.*, 20(1986)1397-1406.
- [120] D. Monnier et al. Étude analytique et dosage de micro- et submicro-traces de manganèse par polarographie inverse. *Anal. Chim. Acta.*, 34(1966)346-359.



[121] P. Nangniot, P.H. Martens. Application de la chrono-ampérométrie par redissolution anodique au dosage de traces d'acétate de triphényl-étain. *Analytica. Chimica. Acta.*, 24(1961)276-279.

[122] J. Wang et al. Adsorptive stripping voltammetric measurements of trace beryllium at the mercury film electrode. *Analytica. Chimica. Acta.*, 564(2006) 248-252.

[123] M.A. Christopher et al. DC anodic stripping voltammetry at mercury thin film electrodes : the shape and position of the stripping peaks at hydrodynamic electrodes. *J. Electroanal. Chem.*, 262(1989)83-95.

[124] I. Petersson, E. Ahlberg. Kinetics of the electrodeposition of Pb-Sn alloys Part II. At polycrystalline gold electrodes. *J. Electroanal. Chem.*, 485(2000)178-187.

[125] R.M. Town et al. A versatile macro to micro-size stationary mercury drop electrode. *Anal. chim. Acta.*, 302(1995)1-8.

[126] E.J. Underwood. Factors influencing trace element needs and tolerances in man. *Marine Pollution Bulletin.*, 5(1974)86-88.

[127] B. Jacotot, B. Campillo. Nutrition humaine, Masson, Paris, 2003

# *CHAPITRE : II*

<b>CHAPITRE II : MATÉRIELS ET METHODES</b>
--

## **II.1- REACTIFS UTILISES ET ELIMINATION DES CONTAMINANTS**

### **II.1.1- ELECTROLYTE SUPPORT**

Il n'existe pas d'électrolyte support universel et son choix va dépendre des substances analysées et des réactions électrochimiques mises en jeu, l'électrolyte support utilisé dans ce travail est l'acide perchlorique (HClO<sub>4</sub>) (Merck<sup>®</sup>, 70-72%) ainsi que l'acétate de potassium préparé à partir de l'acide acétique (Fluka<sup>®</sup>, pureté supérieure à 99,0%) et l'hydroxyde de potassium (Prolabo<sup>®</sup>, Analysis min 86,0%).

### **II.1.2- REACTIFS ET PRODUITS UTILISES**

Les réactifs habituels de classe pour analyses contiennent souvent des impuretés à l'état de traces qui sont sans importance pour la plupart des usages analytiques, mais qui peuvent s'avérer trop contaminants en voltampérométrie par redissolution. Cela est particulièrement vrai si des métaux lourds sont impliqués. Il est donc nécessaire d'utiliser des réactifs de très haute pureté.

-/ Les acides utilisés pour l'analyse et la minéralisation du sang sont :

- \*/ l'acide nitrique (Fluka<sup>®</sup>, 69,5 %),
- \*/ l'acide perchlorique (Merck<sup>®</sup>, 70-72 %),
- \*/ l'acide chlorhydrique (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, 37%).

-/ Les produits commerciaux suivants ont été utilisés sans purification supplémentaire :

- \*/ le 4-éthyle-3-thiosemicarbazide (Sigma-Aldrich<sup>®</sup>, 97%).
- \*/ l'hydrazide de benzène sulfonyl (Aldrich<sup>®</sup>, 98%).

-/ Les solutions étalon de métaux utilisées ont été préparées à partir des solutions suivantes:

- \*/ Zinc (Atomic absorption, standard solution. 1000 mg mL<sup>-1</sup> dans 2 wt % HNO<sub>3</sub>, Fluka<sup>®</sup>).

\*/ Se (Atomic absorption, standard solution / ICP. 1006 mg ml<sup>-1</sup> dans 2-5 wt % HNO<sub>3</sub>, Fluka®).

\*/ Cd (Atomic absorption, standard solution. 1000 ppm dans 5 wt % HNO<sub>3</sub>, Specpure®).

\*/ Pb (Atomic absorption, standard solution. 1000 ppm dans 5 wt % HNO<sub>3</sub>, Specpure®).

\*/ Cu (Atomic absorption, standard solution. 1000 mg ml<sup>-1</sup> dans 2 wt % HNO<sub>3</sub>, Fluka®).

Les concentrations de ces métaux sont choisies en fonction de celles attendues dans les échantillons analysés. Toutes les solutions sont préparées avec de l'eau ultra pure obtenue à l'aide d'un système de purification d'eau MilliQ Gradient A10 (résistivité 18,2 MΩ cm).

### **II.1.3- ELIMINATION DES CONTAMINANTS**

Tout au long de ce processus, un soin tout particulier est apporté pour limiter les contaminations qui peuvent influencer l'analyse de traces. La verrerie et les réactifs chimiques font l'objet d'une attention spécifique : par exemple, les réactifs ne s'utilisent qu'ultra-propres et donc ne contenant que très peu d'impuretés ; ou encore, la verrerie ne s'emploie que neuve, systématiquement rincée à l'aide de solutions acides très pures et à usage unique, par crainte des effets mémoires résultant de l'adsorption d'une faible proportion des contaminants sur les parois, l'élimination des contaminants au niveau des parois de la verrerie se font par l'utilisation d'ultrason. Chaque dosage a été précédé d'un nettoyage poussé des électrodes et de la cellule électrolytique à l'acide nitrique 10% et d'un rinçage par l'eau ultra-pure. L'absence de contamination a été vérifiée systématiquement par passage d'un blanc constitué de 10 mL de l'électrolyte support.

### **II.2- APPAREILLAGE UTILISE**

Les mesures de concentrations totales en métaux ont été réalisées sur un TraceLab 50. Il est constitué de l'analyseur polarographique POL150, du stand de mesure MDE150 et du logiciel PC TraceMaster 5. Le MDE150 est composé d'une électrode de mercure à goutte pendante (HMDE), d'une électrode de référence (Ag/AgCl/KCl 3M) et d'une électrode auxiliaire en platine. La formation des gouttes de

mercure, et leur maintien au bout du capillaire, sont assurés par un système entièrement pneumatique (N<sub>2</sub> ultra-pur). La solution est agitée à l'aide d'un agitateur magnétique. L'appareillage est installé sous une hotte pour minimiser les contaminations.

Les techniques électrochimiques par redissolution ne se prêtent pas à la détermination de concentrations en métaux à l'aide d'une courbe de calibration, à l'inverse des techniques spectroscopiques par exemple. En effet, elles sont trop sensibles aux conditions de mesure (T, P, pH, vitesse d'agitation,...), il faut donc avoir recourt à des ajouts dosés. Cependant, ces expériences étant souvent longues, et la solution standard concentrée, ce système génère des micro-contaminations qui peuvent ne pas être négligeables et donc entraîner un biais dans les concentrations mesurées.

D'autres électrodes ont été utilisées de manière beaucoup plus marginale au cours de cette thèse. Quelques essais ont été réalisés avec des électrodes de carbone vitreux, électrode de graphite, électrode de platine et électrode d'or, sans être vraiment satisfaisants par rapport aux électrodes habituelles (Mercure). La partie mobile de l'électrode est reliée à un moteur assurant la rotation à vitesse constante du disque et de l'anneau. La surface des électrodes solides sont nettoyées par polissage sur un nylon sur lequel est déposé une suspension aqueuse d'alumine 0,05 µm. La cellule et les électrodes sont nettoyées entre chaque nouvelle solution à l'acide nitrique 10% puis rincées à l'eau milliQ [1]. Il faut signaler aussi que les actions de marteau, réglage de la taille de goutte (temps de croissance de la goutte), agitation et dégazage sont toutes opérées depuis le PC via TraceMaster 5, développé par Radiometer Analytical. La programmation d'expériences constituées d'une suite de mesure DPASV et ou DPCSV est donc facilitée.

### **II.3- PROCEDURE DE MINERALISATION DU SANG**

Les échantillons biologiques représentent un véritable défi pour les analystes. D'une part, les différents éléments cibles sont souvent présents en faible concentration dans une matrice complexe, contenant des composés organiques et des sels en grande quantité pouvant interférer lors de l'analyse, et dont la composition varie selon les types d'échantillons. La première difficulté concerne le prélèvement des

échantillons naturels. Il doit s'effectuer de manière à représenter les variations spatiales et temporelles des concentrations ainsi que les formes chimiques des espèces à caractériser. Viennent ensuite les contraintes de transport et de stockage de ces échantillons : n'engendrer ni contamination, ni perte, ni transformation des analytes.

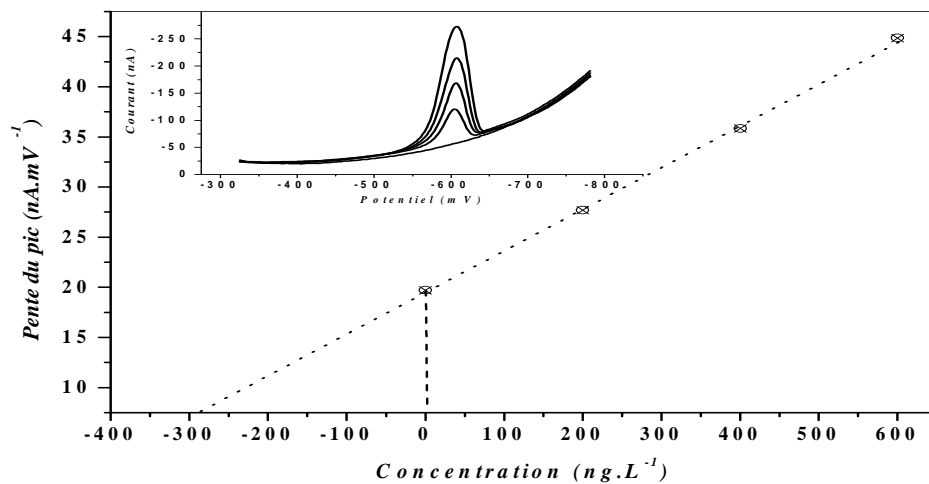
La minéralisation est une étape importante pour la détermination d'éléments traces, elle permet de détruire la matière organique et obtenir des solutions contenant la teneur totale des éléments présents dans la prise d'essai. Cependant, la minéralisation doit être réalisée d'une telle manière que l'analyte est séparé de sa matrice sans perte ni contamination, ni destruction de la structure moléculaire de l'analyte. La plupart des méthodes de minéralisation par voie humide font appel à des mélanges d'agents acides et oxydants. Le composé le plus communément utilisé dans les mélanges d'attaque est l'acide nitrique. Son action est souvent renforcée par l'acide perchlorique, qui permet de dégrader les composés organiques les plus résistants et d'augmenter la température d'ébullition du mélange.

Nous avons utilisé pour la minéralisation du sang, un ballon de 50 mL à fond plat et col long (pour assurer un reflux convenable des vapeurs d'acide et prolonger ainsi leur action). A 1 mL de sang (prélevé à jeun) sont ajoutés dans le ballon, 3 mL d'acide nitrique et 1 mL d'acide perchlorique (3 : 1). La température est maintenue à 150°C pendant 4 heures (pour éviter l'explosion du  $\text{HClO}_4$ ). Cette température est ensuite fixée à 280°C, jusqu'à évaporation quasi totale du contenu. Après refroidissement, nous ajoutons le même mélange d'acides au résidu, puis nous laissons évaporer jusqu'à obtention d'un résidu sec ; ensuite nous laissons refroidir. Enfin on ajoute 1 mL de HCl, et on chauffe jusqu'à évaporation complète. Ce résidu est repris par 5 ml d'acide nitrique à 0,25% [2], et conservé dans des tubes en polyéthylène (préalablement nettoyés à l'acide nitrique 10% et à l'eau ultra-pure). Dans le cas présent, les mélanges d'acides forts utilisés permettent, en combinaison avec des températures élevées, de détruire la matière organique et de la transformer en sous-produits de réaction gazeux, qui sont alors éliminés sous la hotte. Il est en fait nécessaire, pour réduire les contaminations, d'utiliser des quantités aussi faibles que possible de réactifs. L'ajout d'acide chlorhydrique joue un rôle très important pour le sélénium (réduction de sélénate en sélénite) [3]. Cette méthode de digestion a été

choisie parmi tant d'autres car elle a donné les meilleurs résultats. Le choix des techniques de préparation des échantillons et de l'analyse proprement dite dépend de la nature de l'échantillon, de la nature des analytes, de leur quantité ainsi que de l'information désirée.

#### II.4- CHOIX DES AJOUTS DOSES

Les techniques électrochimiques par redissolution ne se prêtent pas à la détermination de concentrations en métaux à l'aide d'une courbe de calibration, contrairement aux techniques spectroscopiques par exemple. En effet, ces techniques sont trop sensibles aux conditions de mesure. Il faut donc avoir recours à des ajouts dosés. La figure II.1 montre un exemple de courbes de dosage obtenues par la méthode des ajouts dosés. Une droite est tracée passant par les valeurs de pente de pics (exprimées en  $\text{nA mV}^{-1}$ ) en fonction de la concentration en métal ajouté dans la cellule, en prenant  $0 \text{ ng L}^{-1}$  comme valeur arbitraire initiale pour la concentration du métal dans l'échantillon. L'intersection de la droite obtenue avec l'axe des abscisses détermine l'origine de cet axe et par conséquent la concentration de l'élément dans l'échantillon.



**Figure II.1** Exemple d'une courbe de dosage obtenue par la méthode des ajouts dosés.

L'analyse est répétée 3 à 4 fois puis une gamme en ajouts dosés est réalisée sur chaque échantillon pour tenir compte d'un effet matrice différent entre les échantillons étudiés. Cette gamme est obtenue en enregistrant les réponses

voltampérométriques suite à plusieurs ajouts successifs d'une solution étalon d'une concentration connue du métal à quantifier dans la cellule.

## **II.5- OPTIMISATION DES PARAMETRES ET DES CONDITIONS OPERATOIRES**

### **II.5.1- DETERMINATION DU TEMPS DE BULLAGE D'AZOTE**

Comme il a été mentionné auparavant (Chapitre I), la présence d'oxygène dans la cellule d'analyse provoque des interférences dans les mesures. L'injection d'azote dans la cellule d'analyse permet de chasser l'oxygène et d'éliminer la majeure partie de ces interférences. Différents temps de bullage d'azote ont été testés pour évaluer l'impact sur la mesure de façon à trouver la valeur optimale tout en réduisant le temps total de l'analyse. Pour une première analyse de l'échantillon, un temps de bullage inférieur à 300 s induit des perturbations du signal se traduisant par une augmentation du bruit et donc d'une diminution de la sensibilité de la méthode. Un temps de bullage supérieur à 300 s n'a pas entraîné d'amélioration de la sensibilité de la méthode justifiant son emploi. Nous avons donc retenu un temps de bullage de 300 s pour la première analyse de l'échantillon. L'entrée d'oxygène dans la cellule d'analyse est limitée et le temps de bullage efficace peut être plus court. La durée du bullage d'azote pour les mesures suivantes sur un même échantillon a été recherchée. Un temps de bullage de 60 s. s'est avéré suffisant.

### **II.5.2- TAILLE DE LA GOUTTE**

Elle doit posséder une faible surface afin d'être facilement polarisable et un faible volume afin d'optimiser la concentration de l'espèce électroactive et de minimiser son épuisement dans la solution. Ces caractéristiques doivent être constantes tout au long de la manipulation et reproductibles d'un dosage à l'autre.

### **II.5.3- DUREE D'EQUILIBRAGE**

Après la première étape de préconcentration, l'agitation est arrêtée afin que la convection cesse dans la solution et que la concentration du métal dans l'amalgame soit homogène. Dans la littérature, les valeurs pour ce paramètre oscillent entre 10 et 60



secondes. On a opté pour une durée de 30 secondes comme une durée optimale pour toutes les expériences.

#### **II.5.4- AMPLITUDE ET LA DUREE D'IMPULSION**

Le choix d'une amplitude d'impulsions de 50 mV constitue un bon compromis pour obtenir à la fois une bonne sensibilité et une sélectivité satisfaisante à l'analyse d'échantillons. Toutefois, la durée d'impulsion de 20 ms a été choisie comme une valeur optimale dans cette thèse.

#### **II.6- VALIDATION D'UNE METHODE ANALYTIQUE**

La validation d'une méthode d'analyse est une procédure qui permet d'établir, par des études expérimentales, que les critères de performance de la méthode permettent de répondre aux exigences de l'usage auquel elle est destinée [4]. Rappelons que l'objectif principal d'une méthode analytique de dosage est de pouvoir quantifier le plus justement et le plus précisément possible chacune des quantités inconnues que l'analyste aura à évaluer. Tandis que l'objectif de la validation est de donner au laboratoire et aux autorités des garanties suffisantes que chacune des mesures qui seront réalisées en routine avec une méthode donnée seront proches de la vérité.

A ce stade, il est important de définir certains termes fréquemment rencontrés en validation:

##### **II.6.1- LIMITE DE DETECTION ET DE QUANTIFICATION**

###### **A) LIMITE DE DETECTION**

La limite de détection est la plus petite concentration ou quantité d'un paramètre ou d'un analyte, qui produit un signal détectable avec une fiabilité définie et statistiquement différent de celui produit par un blanc dans les mêmes conditions [5].

###### **B) LIMITE DE QUANTIFICATION**

C'est la plus petite quantité d'une substance à examiner dans un échantillon pouvant être dosée dans les conditions expérimentales décrites avec un coefficient de variation du facteur de réponse acceptable [6]. La limite de quantification est la

concentration équivalente à 10 fois l'écart type obtenu lors de l'établissement de la limite de détection de la méthode (LDM) [7].

$$LQM = 10 \times S \quad (\text{Equation II.1})$$

avec  $LQM$  : limite de quantification d'une méthode ;  
 $S$  : Écart type.

### **II.6.2- FIDELITE (PRECISION)**

La fidélité exprime l'étroitesse de l'accord (degré de dispersion, coefficient de variation) entre une série de mesures provenant des multiples prises d'un échantillon homogène dans les conditions prescrites [8]. Elle est généralement exprimée par le coefficient de variation (CV en %) qui est obtenu en effectuant le rapport entre l'écart-type ( $S$ ) des résultats d'essais et la moyenne ( $m$ ) des réponses observées [9].

$$CV (\%) = \frac{S}{m} \times 100 \quad (\text{Equation II.2})$$

La fidélité traduit uniquement la distribution des erreurs aléatoires et n'a aucune relation avec la valeur vraie ou spécifiée. Les mesures quantitatives de la fidélité dépendent de façon critique des conditions stipulées.

Peuvent ainsi être distinguées les conditions de :

#### **A) REPETABILITE**

Ce sont les conditions où les résultats d'essais indépendants sont obtenus par la même méthode sur des échantillons d'essais identiques dans le même laboratoire, par le même opérateur, utilisant le même équipement et pendant un court intervalle de temps [10]. Il s'agit en fait de mesurer la variabilité des résultats d'une même série c'est-à-dire la mesure de la variabilité intra-groupe.

#### **B) REPLICABILITE**

La répliquabilité est une mesure de la variation des résultats pour des échantillons traités de la même façon à l'intérieur de séquences d'analyse différentes,

c'est-à-dire que les échantillons doivent être analysés en variant au moins l'un des paramètres suivants : la journée d'analyse (*pendant un intervalle de temps donné*), l'analyste ou l'instrument [8].

### C) REPRODUCTIBILITE

Ce sont les conditions où les résultats d'essais indépendants sont obtenus par la même méthode sur les échantillons d'essais identiques dans différents laboratoires, avec différents opérateurs et utilisant des équipements différents. Il s'agit d'une étude inter-laboratoires [8].

#### **II.6.3-SENSIBILITE**

La sensibilité d'une procédure d'analyse peut être définie comme étant le rapport de la variation de la réponse de la méthode d'analyse à la variation de la quantité d'analyte [11]. Une procédure est dite sensible si une faible variation de la concentration ou de la quantité d'analyte entraîne une variation significative de la réponse.

#### **II.6.4- LINEARITE**

L'intervalle de linéarité représente le domaine de concentration exploré lors de la validation des méthodes. Celui-ci doit prendre en considération tous les résultats futurs possibles. En effet, si lors de l'utilisation en routine de la méthode, les quantités inconnues que le laboratoire aura à doser se trouvent en dehors de l'intervalle de dosage, les résultats fournis ne pourront être considérés comme fiables. La linéarité d'une procédure analytique est sa capacité à l'intérieur d'un certain intervalle de dosage, d'obtenir des résultats directement proportionnels à la concentration en analyte dans l'échantillon [12].

#### **II.6.5- CALCUL DU TAUX DE RECOUVREMENT**

Le taux de recouvrement ou pourcentage de récupération permet d'identifier, pour un échantillon donné ou un type de matrice donné et à un niveau de

concentration donné, la présence d'interférences potentielles lors du processus d'analyse.

Le taux de récupération correspond à la différence en pourcentage entre la concentration mesurée d'un échantillon fortifié et la concentration mesurée du même échantillon non fortifié divisée par la concentration de la substance ajoutée. Ce rapport tient compte de la transformation chimique qui s'est produite, s'il y a lieu. Ce taux est donc exprimé comme suit [13] :

$$\text{Taux de recouvrement (\%)} = \frac{C_f - C}{C_a} \times 100 \quad (\text{Equation II.3})$$

avec  $C_f$  : Concentration mesurée de l'échantillon fortifié ;  
 $C$  : Concentration mesurée de l'échantillon non fortifié ;  
 $C_a$  : Concentration de la substance ajoutée.

#### II.6.6- EXACTITUDE

Le calcul de l'exactitude, également appelée justesse, exprime l'étroitesse de l'accord entre la valeur acceptée comme conventionnellement vraie (dite standard), et une valeur déterminée (moyenne) obtenue en appliquant un certain nombre de fois la procédure d'analyse [14]. La justesse doit être vérifiée avec un échantillon ayant la matrice la plus rapprochée de celle des échantillons qui seront déterminés pour vérifier efficacement toutes les possibilités d'interférence, dont les effets de matrice. Dans la présente étude, nous avons utilisé un matériel de référence certifié (MRC) «Serorm<sup>MC</sup> Trace elements whole blood». Ce matériel est en effet la matrice la plus disponible commercialement et la plus semblable à nos échantillons.

La valeur de l'exactitude sera déterminée à partir de l'équation suivante [15]:

$$\text{Exactitude (\%)} = 100 - |\text{Erreur relative (\%)}|$$
$$\text{Erreur relative (\%)} = \frac{V_o - V_s}{V_s} \times 100 \quad (\text{Equation II.4})$$

avec  $V_s$  : valeur certifiée;  
 $V_o$  : moyenne des valeurs observées.

## MATERIAU DE REFERENCE CERTIFIE (MRC)

L'approche la plus correcte de validation d'une méthode d'analyse consiste à utiliser un matériau de référence certifié, c'est-à-dire un matériau de référence dont les concentrations d'un ou plusieurs éléments ont été certifiées par une procédure qui établit la valeur de ces concentrations ainsi que l'incertitude qui leur est associée et ceci avec un niveau de confiance spécifié. Pour pallier ce manque de matériaux, de nombreux analystes utilisent la technique du dopage, c'est-à-dire l'ajout de quantités connues d'éléments aux échantillons. L'inconvénient majeur de ce procédé est que les composés présents à l'état naturel dans les matrices et les dopants ont des formes chimiques souvent différentes et n'interagissent donc pas de la même manière avec la matrice.

[1] R. K. Mahajan et al. Stripping Voltammetric Determination Of Zinc, Cadmium, Lead and Copper in Blood Samples of Children Aged between 3 Months and 6 years. Published Quarterly Mangalore., 4(2005)1-8.

[2] R. K. Mahajan et al. The versatility of salicylaldehyde thiosemicarbazone in the determination of copper in blood using adsorptive stripping voltammetry. *Talanta.*, 67(2005)755-759.

[3] R. Toniolo. Single-step microwave digestion of food and biological samples for the quantitative conversion of Se into the +4 oxidation state. *Talanta.*, 78(2009)753-758.

[4] E. Mullins. Statistics for the quality control chemistry laboratory. The Royal Society of Chemistry, U.K Cambridge 2003.

[5] C. Sablayrolles et al. Development and validation of methods for the trace determination of phthalates in sludge and vegetables. *J. Chromatography A.*, 1072(2005)233-242.

[6] E. Ezan, J. M Grognet. Problèmes posés par la validation de l'immunoanalyse de médicaments. *Immunoanal Biol Spéc.*, 9(1994)153-158.

[7] I. Laville et al. Durée de péremption des solutions de morphine et de la péthidine présentées dans des dispositifs pour analgésie autocontrôlée : étude de stabilité physicochimique et microbiologique. *Pathologie Biologie.*, 53(2005)210-216.

[8] M. Feinberg. Validation interne des méthodes d'analyse. *Techniques de l'ingénieur, Paris, France.*, P224(1995)1-23.

[09] N. Pal et al. Development and validation of a duplex real-time PCR assay for the simultaneous detection and quantification of porcine circovirus type 2 and an internal control on porcine semen samples. *Journal of Virological Methods.*, 149(2008)217-225.

[10] M.M.W.B. Hendriks, H.J. Boer, A.K. Smilde. Robustness of analytical chemical methods and pharmaceutical Technological Products. *Data handling in science and technology.*, 19(1996)1-346.

[11] C. Burgess. Valid Analytical Methods and Procedures. The Royal Society of chemistry 2000.

[12] L. Halbaut et al. Oxidative stability of semi-solid excipient mixtures with corn oil and its implication in the degradation of vitamin A. *International Journal of Pharmaceutics.*, 147(1997)31-40.

[13] W. Funk et al. Quality Assurance in Analytical Chemistry : Applications in Environmental, Food and Materials Analysis, Biotechnology, and Medical Engineering. 2007 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co, KGaA, Weinheim, Germany.

[14] D. Barceló. Sample handling and trace analysis of pollutants techniques, applications and quality assurance. 2000 Elsevier Science B.V.

[15] U. Bhaumik et al. Development and validation of a high-performance liquid chromatographic method for bioanalytical application with rimonabant. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.*, 49(2009)1009-1013.

# *CHAPITRE : III*



**CHAPITRE III : DETERMINATION DE QUELQUES ELEMENTS TRACE  
PAR VOLTAMPEROMETRIE A REDISSOLUTION**

**INTRODUCTION**

L'importance de déterminer certains métaux trace dans les échantillons biologiques n'est plus à démontrer, que ce soit pour évaluer l'exposition à un ou plusieurs éléments présents dans l'environnement ou pour diagnostiquer, comprendre ou effectuer le suivi d'une maladie, reliée ou non à cette exposition. Le plomb est un élément toxique pour les organismes humains à des concentrations élevées. Les principales sources de plomb pour la population sont le tabac et la poussière contaminée. En milieu de travail, le plomb est principalement absorbé par voie pulmonaire sous forme de vapeurs, de poussières ou de fumées. La détermination de la plombémie fait souvent partie de la surveillance biologique systématique des travailleurs de l'industrie du plomb ou d'autres industries qui utilisent ce métal. Dans de nombreux pays, la surveillance régulière des taux sanguins de plomb est une obligation légale, et la loi prévoit également que tout employé dont la plombémie dépassant une certaine valeur doit être mis en arrêt de travail ou placé à un poste où il ne risque plus d'être exposé. On peut donner à cet égard l'exemple des États-Unis où la moyenne de la concentration de plomb dans la population était comprise entre 150 et 170  $\mu\text{g L}^{-1}$  au milieu des années 1970 [1]. En 1991, les centres pour le contrôle et la prévention des maladies (Centers for Disease Control and Prevention) ont fixé une valeur limite à 100  $\mu\text{g L}^{-1}$ , cette valeur a ensuite été abaissée à 20  $\mu\text{g L}^{-1}$  [2]. Actuellement, ces facteurs ont suscité un regain d'intérêt pour la détermination de concentrations toujours plus faibles dans le sang et font naître le besoin de méthodes d'analyse utilisables à de faibles niveaux de détection. Notre travail va dans ce sens. Dans ce contexte, il est important d'étudier l'influence des principaux paramètres expérimentaux sur le courant de redissolution, tels que l'électrolyte support, le potentiel de pré-électrolyse, le temps de dépôt et la vitesse d'agitation de la solution afin de déterminer les concentrations dans le sang de trois oligo-éléments (zinc, cuivre, sélénium), et deux éléments toxiques

(plomb, cadmium). Chaque dosage a été suivi par un calcul statistique afin de valider les méthodes d'analyse utilisées.

### **III.1. DETERMINATION DES CONDITIONS OPTIMALES POUR LE DOSAGE DU CADMIUM ET PLOMB PAR VOLTAMPEROMETRIE ANODIQUE INVERSE A IMPULSION DIFFERENTIELLE**

#### **III.1.1- GENERALITES SUR LE CADMIUM ET LE PLOMB**

Certains éléments traces sont indispensables aux organismes vivants alors que d'autres, en revanche, ne sont pas essentiels. La toxicité, même à de très faibles concentrations, de certains de ces métaux non essentiels est reconnue. L'exposition à des doses parfois faibles peut avoir des conséquences importantes pour la santé. À long terme, le cadmium est un métal présent à l'état d'impuretés dans divers minerais. Les deux principales sources d'exposition au cadmium de la population générale sont l'alimentation et le tabagisme [3]. Il est utilisé dans des batteries, accumulateurs ou piles électriques alcalines (80 %) et dans des pigments de peintures ou de matières plastiques (10 %). L'inhalation de fumées d'oxyde de cadmium est à l'origine de fièvres d'inhalation ou de pneumopathies chimiques. Après la phase d'absorption, le cadmium présent dans le compartiment sanguin est principalement intraérythrocytaire lié à l'hémoglobine [4] et il pourrait jouer un rôle dans la survenue d'hypertension artérielle [5, 6]. Le cadmium plasmatique est, quant à lui, lié à des protéines de haut poids moléculaire, essentiellement l'albumine [7]. La demi-vie sanguine du cadmium, correspondant à la durée d'élimination de la moitié de la quantité de cadmium présent dans le sang, est d'environ 100 jours [8]. Une exposition prolongée de l'organisme développe des troubles rénaux, des maladies obstructives respiratoires et osseuses [9].

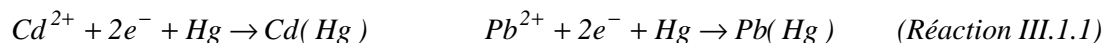
Le cadmium se fixe essentiellement dans le tissu rénal, de façon spécifique et proportionnelle à la quantité totale du métal [10]. Le plomb est l'un des métaux les plus anciennement et les plus largement utilisés par l'homme. Sa toxicité est connue depuis l'Antiquité et elle est toujours d'actualité : les expositions professionnelles au

plomb restent très fréquentes ; la libération d'écaillés ou de poussières par la peinture de revêtements muraux anciens et mal entretenus est la source de nombreux cas de saturnisme infantile [11]. Accessoirement les gaz d'échappement pourraient être responsables d'une élévation significative de la toxicité de ces éléments [12, 13]. Une exposition de brève durée à des concentrations élevées peut causer un goût métallique, des douleurs abdominales, des vomissements, de la diarrhée, des convulsions, le coma et même entraîner le décès [14]. Toutefois, de telles intoxications sont rares. Les effets d'une exposition prolongée à doses faibles sont moins perceptibles, mais non moins dommageables pour la santé : anémie [15], déficience de la fonction mentale et problèmes neurologiques chez les jeunes enfants [16]. La fréquence de l'hypertension artérielle serait plus importante chez les sujets exposés au plomb et au cadmium [17]. Une poussée d'insuffisance rénale peut être secondaire à l'introduction trop rapide d'un traitement chélateur efficace [18]. La plombémie varie avec le sexe, l'âge, le lieu d'habitation, et la consommation de tabac et d'alcool [19].

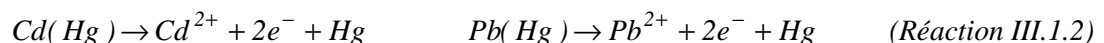
### III.1.2- PRINCIPE DE LA TECHNIQUE UTILISEE

La voltampérométrie à redissolution consiste à préconcentrer le Cd et le Pb à la surface d'une électrode à goutte de mercure pendant une phase d'accumulation (*Réaction III.1.1*) en se plaçant à un potentiel inférieur au potentiel d'oxydoréduction du métal. Un balayage des potentiels les plus négatifs vers les positifs permet ensuite de redissoudre les métaux amalgamés (*Réaction III.1.2*) lors du passage par leur potentiel d'oxydoréduction.

*Phase d'accumulation :*

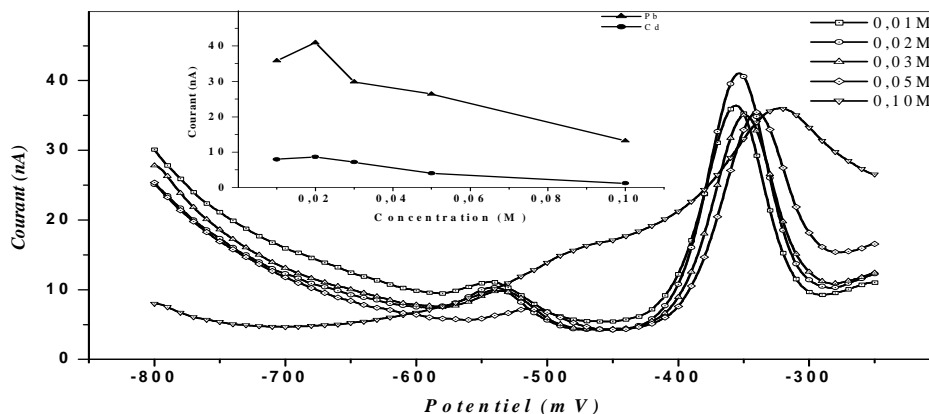


*Phase de redissolution :*



### III.1.3- EFFET DE L'ELECTROLYTE SUPPORT

Le premier paramètre étudié est l'effet de la concentration de l'électrolyte support (l'acide perchlorique) sur la sensibilité de la méthode proposée. Les concentrations en électrolyte support testées sont : 0,01M, 0,02M, 0,03M, 0,05M à 0,1M. Les résultats obtenus (figure III.1.1) montrent que l'augmentation de la concentration de l'électrolyte support diminue la sensibilité et la résolution à 0,1M.



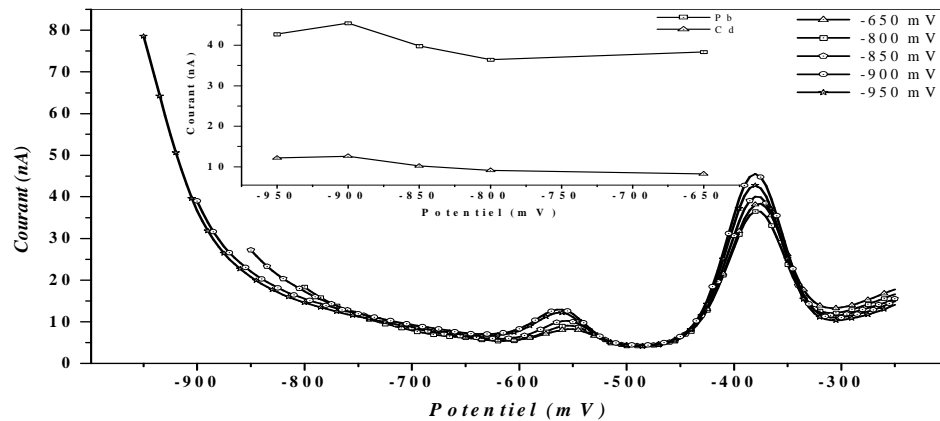
**Figure III.1.1.** Effet de l'électrolyte support sur l'intensité du pic dans une solution contenant  $0,85 \mu\text{g L}^{-1}$  du Cd et  $75 \mu\text{g L}^{-1}$  du Pb.  $E_{acc} = -900 \text{ mV}$  (vs. Ag/AgCl, 3M KCl),  $u = 400 \text{ tr min}^{-1}$ ,  $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $t_{dép} = 320 \text{ s}$ ,  $t_p = 20 \text{ ms}$ ,  $\Delta E = 50 \text{ mV}$ .

Les intensités du pic du cadmium et du plomb atteignent des valeurs maximales quand la concentration de l'électrolyte support est de 0,02 M. Cette concentration a donc été choisie comme une concentration optimale pour la suite de nos travaux.

### III.1.4- EFFET DU POTENTIEL D'ACCUMULATION

Pour réaliser un dosage simultané de ces deux métaux en DPASV, le potentiel d'accumulation doit être inférieur au potentiel redox du cadmium qui possède le potentiel le plus négatif parmi ces deux métaux. Le potentiel d'accumulation est un paramètre important pour les techniques d'analyse, et possède une influence non négligeable sur la sensibilité de la détermination des métaux lourds. L'effet du potentiel d'accumulation sur l'intensité du pic, du plomb et du cadmium, a été examiné dans la

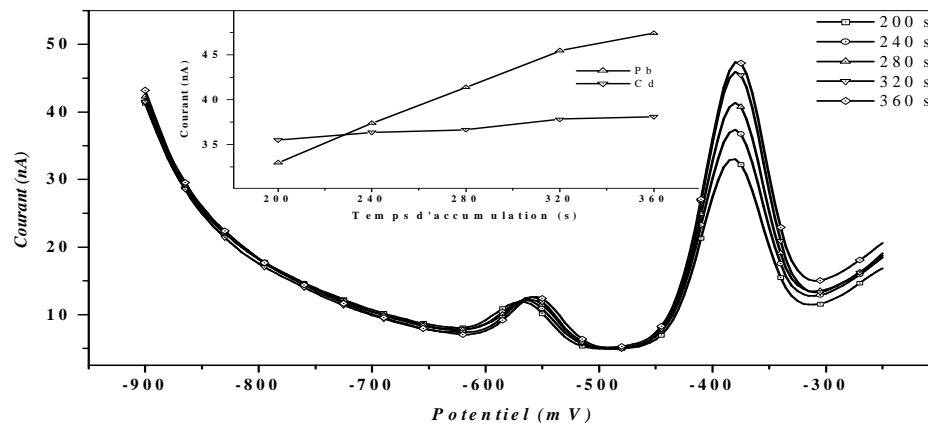
gamme de potentiel qui varie entre -950 et -650 mV vs. Ag/AgCl (Figure III.1.2). Les résultats obtenus montrent une augmentation significative de l'intensité du pic quand le potentiel est balayé depuis les potentiels les plus négatifs pour le plomb et le cadmium. Le courant atteint le maximum pour ces deux éléments à -900 mV (vs. Ag/AgCl). Ce potentiel a donc été choisi comme potentiel d'accumulation dans la suite du travail.



**Figure III.1.2.** Effet du potentiel d'accumulation sur l'intensité du pic. Condition:  $\text{HClO}_4$  0,02 M, solution contenu  $0,85 \mu\text{g L}^{-1}$  du Cd et du  $75 \mu\text{g L}^{-1}$  du Pb,  $u = 400 \text{ tr min}^{-1}$ ,  $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $t_{\text{dép}} = 320 \text{ s}$ .

### III.1.5- EFFET DU TEMPS D'ACCUMULATION

Afin d'étudier l'effet, sur  $E_p$  et  $i_p$ , du temps d'accumulation du plomb et du cadmium en milieu acide perchlorique ( $\text{HClO}_4$  0,02M) dans la gamme comprise entre 200 s et 360 s, nous avons procédé au tracé des voltampérogrammes correspondants par redissolution anodique (figure III.1.3).

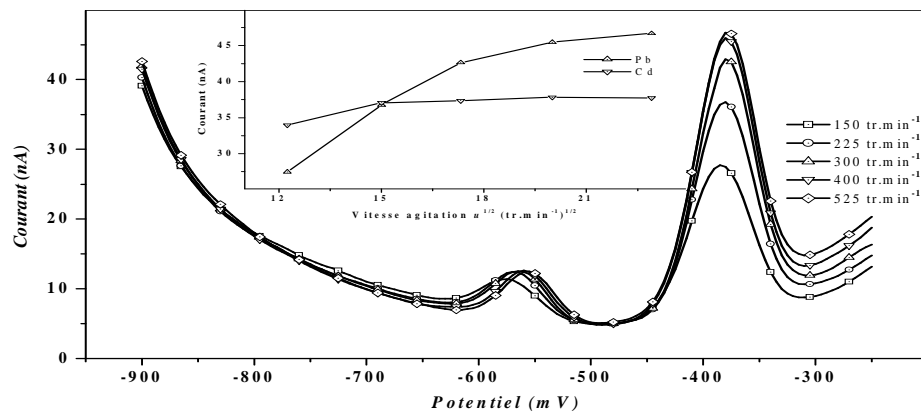


**Figure III.1.3.** Variations des courants de pics pour différents temps d'accumulation. Condition:  $\text{HClO}_4$  0,02 M, contenu  $0,85 \mu\text{g L}^{-1}$  du Cd et du  $75 \mu\text{g L}^{-1}$  du Pb,  $E_{\text{acc}} = -900 \text{ mV}$  (vs. Ag/AgCl),  $u = 400 \text{ tr min}^{-1}$ ,  $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ .

Ces résultats montrent une augmentation de l'intensité du pic en fonction du temps d'accumulation, ce qui indique une augmentation de la concentration des ions à la surface de l'électrode. Ces ions s'accrochent, en effet, de plus en plus à la goutte de mercure pendant la phase de déposition jusqu'à un certain plateau (saturation de la goutte ou épuisement des ions métalliques dans la couche de diffusion). Pour les deux métaux, l'intensité du pic augmente donc jusqu'à 320 s et devient constante par la suite.

### III.1.6- EFFET DE LA VITESSE D'AGITATION

Nous avons étudié l'influence, sur les courants de pics, de la vitesse d'agitation de la solution pendant l'étape de dépôt. Les voltampérogrammes obtenus pour des vitesses allant de 150 à 525  $\text{tr min}^{-1}$  sont représentés sur la figure III.1.4. Le tracé des courants des pics en fonction de la racine carrée de la vitesse d'agitation pour le plomb et le cadmium montre deux parties linéaires, avec respectivement un changement de pente vers 300 et 225  $\text{tr min}^{-1}$ .

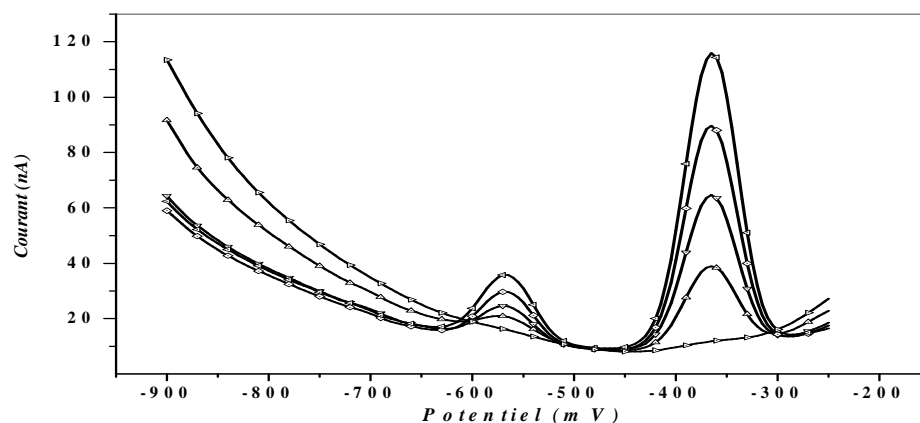


**Figure III.1.4.** Effet de la vitesse d'agitation. Condition:  $\text{HClO}_4$  0,02 M, dans une solution contenu  $0,85 \mu\text{g L}^{-1}$  du Cd et  $75 \mu\text{g L}^{-1}$  du Pb,  $E_{acc} = -900$  mV (vs. Ag/AgCl),  $v = 5 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $t_{dép} = 320$  s.

Pour les grandes vitesses d'agitation, on assiste parfois à la chute de la goutte et à la création de bulles d'air dans la solution, ce qui est gênant pour la reproductibilité des mesures. La vitesse de 400  $\text{tr min}^{-1}$  a été donc sélectionnée comme vitesse d'agitation optimale car elle permet d'obtenir les plus grandes intensités et donc la meilleure sensibilité.

### III.1.7- CALCUL DE VALIDATION ANALYTIQUE ET APPLICATION

La linéarité est validée par l'établissement de la droite de régression sur la plage de concentrations allant de 1,53 à 164 ng mL<sup>-1</sup> pour le plomb et 0,26 à 0,825 ng mL<sup>-1</sup> pour le cadmium. Les coefficients de régression des deux éléments sont dans cette gamme de linéarité et sont supérieurs à 0,9999, avec une exactitude mesurée de 96,98 % et 96,19 % pour respectivement le plomb et le cadmium. Les valeurs certifiées du cadmium et du plomb sont respectivement de 0,74 et de 27,6 µg L<sup>-1</sup>, avec une gamme de valeurs acceptables situées entre 0,68 et 0,80 µg L<sup>-1</sup> pour le cadmium et entre 26,2 et 29,0 µg L<sup>-1</sup> pour le plomb (Seronorm<sup>™</sup> Trace Element Whole blood (level 1, MR4206)). Le taux de récupération du cadmium et du plomb calculé à partir du matériel de référence est respectivement de 96,78 % et 97,17%. Les limites de détection obtenues par voltampérométrie anodique inverse sont égales à 0,46 et 0,08 ng mL<sup>-1</sup> respectivement pour le plomb et le cadmium calculé à partir de 10 replica de la solution à blanc. La figure III.1.5 représente un polarogramme relatif au dosage du cadmium et du plomb dans le sang minéralisé à partir des conditions qui ont été optimisées précédemment. Les concentrations en cadmium et en plomb dans cet échantillon, calculé après soustraction de l'effet du blanc, sont égales à 0,851 µg L<sup>-1</sup> pour le cadmium et 76,824 µg L<sup>-1</sup> pour le plomb.



**Figure III.1.5.** Détermination du cadmium et du plomb dans le sang. Condition: HClO<sub>4</sub> 0,02 M,  $E_{acc} = -900$  mV (vs. Ag/AgCl),  $t_{dép} = 320$  s,  $u = 400$  tr min<sup>-1</sup>,  $v = 5$  mV s<sup>-1</sup>,  $t_p = 20$  ms,  $\Delta E = 50$  mV.

Les résultats obtenus par le dosage de 33 échantillons des sujets sains sont présentés dans le tableau suivant :

**Tableau III.1.1** Le dosage de 33 échantillons de sang total des sujets sains.

	Moyenne ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Intervalles ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Cadmium	$0,720 \pm 0,121$	0,451-1,032
Plomb	$86,981 \pm 15,230$	49,989-150,961

P<0.01

### III.1.8- CONCLUSION

La contamination de l'environnement par des traces de métaux toxiques est actuellement un problème majeur. Il en résulte une demande croissante en moyens d'analyse de polluants métalliques, en particulier dans notre organisme, car il est nécessaire de pouvoir identifier les polluants chimiques présents dans le sang et de les quantifier au niveau de traces et d'ultra-traces à l'aide de méthodes d'analyses fiables, sensibles et reproductibles. La détermination des conditions optimales pour le dosage du cadmium et du plomb par voltampérométrie anodique inverse à impulsion différentielle, a donné les résultats suivants : électrolyte support : acide perchlorique ( $\text{HClO}_4$ ) 0,02M ; potentiel d'accumulation optimum : -900 mV (vs. Ag/AgCl); temps d'accumulation : 320 s ; vitesse d'agitation :  $400 \text{ tr min}^{-1}$ .

Nos résultats expérimentaux ont également montré que la voltampérométrie anodique inverse à une électrode à goutte pendante de mercure suivie par polarographie impulsionnelle différentielle est suffisamment sensible pour le dosage du cadmium et du plomb dans le sang. Les limites de détection obtenues dans ces conditions sont de 0,08 et  $0,46 \text{ ng mL}^{-1}$  pour respectivement le cadmium et le plomb. Ces LDM sont meilleures comparées à celles rapportées dans la littérature dans les mêmes conditions (0,1 et  $0,5 \text{ ng mL}^{-1}$  pour respectivement le cadmium et le plomb) [20] ; par contre, elles sont moins bonnes que celles obtenues pour ces deux éléments par ICP-MS (respectivement  $0,05$  et  $0,02 \text{ ng mL}^{-1}$ ) [21, 22].



## **III.2. DETERMINATION DES CONDITIONS OPTIMALES POUR LE DOSAGE DU ZINC PAR VOLTAMPEROMETRIE ANODIQUE INVERSE A IMPULSION DIFFERENTIELLE**

### **III.2.1- GENERALITES SUR LE ZINC**

Le zinc fait partie du groupe IIb de la classification de Mendeleïev avec le cadmium et le mercure ; il possède le numéro atomique 30 et une masse de 65,37. Le zinc est un oligoélément essentiel pour la vie. Son absorption intestinale est une étape clé de son métabolisme car elle assure en grande partie la régulation de la teneur en ce métal dans le corps humain [23], cet élément est indispensable et il est le plus abondant après le fer dans l'organisme humain [24]. Il intervient comme cofacteur enzymatique impliqué dans de nombreux processus cellulaires [25, 26]. Le zinc est parfois appelé le minéral de l'intelligence parce qu'il intervient au niveau du système immunitaire et il est indispensable au développement et au fonctionnement du système nerveux [27]. Cet antioxydant aux propriétés purifiantes joue donc un rôle important dans les fonctions essentielles de notre organisme, puisqu'il lutte contre les radicaux libres, prévient la cécité et les effets de dégénérescence liés au vieillissement, et joue un rôle dans la synthèse des protéines et des acides nucléiques qui sont les matériaux de base de l'ADN [28, 29]. On sait, en outre, qu'il participe au mécanisme de contrôle de la glycémie et protège du diabète puisqu'il est utilisé dans la synthèse de l'insuline dont il protège les récepteurs situés sur les membranes cellulaires [30]. La carence en zinc est associée à une augmentation de la fréquence des infections, et diminue l'incorporation de l'azote nutritionnel [31]. Le contenu du corps en zinc est d'environ 2,5 g, dont 30 % sont présents dans les os et 60 % dans les muscles de par la masse importante représentée par ces tissus. En fait, les tissus les plus riches en zinc sont la prostate, les cheveux et l'oeil. Dans les sujets sains la valeur du zinc est située entre 6000 et 9000  $\mu\text{g L}^{-1}$  [32]. Le taux d'absorption du Zn dépend de la taille des particules et de la solubilité des espèces porteuses et donc de sa spéciation [33]. La biodisponibilité du zinc varie selon les situations physiologiques. Ainsi, avec l'âge, la capacité d'absorption diminue alors qu'elle augmente au cours du dernier trimestre de la grossesse et en cas d'allaitement

[34]. La teneur en zinc de l'alimentation n'est pas en rapport avec la valeur alimentaire de la forme sous laquelle il s'y trouve. Ainsi, les céréales sont, elles, riches en zinc, mais un régime à base de pain complet provoque des carences en zinc, en raison des effets chélateurs puissants du phytate et des fibres végétales du blé [35].

### III.2.2- PRINCIPE DE LA TECHNIQUE

Généralement, l'électrolyse à un potentiel contrôlé consiste en une réduction, la redissolution étant effectuée par un balayage anodique. L'application que nous allons en faire est l'analyse du cation  $Zn^{2+}$  en solution. Par une électrolyse à un potentiel fixe suffisamment bas, on réduit cathodiquement les cations métalliques en solution en métal déposé à la surface de l'électrode. L'élément de départ est ainsi accumulé sous la forme d'un dépôt (*Réaction III.2.1*). On réalise ensuite un balayage de potentiel de l'électrode vers les valeurs positives pour réoxyder le dépôt métallique et donc donner lieu à un signal de courant correspondant à l'élément métallique préconcentré (*Réaction III.2.2*).

*Phase d'accumulation :*

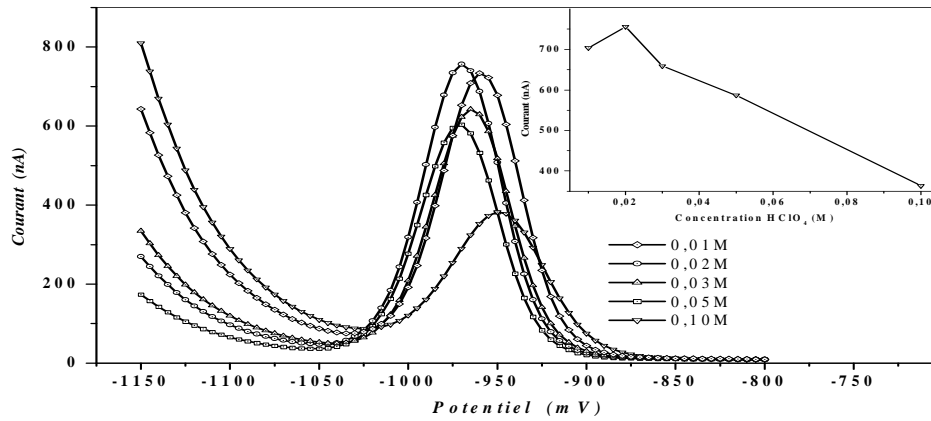


*Phase de redissolution :*



### III.2.3- EFFET DE L'ELECTROLYTE SUPPORT

L'électrolyte support joue un rôle très important en voltampérométrie, le premier paramètre étudié est l'effet de la concentration de l'électrolyte support (acide perchlorique) sur la sensibilité de la méthode proposée. La gamme de concentration d'électrolyte support testée est la suivante 0,01M, 0,02M, 0,03M, 0,05M et 0,1M. La figure III.2.1 représente l'influence de la concentration de l'électrolyte sur la hauteur des pics et même sur le déplacement du potentiel de pic.

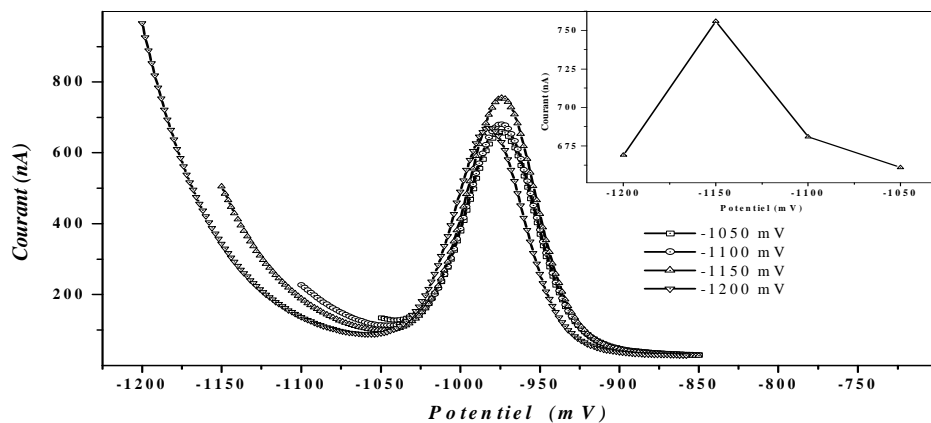


**Figure III.2.1.** Effet de l'électrolyte support sur l'intensité du pic dans une solution contenue  $70 \mu\text{g L}^{-1}$ .  $E_{acc} = -1150 \text{ mV}$  (vs. Ag/AgCl),  $u = 400 \text{ tr min}^{-1}$ ,  $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $t_{dép} = 60 \text{ s}$ ,  $t_p = 20 \text{ ms}$ ,  $\Delta E = 25 \text{ mV}$ .

Les résultats obtenus dans la figure III.2.1 montrent que l'intensité du pic du zinc atteint une valeur maximale quand la concentration de l'électrolyte support est de 0,02M. Cette concentration a été choisie comme une concentration optimale par la suite.

### III.2.4- EFFET DU POTENTIEL D'ACCUMULATION

Le potentiel d'accumulation est un paramètre important pour les techniques d'analyse, et possède une influence non négligeable sur la sensibilité de la détermination des métaux lourds. L'effet du potentiel d'accumulation sur l'intensité pic du zinc a été examiné dans la gamme de potentiel qui varie entre -1200 et -1050 mV (vs. Ag/AgCl).

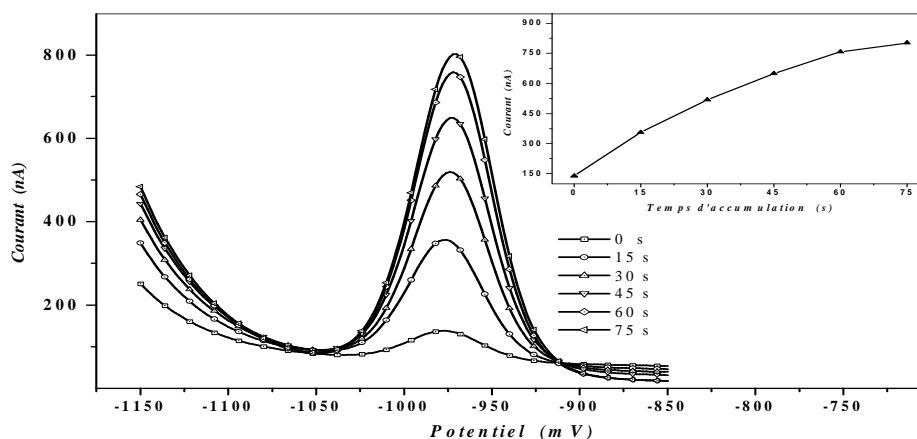


**Figure III.2.2.** Effet du potentiel d'accumulation. Condition: HClO<sub>4</sub> 0,02M solution contenue  $70 \mu\text{g L}^{-1}$ .  $t_{dép} = 60 \text{ s}$ ,  $u = 400 \text{ tr min}^{-1}$ ,  $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ .

Les résultats obtenus montrent qu'il y a une augmentation de l'intensité du pic quand le potentiel est balayé depuis des potentiels les plus négatifs ( $E_{acc} < E_p$ ). Le courant atteint le maximum à -1150 mV (vs. Ag/AgCl). Ce dernier a été choisi comme potentiel d'accumulation dans la suite du travail.

### III.2.5- EFFET DU TEMPS D'ACCUMULATION

Le temps d'accumulation est évidemment un paramètre clé en analyse voltampérométrique après préconcentration à une électrode de mercure. La figure III.2.3 présente l'influence du temps d'accumulation sur l'aire du pic de courant de détection de zinc  $70 \mu\text{g L}^{-1}$  dans un milieu acide ( $\text{HClO}_4$  0,02M) dans une gamme comprise entre 0 s et 75 s.

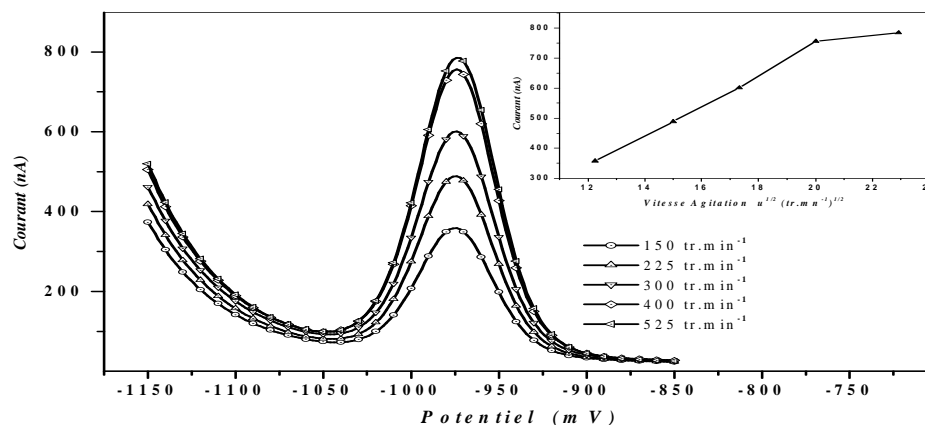


**Figure III.2.3.** Variations des courants de pics pour différents temps de d'accumulation. Condition:  $\text{HClO}_4$  0,02M, solution contenue  $70 \mu\text{g L}^{-1}$  du zinc.  $E_{acc} = -1150$  mV (vs. Ag/AgCl),  $u = 400$   $\text{tr min}^{-1}$ ,  $v = 20$   $\text{mV s}^{-1}$ .

Nous observons, une augmentation de l'intensité du pic en fonction de l'augmentation du temps de dépôt, indiquant une augmentation de la concentration des ions à la surface de l'électrode. Une augmentation de l'intensité du pic, qui progresse jusqu'à 60 s et devient quasi constante par la suite, s'explique par la saturation partielle de la surface du mercure, inhibant la formation de l'amalgame. Le temps d'accumulation de 60 s a été fixé pour la suite de notre étude.

### III.2.6- EFFET DE LA VITESSE D'AGITATION

La diffusion des espèces à la surface de l'électrode est notamment dépendante de la vitesse d'agitation. Des voltampérogrammes ont été enregistrés à différentes vitesses d'agitation qui varient entre 150 tr min<sup>-1</sup> et 525 tr min<sup>-1</sup> (figure III.2.4). La variation du courant limite de diffusion, corrigé du courant résiduel, en fonction de  $u^{1/2}$  est représentée sur la même figure.



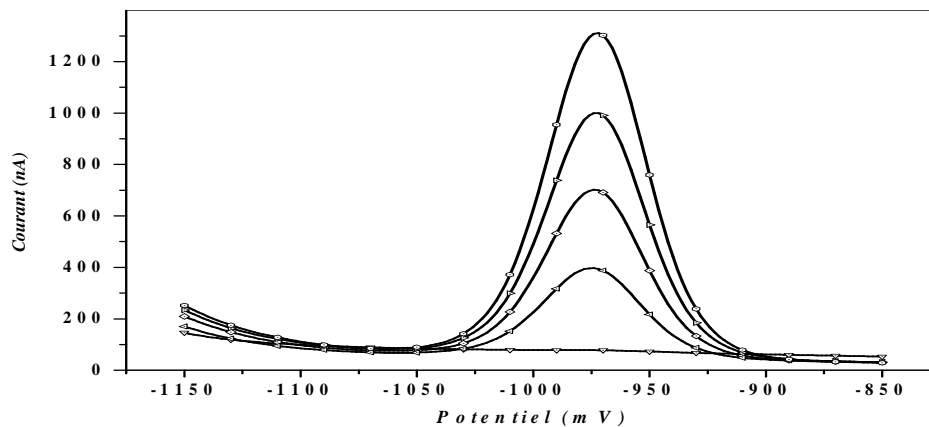
**Figure III.2.4.** Effet de la vitesse d'agitation. Condition: HClO<sub>4</sub> 0,02M, solution contenue 70 µg L<sup>-1</sup> du zinc.  $E_{acc} = -1150$  mV (vs. Ag/AgCl),  $t_{dép} = 60$  s,  $v = 20$  mV s<sup>-1</sup>.

La variation linéaire de  $i = f(u^{1/2})$  indique le transport de la matière dans le mercure, pour des vitesses d'agitation inférieures ou égales à 400 tr min<sup>-1</sup>. Puisque le courant est limité par le transport de matière dans la solution, Il y a une corrélation entre l'intensité du pic et la vitesse d'agitation. Aux vitesses d'agitation plus importantes, les points s'écartent légèrement de la droite, ce qui signifie que le processus n'est plus seulement gouverné par la diffusion pure mais qu'il y a compétition avec un autre phénomène limitant la cinétique du processus réactionnel à la surface de l'électrode. La vitesse de 400 tr min<sup>-1</sup> a donc été sélectionnée comme une vitesse d'agitation optimale pour la suite du travail.

### III.2.7- CALCUL DE VALIDATION ANALYTIQUE ET APPLICATION

Le taux de récupération à partir du matériel de référence est de 97,75 %, avec une réplicabilité de 3,96 % et une répétabilité de 2,07 %. La limite de détection et la limite de quantification sont respectivement 0,86 ng mL<sup>-1</sup> et 2,87 ng mL<sup>-1</sup>.

L'exactitude mesurée par le matériel de référence certifié est de 97,42. La linéarité de la méthode est évaluée par le calcul du coefficient de détermination  $R^2$ , les valeurs moyennes obtenues sont supérieures à 0,999. Le domaine de linéarité est plus étendu, généralement dans la gamme de concentration allant de  $2,87 \cdot 10^{-3}$  à  $1625 \mu\text{g L}^{-1}$ . La figure ci-dessous représente un voltampérogramme relatif au dosage du zinc dans le sang déminéralisé à partir des conditions qui ont été optimisées précédemment.



**Figure III.2.5.** Détermination du zinc dans le sang. Condition:  $\text{HClO}_4$  0,02M,  $E_{acc} = -1150$  mV (vs. Ag/AgCl),  $t_{dep} = 60$  s,  $u = 400$   $\text{tr min}^{-1}$ ,  $v = 20$   $\text{mV s}^{-1}$ .

Le tableau II.2.1 récapitulatif des dosages de 53 échantillons des sujets sains a permis de situer la concentration en zinc dans la marge  $4987,172\text{-}8701,501 \mu\text{g L}^{-1}$  (moyenne de  $6903,542 \pm 897,108 \mu\text{g L}^{-1}$ ) et de  $4987,172\text{-}8701,501 \mu\text{g L}^{-1}$  (moyenne de  $6903,542 \pm 897,108 \mu\text{g L}^{-1}$ ) respectivement pour les femmes et hommes, avec une concentration moyenne de  $6700,313 \pm 885,313 \mu\text{g L}^{-1}$ .

**Tableau II.2.1** Dosages 53 échantillons des sujets sains.

Sexe	n	Moyenne $\pm$ SD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	95% Confidence	Intervalle ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Homme	27	$6903,542 \pm 897,108$	$6548,658 \pm 7258,426$	4987,172-8701,501
Femme	26	$6489,268 \pm 838,224$	$6150,298 \pm 6828,238$	5001,981-8109,407
Tous	53	$6700,313 \pm 885,313$	$6456,144 \pm 6944,482$	4987,172-8701,501

Par ailleurs, le dosage de 53 échantillons de sang total des sujets sains a permis de situer la concentration en zinc dans la marge  $4987,172 - 8701,501 \mu\text{g L}^{-1}$  (moyenne de  $6700,313 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Ces résultats sont comparables à ceux trouvés dans

d'autres pays : 6597  $\mu\text{g L}^{-1}$  pour la population italienne [36], 6842  $\mu\text{g L}^{-1}$  pour la population tchèque [37] et 6399  $\mu\text{g L}^{-1}$  pour la population chinoise [38].

### **III.2.8- CONCLUSION**

La détermination des conditions optimales pour le dosage du zinc par voltampérométrie anodique inverse à impulsion différentielle, a donné les résultats suivants :

Electrolyte support : acide perchlorique ( $\text{HClO}_4$ ) 0,02M ; potentiel d'accumulation optimum : -1150 mV ; temps d'accumulation : 60 s ; vitesse d'agitation : 400  $\text{tr min}^{-1}$ .

Nos résultats expérimentaux ont également montré que la redissolution anodique à goutte pendante de mercure suivie par polarographie impulsionnelle différentielle est suffisamment sensible pour le dosage du zinc dissous dans le sang. La limite de détection de 0,86  $\text{ng mL}^{-1}$  est meilleure que celles rapportée dans la littérature, à la fois dans les mêmes conditions (1  $\text{ng mL}^{-1}$ ) ou par couplage ICP-MS (3,8  $\text{ng mL}^{-1}$ ) [20, 39].

## **III.3. DETERMINATION DES CONDITIONS OPTIMALES POUR LE DOSAGE DU CUIVRE PAR VOLTAMPEROMETRIE ANODIQUE INVERSE À IMPULSION DIFFERENTIELLE**

### **III.3.1- GENERALITES SUR LE CUIVRE**

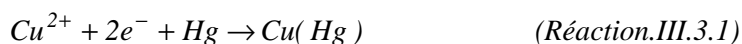
Le cuivre est un élément métallique de symbole Cu ; il appartient au groupe (IB) de la classification périodique des éléments. Le cuivre est bio-disponible pour les organismes sous le degré d'oxydation (I) ou (II) [40], à partir de sels inorganiques ou des complexes organiques. Cet élément est placé en troisième élément trace le plus abondant du corps humain après le zinc et le fer [41]. Le cuivre est un métal de transition donneur d'électron qui intervient dans les réactions redox et qui est nécessaire

à la synthèse de nombreuses enzymes [42]. Le cuivre entre dans la composition de plusieurs enzymes impliquées dans la respiration et la défense cellulaire, et le fonctionnement du système nerveux [43]. En cas de carence en cuivre, de multiples types d'anomalies apparaissent (anémie, réduction de la croissance, problèmes cardiovasculaires) [44]. Il stimule les défenses immunitaires naturelles de l'organisme et possède des propriétés anti-infectieuses (indication en cas de grippe ou états grippaux) et anti-inflammatoires [45]. La carence s'observe principalement chez l'enfant et les sujets sous nutrition parentérale. Elle pourrait être un facteur de risque des maladies coronariennes et de l'ostéoporose [46]. Un excès de certains autres oligo-éléments peut aussi retentir sur le développement ou l'intégrité du cerveau et du système nerveux. C'est le cas du cuivre dans la maladie de Wilson [47], qui est une affection héréditaire transmise selon un mode autosomique récessif à l'origine d'une surcharge tissulaire en cuivre [48]. Une diminution de l'excès du cuivre est observée chez les sujets traités par les stéroïdes, et dans les cas de traitement prolongé par le zinc à doses élevées [49]. Ce traitement est utilisé dans la maladie de Wilson [49]. À la naissance, la cuprémie est très basse. Elle augmente chez le nourrisson pour atteindre les valeurs de l'adulte au sixième mois de vie [50].

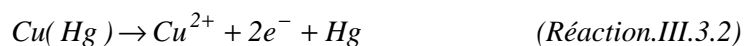
### III.3.2- PRINCIPE DE LA TECHNIQUE

La voltampérométrie à redissolution consiste à pré-concentrer le cuivre à la surface d'une électrode à goutte de mercure pendant la phase d'accumulation (*Réaction.III.3.1*), en se plaçant à un potentiel inférieur au potentiel d'oxydoréduction du métal. Un balayage des potentiels les plus négatifs vers les positifs permet ensuite de redissoudre les métaux amalgamés (*Réaction.III.3.2*) lors du passage par leur potentiel d'oxydoréduction.

*Phase d'accumulation :*



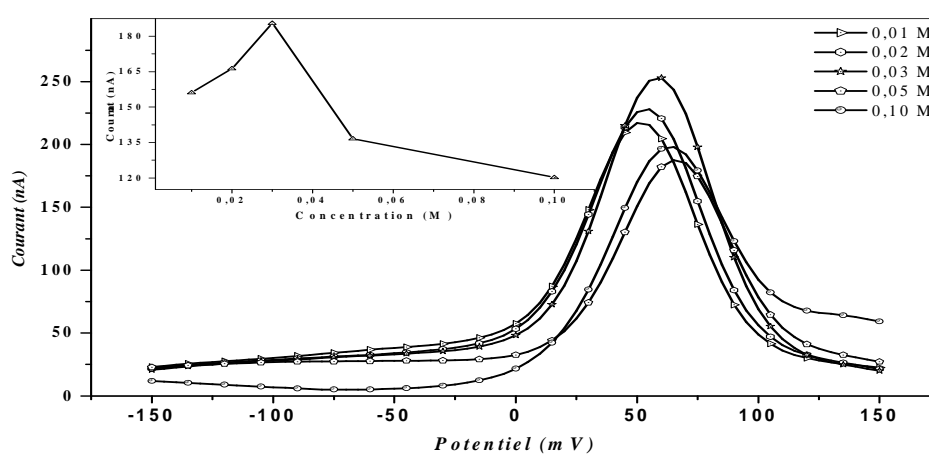
*Phase de redissolution :*





### III.3.3- EFFET DE L'ELECTROLYTE SUPPORT

Comme pour tous les autres éléments précédemment étudiés, le premier paramètre étudié est l'effet de la concentration de l'électrolyte support l'acide perchlorique ( $\text{HClO}_4$ ) sur la sensibilité et la reproductibilité de la méthode proposée. La concentration de l'électrolyte support testé varie de 0,01M, 0,02M, 0,03M, 0,05M et 0,1M. L'intensité du pic du cuivre atteint une valeur maximale quand la concentration de l'électrolyte support est de 0,03M (Figure III.3.1). Cette concentration a été sélectionnée comme une concentration optimale pour la suite du travail.

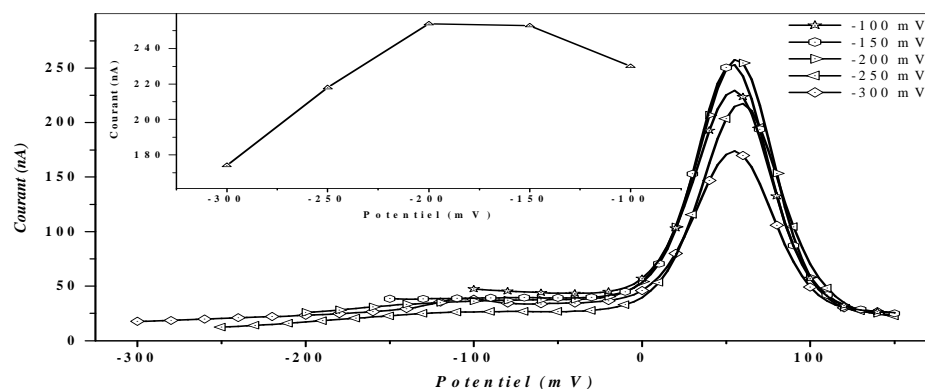


**Figure III.3.1.** Effet d'électrolyte support sur l'intensité du pic dans une solution contenant  $35\mu\text{g L}^{-1}$ .  $E_{acc} = -150$  mV (vs. Ag/AgCl),  $u = 525$   $\text{tr min}^{-1}$ ,  $v = 5$   $\text{mV s}^{-1}$ ,  $t_{dép} = 175$  s,  $t_p = 20$  ms,  $\Delta E = 25$  mV.

Cette figure montre aussi l'effet de l'électrolyte support sur le déplacement du potentiel du pic  $E_p$ . Ceci explique la sensibilité de la technique d'analyse, une variation de  $10^{-2}$  M d'électrolyte support entraîne un déplacement de pic de 5 mV. Ces résultats montrent aussi l'intérêt du choix de la méthode par ajout dosé.

### III.3.4- EFFET DU POTENTIEL D'ACCUMULATION

Le potentiel d'accumulation est un paramètre important pour les techniques d'analyse, et possède une influence non négligeable sur la sensibilité de la détermination des métaux lourds. La figure III.3.2 montre l'effet du potentiel de déposition sur l'intensité du pic du cuivre dans la gamme de potentiel qui varie entre -300 à -100 mV (vs. Ag/AgCl).

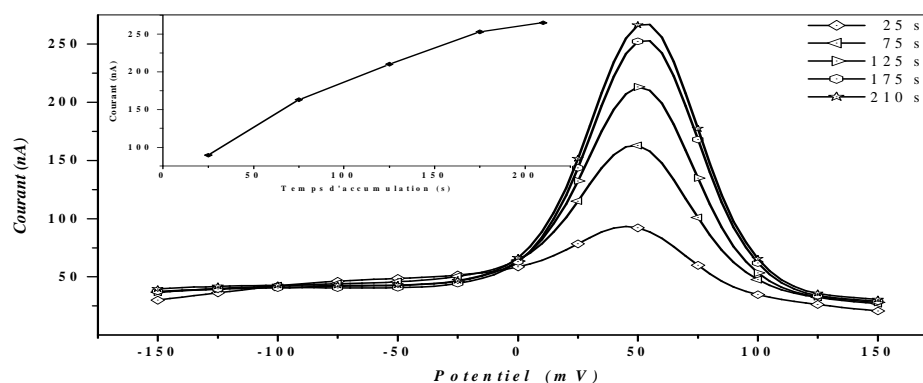


**Figure III.3.2.** Effet du potentiel d'accumulation. Condition:  $35\mu\text{g L}^{-1}$  du cuivre dans  $\text{HClO}_4$  0,03M,  $t_{\text{dép}} = 175$  s,  $u = 525$  tr  $\text{min}^{-1}$ ,  $v = 5$  mV  $\text{s}^{-1}$ .

Les résultats obtenus montrent qu'il y a une augmentation significative de l'intensité du pic quand le potentiel est balayé depuis les potentiels les plus négatifs. Le courant atteint le maximum à -200 et -150 mV (vs. Ag/AgCl). Grâce à la symétrie du pic, le potentiel de (-150 mV vs. Ag/AgCl) a été choisi comme potentiel de dépôt dans la suite du travail.

### III.3.5- EFFET DU TEMPS D'ACCUMULATION

L'effet du temps de dépôt sur les courants d'oxydation du cuivre a été étudié en imposant le potentiel cité précédemment (figure III.3.3). Nous observons, une augmentation de l'intensité du pic en fonction de l'augmentation du temps de dépôt indiquant une augmentation de la concentration des ions à la surface de l'électrode. Nous remarquons que les courants sont proportionnels au temps d'accumulation pour les faibles valeurs. En revanche, nous observons un écart à la linéarité au fur et à mesure que les temps augmentent, et on assiste à une variation non consistante des courants.

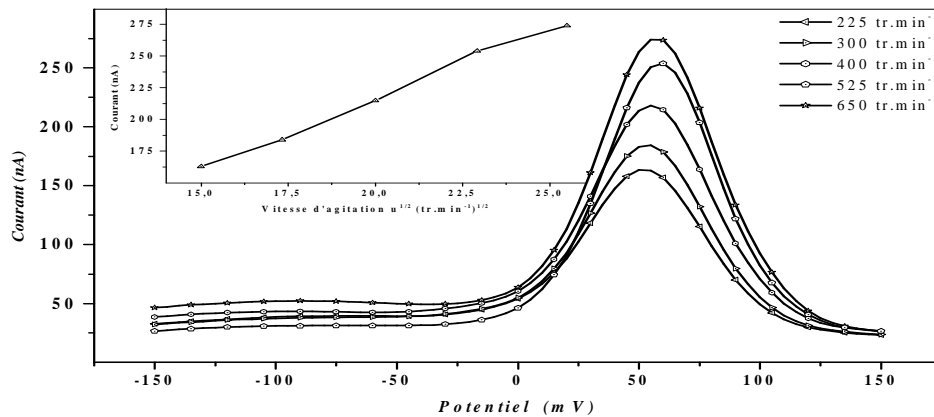


**Figure III.3.3.** Variations des courants de pics pour différents temps de d'accumulation. Condition:  $35\mu\text{g L}^{-1}$  du cuivre dans  $\text{HClO}_4$  0,03M,  $E_{\text{acc}} = -150$  mV (vs. Ag/AgCl),  $u = 525$  tr  $\text{min}^{-1}$ ,  $v = 5$  mV  $\text{s}^{-1}$ .

L'hypothèse la plus plausible est la diffusion de ces éléments dans le mercure quand l'étape d'électrodéposition est prolongée. Afin d'éviter ce risque, il est souhaitable de ne pas opter pour des temps d'accumulation longs ; à cet égard, le temps de pré-concentration de 175 s a été employé pour le reste du travail.

### III.3.6- EFFET DE LA VITESSE D'AGITATION

La figure III.4.4 montre que la relation entre la vitesse d'agitation et l'intensité résultante de la réoxydation du cuivre est linéaire. Il convient donc de travailler à une vitesse constante durant toute l'expérience pour obtenir des résultats reproductibles.



**Figure III.3.4.** Effet de la vitesse d'agitation. Condition:  $35\mu\text{g L}^{-1}$  du cuivre dans  $\text{HClO}_4$  0,03M,  $E_{acc} = -150$  mV (vs. Ag/AgCl),  $t_{dép} = 175$  s,  $v = 5$  mV s<sup>-1</sup>.

L'effet de l'agitation sur la hauteur du pic du cuivre a été examiné dans la gamme qui varie entre 225 tr min<sup>-1</sup> à 650 tr.min<sup>-1</sup>. Dans ce cas, la vitesse d'agitation de 525 tr min<sup>-1</sup> a été choisie pour la suite du travail.

### III.3.7- CALCUL DE VALIDATION ANALYTIQUE ET APPLICATION

La limite de détection instrumentale est de 1,62 ng mL<sup>-1</sup>. Pour l'exactitude mesurée par le matériel de référence certifié, on observe des coefficients de variation de l'ordre de 96,69 et 105,45 respectivement pour le niveau 1 et 3. Le taux de récupération du matériel de référence pour les deux niveaux est respectivement 96,65 % et 98,72 % avec une précision de 4,29 % et de 6,59 % respectivement. La linéarité de la méthode est évaluée par le calcul du coefficient de régression R<sup>2</sup>, les valeurs moyennes obtenues

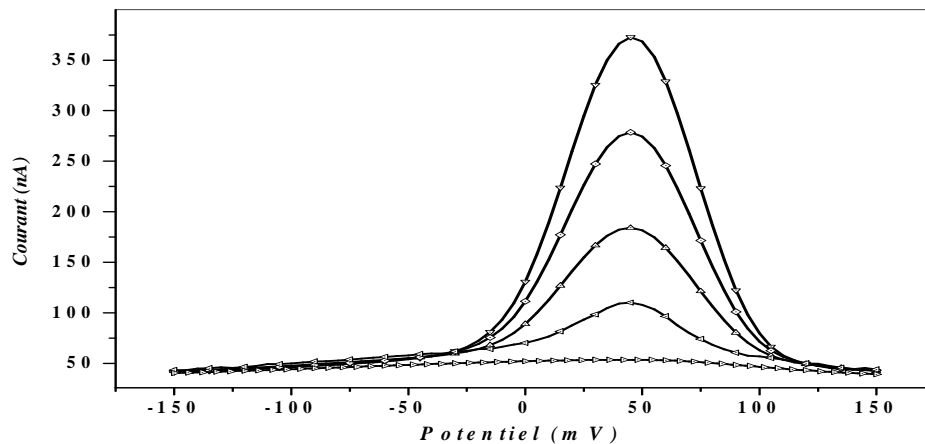
sont supérieures à 0,999. Le domaine de linéarité est plus étendu, généralement dans la gamme de concentration allant de  $5,40 \cdot 10^{-3}$  à  $1015 \mu\text{g L}^{-1}$ .

Le tableau ci-dessous récapitule tous les principaux paramètres obtenus par le calcul de validation analytique.

**Tableau III.3.1** Paramètres obtenus par le calcul de validation analytique.

Matériel	Moyenne $\pm$ SD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) Certifier	Moyenne $\pm$ SD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) Mesuré	Intervalle acceptable	Exactitude	Précision	Récupération
Niveau 1	564 $\pm$ 5,4	545,3 $\pm$ 6,2	531-597	96,69	4,29	96,65
Niveau 3	1740 $\pm$ 151	1834 $\pm$ 159	1438-2042	105,45	6,59	98,72

La figure ci-dessous représente un voltampérogramme relatif au dosage du cuivre dans le sang déminéralisé à partir des conditions qui ont été optimisées précédemment.



**Figure III.3.5.** Détermination du cuivre dans le sang. Condition:  $\text{HClO}_4$  0,03M,  $E_{acc} = -150$  mV (vs. Ag/AgCl),  $t_{dép} = 175$  s,  $u = 525$  tr  $\text{min}^{-1}$ ,  $v = 5$  mV  $\text{s}^{-1}$ .

Nous avons ainsi jugé nécessaire de tester les performances de la méthode développée dans le sang. Pour cela, nous avons enregistré le polarogramme des ajouts dosés dans les conditions optimisées auparavant, puis des quantités connues du cuivre ont été ajoutées à ces échantillons. Le dosage de 48 échantillons des sujets sains a permis de situer la concentration en cuivre dans la marge 399,168 à  $1541,099 \mu\text{g L}^{-1}$  (moyenne de  $971,137 \pm 238,685 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Les valeurs de cuivre pour les femmes et les hommes sont représentés aussi dans le tableau III.3.2.

**Tableau III.3.2** récapitulatif des résultats obtenus pour 48 échantillons de sujets sains.

Sexe	n	Moyenne $\pm$ SD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	95% Confidence	Intervalle ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Femme	24	990,225 $\pm$ 262,876	879,223 - 1101,229	399,168 - 1541,099
Homme	24	952,049 $\pm$ 215,757	860,943 - 1043,155	498,586 - 1374,078
Tous	48	971,137 $\pm$ 238,685	901,831 - 1040,443	399,168 - 1541,099

Les résultats obtenus montrent que les concentrations de cuivre chez les femmes sont plus élevées que chez les hommes, probablement à cause de leur système hormonal [51]. Ces résultats montrent également que le taux de cuivre dans la ville de Tlemcen est dans les normes entre 800 et 1100  $\mu\text{g L}^{-1}$  [32]. Le tableau III.3.3 représente la concentration du cuivre des sujets sains de quelques pays.

**Tableau III.3.3** Le taux de cuivre dans quelque pays.

Pays	Nombres	Intervalle moyenne ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Références
Espagne	82	1070	[20]
Chine	120 (Femme)	1081	[38]
Brésil	253	920	[39]
Italie	215	1036	[52]
Allemagne	130	1020	[53]
Suède	372	950	[54]
Ce travail	48	<b>971</b>	-

La quantité moyenne du cuivre calculée par cette méthode est de 971  $\mu\text{g L}^{-1}$  pour l'analyse de 48 échantillons. Ces résultats sont similaires à ceux rapportés dans d'autres pays et montrent que notre population ne présente ni de carence ni d'excès de cuivre. Signalons toutefois que la valeur maximale rapportée en Chine correspond à l'analyse de 120 échantillons de la population chinoise féminine. Cet écart peut être expliqué par le fait que le taux du cuivre chez les femmes est plus élevé que chez les hommes comme on l'a montré précédemment.

### III.3.8- CONCLUSION

Nos résultats expérimentaux ont montré que la redissolution anodique à une électrode à goutte pendante de mercure suivie par polarographie impulsionnelle

différentielle est suffisamment sensible pour le dosage du cuivre dissous dans le sang. La limite de détection obtenue dans ces conditions,  $1,62 \text{ ng mL}^{-1}$ , est meilleure que celle rapportée dans la littérature, dans les mêmes conditions ( $2 \text{ ng mL}^{-1}$ ). Elle est par contre moins bonne que celle obtenue par ICP-MS ( $0,09 \text{ ng mL}^{-1}$ ) [20, 39].

### **III.4. DETERMINATION DES CONDITIONS OPTIMALES POUR LE DOSAGE DU SELENIUM PAR VOLTAMPEROMETRIE CATHODIQUE INVERSE A IMPULSION DIFFERENTIELLE**

#### **III.4.1- GENERALITES SUR LE SELENIUM**

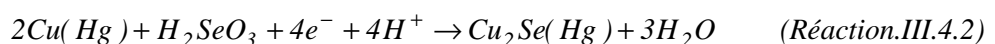
Le sélénium de masse atomique 79 est un métalloïde dont les propriétés physicochimiques sont proches de celles du soufre. Le sélénium inorganique possède six isotopes stables et quatre états d'oxydation :  $\text{H}_2\text{Se}$ ,  $\text{HSe}^-$ ,  $\text{Se}^{2-}$  appelés séléniure (-II), Se appelé sélénium élémentaire (0),  $\text{H}_2\text{SeO}_3$ ,  $\text{HSeO}_3^-$ ,  $\text{SeO}_3^{2-}$  appelé sélénite (+IV) et  $\text{H}_2\text{SeO}_4$ ,  $\text{HSeO}_4^-$ ,  $\text{SeO}_4^{2-}$  appelé séléniate (+VI). Les formes les plus communes des eaux de surface en conditions oxydantes à modérément oxydantes et des sols vont être sélénite  $\text{SeO}_3^{2-}$  (+IV) et séléniate  $\text{SeO}_4^{2-}$  (+VI). Le sélénium est une molécule ambivalente car sa présence en faible concentration est indispensable à la vie pour l'homme, les animaux, les végétaux et les micro-organismes. En cas de carence ou d'excès, il entraîne de sérieux troubles biologiques et écologiques. Les concentrations limites en tant qu'élément essentiel et en tant qu'élément toxique sont très proches. Le sélénium est nécessaire à de nombreuses enzymes, en particulier la glutathion peroxydase qui protège contre l'agression des radicaux libres capables d'endommager les membranes cellulaires et le noyau, favorisant la cancérisation et le vieillissement [55]. Deux organes sont riches en sélénium : le foie et le rein. Le rein, principal lieu de synthèse de la glutathion peroxydase plasmatique [56], a la plus haute teneur en sélénium par unité de poids. Le rôle du sélénium a par la suite été intensément étudié chez les mammifères et en particulier chez l'homme. Dans les années 1960-70, des carences en sélénium ont été associées à des pathologies graves comme des maladies cardiaques (maladie de Keshan), l'infertilité masculine et des myopathies [57]. Dans les

années 1980-90, de nombreux travaux ont montré que cet élément joue un rôle dans les fonctions immunitaires, la suppression virale, le SIDA et le retardement du vieillissement cellulaire [58]. Il a été démontré que le sélénium pouvait être un inhibiteur potentiel de la réplication du virus VIH in vitro [59]. Des travaux plus récents l'ont qualifié d'agent préventif contre une cinquantaine de maladies dont certaines formes de cancer [60]. Leurs teneurs en sélénium varient toutefois en fonction de la disponibilité et de l'abondance de l'oligo-élément dans l'environnement d'origine. Ainsi dans des zones géographiques pauvres en sélénium, comme dans l'est de la Chine, des apports séléniés supplémentaires sont fournis aux populations locales sous la forme de compléments alimentaires [61]. Le sélénium doit y être précisément dosé pour éviter un effet toxique à trop forte dose. Le choix de la dose minimale, et surtout les formes sous lesquelles le sélénium est apportée, sont sujets à controverse jusqu'à remettre en cause l'utilisation de compléments alimentaires séléniés à buts préventif ou thérapeutique [62].

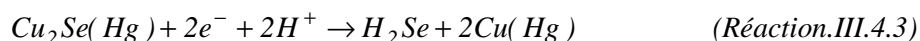
#### III.4.2- PRINCIPE DE LA TECHNIQUE

Nous avons pratiqué de la DPCSV (Differential Pulse Cathodic Stripping Voltammetry), qui, à la différence de la DPASV, permet de mesurer une réduction. La surface de l'électrode à goutte de mercure est mise en contact avec une solution contenant du cuivre (II) et du sélénium car d'un point de vue électrochimique, le sélénium seul ne peut se déposer directement sur l'électrode de mercure. Lors de l'étape d'accumulation, un potentiel négatif est appliqué ; le cuivre (II) est alors réduit et forme un amalgame avec le mercure de l'électrode (*Réaction.III.4.1*) ; L'amalgame est homogénéisé et il y a formation d'un composé intermétallique  $Cu_2Se(Hg)$  dans la goutte de mercure (*Réaction.III.4.2*). Enfin, lors de la redissolution, le sélénium du composé intermétallique est réduit en Se (-II) (*Réaction.III.4.3*). Le pic de sélénium apparaît alors vers -620 mV. Les réactions des étapes d'accumulation et de redissolution sont représentées par les équations ci-dessous [63] :

Phase d'accumulation :

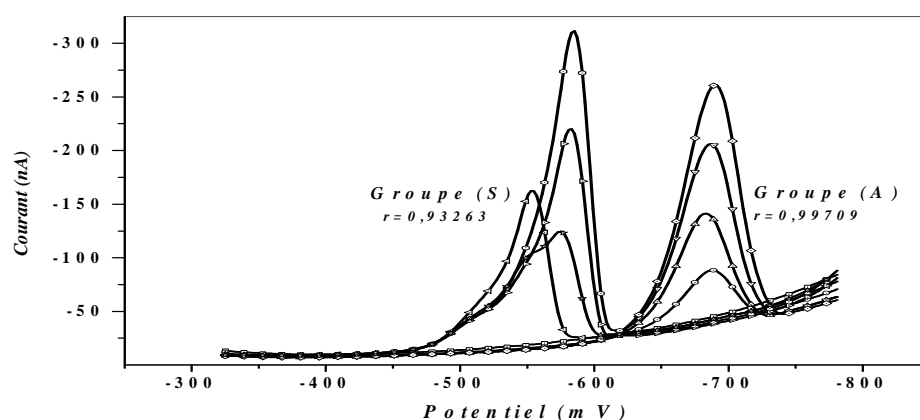


Phase de redissolution :



### III.4.3- EFFET DE L'ELECTROLYTE SUPPORT

Avant de déterminer l'effet de l'électrolyte support sur le taux de récupération du sélénium, nous avons procédé, au moyen de la méthode des ajouts dosés, au tracé de voltampérogrammes (figure III.4.1) de 2 groupes de solutions contenant ou pas du cuivre (groupes A et S respectivement). Les résultats obtenus montrent clairement l'effet du cuivre sur la linéarité des réponses obtenues.



**Figure III.4.1.** Effet du cuivre sur sélénium.  $E_{acc} = -325$  mV (vs. Ag/AgCl),  $u = 400$  tr  $\text{min}^{-1}$ ,  $v = 20$  mV  $\text{s}^{-1}$ ,  $t_{dép} = 300$  s,  $t_p = 20$  ms,  $\Delta E = -50$  mV.

Nous avons procédé ensuite à la détermination de l'effet de l'électrolyte support sur le taux de récupération du sélénium. Pour cela, le volume de la solution à doser, fixé à 50  $\mu\text{L}$ , a été prélevé de solutions standard de sélénium, dont la concentration varie de 20 à 150  $\mu\text{g L}^{-1}$ . L'électrolyte support, quant à lui, a été obtenu par ajout, à 10 mL d'eau ultra pure, de 100  $\mu\text{L}$  de solutions de différentes concentrations en cuivre (de 50 à 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) préparées dans l'acide chlorhydrique HCl 0,3M. Les taux de récupération de sélénium obtenus, sont regroupés dans le tableau suivant.

**Tableau III.4.1** Pourcentage de récupération du sélénium variant concentration du cuivre.

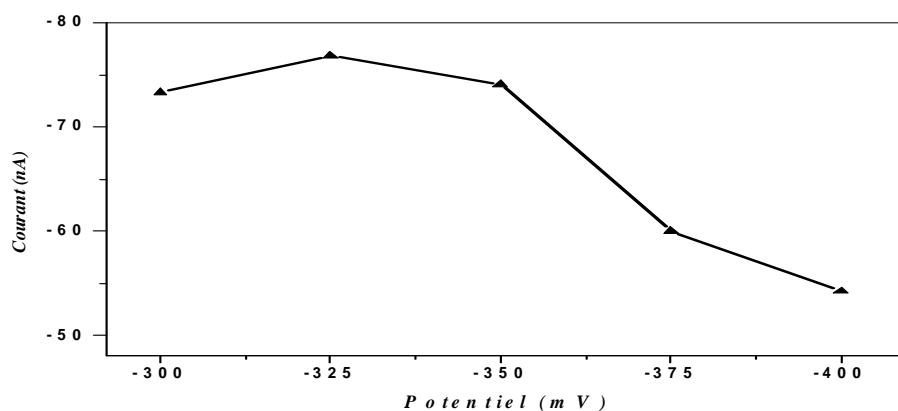
Cuivre ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Sélénium ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )			
	20	50	100	150
500	98,79	101,51	102,45	96,04
1000	101,15	98,29	100,63	97,92
1500	99,07	102,91	101,02	102,98
2000	102,03	99,63	99,51	101,10



Les résultats obtenus montrent que le taux de récupération du sélénium est presque total (valeurs très voisines de 100 %). Dans la redissolution cathodique, il n'y a donc pas d'interférences entre le cuivre et le sélénium, le cuivre permet en outre d'augmenter la sensibilité du pic du sélénium ainsi que d'obtenir une meilleure linéarité. La concentration de Cu (II) a été fixée, par la suite, à  $200\mu\text{g mL}^{-1}$  (dans l'acide HCl 0,3M), cette valeur optimale nous a en effet donné la meilleure reproductibilité et une bonne linéarité. La présence d'ions chlorure dans l'électrolyte support permet d'augmenter la part de composé intermétallique Se-Cu déposé à la surface de l'électrode [63], certainement par stabilisation du Cu(I) après formation d'un complexe avec les ions chlorure [64]. C'est la raison pour laquelle l'HCl est l'acide le plus couramment utilisé pour la détermination du Se(II) par polarographie à redissolution cathodique.

#### III.4.4- EFFET DU POTENTIEL D'ACCUMULATION

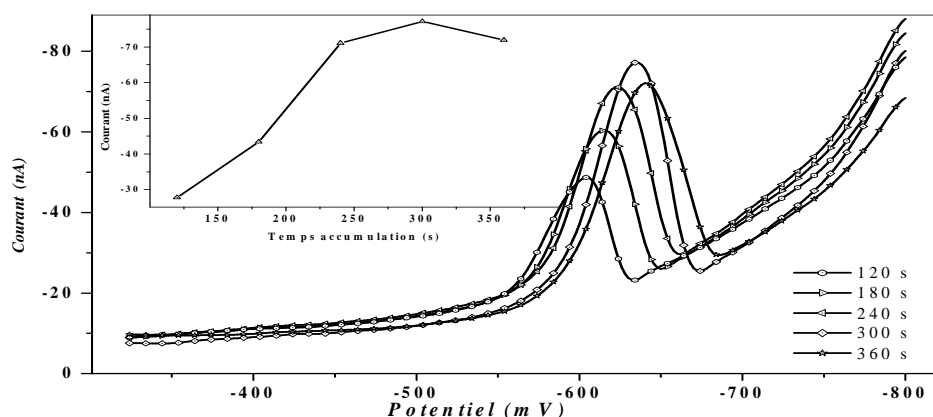
Le potentiel d'accumulation, correspond à une valeur du potentiel à laquelle on peut réduire le où les cations à analyser. Son choix est fonction de la nature de l'élément à doser et du milieu électrolytique. L'effet du potentiel d'accumulation sur l'intensité du pic de sélénium a été examiné dans la gamme de potentiel qui varie entre -300 et -400 mV (vs. Ag/AgCl). La figure III.4.2 montre que l'intensité  $i_p$  atteint une valeur maximale à un potentiel d'accumulation de -325 mV (vs. Ag/AgCl). Ce potentiel sera donc fixé à cette valeur par la suite.



**Figure III.4.2.** Effet du potentiel d'accumulation. Condition:  $u = 400 \text{ tr min}^{-1}$ ,  $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $t_{\text{dép}} = 300 \text{ s}$ .

### III.4.5- EFFET DU TEMPS D'ACCUMULATION

Le temps de dépôt est un facteur déterminant dans les analyses polarographiques par redissolution cathodique car il conditionne la sensibilité et la limite de détection de la méthode [63]. De nombreuses études ont permis de mettre en évidence l'augmentation de l'intensité du pic avec le temps de dépôt jusqu'à un maximum au-delà duquel la diminution de l'intensité du pic peut être expliquée par des modifications dans la stœchiométrie du composé intermétallique  $\text{Cu}_2\text{Se}$  déposé à la surface de l'électrode [64] ou par une saturation de l'électrode [65]. L'optimisation de ce temps de dépôt dépend également de la concentration en  $\text{Cu(II)}$  dans l'électrolyte support [63]. La figure III.3.3 représente les voltampérogrammes obtenus après des temps dépôt de 120, 180, 240, 300 et 360 s.



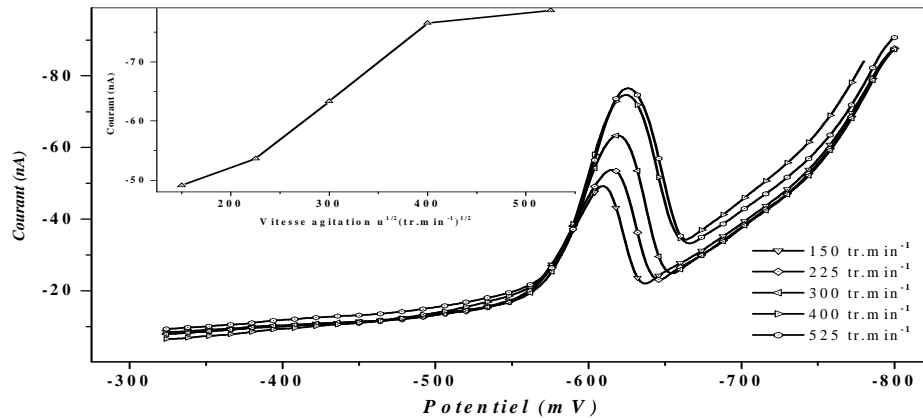
**Figure III.4.3.** Variations des courants de pics pour différents temps d'accumulation. Condition:  $E_{acc} = -325$  mV (vs. Ag/AgCl),  $u = 400$  tr  $\text{min}^{-1}$ ,  $v = 20$  mV  $\text{s}^{-1}$ .

La figure ci-dessus montre que l'intensité du signal du sélénium augmente progressivement avec le temps d'accumulation. Nous remarquons d'autre part, que les sommets des pics se déplacent vers les valeurs négatives du potentiel. La hauteur du pic augmente également considérablement avec le temps de dépôt et diminue à partir de 300 s. Ce temps a donc été considéré comme temps de dépôt optimum pour les prochaines analyses.

### III.4.6- EFFET DE LA VITESSE D'AGITATION

L'agitation se fait à une vitesse constante pendant le temps d'accumulation pour favoriser le transport d'analyte au niveau de l'électrode de travail. La durée

d'agitation est fonction de la durée d'accumulation, car les deux processus sont généralement simultanés. Expérimentalement, nous avons constaté (figure III.4.4) que l'intensité du pic du sélénium augmente considérablement en augmentant la vitesse d'agitation de 150 à 400  $\text{tr min}^{-1}$ . Cette intensité diminue à partir de 525  $\text{tr min}^{-1}$ . C'est la raison pour laquelle nous avons choisi la valeur de 400  $\text{tr min}^{-1}$  comme vitesse d'agitation optimale.

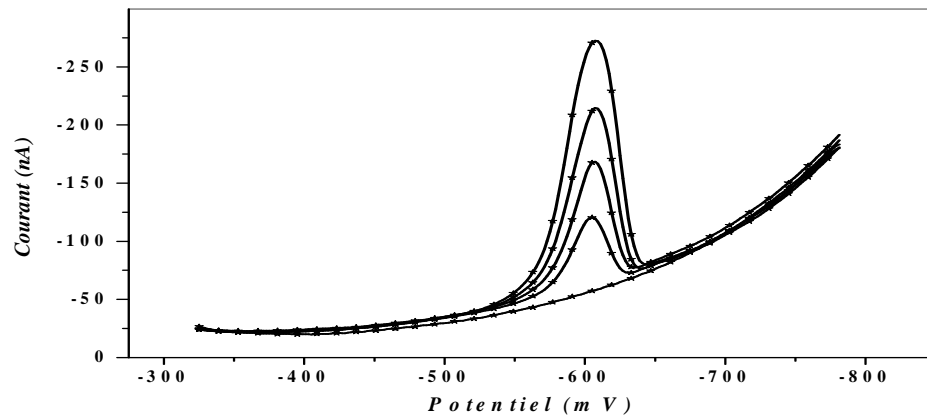


**Figure III.4.4.** Effet de la vitesse d'agitation. Condition:  $E_{acc} = -325$  mV (vs. Ag/AgCl),  $v = 20$   $\text{mV s}^{-1}$ ,  $t_{dép} = 300$  s.

### III.4.7- CALCUL DE VALIDATION ANALYTIQUE ET APPLICATION

La réplicabilité est de 1,62 % (sur le même échantillon qui a été dosé pendant 10 jours) et la répétabilité est de 0,86 % (le même jour, en un court temps 'n=10'). Les limites de détection et de quantification de la méthode sont de 29  $\text{ng mL}^{-1}$  et de 97,5  $\text{ng mL}^{-1}$  respectivement. Ces limites ont été calculées à partir de trois fois la valeur de l'écart-type des concentrations de dix réplicats. La limite de détection obtenue dans ces conditions est plus faible que celle obtenue par *M. A. Moreno* et al [20] dans les mêmes conditions (50  $\text{ng mL}^{-1}$ ). La gamme de linéarité s'étend de la limite de quantification jusqu'à la dernière concentration injectée (0,0975 à 3,25  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) avant l'observation du phénomène de saturation. L'exactitude mesurée par du matériel de référence certifié est de 98,01 % (n=06). La valeur certifiée du sélénium est de 79,8  $\mu\text{g L}^{-1}$  avec une gamme de valeurs acceptables situées entre 74,4 et 85,2  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Le taux de récupération calculé à partir du matériel de référence est quant à lui de 97,17 %. La figure III.3.5 représente un voltampérogramme relatif au dosage du sélénium dans le sang minéralisé à partir des conditions qui ont été optimisées précédemment. La

variation de l'intensité du pic de redissolution cathodique du sélénium en fonction de la concentration en sélénium ajouté a permis de déterminer la concentration de sélénium dans l'échantillon. Cette concentration est égale  $70,125 \mu\text{g L}^{-1}$ .



**Figure III.4.5.** Détermination du sélénium dans le sang. Condition:  $E_{\text{acc}} = -325 \text{ mV}$  (vs. Ag/AgCl),  $u = 400 \text{ tr min}^{-1}$ ,  $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ ,  $t_{\text{dép}} = 300 \text{ s}$ .

La teneur du sélénium dans le corps humain est étroitement liée à l'alimentation et donc, d'origine géographique. Dans la population générale, l'absorption se fera principalement par voie digestive. Le dosage de sélénium dans le sang total de la ville de Tlemcen ( $n=300$ ) a permis de situer leurs concentrations dans la marge  $30,881\text{-}144,040 \mu\text{g L}^{-1}$  (moyenne de  $85,65 \mu\text{g L}^{-1}$ ) [66].

### CONCLUSION CHAPITRE III

La détermination d'éléments traces dans l'environnement est complexe en raison de leurs nombreuses interactions dans les différents compartiments environnementaux. Leur faible concentration dans la plupart des échantillons d'intérêt, conditionne le type de méthode analytique qui doit être sélectionnée avec soin sans négliger toutes les étapes précédant la détermination. Ainsi le choix de la technique analytique est conditionné par plusieurs facteurs : la quantité d'échantillon disponible, la concentration d'élément à doser, l'état physique de l'échantillon, l'aptitude d'analyse de la méthode et l'aspect économique et temporel pour réaliser l'analyse et traiter les données.

Ce chapitre a été consacré à l'optimisation des conditions de dosage dans le sang des éléments traces Zn, Cd, Pb, Se et Cu, par voltampérométrie d'électrode à goutte de mercure inverse anodique (Zn, Cd, Pb et Cu) et cathodique (Se) à impulsion différentielle. Pour cela, nous avons étudié l'influence, sur le courant de redissolution de ces éléments, de différents paramètres tels que l'électrolyte support, le potentiel d'accumulation, le temps de dépôt et la vitesse d'agitation de la solution. Des calculs statistiques de validation analytique ont été effectués à la fin de chaque dosage afin de valider les méthodes d'analyse utilisées.

Les résultats expérimentaux et ceux obtenus par le calcul de validation analytique, nous permettent de conclure que la voltampérométrie à redissolution différentielle d'impulsion cathodique et/ou anodique est très sensible pour le dosage des éléments Zn, Cd - Pb, Se et Cu dans le sang. En effet, les limites de détection obtenues sont meilleures que celle rapportées dans la littérature dans les mêmes conditions. La DPSV présente également l'avantage d'être peu onéreuse comparée à d'autres méthodes d'analyses telles que l'ICP-MS. Elle est de surcroît, précise et sélective, d'où l'intérêt de son utilisation pour la spéciation des éléments traces. Un autre avantage est sa spécificité, il est en effet possible d'effectuer simultanément des mesures de concentration de plusieurs métaux à partir de la même solution.

- [1] K.R. Mahaffey et al. National estimates of blood lead levels-United States, 1976-1980, Association with selected demographic and socio-economic factors. *New England Journal of Medicine.*, 307(1982)573-579.
- [2] S.G. Gilbert, B. Weiss. A rationale for lowering the blood lead action level from 10 to 2 µg/dL. *Neurotoxicology.*, 27(2006)693-701.
- [3] P. Andujar, L. Bensefa-Colas, A. Descatha. Intoxication aiguë et chronique au cadmium. *La Revue de médecine interne.*, 31(2010)107-115.
- [4] G.F. Nordberg, M. Piscator, M. Nordberg. On the distribution of cadmium in blood. *Acta. Pharmacol. Toxicol.*, 30(1971)289-295.
- [5] L. Jie, L. Yaping, S. Sultan. Metallothionein-Null Mice Are Highly Susceptible to the Hematotoxic and Immunotoxic Effects of Chronic CdCl<sub>2</sub> Exposure. *Toxicology and Applied Pharmacology.*, 159(1999) 98-108.
- [6] R. Bartolin et al. Cadmium sanguin et zinc plasmatique chez l'hypertendu: A propos de 76 observations. *La Revue de Médecine Interne.*, 6(1985) 280-284.
- [7] G.F. Nordberg, M. Nordberg. Different binding forms of cadmium-implications for distribution and toxicity. *J. UOEH.*, 9(1987)153-164.
- [8] L. Järup et al. Biological half-time of cadmium in the blood of workers after cessation of exposure. *Scand J Work Environ Health.*, 9(1983)27-31.
- [9] A. Kabata-Pendias, A. Mukherjee. Trace Elements from Soil to Human: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 2007.
- [10] V. Burgat-Sacaze et al. Toxicité à long terme du cadmium administré à très faible dose chez le rat: Répartition du cadmium, du zinc, et du cuivre. *Toxicology and Applied Pharmacology.*, 46(1978)781-791.
- [11] R. Garnier. Toxicité du plomb et de ses dérivés Toxicity of lead and lead compounds. *EMC-Toxicologie Pathologie.*, 2(2005)67-88.
- [12] M. Klein et al. Diagnostic et traitements actuels du saturnisme. *Rev Méd Interne.*, 15(1994)101-109.
- [13] J. Gounon, A. Milhau. Analysis of inorganic pollutants emitted by the City of Paris garbage incineration plants. *Waste Management & Research.*, 4(1986)95-104.
- [14] G. Winneke, U. Kramer. Neurobehavioural aspects of lead neurotoxicity in children. *Cent Eur J Public Health.*, 5(1997) 65-69.
- [15] L. Friberg. Health hazards in the manufacture of alkaline accumulators with special reference to chronic cadmium poisoning; a clinical and experimental study. *Acta Med Scand Suppl.*, 240(1950)1-124.

- [16] C. Fraser et al. Multifocales évoqués visuels d'analyse de latence potentielle: la progression de la sclérose en plaques à la prédiction. *Archives of neurology.*, 63(2006)847-850.
- [17] J. Schwartz. Lead, blood pressure, and cardiovascular disease in men and women. *Environ Health Perspect.*, 91(1991)71-75.
- [18] Y. Nordmann et al. Dépistage du saturnisme chronique. Intérêt du dosage de la protoporphyrine érythrocytaire. *Presse Méd.*, 13(1984)2137-2141.
- [19] L. Awad, G. Huel, P. Lazar, C. Boudene. Facteurs de variation inter-individuelle de la plombémie. *Rev Épidémiol Santé Publ.*, 29(1981)113-124.
- [20] M. A. Moreno et al. Trace element levels in whole blood samples from residents of the city Badajoz, Spain. *The Science of the Total Environment.*, 229(1999)209-215.
- [21] F.Jr. Barbosa et al. Elevated blood lead levels in a riverside population in the Brazilian Amazon. *Environ Res.*, 109(2009)594-599.
- [22] L. Labat et al. Dosage de métaux par ICP-MS dans différents milieux biologiques. *Annales de Toxicologie Analytique.*, 15(2003)281-286.
- [23] R.J. Cousins. Absorption, transport, and hepatic metabolism of copper and zinc: special reference to metallothionein and ceruloplasmin. *Physiol Rev.*, 65(1985)238-309
- [24] M. Favier, I. Hininger-Favier. Zinc et grossesse. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité.*, 33(2005)253-258.
- [25] J. Arnaud, A. Favier. Le zinc. In: Chappuis, editor. Les oligoéléments en médecine et biologie. *Tec et Doc Lavoisier, Edit Paris.*, 1991. p. 344-8.
- [26] F. Stéphan, J. Revuz. Sels de zinc en dermatologie. *Annales de Dermatologie et de Vénérologie.*, 131(2004)455-460.
- [27] D. Dréau, J.P. Lallés. Contribution to the study of gut hypersensitivity reactions to soybean proteins in preruminant calves and early-weaned piglets. *Livestock Production Science.*, 60(1999)209-218.
- [28] J.P. Mackay, M. Crossley. Zinc fingers are sticking together. *Trends in Biochemical Sciences.*, 23 (1998)1-4.
- [29] A. Ghisolfi-Marque et al. Activité anti-oxydante, lipoperoxydation et vieillissement chez l'homme. *Nutr Clin Métabol.*, 10(1996)151-160.
- [30] M. Woods et al. Effects of insulin on melanoma and brain metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta.*, 12(1953)329-346.
- [31] M.M. Berger. Rôle des oligo-éléments et des vitamines en nutrition périopératoire. *Ann Fr Anesth Reanim.*, 14(1995)82-94.

- [32] G.V. Iyengar. Reference values for the concentrations of As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, I, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se and Zn in selected human tissue and body fluids. *Biol Trace Element Res.*, 12(1987)263-295.
- [33] I. Adamson et al. Zinc is the toxic factor in the lung response to an atmospheric particulate sample. *Toxicol Appl Pharmacol.*, 166(2000)111-119.
- [34] M. Kirchgessner, E. Weigand. Zinc absorption and excretion in nutrition. In: Metal ions in biological systems. New York : Marcel Dekker: 1983; 319-362.
- [35] D. Oberleas, AS. Prasad. Factors affecting zinc homeostasis. In: Zinc and copper. New York : Academic Press: 1976; 155-162.
- [36] A. Alimonti et al. Assessment of reference values for selected elements in a health urban population. *Ann Ist Super Sanita.*, 41(2005)181-187.
- [37] B. Benes et al. Effects of age, BMI, smoking and contraception on levels of Cu, Se and Zn in the blood of the population in the Czech Republic. *Cent Eur J Public Health.*, 13(2005)202-207.
- [38] J. Liu et al. Blood copper, zinc, calcium, and magnesium levels during different duration of pregnancy in Chinese. *Biol Trace Elem Res.*, 135(2010)31-37.
- [39] J.L. Rodrigues et al. Trace element levels in whole blood of riparian villagers of the Brazilian Amazon. *Science of The Total Environment.*, 407(2009) 4186-4173.
- [40] M.C. Linder, M. Hazegh-Azam. Copper biochemistry and molecular biology. *Am J Clin Nutr.*, 63(1996)797-811.
- [41] J. Ghika et al. Maladie de Wilson. *EMC-Neurologie.*, 1(2004)481-511.
- [42 ] F.S. Benghiat et al. Anémie et myélopathie : une colle inhabituelle. *La Revue de médecine interne.*, 32(2011)191-194.
- [43] M. Misrahi, M. Hadchouel, Physiopathologie et génétique de la maladie de Wilson. *Hépto-Gastro.*, 4(1997)473-481.
- [44] I.H. Scheinberg. Copper. In: E. Merian, Metals and their compounds in the environment. Occurrence, analysis and biological relevance. *Weinheim*, New-York, 1991. 893-908.
- [45] D. Frankel. Supplementation of trace elements in parenteral nutrition. Rationale and recommendations. *Nutr Res.*, 13(1993)583-596.
- [46] B. Lonnerdal, R. Uauy. Genetic and environmental determinants of copper metabolism. *Am J Clin Nutr.*, 67(1998)951S-1102S
- [47] C. Delluc et al., Pathologies hépatiques et grossesse. *La Revue de médecine interne.*, 30(2009)508-515



- [48] G.J. Brewer, V.Y. Gurkan. Wilson disease. *Medicine.*, 71(1992)139-164.
- [49] CT. Walsh et al. Zinc: health effects and research priorities for the 1990s. *Environ Health Perspect.*, 102(1994)5-46.
- [50] R. Uauy, M. Olivares. Copper nutrition in humans: essentiality and toxicity. *Am J Clin Nutr.*, 63(1996)791S-852S.
- [51] N.W. Solomons, On the assessment of zinc and copper nutriture in man. *American Journal of Clinical Nutrition.*, 32(1979)856-871.
- [52] B. Bocca et al. Assessment of reference ranges for blood Cu, Mn, Se and Zn in a selected Italian population. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.*, 25 (2011)19-26.
- [53] P. Heitland, H.D. Koster, Biomonitoring of 37 trace elements in blood samples from inhabitants of northern Germany by ICP-MS, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology.*, 20(2006)253-262.
- [54] E. Bárány et al. Trace element levels in whole blood and serum from Swedish adolescents. *Science of The Total Environment.*, 286(2002) 129–141.
- [55] F. Tessier, P. Marconnet. Radicaux libres, systèmes antioxydants et exercice. *Science & Sports.*, 10(1995)1-13.
- [56] N. Avissar et al. Plasma selenium-dependent glutathione peroxidase. *Cell origin and secretion J Biol Chem.*, 264(1989)15850-15855.
- [57] K. Ge, G. Yang. The epidemiology of selenium deficiency in the etiological study of endemic diseases in China. *Am J Clin Nutr.*, 57(1993)259S-263S.
- [58] J.B. Milne. The uptake and metabolism of inorganic selenium species. *In: Frankenberger Jr. W.T., Engberg, R.A. (Eds.), Environmental Chemistry of Selenium.* Marcel Dekker, New York, (1998)459-478.
- [59] C. Sappéy et al. Stimulation of glutathione peroxidase activity decreases HIV type 1 activation after oxidative stress. *AIDS Res Hum Retrovir.*, 10(1994)1451-1461.
- [60] R. Irons, B.A. Carlson, D.L. Hatfield, C.D. Davis. Both selenoproteins and low molecular weight selenocompounds reduce colon cancer risk in mice with genetically impaired selenoprotein expression. *J Nutr.*, 136(2006) 1311-1317.
- [61] G. Li et al. Keshan Disease: An Endemic Cardiomyopathy in China. *Humain pathology.*, 16(1985)602-609.
- [62] L. Johansson, G. Gafvelin, E.S Arner. Selenocysteine in proteins-properties and biotechnological use. *Biochim Biophys Acta.*, 1726(2005)1-13.
- [63] R. Piech, W.W. Kubiak. Determination of trace selenium on hanging copper amalgam drop electrode. *Electrochimica Acta.*, 53(2007)584-589.

[64] C.M.G. Van Den Berg, S.H. Khan. Determination of selenium in sea water by adsorptive cathodic stripping voltammetry. *Analytica Chimica Acta*, 231 (1990)221-229

[65] C.M.G. Van Den Berg. Determination of copper, cadmium and lead in seawater by cathodic stripping voltammetry of complexes with 8-hydroxyquinoline. *J. Electroanal Chem.*, 215(1986)111-121.

[66] Dennouni-Medjati et al. Whole Blood Selenium Levels in Healthy Adults from the West of Algeria. *Biological Trace Element Research.*, 147(2012)44-48.

# *CHAPITRE : IV*

**CHAPITRE IV : DETERMINATION DU CUIVRE PAR LA  
VOLTAMPEROMETRIE A REDISSOLUTION  
DU COMPOSE ADSORBE**

**INTRODUCTION**

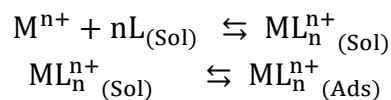
Le travail du chimiste-analyste constitue la base de ces évaluations. Cette mission l'a amené à développer des méthodes d'analyse spécifiques et à rendre leurs instruments de mesure toujours plus performants avec un objectif à la clef : accroître la diversité des substances détectables mais aussi améliorer les limites de détection pour déceler traces et ultra-traces dans l'échantillon. La définition de la limite de détection est importante car elle permet de connaître la fonction de ligand dans lequel peut être utilisé. De façon générale, on pourrait la définir comme étant la plus petite valeur de mesure détectable qui génère un signal électrique. L'amélioration de la limite de détection d'une méthode d'analyse se fait par le choix de la technique soit électrochimique, spectroscopique ou autre.

Dans cet étude, nous nous sommes intéressées à développer une méthode électro-analytique basée sur une électrode de mercure tout en modifiant la nature du ligand ajouté afin de rendre cette méthode plus sensible. Cette nouvelle méthode est non seulement plus précise et plus fiable pour les éléments traces et ultra-traces mais elle est également plus rapide. Cette méthode électro-analytique, repose sur une accumulation d'un complexe de l'élément avec un ligand spécifique sur une électrode à goutte de mercure, suivie par la réduction électrochimique de l'élément ou du ligand dans le complexe [1]. Après avoir étudié quelques paramètres qui peuvent influencer la nature du complexe formé, tels que le potentiel et le temps d'accumulation suivi par un balayage de potentiel, un changement de courant électrique est induit lorsque le complexe est oxydé (et/ou réduit) par réaction électrochimique. Cette technique est appelée la polarographie à redissolution de composé adsorbé à impulsion différentielle. Dans cette technique, l'étape de préconcentration correspond à l'accumulation par adsorption de complexes à la surface de l'électrode de mercure. Cette étape est suivie d'une mesure des substances adsorbées par l'application, en réduction ou en oxydation

selon l'électroactivité des espèces adsorbées, d'une technique polarographique. L'adsorption s'effectue à potentiel imposé qui dépend de la charge de l'espèce adsorbée et de la valeur du potentiel de charge nulle de l'électrode de mercure dans l'électrolyte considéré. Ainsi, pour les espèces neutres, l'application d'un potentiel proche du potentiel de charge nulle est plus favorable pour l'accumulation. Dans certains cas, la molécule complexante du métal peut être préalablement adsorbée sur la surface du mercure avant d'accumuler le métal à la surface de l'électrode par complexation. Les méthodes voltampérométriques à redissolution après formation d'un composé adsorbé diffèrent dans le processus de formation du complexe et le mécanisme d'accumulation. Les mécanismes de formation du complexe entre l'analyte et le ligand sur l'électrode de travail sont présentés par les trois étapes suivantes:

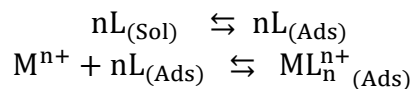
**1. Formation d'un complexe dans la solution :**

Dans le processus le plus simple, l'analyte  $M^{n+}$  forme un complexe adsorbable avec le ligand L dans la solution. Le complexe ainsi formé s'adsorbe ensuite sur la surface de l'électrode de travail selon les réactions suivantes:



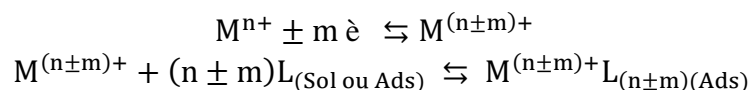
**2. Formation de complexes après adsorption de l'agent complexant:**

L'agent complexant est adsorbé sur l'électrode, afin que la formation d'un complexe prenne place sur la surface de l'électrode.



**3. Formation de complexes après conversion électrochimique de l'analyte:**

Si  $M^{n+}$  ne forme pas un composé tensio-actif avec l'agent complexant, l'analyte sera électrochimiquement réduit ou oxydé et transformée en un état d'oxydation adapté pour la formation d'un complexe. Le processus se déroule dans la solution ou sur la surface de l'électrode selon les réactions suivantes :

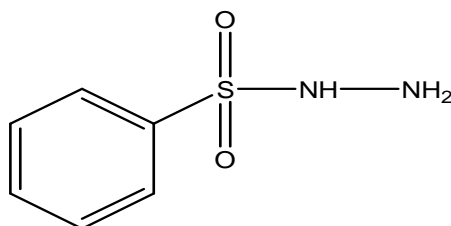


**IV.1. DETERMINATION DES CONDITIONS OPTIMALES DU DOSAGE DU CUIVRE  
EN PRESENCE D'HYDRAZIDE DE BENZENE SULFONYLE PAR  
VOLTAMPEROMETRIE A REDISSOLUTION  
A IMPULSION DIFFERENTIELLE**

**IV.1.1- INTRODUCTION**

Le principe des capteurs électrochimiques repose sur l'adsorption du ligand sur l'électrode de travail. La réponse électrochimique à l'addition d'un substrat est transformée en un signal électrique amplifié et quantifiable. La voltampérométrie à redissolution après adsorption d'un composé est une méthode très sensible. L'augmentation de la sensibilité de cette méthode dépend de deux principaux paramètres, la technique choisie (voltampérométrie à impulsion différentielle) et la nature du composé adsorbé (ligand). Ce dernier est constitué d'un site de complexation, dont les caractéristiques structurales et physico-chimiques doivent permettre de complexer sélectivement le substrat, ainsi que d'une unité signalétique qui permettra de mettre en évidence, grâce à l'apparition d'un signal spécifique, la formation du complexe analyte-récepteur.

Parmi de nombreux ligands testés, l'hydrazide de benzène sulfonyle (HBS) a donné une meilleure réponse avec le cuivre. Ce choix du ligand nous a permis de faire une optimisation de différents paramètres chimiques et électrochimiques, afin de déterminer les conditions optimales de détermination du cuivre. Ce travail est couronné par une application sur quelques échantillons de sang de sujets sains. La fonction sulfonyle hydrazine est constituée de l'enchaînement d'un groupement  $\text{RSO}_2$  et d'une hydrazine substituée ou non. Les sulfonyle hydrazines sont généralement synthétisées à partir d'un chlorure de sulfonyle et de l'hydrazine en présence ou non de base. Les sulfonyle hydrazines se distinguent des sulfonyle hydrazides par la présence d'un groupement carbonyle sur l'atome d'azote.



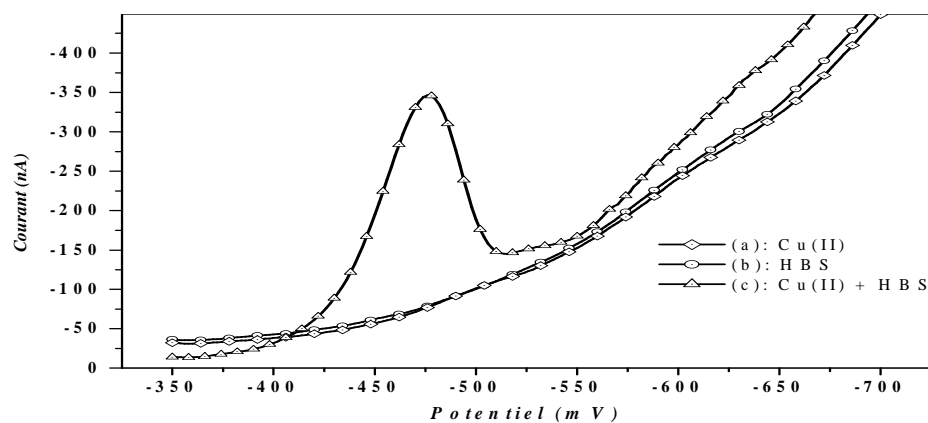
**Figure IV.1.1.** Structure de l'hydrazide de benzène sulfonyle.

Les composés contenant le groupement sulfonyle hydrazine suscitent de plus en plus d'intérêt pharmaceutique et chimique. D'un côté, de nombreux composés contenant un groupe sulfonamide ou un résidu de l'hydrazine ou leur combinaison dans une molécule, présentent une activité cytostatique et antibactérienne [2]. De l'autre côté, les résines avec le groupement  $\text{RSO}_2\text{NHNH}_2$  sont employés comme piègeurs de carbonyle [3] ou dans les réactions de l'état solide pour une capture efficace des groupes cétoniques [4].

#### IV.1.2- APPROCHES PRELIMINAIRES

Des expériences préliminaires ont été réalisées afin d'identifier les principaux paramètres qui caractérisent le comportement du complexe Cu (II) et l'hydrazide de benzène sulfonyle sur l'électrode à goutte de mercure. La figure IV.1.2 montre le polarogramme à redissolution à impulsions différentielles du système Cu-HBS dans 0,03 M d'acide perchlorique ( $\text{HClO}_4$ ), après accumulation à -350 mV (vs. Ag/AgCl) pendant 50 s sur une HMDE. La courbe (a), qui correspond à une solution à blanc (ligand sans les ions métalliques du cuivre (II)) dans  $\text{HClO}_4$  0,03 M ne présente pas de pic dans cette gamme de potentiel. La courbe (b) représente le voltampérogramme d'une solution contenant  $75 \text{ ng mL}^{-1}$  de cuivre et en l'absence du ligand dans des conditions similaires. La courbe (c) correspond à la solution d'échantillon contenant les ions métalliques Cu(II) et le ligand HBS au potentiel -475 mV (vs. Ag/AgCl) qui correspond à la réduction de Cu (II) avec l'hydrazide de benzène sulfonyle dans  $\text{HClO}_4$  0,03 M (Fig. IV.1.1).

Le mécanisme possible de l'accumulation des métaux de transition et de l'hydrazide sulfonyle, via la capacité de formation d'un complexe, ont été donnés par A. Ienco et al [5]. Ce ligand favorise le processus d'adsorption de différents groupes fonctionnels, il peut donc être coordonné avec l'ion cuivre grâce à un donneur de groupes ( $-\text{NH}_2$ ) [6]. Afin d'obtenir la meilleure sensibilité possible dans la détermination du cuivre, l'influence de différents paramètres tels que l'effet de l'électrolyte support, la concentration du ligand, le potentiel appliqué, le temps de dépôt et la vitesse d'agitation et de balayage a été étudiée.



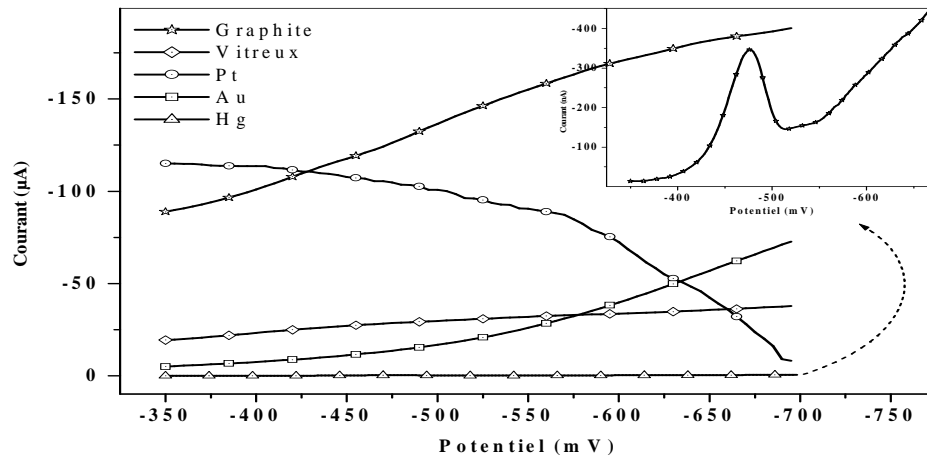
**Figure IV.1.2.** Voltampérogramme à redissolution d'adsorption cathodique, (a) : Electrolyte support  $\text{HClO}_4$  (Ligand HBS sans ions de cuivre); (b): Ions de Cuivre ( $75 \text{ ng mL}^{-1}$ ) sans ligand; (c): Ions cuivre ( $75 \text{ ng mL}^{-1}$ ) avec ligand (HBS); Conditions:  $\text{HClO}_4$  0,03 M, HBS :  $7,5 \times 10^{-5}$  M; temps d'accumulation, 50 s; potentiel d'accumulation, -350 mV (vs. Ag/AgCl); Vitesse de balayage  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

#### IV.1.3- CHOIX DE L'ELECTRODE DE TRAVAIL

Le principe de cette technique repose sur l'adsorption du complexe formé par le ligand et le métal libre sur l'électrode sous l'influence d'un potentiel électrique de dépôt, puis la redissolution du composé adsorbé, cette procédure a une relation aussi avec la nature d'électrode de travail. Cette électrode joue un rôle très important dans la sensibilité de la méthode. Les électrodes qui ont été testées dans ce travail sont de différents types : goutte pendante de mercure, électrode tournante (or, platine, carbone vitreux et graphite). La figure IV.1.3 représente les résultats sur les différentes électrodes utilisées pour la détection du cuivre en présence du benzène sulfonyle hydrazide.

Par ailleurs, une meilleure adsorption de l'analyte sur l'électrode de travail dépend essentiellement de la stabilité et de la reproductibilité de la surface de l'électrode [7]. Les caractéristiques de l'électrode de mercure représentent un avantage par rapport aux autres électrodes solides. Parmi ses nombreux avantages, la formation des gouttes par écoulement dans un capillaire est très reproductible et la surface de l'électrode est constamment renouvelée. Les résultats obtenus montrent que l'électrode de mercure à goutte pendante donne une meilleure sensibilité que les autres électrodes.

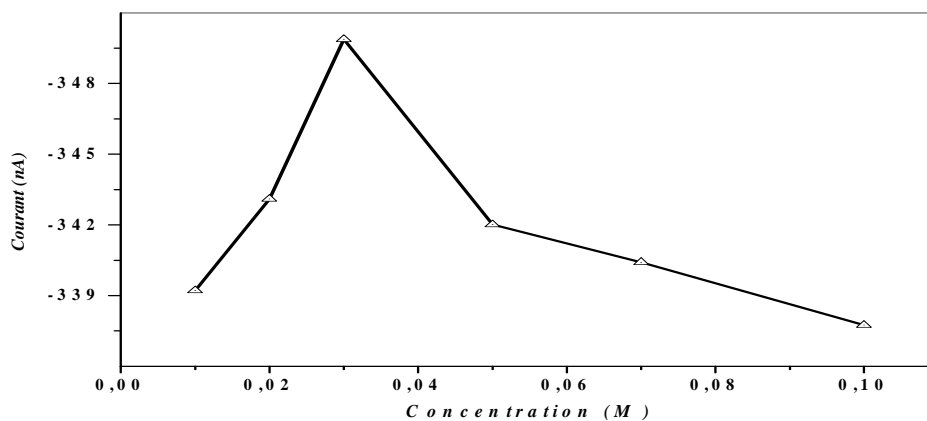




**Figure IV.1.3.** Effet de l'électrode de travail sur l'intensité du pic du cuivre (II). Conditions:  $\text{HClO}_4$  0,03 M,  $\text{Cu (II)}$ :  $75 \text{ ng mL}^{-1}$ ,  $\text{HBS}$  :  $7,5 \times 10^{-5}$  M, temps d'accumulation 50 s, potentiel d'accumulation -350 mV (vs. Ag/AgCl), Vitesse de balayage  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

#### IV-1.4-EFFET DE L'ELECTROLYTE SUPPORT

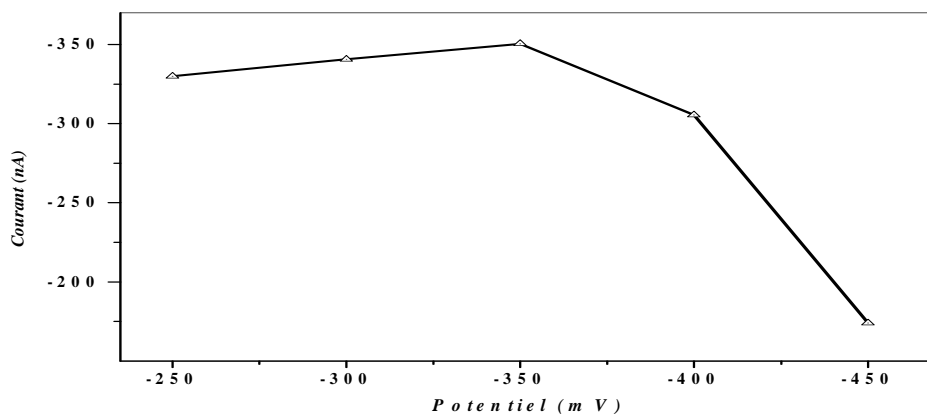
L'effet du milieu a un rôle très important sur la sensibilité de la méthode. Une série d'électrolytes supports (nitrate de potassium, hydroxyde de sodium, acétate de sodium et de potassium, acide perchlorique, acide nitrique et acide chlorhydrique) ont été testés en présence de  $7,5 \times 10^{-5}$  M de ligand et  $75 \text{ ng mL}^{-1}$  de cuivre, le temps d'accumulation étant de 50 s. Les résultats obtenus montrent que l'acide perchlorique donne la meilleure réponse de signal. Ce résultat concorde avec celui de nombreux travaux qui utilisent l'acide perchlorique avec une électrode HMDE pour la détermination des éléments traces [8-10]. L'influence de l'électrolyte support sur l'intensité du courant de redissolution, après adsorption cathodique, du cuivre a été étudiée dans la gamme de concentrations de 0,01 à 0,1 M. Les résultats obtenus montrent qu'avec l'augmentation de la concentration de l'électrolyte support vers environ 0,03 M, l'intensité du pic du cuivre augmente puis diminue après cette valeur (Figure IV.1.4). La concentration de 0,03 M a donc été choisie pour la suite de ce travail.



**Figure IV.1.4.** Effet de l'électrolyte support sur l'intensité du pic. Conditions: Cu (II):  $75 \text{ ng mL}^{-1}$ , HBS :  $7,5 \times 10^{-5} \text{ M}$ , temps d'accumulation 50 s, potentiel d'accumulation -350 mV (vs. Ag/AgCl), Vitesse de balayage  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

#### IV-1.5-EFFET DU POTENTIEL D'ACCUMULATION

Le potentiel d'accumulation est un paramètre important pour les techniques électrochimiques. Le choix de ce potentiel a une influence sur la sensibilité de la détermination du cuivre. L'effet du potentiel d'accumulation sur le courant de la redissolution du complexe (Cu (II)-HBS) adsorbé a été examiné dans la gamme de potentiel de -250 à -450 mV (vs. Ag/AgCl).

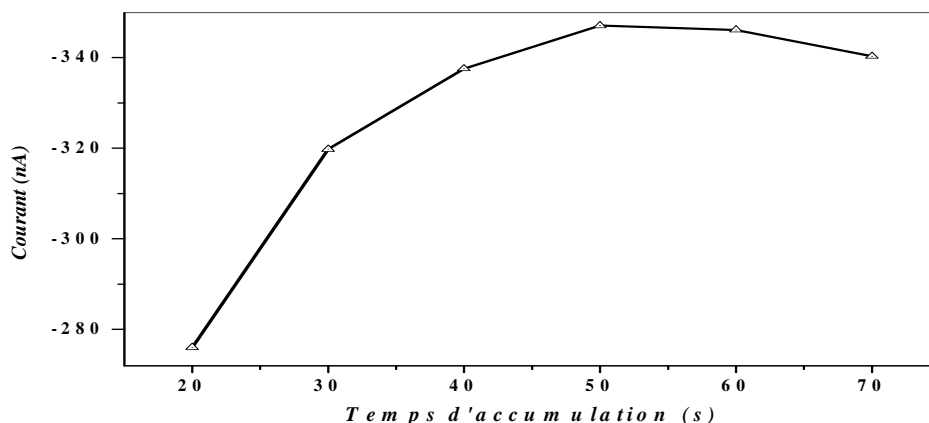


**Figure IV.1.5.** Effet de potentiel d'accumulation sur l'intensité du pic. Conditions:  $\text{HClO}_4$  0,03 M, Cu (II):  $75 \text{ ng mL}^{-1}$ , HBS :  $7,5 \times 10^{-5} \text{ M}$ , temps d'accumulation 50 s, Vitesse de balayage  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

Les résultats obtenus qui sont présentés dans la figure ci-dessus montrent que le courant augmente avec l'augmentation du potentiel vers les valeurs cathodiques variant de -250 jusqu'à -350 mV (vs. Ag/AgCl). Après cette valeur de potentiel, le courant diminue à cause de la réduction du complexe pendant l'étape d'adsorption.

#### IV-1.6- EFFET DU TEMPS DE PRECONCENTRATION

La voltampérométrie par adsorption inverse à impulsion différentielle montre une corrélation entre l'intensité du pic et le temps d'accumulation à une concentration de  $75 \text{ ng mL}^{-1}$  en cuivre et  $7,5 \times 10^{-5} \text{ M}$  en hydrazide de benzène sulfonyle dans la gamme comprise entre 20 s et 70 s. Les résultats obtenus sont présentés sur la figure IV.1.6. Nous observons, une augmentation de l'intensité du pic en fonction de l'augmentation du temps d'accumulation entre 20 et 50 s indiquant une augmentation de la concentration des ions cuivre (II) à la surface de l'électrode. Après cette valeur de 50 s, l'adsorption du cuivre (II)-HBS sur l'électrode diminue à cause de la saturation de la goutte de mercure [11]. Le temps d'accumulation de 50 s a donc été employé pour le reste du travail.



**Figure IV.1.6.** Effet du temps d'accumulation sur le signal du cuivre (II). Conditions:  $\text{HClO}_4$  0,03 M, Cu (II):  $75 \text{ ng mL}^{-1}$ , HBS :  $7,5 \times 10^{-5} \text{ M}$ , potentiel d'accumulation -350 mV (vs. Ag/AgCl), Vitesse de balayage  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

#### IV-1.7-EFFET DE LA VITESSE D'AGITATION

L'effet de l'agitation est un paramètre important dans les méthodes électroanalytiques. Elle permet de réduire la couche de diffusion autour de la goutte de mercure et entretient cette proportionnalité. Ce paramètre facilite également le transport de masse vers l'électrode et permet d'homogénéiser la solution. La figure ci dessous représente l'effet de la vitesse d'agitation qui a été étudié pour les valeurs suivantes: 150, 225, 300, 400, 525 and  $650 \text{ tr min}^{-1}$ .

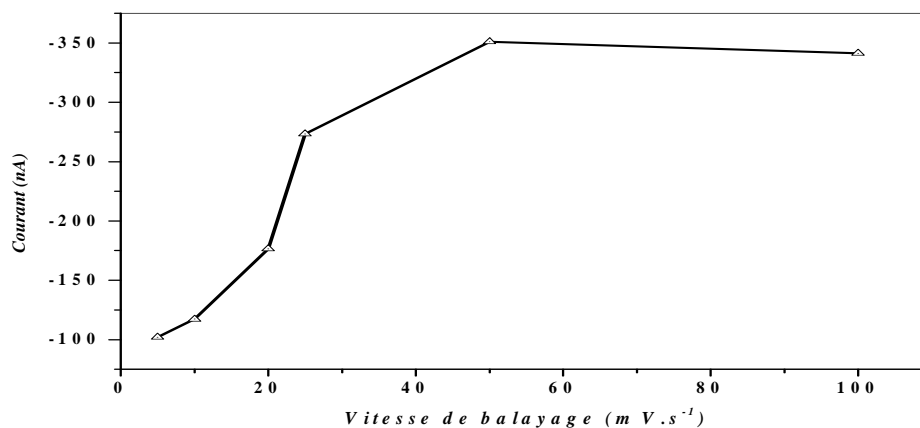


**Figure IV.1.7.** Influence de la vitesse d'agitation sur l'intensité du pic de cuivre (II). Conditions: HClO<sub>4</sub> 0,03 M, Cu (II): 75 ng mL<sup>-1</sup>, HBS : 7,5×10<sup>-5</sup> M, temps d'accumulation 50 s, potentiel d'accumulation -350 mV (vs. Ag/AgCl).

Les résultats obtenus montrent que l'intensité du pic du cuivre augmente avec la vitesse d'agitation d'une façon linéaire de 150 à 400 tr min<sup>-1</sup> puis elle diminue après cette valeur. La vitesse de 400 tr min<sup>-1</sup> a donc été choisie comme optimum parmi les autres vitesses.

#### IV-1.8-EFFET DE LA VITESSE DE BALAYAGE

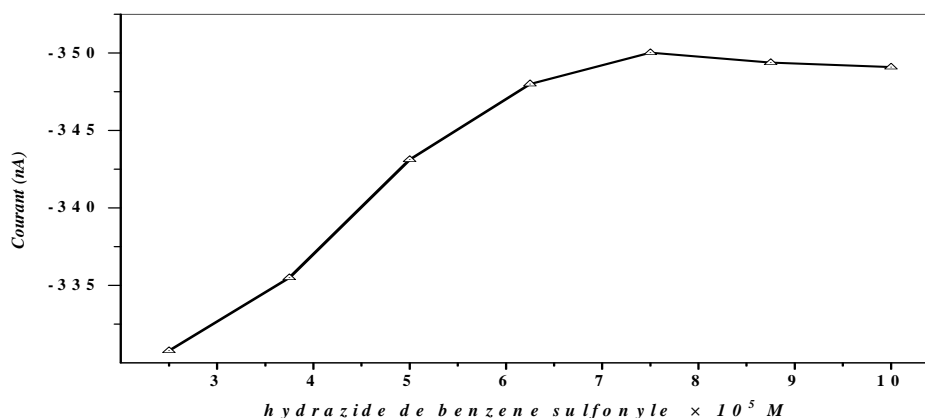
L'étude a été étendue à d'autres paramètres ayant une influence sur la propriété catalytique du HBS sur l'intensité du cuivre (II), notamment la vitesse de balayage utilisée lors de l'électrodéposition. Le fait de travailler à différentes vitesses de balayage en tension permet d'amplifier ou d'atténuer certains pics de courants. La variation de l'intensité du pic du cuivre a été étudiée aux vitesses de balayage suivantes : 2, 5, 20, 25, 50 et 100 mV s<sup>-1</sup>. Les résultats obtenus montrent que l'augmentation de la vitesse de balayage améliore les performances analytiques de la microélectrode en termes de sélectivité et de sensibilité. La figure IV.1.8 montre l'augmentation de l'intensité du pic du cuivre en fonction de la vitesse de balayage lorsque celle-ci est comprise entre de 2 et 50 mV s<sup>-1</sup>. En augmentant la vitesse de balayage de 50 à 100 mV s<sup>-1</sup>, l'amélioration de la sensibilité observée n'était pas très importante. Pour se placer dans des conditions expérimentales optimales pour la détection du cuivre, la vitesse de balayage de 50 mV s<sup>-1</sup> a donc été choisie pour les études qui suivent.



**Figure IV.1.8.** Influence de la vitesse de balayage sur l'intensité du cuivre (II). Conditions: HClO<sub>4</sub> 0,03 M, Cu (II): 75 ng mL<sup>-1</sup>, HBS : 7,5×10<sup>-5</sup> M, temps d'accumulation 50 s, potentiel d'accumulation -350 mV (vs. Ag/AgCl).

#### IV-1.9- EFFET DE LA CONCENTRATION D'HYDRAZIDE DE BENZENE SULFONYLE

L'influence de la concentration d'hydrazide de benzène sulfonyle sur la sensibilité de la méthode proposée a été étudiée dans la gamme de 2,5×10<sup>-5</sup> - 10<sup>-4</sup> M. Les résultats obtenus (Figure IV.1.9) montrent que l'intensité du pic augmente avec l'augmentation de la concentration du HBS jusqu'à environ 7,5×10<sup>-5</sup> M. La valeur du courant à redissolution cathodique Cu-HBS a donc augmenté puis diminué à des concentrations plus élevées. Cela est dû à la concurrence de l'HBS avec les complexes du cuivre pour l'adsorption sur le HMDE. La concentration d'hydrazide de benzène sulfonyle de 7,5×10<sup>-5</sup> M a été ainsi choisie comme concentration optimale.



**Figure IV.1.9.** Effet de la concentration du ligand sur l'intensité du cuivre (II). Conditions: HClO<sub>4</sub> 0,03 M, Cu (II): 75 ng mL<sup>-1</sup>, temps d'accumulation 50 s, potentiel d'accumulation -350 mV (vs. Ag/AgCl), Vitesse de balayage 50 mV s<sup>-1</sup>.

#### IV-1.10- EFFET DE L'INTERFERENCE

L'évaluation de l'adaptabilité de la méthode à une matrice complexe et l'identification des éventuels problèmes dus à la présence d'espèces interférentes ont été ensuite réalisées. L'effet d'interférence métallique sur la concentration du cuivre (II) contenant  $75 \text{ ng mL}^{-1}$  a ainsi été étudié par addition de quelques éléments comme le  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$ ,  $\text{Cr}^{3+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Se}_2\text{O}_3$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ , en utilisant les conditions optimisées. Comme le montre le tableau IV.1.1, le signal du cuivre est peu perturbé par la présence de fortes quantités de ces ions ajoutés dans la solution de préconcentration. En effet, pour un rapport  $[\text{W}_{\text{ions ajoutés}}/\text{W}_{\text{Cu(II)}}]$  compris entre 100 et 900, le signal de redissolution du cuivre diminue de 1,8 à 5,3%.

**Tableau IV.1.1** Influences des ions ajoutés sur la quantité du cuivre (II)  $75 \text{ ng mL}^{-1}$ .

Ions ajoutés	Limite de Tolérance $[\text{W}_{\text{ions ajoutés}}/\text{W}_{\text{Cu(II)}}]$	Taux de récupération (%)
$\text{Zn}^{2+}$	900	97,3
$\text{Pb}^{2+}$	800	95,1
$\text{K}^+$ , $\text{Na}^+$ , $\text{Mg}^{2+}$ , $\text{Ca}^{2+}$	750	98,2
$\text{Cr}^{+3}$ , $\text{Al}^{3+}$	650	96,0
$\text{Cd}^{2+}$ , $\text{Mn}^{2+}$	600	96,6
$\text{Ni}^{2+}$	400	95,4
$\text{Co}^{2+}$	200	95,5
$\text{Se}_2\text{O}_3$	100	94,7

Les résultats obtenus montrent un taux de récupération satisfaisant, ce qui veut dire que la quantité d'interférents ajoutée n'influe pratiquement pas sur l'analyse. Ceci montre que le processus allant de l'extraction jusqu'au dosage en passant par la préparation du réactif, de la solution et de l'équipement (AdSP) est tout à fait correct.

#### IV-1.11- VALIDATION ET APPLICATION DE LA METHODE

La quantification du cuivre dans le sang standard minéralisé va permettre de valider la méthode de dosage du cuivre (II). Le tableau IV.1.2 illustre le pourcentage de récupération, écart-type, l'exactitude et la précision. On observe que la précision des

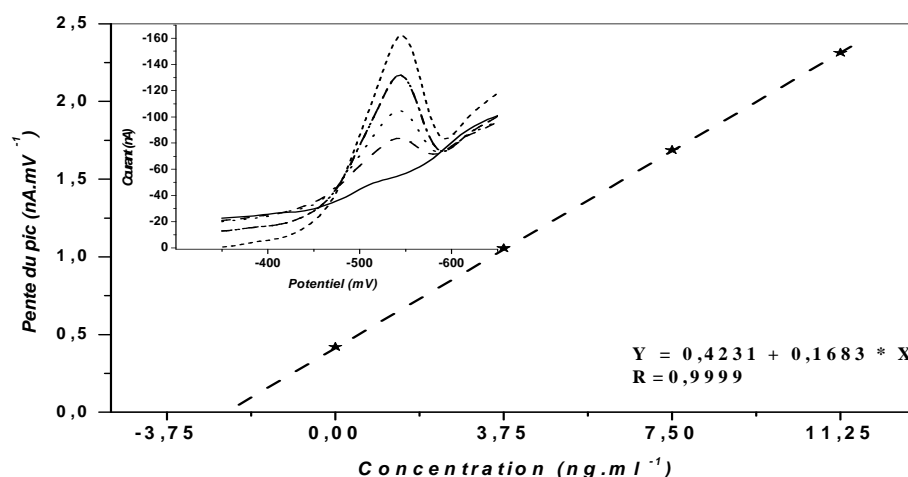
deux niveaux de matériaux de références est de 3,19 et 5,48 %. Par ailleurs, le pourcentage de récupération du cuivre et l'exactitude ont été également mesurés par l'utilisation de deux niveaux des matériaux standard. En comparant les résultats obtenus par l'adsorption cathodique inverse avec ceux obtenus par spectrométrie de masse à couplage inductif plasma (ICP-SFMS) pour le même échantillon, les valeurs trouvées sont comprises entre 97,37 à 103,11% pour le taux de récupération de 96,92 à 104,18% pour l'exactitude. La gamme linéaire du cuivre a été évaluée à un temps de dépôt de 50 s. Le courant de pic augmente linéairement avec la concentration de cuivre dans la gamme 0,62 à 275 ng mL<sup>-1</sup>, avec un coefficient de corrélation de 0,9999. Une limite de détection de 0,186 ng mL<sup>-1</sup> a été estimée en utilisant 10 réplicats de la solution à blanc dans les conditions optimales.

**Tableau IV.1.2** Exactitude, précision et le taux de récupération par l'utilisation de deux niveaux de matériels de références certifiées.

Référence	Moyenne ± SD (µg L <sup>-1</sup> ) Certifié	Mesuré	Acceptable <sup>1</sup> (µg L <sup>-1</sup> )	Exactitude	Précision	Récupération
Niveau 1	564±5,4	581,37±5,56	531-597	96,92	3,19	97,37
Niveau 3	1740±151	1812±157,31	1438-2042	104,18	5,48	103,11

<sup>1</sup>Seronorm™ Trace Elements Whole Blood, SERO AS, Billingstad, Norway

Les analyses sont réalisées en utilisant les paramètres polarographiques précédemment optimisées avec une concentration en HClO<sub>4</sub> de 0,03 M et en HBS de 7,5×10<sup>-5</sup> M. La quantification se fait selon la méthode des ajouts dosés et non selon une droite d'étalonnage. Le mode opératoire est le suivant : des volumes croissants (entre 5 et 50 µL) d'une solution de Cu(II) de concentration connue sont ajoutés dans la cellule polarographique. Une première estimation de la concentration de l'échantillon inconnu est rendue possible par comparaison de l'intensité du pic obtenu avec l'intensité du pic d'un échantillon de concentration connue. La figure IV.1.10 représente une courbe de dosage obtenue par la méthode des ajouts dosés pour la détermination du cuivre dans le sang minéralisé à partir des conditions qui ont été optimisées précédemment. La concentration en cuivre de cet échantillon est égale à 956,369 µg L<sup>-1</sup> (le rapport de dilution de cet échantillon étant de 400 fois).



**Figure IV.1.10.** Détermination du cuivre dans le sang minéralisé par la méthode des ajouts dosés. Conditions: HClO<sub>4</sub> 0,03 M ; HBS : 7,5×10<sup>-5</sup> M, temps d'accumulation 50 s ; potentiel d'accumulation -350 mV (vs. Ag/AgCl) ; Vitesse de balayage 50 mV s<sup>-1</sup>.

Ces résultats confirment la sélectivité du système hydrazide de benzène sulfonyle vis-à-vis des cations cuivre(II), permettant ainsi la détermination de la concentration en cuivre(II) dans des échantillons réels. Les analyses des quantifications par la méthode des ajouts dosés de 31 échantillons des sujets sains sont donnés dans le tableau suivant :

**Tableau IV.1.3** Dosage de 31 échantillons des sujets sains.

n	Moyenne ± SD (µg L <sup>-1</sup> )	95% Confidence	Intervalle (µg L <sup>-1</sup> )
31	912,924± 240,329	823,317-1001,600	451,89 - 1382,485

La quantité moyenne du cuivre calculée par cette méthode est de 912,924 µg L<sup>-1</sup> avec un écart type de plus ou moins 240,329 µg L<sup>-1</sup>. Ces résultats sont du même ordre de grandeur que ceux obtenus dans d'autres pays. Afin d'interpréter correctement les résultats d'analyse, il est difficile de les comparer avec des valeurs de référence établies sur des populations dont les habitudes de vie peuvent différer des nôtres. Dans cette optique, nous avons considéré qu'il serait utile de définir des valeurs de référence dans la population tlemcennienne afin de valider les valeurs actuelles et de les comparer aux valeurs d'autres pays.



#### IV-1.12- CONCLUSION

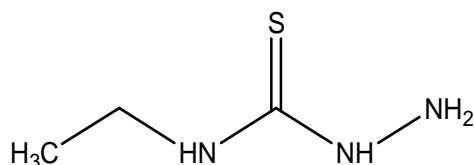
La voltampérométrie à redissolution, après l'adsorption, à impulsion différentielle est une méthodes électroanalytique très utilisée pour la déterminations des éléments ultra-traces à cause de leurs limites de détection de l'ordres du nano-gramme. Ce travail a été réalisé à partir d'une électrode à goutte de mercure pendante modifiée in situ par l'utilisation d'un ligand d'hydrazide de benzène sulfonyle pour la détermination du cuivre. La limite de détection trouvée par cette méthode est de  $0,186 \text{ ng mL}^{-1}$  de cuivre (II) pour une durée d'accumulation de 50 s. En conclusion, cette méthode offre un avantage pratique pour la détermination du cuivre avec une grande sensibilité, simplicité et rapidité.

**IV.2. DETERMINATION DES CONDITIONS OPTIMALES DU DOSAGE DU CUIVRE  
EN PRESENCE DE -4-ETHYLE-3-THIOSEMICARBAZIDE PAR  
VOLTAMPEROMETRIE A REDISSOLUTION  
A IMPULSION DIFFERENTIELLE**

**IV-2.1- INTRODUCTION**

La sensibilité de la méthode qui utilise la redissolution après un composé adsorbé dépend de la technique électrochimique qui est utilisée. Elle est fonction de plusieurs facteurs incluant les propriétés cinétiques et thermodynamiques, le pouvoir de complexation du métal étudié, son affinité à se fixer sur les particules présentes, les propriétés des ligands présents et les conditions expérimentales (pH, potentiel de déposition) [12]. Elle peut donc être utilisée pour déterminer la concentration en un élément, si le ligand ajouté est suffisamment spécifique à l'élément considéré.

Le thiosemicarbazide est un agent utilisé dans plusieurs domaines, notamment dans de l'inhibition de la corrosion [13]. Cette fonction a des propriétés antibactériennes et antifongiques [14], elle possède également des activités importantes, comme hypnotique, ulcérogéniques, antidépresseur, analgésique et anti-inflammatoire [15] et est même utilisée dans les produits pharmaceutiques antitumorales et antiviraux [16]. Les atomes N et S dans diverses molécules jouent un rôle important dans la coordination des métaux dans les sites actifs de nombreux métallo-biomolécule. [17, 18]. En effet, la fonction thiosemicarbazide (TSC) [H<sub>2</sub>N–HN–CS–NH<sub>2</sub>] est un agent complexant bien connu capable de lier les métaux de transition dans la solution et à l'état solide [19, 20].

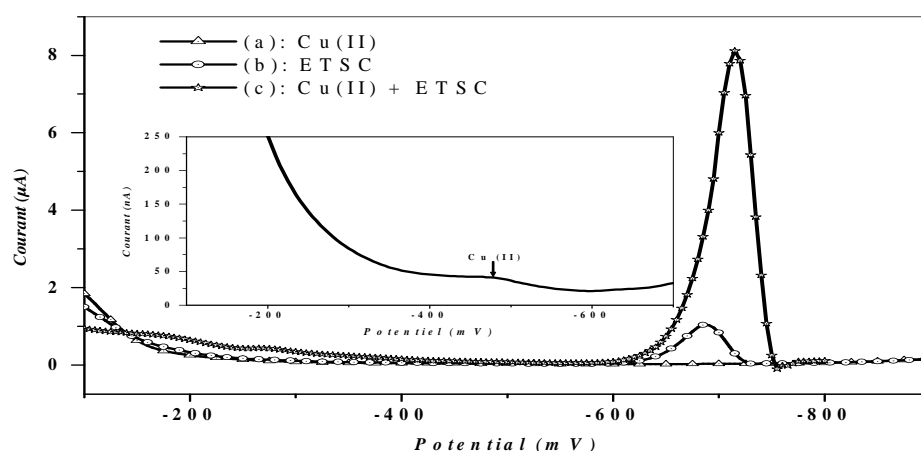


**Figure IV.2.1.** Structure 4 éthyle-3-thiosemicarbazide.

**IV-2.2- APPROCHES PRELIMINAIRES**

Des expériences préliminaires ont été réalisées pour caractériser le comportement du Cu (II) et du 4 éthyle-3-thiosemicarbazide sur l'électrode de mercure à

goutte pendante. La figure IV.2.2 représente les voltampérogrammes d'adsorption cathodiques inverse à impulsion différentielle du Cu (II)-ETSC après l'accumulation pendant 60 s à -100 mV (Ag/AgCl). La courbe (a) montre le voltampérogramme d'une solution contenant  $50 \text{ ng mL}^{-1}$  du Cu (II) et en absence de ligand, un très petit pic cathodique est observé à -480 mV (vs. Ag/AgCl). En outre, la courbe (b) montre le voltampérogramme différentiel d'impulsion du 4 éthyle-3-thiosemicarbazide avec l'absence du Cu (II), qui a produit un pic à -680 mV (vs. Ag/AgCl). La courbe (c) représente le voltampérogramme du Cu(II) en présence d'ETSC dans une même solution d'électrolyte support qui montre un pic à -715 mV (vs. Ag/AgCl). A ce potentiel de réduction (-715 mV vs. Ag/AgCl), on note l'apparition d'un pic relatif au complexe Cu(II)-4éthyle-3-thiosemicarbazide. La reproductibilité des résultats nécessite la maîtrise des paramètres électrochimiques, mais dépend également de la nature de l'électrolyte support, du choix de l'électrode de travail, de la durée d'agitation de la solution ainsi que de la concentration du ligand.



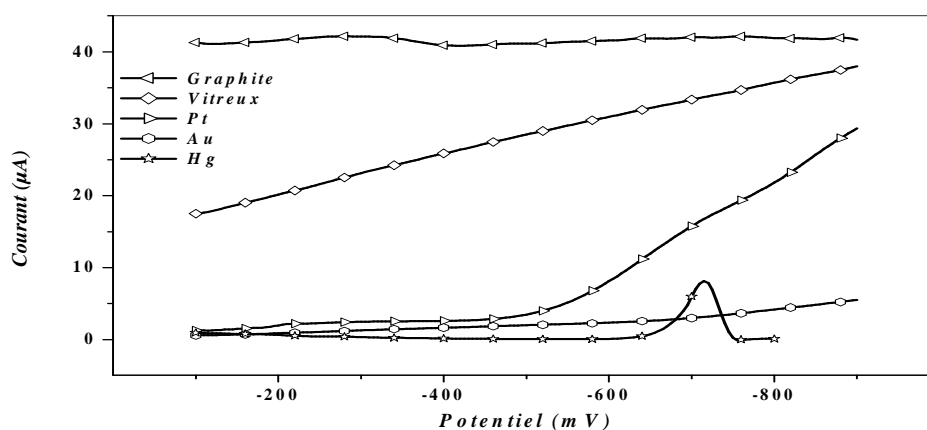
**Figure IV.2.2.** Voltampérogramme à redissolution d'adsorption cathodique, (a): Electrolyte support acétate de potassium pH 10,3 (Ligand ETSC sans ions de cuivre); (b): ions de Cuivre ( $50 \text{ ng mL}^{-1}$ ) sans ligand; (c): ions cuivre ( $50 \text{ ng mL}^{-1}$ ) avec ligand (ETSC); Conditions: acétate de potassium pH 10,3; ETSC :  $3,25 \times 10^{-6}$  M; temps d'accumulation 60 s; potentiel d'accumulation -100 mV (vs. Ag/AgCl); Vitesse de balayage  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

Les mécanismes possibles de l'accumulation de métaux sur l'interface électrode-solution en voltampérométrie à redissolution de composé après adsorbé, via la formation d'un complexe, ont été donnés par Paneli et coll [21]. Selon ces auteurs, il

semble que la présence des électrons  $\pi$  dans la molécule de ligand favorise le processus d'adsorption. Le 4-éthyle-3-thiosemicarbazide ayant différents groupes fonctionnels peut donc être coordonné avec l'ion cuivre grâce à un donneur de groupes, en fonction du pH de la solution.

#### IV-2.3- EFFET DE L'ELECTRODE DE TRAVAIL

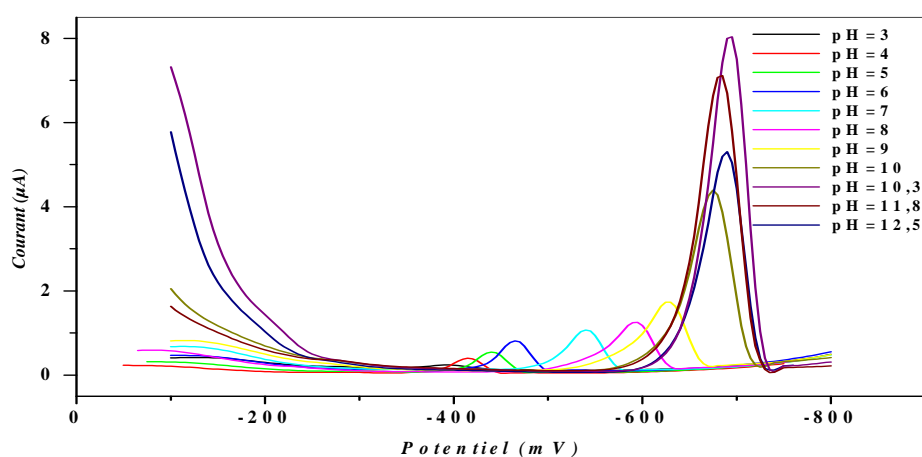
La majorité des travaux consacrés à la modification d'électrodes utilisent des surfaces de platine, d'oxyde de titane et d'étain, de carbone vitreux, d'argent, de graphite, d'or et de mercure...etc. Le choix d'une électrode de travail nécessite la connaissance du système rédox du métal qui la constitue. Dans ce travail nous avons testé plusieurs électrodes indicatrices de façon à trouver une meilleure sensibilité de l'élément Cu(II) par l'utilisation de l'ETSC. Nous avons ainsi utilisé des électrodes solides (graphite, carbone vitreux, platine et or) et une électrode de mercure à goutte pendante. Les résultats obtenus sur ces électrodes sont représentés dans la figure IV.2.3. Nous remarquons que seule l'électrode de mercure modifiée in situ a donné les meilleures sensibilités du cuivre (formation d'un pic intense par rapport aux autres électrodes).



**Figure IV.2.3.** Effet de l'électrode de travail sur l'intensité du pic de cuivre (II). Conditions: pH=10,3 d'acétate de potassium, Cu (II):  $50 \text{ ng mL}^{-1}$ ; ETSC :  $3,25 \times 10^{-6} \text{ M}$ ; temps d'accumulation 60 s; potentiel d'accumulation -100 mV (vs. Ag/AgCl); Vitesse de balayage  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

#### IV-2.4-EFFET DU PH

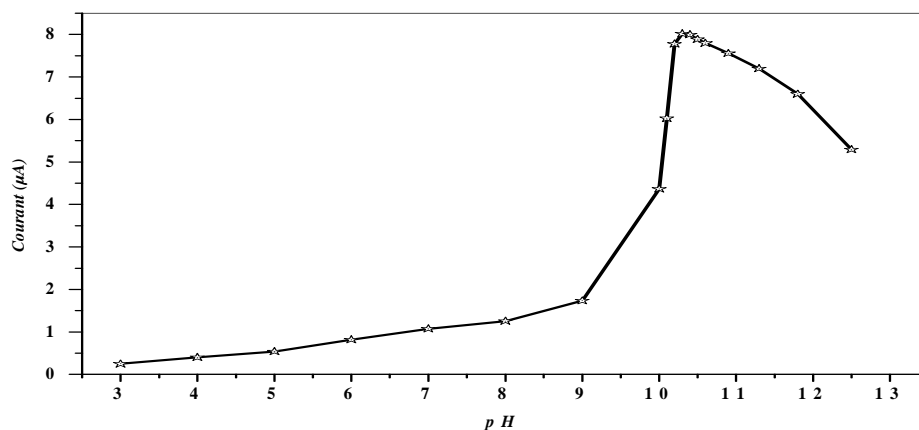
Les propriétés de complexation et d'adsorption des ligands ajoutés vis-à-vis des métaux, ne sont utilisables que dans des conditions précises (gamme de pH, tampon, type d'analyse...) et ont une fenêtre analytique plus restreinte [22]. Différents électrolytes support ont été examinés pour étudier l'influence du milieu sur l'intensité du courant. Parmi ces électrolytes (acétate de sodium et de potassium, hydroxyde de potassium, acide acétique, acide perchlorique, acide nitrique et acide chlorhydrique), l'acétate de potassium a donné la meilleure sensibilité pour le complexe Cu(II)-ETSC. Généralement la solution tampon d'acétate présente des propriétés complexantes vis-à-vis du cuivre [23]. Les tampons sont très souvent utilisés afin de maintenir le pH stable. Cette stabilité du pH d'une solution à l'autre nous a permis d'estimer proprement la sensibilité de l'électrode modifiée in situ. Le pH de la solution de la cellule de préconcentration joue un rôle important dans l'optimisation des conditions d'étude du fait que les groupes complexans utilisés ont des propriétés acido-basiques. L'effet du pH sur l'intensité et le potentiel du pic de redissolution cathodique d'adsorption du cuivre a été étudié après une préconcentration de 60 seconde dans un tampon d'acétate de potassium contenant du cuivre (II) à la concentration  $50 \text{ ng mL}^{-1}$  et de  $3,25 \times 10^{-6} \text{ M}$  de ETSC.



**Figure IV.2.4.** Effet du pH sur l'intensité et le déplacement du pic de potentiel de cuivre (II). Conditions Cu (II):  $50 \text{ ng mL}^{-1}$ ; ETSC :  $3,25 \times 10^{-6} \text{ M}$ ; temps d'accumulation 60 s; potentiel d'accumulation -100 mV (vs. Ag/AgCl); Vitesse de balayage  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

L'analyse de la figure ci-dessus, qui représente la variation du déplacement du potentiel du pic du Cu (II) en fonction du pH, montre que le potentiel du

déplacement dépend de la variation du pH et augmente lorsque ce dernier augmente. A cet effet, l'emploi des ajouts dosés est nécessaire au cours du dosage pour éviter le déplacement du pic. Concernant l'intensité du pic, elle atteint sa valeur maximale dans les milieux modérément basiques. l'évolution du pH a été examinée dans la gamme de 3,0 à 12,5 ce qui permet de voir la stabilisé du complexe Cu-ETSC sur l'électrode de mercure (Figure IV.2.5).



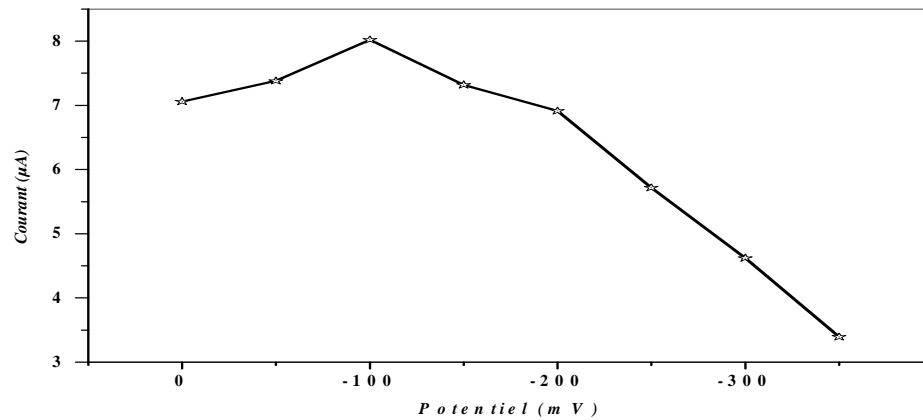
**Figure IV.2.5.** Effet du pH en fonction de l'intensité du pic d'adsorption de cuivre (II). Conditions Cu (II): 50 ng mL<sup>-1</sup>; ETSC : 3,25×10<sup>-6</sup> M; temps d'accumulation 60 s; potentiel d'accumulation -100 mV (vs. Ag/AgCl); Vitesse de balayage 50 mV s<sup>-1</sup>.

L'intensité du courant augmente avec l'augmentation du pH et atteint une valeur optimale à 10,3. A un pH de plus de 10,3, la précipitation du cuivre Cu(OH)<sub>2</sub> s'est traduite par la diminution marquée du courant [24]. Par conséquent, le pH 10,3 a été choisi comme optimal pour toutes les autres mesures.

#### IV-2.5-EFFET DU POTENTIEL DE PRECONCENTRATION

Le potentiel de pré-concentration est un paramètre important pour les techniques d'analyse, et possède une influence non négligeable sur la sensibilité de la détermination des métaux lourds. L'effet du potentiel de déposition sur l'intensité du pic du cuivre (II) a été examiné dans la gamme de potentiel qui varie entre 0 à -350 mV vs. Ag/AgCl (Figure IV.2.6). Les résultats obtenus montrent qu'il y a une augmentation significative de l'intensité du pic quand le potentiel est balayé vers les potentiels les

plus négatifs pour le cuivre (II). Le potentiel -100 mV (vs. Ag/AgCl) a été choisi comme potentiel de préconcentration dans la suite du travail.

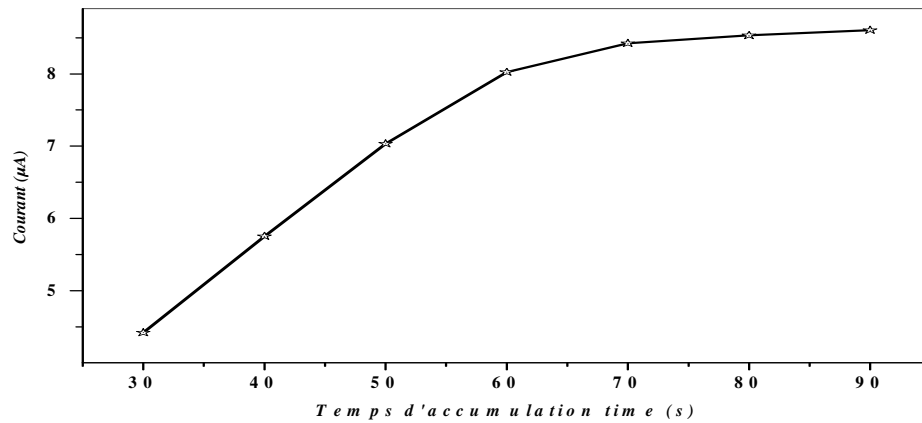


**Figure IV.2.6.** Effet du potentiel d'accumulation du pic du cuivre. Conditions: pH 10,3 d'acétate de potassium, Cu (II):  $50 \text{ ng mL}^{-1}$  ; ETSC :  $3,25 \times 10^{-6} \text{ M}$  ; temps d'accumulation 60 s ; Vitesse de balayage  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

#### IV-2.6-EFFET DU TEMPS DE PRECONCENTRATION

La sensibilité de la méthode voltampérométrique dépend de la durée de pré-électrolyse. Une étude de l'influence du temps d'accumulation sur le signal du Cu(II) s'avère donc nécessaire. Ce paramètre pourrait influencer, aussi le taux d'adsorption de l'ion métallique sur la surface de l'électrode. Ainsi, une pré-électrolyse pendant un temps compris entre 0 et 90 secondes a été étudiée. La figure IV.2.7 représente les voltampérogrammes obtenus après des temps d'accumulation de 30, 40, 50, 60, 70, 80 et 90 s.

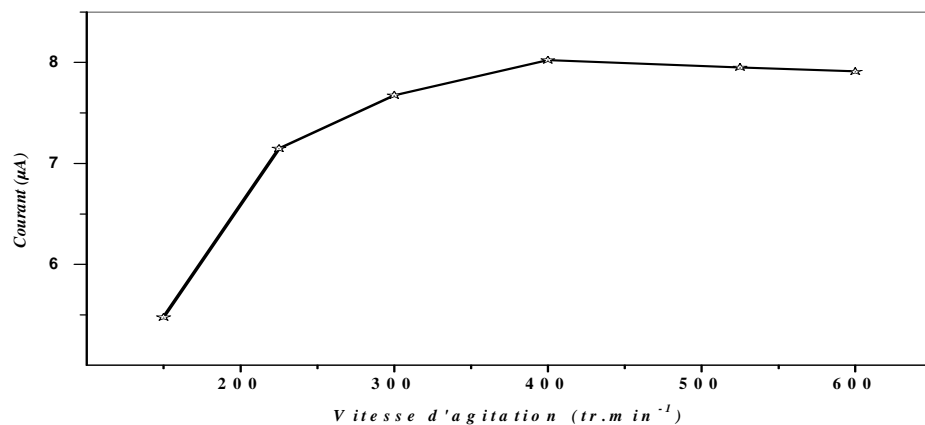
Nous observons que la hauteur du pic augmente considérablement avec le temps de pré-électrolyse puis le courant de diffusion perd sa linéarité à partir de 60 s à cause de la saturation au niveau de la surface de l'électrode de travail [25]. Nous avons donc considéré comme temps d'accumulation optimum pour les prochaines analyses celui de 60 secondes.



**Figure IV.2.7.** Effet du temps de pré-concentration sur le signal du cuivre (II). Conditions: pH 10,3 d'acétate de potassium, Cu (II) :  $50 \text{ ng mL}^{-1}$ ; ETSC:  $3,25 \times 10^{-6} \text{ M}$ ; potentiel d'accumulation -100 mV (vs. Ag/AgCl) ; Vitesse de balayage  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

#### IV-2.7-EFFET DE LA VITESSE D'AGITATION

Afin d'augmenter le taux d'adsorption du Cu(II)-ETSC sur l'intensité du courant, la vitesse d'agitation de la solution pendant le temps d'accumulation semble être efficace. L'analyse de l'effet de ce paramètre a été étudié dans les conditions optimisées auparavant. La figure IV.2.8 montre que la quantité d'accumulation du cuivre-ligand sur l'électrode augmente avec l'augmentation de la vitesse d'agitation dans l'intervalle de 150 à 400 tours par minute.



**Figure IV.2.8.** Effet de la vitesse d'agitation sur l'intensité du cuivre (II). Conditions: pH 10,3 d'acétate de potassium, Cu (II):  $50 \text{ ng mL}^{-1}$ ; ETSC :  $3,25 \times 10^{-6} \text{ M}$ ; temps d'accumulation 60 s; potentiel d'accumulation -100 mV(vs. Ag/AgCl).

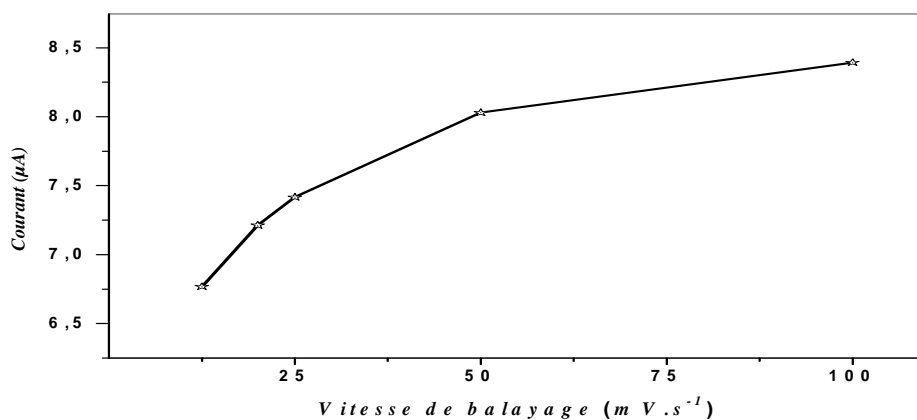
Après cet intervalle, l'intensité du courant diminue, ceci s'explique par la saturation au niveau d'électrode de travail. Par conséquent, la vitesse  $400 \text{ tr min}^{-1}$  a été



sélectionnée comme la vitesse d'agitation optimale à cause de la sensibilité du pic Cu(II)-ETSC sur l'électrode de mercure.

#### IV-2.8-VITESSE DE BALAYAGE

L'influence de la vitesse de balayage au cours de la mesure électrochimique sur l'intensité du pic apporte des informations sur les phénomènes impliqués lors de la réaction à l'électrode. Les résultats sont obtenus dans une solution de tampon d'acétate de potassium de pH 10,3 contenant  $3,25 \times 10^{-6}$  M ETSC et de concentration de  $50 \text{ ng ml}^{-1}$  de cuivre (II), pour des vitesses de balayage des potentiels comprises entre 12,5 et 100  $\text{mV s}^{-1}$ . L'évolution de la densité du courant ( $i_{pic}$ ) est représentée sur la figure IV.2.9. L'intensité du courant augmente avec l'augmentation de la vitesse de balayage jusqu'à une  $50 \text{ mV s}^{-1}$ . On remarque une augmentation assez faible de l'intensité du pic après cette valeur de vitesse. Pour se placer dans des conditions expérimentales optimales, la vitesse de balayage de  $50 \text{ mV s}^{-1}$  a donc été choisie pour les études qui suivent.

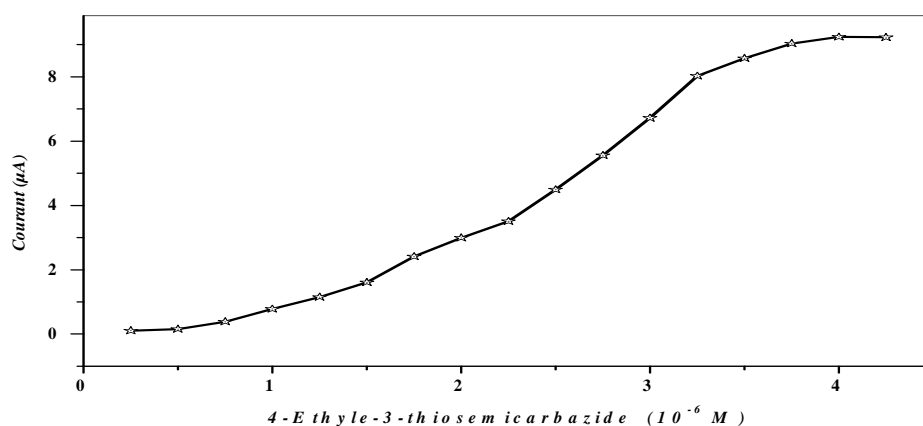


**Figure IV.2.9.** Effet de la vitesse de balayage sur l'intensité du cuivre (II). Conditions: pH 10,3 d'acétate de potassium ; Cu (II) :  $50 \text{ ng mL}^{-1}$ ; ETSC:  $3,25 \times 10^{-6}$  M ; temps d'accumulation 60 s ; potentiel d'accumulation -100 mV (vs. Ag/AgCl).

#### IV-2.9-EFFET DE LA CONCENTRATION DU 4-ETHYLE-3-THIOSEMICARBAZIDE

L'effet de la concentration du 4-éthyle-3-thiosemicarbazide sur la sensibilité de la méthode proposée a été également étudiée. Le 4-éthyle-3-thiosemicarbazide a été utilisé pour stabiliser mécaniquement la phase du mercure et prévenir la surface de l'électrode contre l'effet de l'interférence dans la solution à analyser et à assurer la

reproductibilité de la surface active de l'électrode. La concentration de l'ETSC a été testée dans la gamme  $2,5 \times 10^{-7}$  à  $4,25 \times 10^{-6}$  M. Les résultats obtenus (Figure IV.2.10) montrent que l'intensité du pic du Cu (II) atteint des valeurs maximales quand la concentration du ETSC est de  $3,25 \times 10^{-6}$  M. Après cette concentration, on note une inhibition de l'adsorption du complexe sur la surface de l'électrode et la diminution du courant à cause de la compétition du ligand libre [1]. la concentration  $3,25 \times 10^{-6}$  M a été sélectionnée comme une concentration optimale pour la suite du travail.



**Figure IV.2.10.** Effet de la concentration d'ETSC sur l'intensité du cuivre (II). Conditions: pH 10,3 d'acétate de potassium, Cu (II):  $50 \text{ ng mL}^{-1}$ ; temps d'accumulation 60 s; potentiel d'accumulation -100 mV(vs. Ag/AgCl); Vitesse de balayage  $50 \text{ mV s}^{-1}$ .

Le tableau IV.2.1 présente une comparaison entre la limite de détection, l'intervalle de linéarité et le temps d'accumulation de la méthode proposée et ceux rapportés antérieurement. Les limites de détection rapportées pour ces méthodes ne sont pas très bonne [26, 27]. D'autres ont besoin d'un temps de dépôt long [28-31] ou ont une faible intervalle de linéarité [32, 33]. Une étude récente rapporte toutefois une limite de détection basse et une bonne gamme dynamique linéaire [34]. Mais dans le travail actuel, le temps de dépôt est court (60 s), et la limite de détection est très faible par rapport aux nombreux travaux de recherche rapportés précédemment. La sensibilité quant à elle, atteint une valeur maximale lorsqu'on utilise un récepteur à base d'électrode de mercure modifiée in situ. Cette sensibilité dépend des caractéristiques du complexe formé entre l'analyte cible et le ligand adsorbé à la surface de l'électrode.

**Tableau IV.2.1** Comparaison de ce travail par rapport à certains travaux antérieurs effectués par voltampérométrie d'adsorption inverse pour la détermination du cuivre.

Ligand	LDM (ng mL <sup>-1</sup> )	Intervalle (ng mL <sup>-1</sup> )	Accumulation (s)	Référence
Morin	0,6	0,2-130	60	[26]
Thymolphthalexone	0,4	0,5-100	60	[27]
(1-(2-pyridylazo)-2,7-dihydroxynaphthalene)	0,51	0,6-64,0	240	[28]
Bis (acetylacétone) ethylenediimine	1,02	3,18-63,6	600	[29]
Nuclear fast red	0,2	1-100	180	[30]
Cyclopentanone thiosemicarabzone	0,2	0,1-99,8	150	[31]
DMG and catechol (mixed)	0,03	0,03-6,35	60	[32]
5,5-Dimethylcyclohexane-1,2,3-trione	0,49	0-35	60	[33]
1,2-dioxime 3 thiosemicarbazone				
Thiosemicarbazide	0,007	0,01-90,0	60	[34]
4-Ethyle-3-thiosemicarbazide	0,001	0,003-125	60	Ce travail

#### IV-2.10-EFFET DE L'INTERFERENCE

L'influence de l'interférence sur l'intensité du cuivre (II) a été étudiée selon le mode opératoire suivant : la mesure de l'intensité du pic de redissolution d'adsorption cathodique à impulsion différentielle du cuivre a été réalisée après accumulation dans une solution électrolytique d'acétate de potassium,  $3,25 \times 10^{-6}$  M ETSC et  $50 \text{ ng mL}^{-1}$  de cuivre (II), après ajout de quantités d'ions étrangers (tableau IV.2.2). La limite de tolérance a été définie comme la quantité d'ions étrangers causant un changement moins de 5% de la récupération du Cu (II).

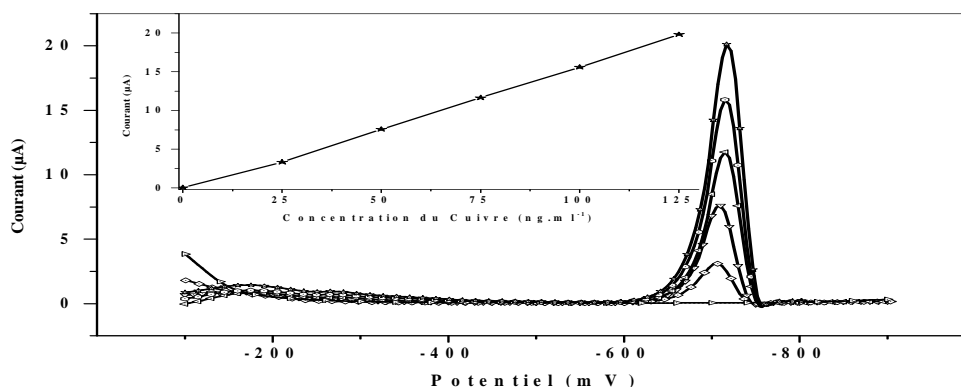
**Tableau IV.2.2** Influences des ions ajoutés sur la quantité du cuivre (II)  $50 \text{ ng mL}^{-1}$

Ions ajoutés	Limite de Tolérance [ $W_{\text{ions ajoutés}}/W_{\text{Cu(II)}}$ ]	Taux de récupération (%)
Zn <sup>2+</sup>	1000	98,9
Pb <sup>2+</sup>	1000	95,6
K <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Ca <sup>2+</sup> , Cl <sup>-</sup>	850	98,7
Cr <sup>+3</sup>	500	96,8
Cr <sup>+6</sup>	500	95,1
Cd <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup>	500	97,8
Co <sup>2+</sup>	250	95,3

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que la sélectivité est très bonne et qu'il n'y a pas beaucoup de changement au niveau de l'intensité du courant de pic de cuivre (II) et même sur la validation de la méthode. Comme la plupart des échantillons, notamment les échantillons biologiques, ne contiennent pas ces ions à une concentration élevée, de sorte que la spécificité de cette méthode pour les échantillons ne peut pas être ignorée.

#### IV-2.11-VALIDATION ET APPLICATION DE LA METHODE

L'intervalle de la linéarité dans toute la gamme de concentration qui est de 0,003 à 125 ng mL<sup>-1</sup> Cu (II), a été observée dans des conditions optimales, avec un coefficient de corrélation de 0,999 (Figure IV.2.11) . La limite de détection pour le cuivre a été trouvée égale à 0,001 ng mL<sup>-1</sup>. L'exactitude, le taux de récupération et la précision de la méthode à l'aide de l'électrode de mercure ont été évaluées en analysant un échantillon de référence certifié (MRC), à savoir du sang en poudre enrichi en cuivre, fourni par (Seronom, level 1 et 3, Billingstad, Norvège). Ces échantillons de référence contiennent des quantités précises de cuivre (tableau IV.2.3). L'analyse des résultats obtenus sur les matériaux de référence révèle une excellente concordance entre les valeurs moyennes obtenues et les valeurs certifiées. Tous les échantillons et les étalons ont été analysés par des duplicats. La figure ci-dessous présente un voltampérogramme qui montre l'effet de l'ajout du cuivre sur l'intensité du courant. Les résultats obtenus montrent une meilleure linéarité.



**Figure IV.2.11.** Réponse voltampérométrique à redissolution cathodique de composé adsorbé de 0, 25, 50, 75, 100 et 125 ng mL<sup>-1</sup> concentration de cuivre et C<sub>ETSC</sub> = 3,25×10<sup>-6</sup> M, mesurée sur une électrode de mercure en pH = 10,3 d'acétate de potassium en utilisant un temps d'accumulation s 60 à un potentiel de -100 mV (vs Ag/AgCl, 3 M), vitesse d'agitation et de balayage sont respectivement 400 tr min<sup>-1</sup> et 50 mV s<sup>-1</sup>.

Les résultats du calcul de validation sont mentionnés dans le tableau suivant.

**Tableau IV.2.3** Exactitude, précision et le taux de récupération par l'utilisation matériel de référence certifier.

Matériel	Moyenne $\pm$ SD (ng mL <sup>-1</sup> )		Intervalle (ng mL <sup>-1</sup> )	Exactitude	Précision	Récupération
	Certifier	Mesuré				
(Niveau 1)	564 $\pm$ 5,4	550,191 $\pm$ 5,268	531-597	97,55	2,05	98,67
(Niveau 3)	1740 $\pm$ 151	1673,392 $\pm$ 145,219	1438-2042	96,17	2,71	96,01

L'analyse du cuivre dans des échantillons réels a été réalisée en utilisant la méthode des ajouts dosés, après dilution de l'échantillon à analyser. Afin d'interpréter correctement les résultats d'analyse, il est difficile de le comparer comme on l'a déjà signalé à des valeurs de référence établies sur des populations dont les habitudes de vie peuvent différer des nôtres. La moyenne et l'écart de quinze échantillons des sujets sains dans la population de l'ouest algérien (ville de Tlemcen) est 886,468  $\pm$  248,936 ng mL<sup>-1</sup>. L'intervalle de dosages pour ces échantillons est de 439,016 à 1271,774 ng mL<sup>-1</sup> (tableau VI.2.4). Aucune différence significative n'a été observée dans les concentrations de cuivre sanguin après l'utilisation du test Student.

**Tableau IV.2.4** Dosage de 15 échantillons de sujets sains.

n	Moyenne $\pm$ SD ( $\mu$ g L <sup>-1</sup> )	95% Confidence	Intervalle ( $\mu$ g L <sup>-1</sup> )
15	886,468 $\pm$ 248,936	748,611-1024,324	439,016 - 1271,774

#### IV-2.12-CONCLUSION

Ce travail démontre que la voltampérométrie à redissolution après l'adsorption basée sur l'accumulation du cuivre (II)-4-éthyle-3-thiosemicarbazide peut être utilisée pour déterminer l'état de traces de cuivre dans les échantillons réels. La limite de détection de cette technique est de 0,001 ng mL<sup>-1</sup> de cuivre (II) avec une durée d'accumulation de 60 s. En conclusion, les résultats remarquables trouvés par cette méthode par rapport aux autres travaux rapportés dans ce domaine, montrent que le choix de ce ligand et la technique électroanalytique par l'utilisation d'électrode de mercure à goutte pendante à impulsion différentielles est adéquat pour la détermination du cuivre (II) à l'état d'ultra-trace (1pg ml<sup>-1</sup>). Cette méthode a une aptitude pratique pour

Chapitre IV : Détermination du cuivre par la voltampérométrie à redissolution du composé adsorbé

la détermination de cuivre avec une grande sélectivité, sensibilité, simplicité et rapidité comparativement à l'ensemble des travaux précédemment rapportés (tableau IV.2.1).

## CONCLUSION CHAPITRE IV

Les techniques polarographiques ont pendant longtemps été des méthodes de choix pour l'analyse de traces et d'ultra-traces. Seules les méthodes nucléaires d'analyse par activation permettant d'atteindre ces performances mais avec des coûts d'analyse nettement supérieurs [35]. Ces techniques permettent une analyse qualitative et quantitative des éléments dosés. Des concentrations très faibles peuvent être déterminées en augmentant le temps de pré-électrolyse.

Ce chapitre concernait l'élaboration de procédés électroanalytiques pour la détection et le dosage électrochimique du cuivre (II). Les résultats obtenus par l'utilisation de la polarographie à redissolution, après adsorption, à impulsion différentielle sont très satisfaisants à cause de la limite de détection trouvée après utilisation de deux ligands différents (hydrazide de benzène sulfonyle et 4-éthyle-3-thiosemicarbazide). La limite de détection du premier ligand est de  $0,186 \text{ ng mL}^{-1}$  de cuivre (II) à une durée d'accumulation de 50 s, la concentration optimale pour l'hydrazide de benzène sulfonyle étant de  $7,5 \times 10^{-5} \text{ M}$ . L'utilisation du second ligand 4-éthyle-3-thiosemicarbazide donne une meilleure limite de détection  $0,001 \text{ ng mL}^{-1}$  de cuivre (II) à une durée d'accumulation de 60 s par rapport au HBS, la concentration de l'ETSC est quant à elle de  $3,25 \times 10^{-6} \text{ M}$ . Les résultats remarquables trouvés par cette méthode par rapport aux résultats de nombreux travaux rapportés dans la littérature montre que le choix de ce ligand et la technique électroanalytique par utilisation de l'électrode de mercure à goutte pendante à impulsion différentielles sont adéquats pour la détermination du cuivre (II) à l'état ultra-trace ( $1 \text{ pg mL}^{-1}$ ). Ces limites de détection de l'ordre du nano et du picogramme rendent cette méthode l'une des plus performantes pour l'analyse des traces et ultra-traces.

Cette technique a confirmé l'intérêt de l'électrode de mercure pour le développement de systèmes sensibles et sélectifs pour l'analyse de traces de l'élément cuivre (II), par préconcentration via une complexation suivie d'une redissolution. Un des buts affichés de ce travail est la reconnaissance de cations métalliques et l'élaboration

de capteurs chimiques. Cet objectif implique donc la synthèse d'un ligand adapté à la complexation sélective des cations cibles visés.



- [1] M.B. Gholivand, A. Sohrabi, S. Abbasai. Determination of copper by adsorptive stripping voltammetry in the presence of calcein blue. *Electroanalysis.*, 19(2007)319-322.
- [2] N.I. Dodoff et al. Schiff Bases of Methanesulfonylhydrazine. Synthesis, Spectroscopic Characterization, Conformational Analysis and Biological Activity. *Naturforsch.*, 54 (1999)1553-1562.
- [3] O. Galioglu, A. Akar. Polymer-bound sulphonyl hydrazine and reaction with cycloketones. *Eur Polym J.*, 25(1989)313-316.
- [4] Y. Hu, S. Baudart, J. A. Porco. Parallel synthesis of 1,2,3-thiadiazoles employing a catch and release strategy. *J Org Chem.*, 64(1999)1049.
- [5] A. Ienco, C. Mealli, N. I. Dodoff, Synthesis and Structure of the First Transition Metal Complex with Methanesulfonylhydrazine as a Ligand. *ibid.*, 57(2002)865-867.
- [6] N. Bicak, B. Karagoz. Copper patterned polystyrene panels by reducing of surface bound Cu (II)-sulfonyl hydrazide complex. *Surface & Coatings Technology.*, 202(2008) 1581-1587
- [7] H. Duwensee, M. Adamovski, G.U. Flechsig. Adsorptive stripping voltammetric detection of daunomycin at mercury and bismuth alloy electrodes. *Int J Electrochem Sci.*, 2(2007)498-507
- [8] M.A. Moreno et al. Trace element levels in whole blood samples from residents of the city Badajoz, Spain. *The Science of the Total Environment.*, 229(1999)209-215
- [9] M Rugayah, W.L Leong. Analysis of selenium species using cathodic stripping voltammetry. *Jurnal Teknologi.*, 44(2006)55-66.
- [10] C. Locatelli, D. Melucci. Voltammetric determination of ultra-trace total mercury and toxic metals in meals. *Food Chemistry.*, 130(2012)460-466.
- [11] Li. Yonghong et al., Simultaneous determination of ultra-trace lead and cadmium at a hydroxyapatite-modified carbon ionic liquid electrode by square-wave stripping voltammetry. *Sensors and Actuators B* 139., (2009)604-610.
- [12] T.U. Aualiitia, W.F. Pickering. Anodic stripping voltammetric study of the lability of Cd, Pb, Cu ions sorbed on humicacid particles. *Water Res.*, 20(1986)1397-1406.
- [13] A.A. Gurten, K. Kayakırlmaz, M. Erbil. The effect of thiosemicarbazide on corrosion resistance of steel reinforcement in concrete. *Construction and Building Materials.*, 21(2007)669-676.
- [14] A. Arshad, H. Osman, K.L. Chan, J.H. Goh, H.K. Fun. (E)-1-[1-(6-Bromo-2-oxo-2H-chromen-3-yl)ethylidene]thiosemicarbazide. *Acta Crystallographica.*, E66 (2010)o1491-o1492.

- [15] S.A. Khan, P. Kumar, R. Joshi, P.F. Iqbal, K. Saleem. Synthesis and in vitro antibacterial activity of new steroidal thiosemicarbazone derivatives. *European Journal of Medicinal Chemistry.*, 43(2008)2029-2034.
- [16] G. Pelosi. Thiosemicarbazone metal complexes: From structure to activity. *The Open Crystallography Journal.*, 3(2010)16-28.
- [17] K. Singh, M.S. Barwa, P. Tyagi. Synthesis, characterization and biological studies of Co(II), Ni(II), Cu(II) and Zn(II) complexes with bidentate Schiff bases derived by heterocyclic ketone. *European Journal of Medicinal Chemistry.*, 41(2006)147-153.
- [18] G.B. Bagihallia, S.A. Patila, P.S. Badami. Synthesis, physicochemical investigation and biological studies of zinc(II) complexes with 1,2,4-triazole Schiff bases. *Journal of the Iranian Chemical Society.*, 6(2009)259-270.
- [19] V.M. Leovac et al. Transition metal complexes with thiosemicarbazide-based ligands. Part LIV. Nickel(II) complexes with pyridoxal semi-(PLSC) and thiosemicarbazone (PLTSC). Crystal and molecular structure of [Ni(PLSC)(H<sub>2</sub>O)<sub>3</sub>](NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> and [Ni(PLTSC-H)py] NO<sub>3</sub>. *Polyhedron.*, 26(2007)49-58.
- [20] S.B. Novakovic, G.A. Bogdanovic, V.M. Leovac. Transition metal complexes with thiosemicarbazide-based ligands. XLIV. The supramolecular arrangement in the Ni(II) complexes of S-methylisothiosemicarbazide. *Inorg Chem Commun.*, 8(2005)9-13.
- [21] L. Guanghai et al. Determination of copper in food by stripping voltammetry using Cu(II)-[2-(2,3,5-triazolylazo)-5-dimethylaninobenzonic] complex. *Food Chemistry.*, 84(2004)319-322.
- [22] G. Scarano, E. Bramanti, A. Zirino. Determination of copper complexation in sea water by a ligand competition technique with voltammetric measurement of labile metal fraction. *Analytica Chimica Acta.*, 264(1992)153-162.
- [23] F. Peynot. Influence des techniques électrochimiques sur la valeur mesurée de la capacité complexante. Evaluation de la labilité de certains complexes. Thèse de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour. 1(1989)118 pp.
- [24] A.A. Ensafi et al. Differential pulse adsorption stripping voltammetric determination of copper (II) with 2-Mercaptobenzimidazol at a hanging mercury-drop electrode. *Analytical sciences.*, 17(2001)609-612.
- [25] M.B. Gholivand et al. Simultaneous determination of copper and cadmium in environmental water and tea samples by adsorptive stripping voltammetry. *Turk J Chem.*, 35(2011)839-846.
- [26] R. Hajian, E. Shams. Application of adsorptive stripping voltammetry to the determination of bismuth and copper in the presence of morin. *Analytica Chimica Acta.*, 491(2003)63-69.

[27] A. Babaei, M. Babazadeh, E. Shams. Simultaneous determination of iron, copper and cadmium by adsorptive stripping voltammetry in the presence of thymolphthaloxene. *Electroanalysis.*, 19(2007)1215-1219.

[28] Z. Zhang, S. Chen, H. Lin, H. Zhang. Simultaneous determination of copper, nickel, lead, cobalt and cadmium by adsorptive voltammetry. *Chimica Acta.*, 272(1993)227-232.

[29] M.H. Pournaghi-Azar, H. Dastangoo. Differential pulse anodic stripping voltammetry of copper in dichloromethane: application to analysis of human hair. *Analytica Chimica Acta.*, 405(2000)135-144.

[30] M.B. Gholivand, A.A. Romiani. Application of adsorptive stripping voltammetry to the simultaneous determination of bismuth and copper in the presence of nuclear fast red. *Analytica Chimica Acta.*, 571(2006)99-104.

[31] R.K. Mahajan, T.P.S. Walia, L.T.S. Sumanjit. Cyclopentanone thiosemicarbazone, a new complexing agent for copper determination in biological samples by adsorptive stripping voltammetry. *Anal. Sci.*, 22(2006)389-392.

[32] A. Cobelo-Garcia, J. Santos-Echeandia, R. Pergo, O. Nieto. Direct simultaneous determination of Cu, Ni and V in seawater using adsorptive cathodic stripping voltammetry with mixed ligands. *Electroanalysis.*, 17(2005)906-911.

[33] D.T. Galeano, A. Guiberteau, M.D. Lopez Soto, J.M. Ortiz. Determination of copper with 5,5- dimethylcyclohexane-1,2,3-trione-1,2-dioxime thiosemicarbazone in olive oils by adsorptive stripping voltammetry. *Food Chemistry.*, 96(2006)156-162.

[34] S. Abbasi, H. Khani, R. Tabaraki. Determination of ultra trace levels of copper in food samples by a highly sensitive adsorptive stripping voltammetric method. *Food Chemistry.*, 123(2010)507-512.

[35] D. Hauchard. Polarographie - techniques polarographiques en analyse. *Éditions Techniques de l'Ingénieur.*, (2008) p2135, 1-5

# CONCLUSION GENERALE

## **CONCLUSION GENERALE**

Parmi les nombreuses méthodes physico-chimiques à la disposition de l'analyste, la méthode électrochimique occupe une place particulière car ses applications peuvent être extrêmement variées, soit dans le domaine de l'analyse minérale ou dans celui de l'analyse organique. Les techniques polarographiques sont, de ce fait, particulièrement adaptées à la détermination quantitative de traces. Elle offre des avantages certains parmi lesquels on peut citer la haute sensibilité (de l'ordre de  $10^{-12}$  mol L<sup>-1</sup>) que cette méthode peut présenter. Les déterminations de traces de métaux peuvent en effet être effectuées avec une sensibilité égale, voire supérieure, à celles obtenues avec l'AAS ou l'ICP, avec, de surcroît, des coûts inférieurs. Ces techniques nécessitent en outre peu de place pour leur installation, les frais d'exploitation sont faibles et représentent un avantage supplémentaire. Un autre avantage de la méthode polarographique est sa spécificité, il est en effet possible d'effectuer simultanément des mesures de concentration de plusieurs métaux à partir de la même solution.

Notre objectif au cours de cette étude a été d'effectuer l'électroanalyse de traces de cations métalliques à l'aide d'électrodes de mercure par deux techniques différentes. La détermination du cadmium, plomb, zinc et du cuivre a été effectuée par voltampérométrie à redissolution anodique et pour le sélénium par redissolution cathodique.

Les résultats expérimentaux et ceux obtenus par le calcul de validation analytique, nous permettent de conclure que :

- La voltampérométrie à redissolution différentielle d'impulsion cathodique et/ou anodique est très sensible pour le dosage des éléments Zn, Cd - Pb, Se et Cu dans le sang,
- Les limites de détection obtenues sont meilleures que celle rapportées dans la littérature dans les mêmes conditions,
- La DPSV technique peu onéreuse comparée à d'autres méthodes d'analyses telles que l'ICP-MS est apparue, au cours de notre étude, précise et sélective, d'où l'intérêt de son utilisation pour la spéciation des éléments traces,

- La sensibilité de la technique a été nettement améliorée en jouant sur la nature du ligand ajouté qui s'adsorbe à la surface de la goutte de mercure préconcentrant ainsi l'élément à doser via la formation d'un complexe métallique,
- Les limites de détection du cuivre dans le sang humain ont été trouvées égales à  $0,186 \text{ ng.mL}^{-1}$  et  $0,001 \text{ ng.mL}^{-1}$  en présence respectivement de l'hydrazide de benzène sulfonyle (HBS) et du 4-éthyle-3-thiosemicarbazide (ETSC),
- Le choix du ligand s'est avéré très important car l'ETSC a donné une meilleure limite de détection, environ 186 fois plus faible que celle trouvée en présence du HBS,
- Les limites de détection de l'ordre du nano et du picogramme rendent cette méthode parmi l'une des plus performantes pour l'analyse des traces et ultra-traces,
- La voltampérométrie à redissolution, en absence des deux ligands, a montré une limite de détection du cuivre de  $1,62 \text{ ng mL}^{-1}$ ; valeur largement supérieure à celle trouvée en leur présence.

Par ailleurs, ces résultats ont permis de valider les techniques d'analyse utilisées sur quelques échantillons de sang. Il reste donc à les appliquer de manière générale à d'autres échantillons naturels, afin d'y déterminer la concentration des éléments étudiés.

Toutefois, la détermination des conditions optimales soit chimiques ou électrochimiques de ces deux techniques n'étant pas toujours aisée, ce travail de thèse n'a malheureusement pas permis la détermination des autres éléments ( Cd, Pb, Se) par voltampérométrie à redissolution après adsorption, cette analyse dépendant fortement de la nature du ligand disponible.

En perspective, il serait intéressant de pouvoir comparer et/ou compléter les résultats obtenus par ces techniques avec ceux d'autres types de techniques analytiques. Il serait également intéressant d'étudier et d'élaborer de nouvelles électrodes et de les caractériser dans le but d'obtenir une meilleure sélectivité et une plus grande sensibilité vis-à-vis de cations métalliques cibles, en particulier à l'état d'ultra-traces.

Au demeurant, nous considérons que les valeurs des concentrations des éléments traces recueillies dans la wilaya de Tlemcen pourront servir de référence à d'autres régions du pays de façon intérimaire. Il serait cependant important de mener

une étude similaire, sur une autre région, afin de vérifier si des différences importantes et significatives existent par rapport aux données de la ville de Tlemcen.

Enfin notons que l'explication des divergences mesurables entre nos résultats et ceux de la littérature n'est pas toujours évidente mais cela ne faisait pas l'objet de notre étude.

# *ANNEXE: PUBLICATIONS*



## Determination of Ultra Trace Levels of Copper in Whole Blood by Adsorptive Stripping Voltammetry

Tarik Attar\*, Yahia Harek, and Lahcen Larabi

Laboratoire d'Electrochimie et Chimie Analytique, Département de Chimie, Faculté des Sciences,  
Université Abou Bekr Belkaid, 13000, Tlemcen, Algeria. \*E-mail: t\_attar@mail.univ-tlemcen.dz  
(Received May 8, 2013; Accepted August 27, 2013)

**ABSTRACT.** A selective and sensitive method for simultaneous determination of copper in blood by adsorptive differential pulse cathodic stripping voltammetry is presented. The procedure involves an adsorptive accumulation of Cu(II)-ETSC (4-ethyl-3-thiosemicarbazide) on a hanging mercury drop electrode, followed by a stripping voltammetry measurement of reduction current of adsorbed complex at about  $-715$  mV. The optimum conditions for the analysis of copper (II) ion are : pH 10.3, concentration of 4-ethyl-3-thiosemicarbazide  $3.25 \times 10^{-6}$  M and an accumulation potential of  $-100$  mV. The peak current is proportional to the concentration of copper over the range  $0.003$ – $125$  ng/mL with a detection limit of  $0.001$  ng/mL and an accumulation time of  $60$  s. Moreover, with the use of the proposed method, there is a considerable improvement in the detection limit, the linear dynamic range and the deposition time, compared with the methods of adsorptive stripping voltammetry for the determination of copper. The developed method was validated by analysis of whole blood certified reference materials.

**Key words:** Adsorptive cathodic stripping voltammetry, Copper, 4-Ethyl-3-thiosemicarbazide, Whole blood

### INTRODUCTION

Copper is an essential trace element for humans and animals. In the human organism, copper exists in two forms, the first and second oxidation form which exists the most in the human organism.<sup>1</sup> The ability of copper to easily attach and accept electrons explains its importance in oxidative reduction processes and in disposing and removing free radicals from the organism.<sup>2,3</sup> Although scientists identified copper compounds to treat diseases in 400 B.C,<sup>4</sup> researchers still discover new information regarding the biochemistry, physiology, toxicology, many clinical, laboratory and other indicators of the impact of copper in the organism.<sup>5</sup> Copper is necessary in human nutrition for normal iron metabolism and the formation of red blood cells. Anemia is a clinical sign of deficiency of copper.<sup>6–8</sup> Investigation of copper functions in human bodies requires accurate, affordable, informative, low-detection-limit methods for determination of trace copper in biological samples.<sup>9–12</sup> Although a considerable number of methods for copper investigation exists, research continues in search of more sophisticated analytical approaches.

Electroanalytical techniques have undergone many important developments in recent decades. This has stemmed from a better understanding of electrode processes and improvements in instrumentation, which have allowed faster measurements to be made under better-controlled conditions,

particularly those involving pulse voltammetric techniques.<sup>13,14</sup> The stripping voltammetry is the most sensitivity one because it has a preconcentration step on the electrode surface prior to recording the voltammogram.<sup>15–17</sup> The technique is based upon adsorptive accumulation of the metal ion complexed with a suitable ligand at the electrode (HMDE) and then scanning the potential of the electrode in the negative direction.<sup>18–20</sup> Many electroanalytical stripping procedures have been proposed for the individual determination of nanomolar concentration of copper.<sup>21–24</sup>

The present study attempts to describe a new adsorptive cathodic stripping procedure for simultaneous determination of trace amounts copper in whole blood by using 4-ethyl-3-thiosemicarbazide (ETSC) as a complexing agent onto the hanging mercury drop electrode.

### EXPERIMENTAL

#### Equipment and Materials

Adsorptive cathodic stripping voltammetry (AdCSV) was carried out on an MDE 150 polarographic stand. Measurements were carried out with a hanging mercury drop electrode, in a three-electrode arrangement. The auxiliary electrode was a wire of platinum with a considerably larger surface area than that of HMDE. An Ag|AgCl (KCl 3 M) was used as reference electrode. A magnetic stirrer and stirring bar provided the convective transport during accu-

mulation. The whole procedure was automated and controlled through the programming capacity of the apparatus with Trace-Master 5 PC software. The solutions were deoxygenated with high-purity argon for 5 min prior to each experiment.

### Procedure

Ten milliliters of the supporting electrolyte solution was pipetted into the voltammetric cell. The solution was purged with argon for 5 min in the first cycle and 50 s for each successive cycle. The accumulation potential  $-100$  mV was applied for 60 s to a fresh mercury drop while the solution was stirred. The stirring was stopped for a period of 20 s and then, the potential was scanned from  $-100$  mV toward more negative values using differential pulse (DP), (modulation time, 20 ms; modulation amplitude,  $-50$  mV; interval time, 0.1 s; potential step, 5 mV, resulting in a scan rate of 50 mV/s). Each scan was repeated three times with a new drop for each analyzed solution and the mean of these voltammograms obtained. Copper stripping peak was registered at about  $-715$  mV, and their current used as a measure of copper concentrations.

### Chemicals

All chemicals used were of analytical-reagent grade or the highest purity available. Aqueous solutions were prepared by dissolving a certain amount of chemicals into high-purity deionized water (Milli-Q water system). Acids used for the analysis were the nitric acid (69.5%, Fluka) and the perchloric acid (70–72%, Merck). Stock solution of Cu (II) (1000 ppm, atomic adsorption standard, Aldrich) was prepared in deionized water. A  $5 \times 10^{-3}$  M solution of chelating agent 4-ethyl-3-thiosemicarbazide (Sigma-Aldrich 97%) was prepared by dissolving the appropriate amount of ETSC in deionized water. Acetate buffer solution was prepared using acetic acid and potassium hydroxide.

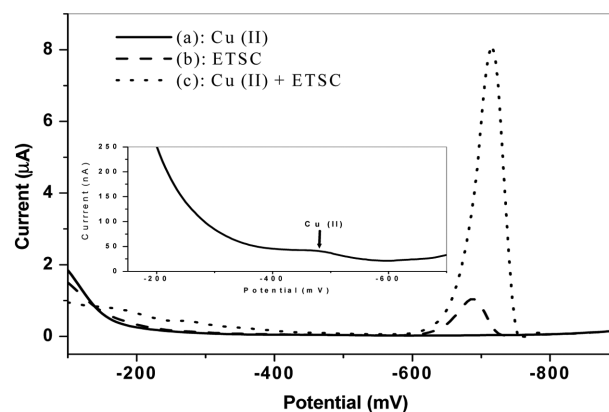
### Blood Sample Preparation

The procedure consisted in placing 0.5 mL of whole blood in a long-necked 50 mL flask together with 2 mL  $\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$  mixture (3:1 v/v). The temperature of this mixture was slowly increased to  $150^\circ\text{C}$  for 4 h in a hot plate, and then the temperature was maintained at  $180^\circ\text{C}$  until the evaporation of half of the acids. After cooling the flasks at room temperature, 2 mL from the same acid mixture was added and re-evaporated until  $\sim 0.5$  mL was left. After cooling, the digested blood samples were made up to 5 mL using 0.25% nitric acid.<sup>25</sup> Special care was taken

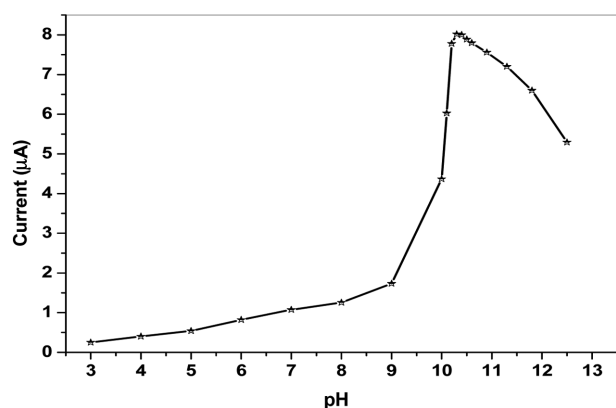
to avoid all contaminations. All the chemicals used were of suprapur quality.

## RESULTS AND DISCUSSION

Preliminary experiments were performed to identify the general features which characterise the behaviour of Cu (II) and 4-ethyl-3-thiosemicarbazide systems on mercury drop electrode. Fig. 1 shows cathodic stripping differential pulse voltammograms of the Cu(II)-ETSC after accumulation at  $-100$  mV for 60 s. Curve (a) shows the voltammograms of a solution containing 50 ng/mL of Cu (II) in the absence of ligand. A very small cathodic peak is found at  $-480$  mV. In addition, curve (b) shows the differential pulse voltammogram of 4-ethyl-3-thiosemicarbazide, in the absence of Cu (II), that produced one peak current at  $-680$  mV. The presence of copper 50 ng/mL and ligand  $3.25 \times 10^{-6}$  M in the same cell gives curve (c). The Cu (II)-ETSC complex has strong adsorption at the mercury electrode and produces a strong reductive peak current at  $-715$  mV. All the above facts indicate that Cu (II) and 4-ethyl-3-thiosemicarbazide really produced a new complex, and this complex was electroactive and could be produced by a reduction peak current at  $-715$  mV. The possible mechanisms of metal accumulation on the electrode-solution interface in adsorptive stripping voltammetry, via complex formation, were given by Paneli et al.<sup>26</sup> According to these authors, it seems that the presence of  $\pi$ -electrons in the ligand molecule favours the adsorption process. 4-ethyl-3-thiosemicarbazide has different functional groups so it can be coordinated with copper ion through donating groups, depending on the pH of the solution. For the best



**Figure 1.** Adsorptive stripping voltammetry for Cu-ETSC system.  $C_{\text{ETSC}} = 3.25 \times 10^{-6}$  M,  $C_{\text{Cu(II)}} = 50$  ng/mL, accumulation time is 60 s, accumulation potential is  $-100$  mV,  $\text{pH} = 10.3$ , Stirring rate 400 rpm and Scan rate is 50 mV/s.



**Figure 2.** Effect of pH on the peak current of 50 ng/mL copper. Other conditions are the same as in Fig. 1.

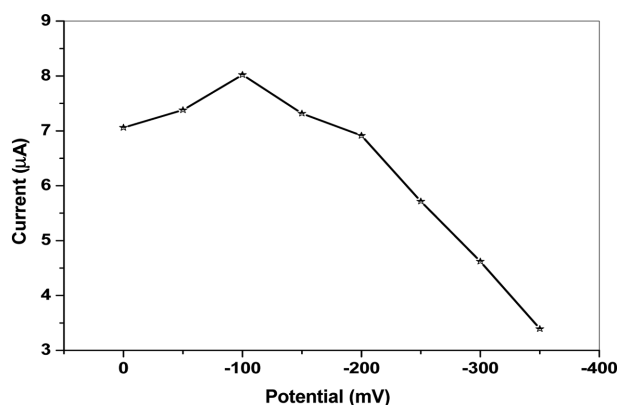
sensitivity in simultaneous determination of copper the influence of different parameters such as supporting electrolytes, ligand concentration, deposition time and potential, stirring and scan rate were investigated.

### Effect of pH

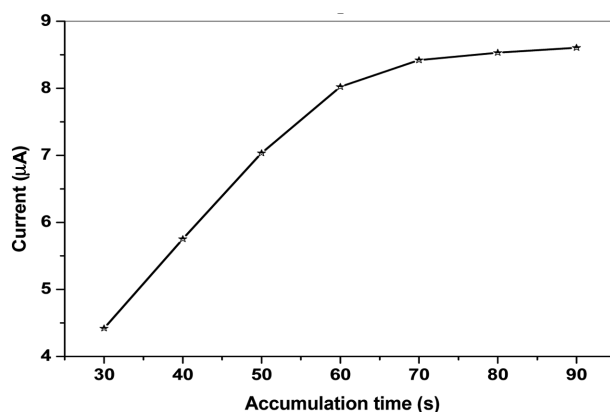
Different electrolytes were tested as supporting electrolytes (Potassium and sodium acetate buffer, potassium hydroxide, acetic acid, perchloric acid, nitric acid and hydrochloric acid). Among these, potassium acetate buffer (pH 10.3) gave the best response. Fig. 2 shows the relationship between pH and the peak current. Stability of the complex largely depends on the pH of the system. The influence of pH on the cathodic stripping copper peaks current was studied in the pH range of 3.0–12.5 for solution containing 50 ng/mL each of metal ion and  $3.25 \times 10^{-6}$  M of ETSC. The system may become unstable with a small variation in the pH. So far, the optimization of a stable complex of Cu-ETSC was concerned. Initially, there was an increase in peak current with rise in pH up to 10.3 and falls after this value. This is due to the increasing complex formation of copper (II) with the ligand at the electrode surface with increasing pH. At pH more than 10.3, the precipitation of copper as  $\text{Cu}(\text{OH})_2$  occurred resulting in sharp decrease in peak current.<sup>27</sup> Therefore, the pH 10.3 was selected as the optimum experimental condition.

### Effect of Accumulation Potential

The effect of accumulation potential on the stripping peak current of the complex was examined over the potential range of 0 to –350 mV. As shown in Fig. 3, the peak current increased with changing potential from 0 to –100 mV. The peak current decreased due to changing potential from –100 to –350 mV due to complex reduction during



**Figure 3.** Effect of accumulation potential. Other conditions are the same as in Fig. 1.

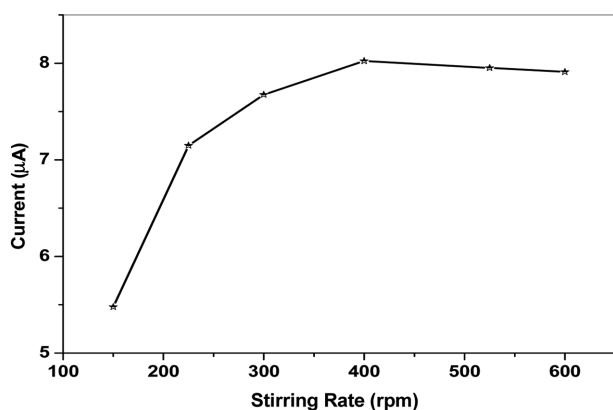


**Figure 4.** Effect of accumulation time on the peak current. Other conditions are the same as in Fig. 1.

adsorption step. An accumulation potential of –100 mV was used for the optimized analytical procedure.

### Effect of Accumulation Time

The accumulation time is always important factor in stripping voltammetric analysis because of its prevailing influence on sensitivity and detection limit of the method. The effect of accumulation time on the peak current of complex (Cu-ETSC) was carried out as shown in Fig. 4 after increasing the accumulation time from 60 s onwards. The variation of adsorption time between 0 and 90 s at an adsorption potential of –100 mV showed that the peak current increased with the increase of accumulation time up to 60 s and then decreased. However, further increase of accumulation time does not cause the obvious enhancing of the stripping peaks current, which is probably due to the saturation loading of the electrode surface.<sup>28</sup> Therefore, accumulation potential of 60 s was selected as an optimum accumulation time for further experiments.



**Figure 5.** Effect of stirring rate on the peak current of copper (II). Other conditions are the same as in Fig. 1.

### Effect of Stirring of the Solution

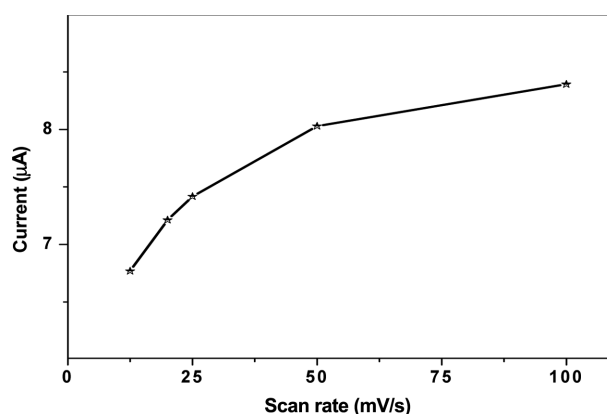
In order to increase the adsorption rate, stirring of the solution during the accumulation of analyte seems to be effective. To prevent the perturbation of the adsorption rules; optimization of stirring speed is suggested. We observed that the accumulation amount of Copper-ligand on the hanging mercury drop electrode enhanced as stirring speed increased until reaching a maximum value at about 400 rpm and then decreased at higher stirring speed Fig. 5. This may be attributed to more distribution of the solution that may perturb the adsorption stripping governed in the system. Therefore, 400 rpm was suggested as optimum stirring speed for the accumulation of copper-ETSC on the mercury electrode.

### Effect of the Scan Rate

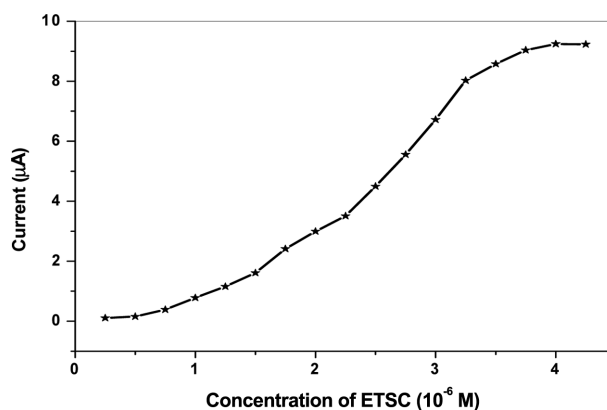
The observed stripping voltammetric signal can be further maximized by adjusting the way the applied potential was scanned. The relationship between the measured peak intensity and scan rate was found to be directly proportional over 12.5–100 mV/s scan rate (from studied range 12.5–100 mV/s). However, when scan rates faster than 50 mV/s were employed, the peak current decreased slightly. The influence of scan rate on the observed voltammetric signal is illustrated in Fig. 6, which indicates that scan rate value of 50 mV/s would be adequate optimum for succeeding investigations.

### Influence of 4-Ethyl-3-thiosemicarbazide Concentration

The influence of 4-ethyl-3-thiosemicarbazide concentration on the sensitivity of proposed method was studied for the range  $2.5 \times 10^{-7}$ – $4.25 \times 10^{-6}$  M. The obtained results Fig. 7 show that with increasing the 4-ethyl-3-thio-



**Figure 6.** Effect of scan rate on the peak current copper (II). Other conditions are the same as in Fig. 1.



**Figure 7.** Effect of 4-ethyl-3-thiosemicarbazide concentration on the peak current of copper (II). Other conditions are the same as in Fig. 1.

micarbazide concentration up to about  $3.25 \times 10^{-6}$  M, the cathodic stripping peaks current of Cu-ETSC increased and then were leveling off at higher concentrations. This is due to the competition of ETSC with Copper complexes for adsorption on the HMDE. So, an optimum 4-ethyl-3-thiosemicarbazide concentration of  $3.25 \times 10^{-6}$  M was selected for further experiments.

Table 1 shows a comparison between detection limit, linear dynamic range and accumulation time of the proposed method and those previously reported. According to the results, the limits of detection of these methods are reported to be not good.<sup>29,30</sup> Some others need a long deposition time,<sup>31–34</sup> or have a low linear dynamic range,<sup>35,36</sup> in a recent work has a good detection limit and low linear dynamic range.<sup>37</sup> But in the current paper, the deposition time is short (60 s), and detection limit is very low compared to many previously reported research works.

**Table 1.** Some critical points in present work compared with some previous works performed by adsorptive stripping voltammetry applied for determination of copper

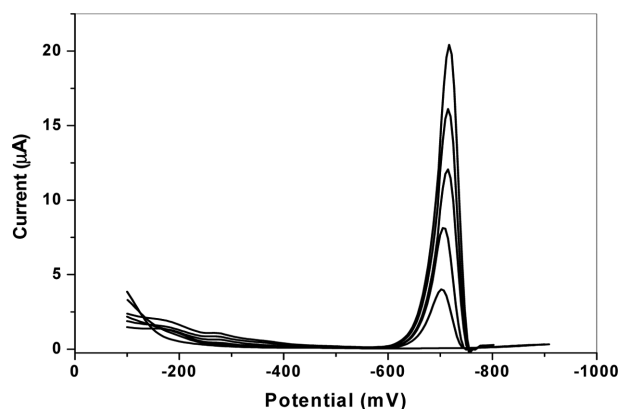
Ligand	LOD (ng/mL)	Dynamic range (ng/mL)	Accumulation time (s)	Reference
Morin	0.6	0.2–130	60	29.
Thymolphthaleone	0.4	0.5–100	60	30.
2,7-PADN	0.51	0.6–64.0	240	31.
Bis (acetylacetone) ethylenediimine	1.02	3.18–63.6	600	32.
Nuclear fast red	0.2	1–100	180	33.
Cyclopentanone thiosemicarabzone	0.2	0.1–99.8	150	34.
DMG and catechol (mixed)	0.03	0.03–6.35	60	35.
5,5-Dimethylcyclohexane-1,2,3-trione 1,2-dioxime 3 thiosemicarbazone	0.49	0–35	60	36.
Thiosemicarbazide	0.007	0.01–90.0	60	37.
4-Ethyl-3-thiosemicarbazide	0.001	0.003–125	60	This work

**Table 2.** Tolerance limit of foreign ions on copper (II) (50 ng/mL) determination by proposed procedure

Foreign ions	Tolerance limit [W <sub>Foreign ion</sub> /W <sub>Cu(II)</sub> ]	Recovery (%)
Zn <sup>2+</sup>	1000	98.9
Pb <sup>2+</sup>	1000	95.6
K <sup>+</sup> , Na <sup>+</sup> , Mg <sup>2+</sup> , Ca <sup>2+</sup> , Cl <sup>-</sup>	850	98.7
Cr <sup>+3</sup>	500	96.8
Cr <sup>+6</sup>	500	95.1
Cd <sup>2+</sup> , Mn <sup>2+</sup>	500	97.8
Co <sup>2+</sup>	250	95.3

### Effect on Interferences

Possible interference by other metals with the adsorptive stripping voltammetry of copper was investigated by the addition of the interfering ion to a solution containing 50 ng/ml of copper(II) using the optimized conditions. A study of potential interferences in the determination of copper was performed. The tolerance limit was defined as the amount of foreign ions causing a change less than 5% in the recovery of Cu(II). *Table 2* shows the results. As can be seen a very good selectivity is achieved. As most of the samples, especially, biological samples do not contain these interfering ions at such a high concentration, so the specificity of this method for such samples cannot be ignored. However, no such interference was observed with other ions as mentioned above.

**Figure 8.** Voltammetric response from adsorptive stripping voltammetry of 25, 50, 75, 100 and 125 ng/ml copper concentration and  $C_{ETSC}=3.25 \times 10^{-6}$  M measured on a mercury electrode in pH=10.3 potassium acetate buffer using a 60 s accumulation time at a potential of -100 mV, Stirring rate 400 rpm and Scan rate is 50 mV/s.

### Accuracy, Precision and Detection Limits

A linear response over the concentration range of 0.003 to 125 ng/mL Cu(II) was observed under optimum conditions, with correlation coefficient of 0.999 *Fig. 8*. The detection limit for copper was found to be 0.001 ng/mL. The accuracy, recovery and precision of the method used were tested in 10 replicate tests with a reference material (Serorm Trace Elements Whole Blood, levels 1 and 3, Billingstad, Norway) (*Table 3*). All samples and standards were analyzed by duplicates.

**Table 3.** Accuracy, precision and recovery of the method against a standard reference material

Material	Mean $\pm$ SD (ng/mL)		Acceptable range (ng/mL)	Accuracy (%)	Precision (%)	Recovery (%)
	Certified	Measured				
(level 1, MR4206)	564 $\pm$ 5.4	550.191 $\pm$ 5.268	531–597	97.55	2.05	98.67
(level 3, O512627)	1740 $\pm$ 151	1673.392 $\pm$ 145.219	1438–2042	96.17	2.71	96.01

The mean and standard deviation of fifteen healthy human in the western Algerian population (Tlemcen city) were  $886.468 \pm 248.936$  ng/mL. The range for all samples was 439.016–1271.774 ng/mL. No significant differences were observed in blood copper concentrations after applying to them the Student's t-test.

## CONCLUSION

The present study demonstrates that adsorptive stripping voltammetry of copper based on accumulation of copper-4-ethyl-3-thiosemicarbazide complex can be used to determine trace amounts of copper in real samples. The detection limit of this technique is 0.001 ng/mL copper (II) at a collection period of 60 s. In conclusion, this method offers a practical potential for trace determination of copper with high selectivity, sensitivity, simplicity and speed that have not been present together in the previously reported systems.

**Acknowledgments.** The publication cost of this paper was supported by the Korean Chemical Society.

## REFERENCES

- Jack, H. K.; Svetlana, L. *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 25461.
- Uauy, R.; Olivares, M.; Gonzalez, M. *Am. J. Clin. Nutr.* **1998**, *67*, 952.
- Lobo, V.; Patil, A.; Phatak, A.; Chandra, N. *J. Pharmacogn. Rev.* **2010**, *4*, 118.
- Borkow, G.; Gabbay, J. *Curr. Med. Chem.* **2005**, *12*, 2163.
- Angelova, M.; Asenova, S.; Nedkova, V.; Koleva-Kolarova, R. *Trakia of Journal Sciences* **2011**, *9*, 88.
- Fox, P.L. *Biometals* **2003**, *16*, 9.
- Kaido, T.; Hashimoto, H.; Okamura, H.; Tsukaguchi, K. *J. Clin. Neurosci.* **2005**, *12*, 205.
- Bhattacharya, J.; Choudhuri, U.; Siwach, O.; Sen, P.; Dasgupta, A. K. *Nanomedicine* **2006**, *2*, 191.
- Violante, N.; Senofonte, O.; Marsili, G.; Meli, P.; Soggiu, M. E.; Caroli, S. *Microchem. J.* **2000**, *67*, 397.
- Kouhkan, A.; Pourpak, Z.; Moin, M.; Dorosty, A. R.; Safaralizadeh, R.; Teimorian, S.; Farhoudi, A.; Aghamohammadi, A.; Mesdaghi, M.; Kazemnejad, A. *Iran J. Allergy Asthma. Immunol.* **2004**, *3*, 189.
- Kouremenou-Dona, E.; Dona, A.; Papoutsis, J.; Spiliopoulou, C. *Sci. Total Environ.* **2006**, *359*, 76.
- Prakash, M.; Shetty, K. J. *J. Biochem.* **2008**, *3*, 38.
- Osteryoung, J. A. *Acc. Chem. Res.* **1993**, *26*, 77.
- Wilson, G. S.; Gifford, R. *Bioelectron.* **2005**, *20*, 2388.
- Meepun, N.; Siriket, S.; Dejmanee, S. *Int. J. Electrochem. Sci.* **2012**, *7*, 10582.
- Al-Ghamdi, A. F. *Am. J. Anal. Chem.* **2011**, *2*, 174.
- Averyaskina, E. O.; Ermakov, S. S.; Moskvina, L. N. *J. Anal. Chem.* **2006**, *61*, 1100.
- Town, M. R.; Herman, P.; Leeuwen, V. *Electroanal. Chem.* **2002**, *535*, 11.
- Czaz, M.; Wang, J. *Talanta* **1999**, *50*, 921.
- Bobrowski, A.; Zarebski, J. *Electroanalysis* **2000**, *12*, 1177.
- Quentel, F.; Madec, C. *Anal. Chim. Acta.* **1990**, *230*, 83.
- Zhao, J.; Sun, D. *Anal. Chim. Acta.* **1992**, *268*, 293.
- Culjak, I.; Mlakar, M.; Branica, M. *Anal. Chim. Acta.* **1994**, *297*, 427.
- Safavi, A.; Shams, E. *Anal. Chim. Acta.* **1999**, *385*, 265.
- Dennouni-Medjati, N.; Harek, Y.; Attar, T.; Larabi, L. *Biol. Trace. Elem. Res.* **2012**, *147*, 44.
- Guanghan, L.; Dewu, L.; Dehua, L.; Tong, Z.; Hongyan, Z.; Chuanyan, L. *Food Chemistry* **2004**, *84*, 319.
- Mahajan, R. K.; Walia, T. P. S.; Sumanjit, L. T. S. *Anal. Sci.* **2006**, *22*, 389.
- Gholivand, M.B.; Pourhossein, A.; Shahlaei, M. *Turk. J. Chem.* **2011**, *35*, 839.
- Hajian, R.; Shams, E. *Anal. Chim. Acta* **2003**, *491*, 63.
- Babaei, A.; Babazadeh, M.; Shams, E. *Electroanalysis.* **2007**, *19*, 1215.
- Zhang, Z.; Chen, S.; Lin, H.; Zhang, H. *Anal. Chim. Acta* **1993**, *272*, 227.
- Pournaghi-Azar, M. H.; Dastango, H. *Anal. Chim. Acta* **2000**, *405*, 135.
- Gholivand, M. B.; Romiani, A. A. *Anal. Chim. Acta.* **2006**, *571*, 99.
- Mahajan, R. K.; Walia, T. P. S.; Sumanjit, L. T. S. *Talanta* **2005**, *67*, 755.
- Cobelo-Garcia, A.; Santos-Echeandia, J.; Pergo, R.; Nieto, O. *Electroanalysis* **2005**, *17*, 906.
- Galeano-Diaz, T.; Guiberteau, A.; Lopez Soto, M. D.; Ortiz, J. M. *Food Chemistry* **2006**, *96*, 156.
- Abbasi, S.; Khani, H.; Tabaraki, R. *Food Chemistry* **2010**, *123*, 507.



## Determination of Zinc levels in Healthy Adults from the West of Algeria by Differential Pulse Anodic Stripping Voltammetry

Tarik Attar<sup>a\*</sup>, Nouria Dennouni-Medjati<sup>b</sup>, Yahia Harek<sup>a</sup> and Lahcene Larabi<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Laboratoire de Chimie Analytique et d'Electrochimie, Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université Abou Bekr Belkaid, 13000, Tlemcen, Algeria.

<sup>b</sup>Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie, Synthèse et Activité biologique, Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen 13000, Algeria.

\* Corresponding author: E-mail address: t\_attar@mail.univ-tlemcen.dz  
att.tarik@gmail.com

### ABSTRACT

An electroanalytical method has been developed for the determination of zinc in whole blood by differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV) on a hanging mercury drop electrode (HMDE). The best conditions were found to be electrolyte support perchloric acid 0.02M, an accumulation potential of -1150 mV, and an accumulation time of 60 s. The optimum value of stirring rate was determined to be 400 rpm. The correlation coefficient and relative standard deviation were 0.9999 and 3.96% respectively with a detection limit of 0.86  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Zinc levels in whole blood samples of 53 healthy subjects living in Tlemcen (west Algeria).

### Keywords

Zinc; whole blood; Analytical Methods; Differential pulse anodic stripping voltammetry; Hanging mercury drop electrode.

### Academic Discipline And Sub-Disciplines

Analytical Chemistry

### SUBJECT CLASSIFICATION

Chemistry Subject Classification

### TYPE (METHOD/APPROACH)

Experimental study

# Council for Innovative Research

Peer Review Research Publishing System

**Journal:** Journal of Advances in Chemistry

Vol. 6, No. 1

[editor@cirworld.com](mailto:editor@cirworld.com)

[www.cirworld.com](http://www.cirworld.com), [member.cirworld.com](http://member.cirworld.com)



## 1. INTRODUCTION

Environmental pollution has given rise to concern about the accumulation of heavy metal in human body [1]. In order to trace the exposure and absorption of such element, biological indicators such as blood, hair, and urine are often analyzed [2]. Zinc is one of the important trace elements related to health and disease. It plays an important role in human growth; it has a recognized action on more than 300 enzymes, by participating in their structure or in their catalytic and regulatory actions [3, 4]. It is a structural ion of biological membranes and it's closely related to protein synthesis [5, 6]. Zinc deficiency has long been recognized as a role-playing in a number of physiological disorders, including dermatologic conditions such as eczema, acne, and psoriasis [7-11]; poor wound healing [12-14]; growth retardation [15-17]; delayed sexual maturity [18]; hypogeusia and chronic immunodeficiency [19]. In most cases, abnormally low levels of zinc appear to involve a malfunction of the metal-binding protein metallothionein [20, 21]. The choice of a method will depend in particular on nature of the studied medium, amongst elements to be proportioned and their concentrations, amongst analyses to be carried out, of the speed required of the analysis, the precision imposed on proportioning and finally of the equipment which one lays out or which one can lay out. The electrochemical methods have many advantages compared with the spectrometric methods, the equipment being less expensive and measurements being able to be realized in difficult mediums of access [22]. These methods ensure the transformation of a concentration of species into solution into an electric quantity measured by means of simple mathematical relations. Among the electrochemical methods most recent, the stripping voltammetry is a precise, significant and selective method electrochemical [23]. The objective of this work is to study the influence of the principal experimental parameters on the current of stripping, namely the effect of electrolyte support, potential of accumulation, the time of deposit and stirring rate of the solution in order to determine the concentration of the zinc dissolved in whole human blood.

## 2. Experimental

### 2.1. Apparatus

Anodic stripping voltammetry measurements were performed using a commercially available TraceLab 50 trace analysis system. It consists of POL150 polarographic analyzer, MDE150 polarographic stand and TraceMaster 5 software (Radiometer Analytical S.A, France). The three electrodes system consists of a working hanging mercury dropping electrode (HMDE) that was renewed prior to each measurement, a platinum auxiliary electrode and Ag|AgCl saturated with KCl as reference electrode.

### 2.2. Reagents

All chemicals used were of analytical-reagent grade or the highest purity available. Aqueous solutions were prepared by dissolving a certain amount of chemicals into high-purity deionized (DI) water (MilliQ water system). Acids used for the analysis, the nitric acid (69.5%, Fluka) and the perchloric acid (70-72%, Merck). Stock solutions of zinc (1000 ppm, atomic adsorption standard, Aldrich), were diluted daily as required.

### 2.3. Sample digestion

A 1.0 ml of whole blood in a long-necked 50 ml flask, 4.0 ml of acid mixture (3 ml HNO<sub>3</sub> and 1 ml HClO<sub>4</sub>) was added in flask. The temperature is maintained with 150°C during 4 hours and then the temperature is fixed at 200°C until quasi total evaporation of the contents [24]. After cooling, we add the same mixture of acids to the residue, then we let evaporate until obtaining a dry residue [25]. This residue is taken again by 5 ml of nitric acid with 0.25% and preserved in polyethylene tubes [26, 27]. In this case, the mixtures of strong acids used allow, in combination with high temperatures, to destroy the organic matter and to transform it into by-products of gas reaction, which are then eliminated under the hood. It is in fact necessary, to reduce the contaminations, to use quantities as weak as possible reagents.

### 2.4. Voltammetric Measurement

A 10 mL sample solution, containing of perchloric acid was transferred to the voltammetric cell and purged with nitrogen for 5 min. The accumulation potential (-1150 mV) was applied to a fresh mercury drop for 60 s while the solution was stirred. Following the accumulation period, the stirring was stopped, and after 20 s the second-order derivative linear scan voltammogram was recorded by applying a positive-going potential scan at 20 mV s<sup>-1</sup>. The concentration of zinc in the samples was determined using standard addition method. Reagent blanks were taken along with each batch of samples and the metal concentration observed in these blank samples were subtracted from the corresponding batch of field samples.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Effect of concentration of electrolyte support

In a first step, the effect of concentration supporting electrolyte was investigated. Fig. 1 shows the influence of the concentration HClO<sub>4</sub>. The effect of electrolyte support on peak current was studied with concentration in the range from 0.01 to 0.1M. A decrease in the current is observed when the concentration electrolyte support is higher than 0.02M. Thus, the optimum concentration for further studies was fixed in 0.02M.



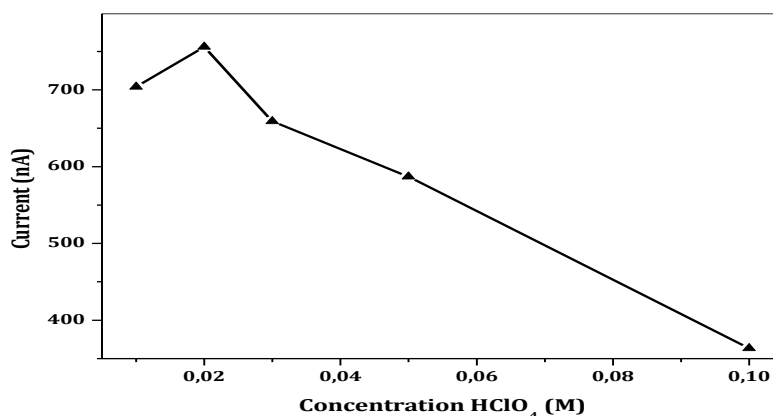


Fig. 1. Relationship between concentration of electrolyte support and measured current values. Conditions: solutions containing  $70 \mu\text{g L}^{-1}$  of zinc; deposition potential is  $-1150 \text{ mV}$ ; Stirring rate is  $400 \text{ rpm}$  and accumulation time is  $60 \text{ s}$ .

### 3.2. Effect of deposition potential

In the stripping procedure, the determination of the elements is based on the use of a deposition potential. The optimum deposition potential must be obtained. For this purpose, the deposition was carried out on the HMDE for  $60 \text{ s}$  at several selected deposition potentials. The relation between the peak current and the deposition potential is shown in Fig. 2. The effect of the accumulation potential on the peak current was examined over the range from  $-1200$  to  $-1050 \text{ mV}$ . The peak current increased gradually with changing potential from  $-1200$  to  $-1150 \text{ mV}$ , reached its maximum at  $-1150 \text{ mV}$  and decreased at more positive potentials. Therefore, an accumulation potential of  $-1150 \text{ mV}$  was used in all experiments.

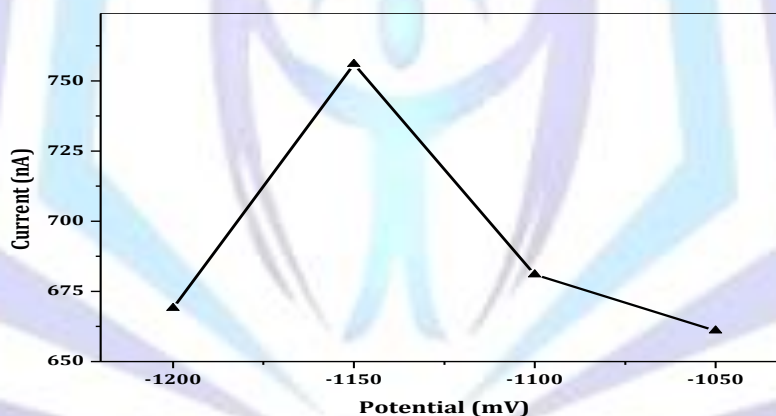


Fig. 2. Relationship between preconcentration time and measured current values. Conditions Fig.1.

### 3.3. Effect of accumulation time

The accumulation time is always important factor in stripping voltammetric analysis because of its prevailing influence on sensitivity and detection limit of the method [28]. The effect of accumulation time on the zinc peak current was studied in the  $0 - 75 \text{ s}$  range in solutions containing  $70 \mu\text{g L}^{-1}$  of Zn, as illustrated in Fig. 3. It is seen that the peak current of the zinc increases linearly as accumulation time increases. At longer times the peak current decreased noticeably became almost constant, probably due to saturation in the surface of the mercury electrode. For succeeding studies an accumulation time of  $60 \text{ s}$  was chosen.

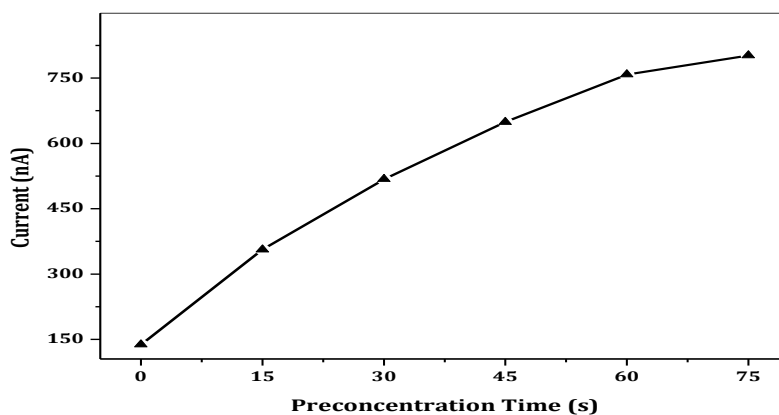


Fig. 3. Relationship between accumulation time and measured current values. Conditions Fig .1.

### 3.4. Effect of stirring rate

Stirring intensity is one of the important parameters that affect the accumulation efficiency. Agitation of the sample solution facilitated the mass transfer process. In present work, the samples were agitated at various stirring rates (150, 225, 300, 400 and 525 rpm). The result showed that the current intensity efficiency was first improved with increased agitation rate before 400 rpm and then decreases starting after this agitation rate (Fig.4). Hence, a stirring rate of 400 rpm was chosen for further studies.

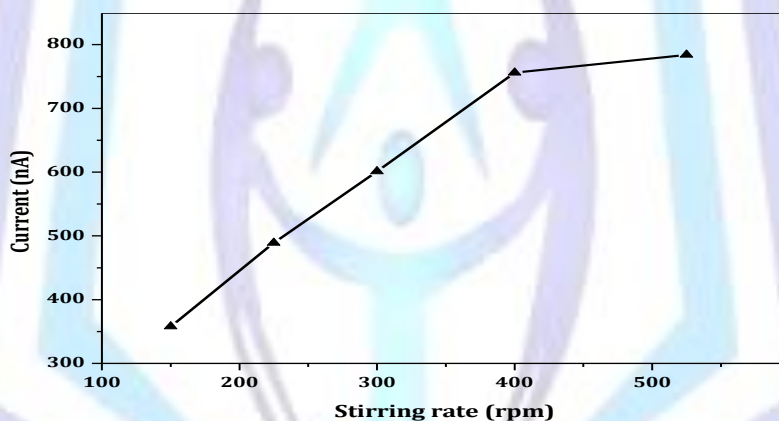


Fig. 4. Relationship between stirring rate and measured current values. Conditions Fig.1.

### 3.5. Calibration data

For the evaluation of the analytical parameters (the recovery percentage, standard deviation, accuracy and precision), a study of the influence of the concentration of the zinc was made in aqueous solution under the optimal conditions mentioned above. It is observed that the precision is 3.96%. This is strong evidence that this method is precise and reproducible. Furthermore, the percentage recovery of the zinc determination was tested by measurement of a standard reference material, and by comparison of results obtained by ASV with those obtained by inductively coupled plasma sector field mass spectrometer (ICP-SFMS) for the same set of samples, seronorm (level 3,0512627) was used as the standard whole blood certified reference materials with the recommended concentration of zinc is 97.75% which is an indication that this method is accurate for zinc is 97.42%. A linear response over the concentration range of  $2.87 \cdot 10^{-3}$  to  $1625 \mu\text{g L}^{-1}$  zinc was observed under optimum conditions, with correlation coefficient of 0.9999. The detection limit for zinc was found to be  $0.86 \mu\text{g L}^{-1}$  estimated from 10 replicate determination of blank solution. This limit is better than coupling ICP-MS [29].

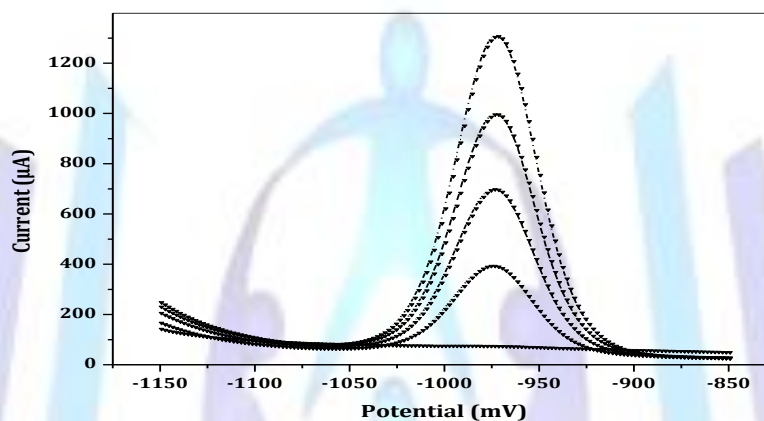
### 3.6. Application to blood samples

Blood zinc levels in female subjects ranged from  $5001.981$  to  $8109.407 \mu\text{g L}^{-1}$  with a mean value of  $6489.268 \pm 838.224 \mu\text{g L}^{-1}$ . Zinc concentrations determined in male subjects ranged from  $4987.172$  to  $8701.501 \mu\text{g L}^{-1}$  and presented a mean concentration of  $6903.542 \pm 897.108 \mu\text{g L}^{-1}$  (Table 1). No significant differences were observed  $P < 0.001$  in blood zinc concentrations among women and men after applying to them the Student's t-test.

**Table 1 gives the results of means zinc concentrations, S.D.s, range, and 95% confidence intervals for the mean present at blood samples of healthy individuals grouped according to sex.**

Sex	n	Mean±SD ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	95% Confidence	Range ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Men	27	6903.542±897.108	6548.658± 7258.426	4987.172-8701.501
Women	26	6489.268±838.224	6150.298±6828.238	5001.981-8109.407
All	53	6700.313±885.313	6456.144±6944.482	4987.172-8701.501

The level concentration of zinc that we found in this study (mean  $6700.313 \mu\text{g L}^{-1}$ ) that we found is very much in line with the values for an Italian population  $6597 \mu\text{g L}^{-1}$  [30], Czech Republic population  $6842 \mu\text{g L}^{-1}$  [31] and Chinese population  $6399 \mu\text{g L}^{-1}$  [32]. As an application the figure below represents a voltammograms relating to the proportioning of zinc in the blood starting from the conditions which were optimized previously (Fig.5). The zinc concentration of this sample is equal  $7169.263 \mu\text{g L}^{-1}$ .



**Fig. 5. Typical voltammograms for the determination of zinc contents in a whole blood sample by the standard addition method. Conditions:  $E_{acc} = -1150 \text{ mV}$ ;  $v = 20 \text{ mV s}^{-1}$ ;  $t_{acc} = 60 \text{ s}$ .**

#### 4. Conclusion

The optimized method has been successfully applied to the determination of zinc in whole blood with good accuracy and precision. The proposed method is inexpensive and fast. The detection limit of  $0.86 \mu\text{g L}^{-1}$  can be lowered further by increasing accumulation time. Acceptable agreement was found between the results obtained and the values of certified reference material. Moreover, and in the lack of bench-mark data regarding the standard rates of the blood of the trace elements in a healthy Maghrebian population, this work constitutes a first contribution to the establishment of a specific database to the town of Tlemcen.

#### Reference

- [1] Tripathi, R.M., Raghunath, R., Mahapatra, S., Sadasivan, S. 2001 *Sci Total Environ*, **277**, 161.
- [2] Barany, E., Bergdahl, I.A., Brattelby, L.E., Lundh, T., Samuelson, G., Schutz, A., Skerfving, S., Oskarsson, A. 2002 *Sci Total Environ*, **286**, 129.
- [3] Yousef, M.I., El Hendy, H.A., El-Demerdash, F.M., Elagamy, E.I. 2002 *Toxicology*, **175**, 223.
- [4] Jansen, J., Karges, W., Rink, L. 2009 *Journal of Nutritional Biochemistry*, **20**, 399.
- [5] Cvijanovich, N.Z., King, J.C., Flori H.R., Gildengorin, G., Wong, H.R. 2009 *Pediatric Critical Care Medicine*, **10**, 29.
- [6] Heyland, D.K., Jones, N., Cvijanovich, N.Z., Wong, H. 2008 *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, **32**, 509.
- [7] Bae, Y.S., Hill, N.D., Bibi, Y., Dreiherr, J., Cohen, A.D. 2010 *Dermatologic Clinics*, **28**, 587.
- [8] Ricketts, J.R., Rothe, M.J., Grant-Kels, J.M. 2010. *Clinics in Dermatology*, **28**, 615.
- [9] Melinda, Jen., Albert, C. 2010 *Clinics in Dermatology*, **28**, 669.
- [10] White, G.M. 1999 *Disease-a-Month*, **45**, 301.
- [11] Thiboutot, D.M., 1997 *Dermatologic Clinics*. *Dermatologic Clinics*, **15**, 97.
- [12] Tabatabai, M.A., Eby, W.M., Singh, K.P. 2011 *Mathematical and Computer Modelling*, **53**, 755.



- [13] Ruíz, C., Alegría, A., Barberá, R., Farré, R., Lagarda, M.J. 1998 *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, **12**, 91.
- [14] Williams, J.Z., Barbul, A. 2003 *Surgical Clinics of North America*, **83**, 571.
- [15] Salueiro, M.J., Zubillaga, M.B., Lysionek, A.E., Caro, R.A., Weill, R., Boccio, J.R. 2002 *Nutrition*, **18**, 510.
- [16] Gaetke, L.M., McClain, C.J., Toleman, C.J., Stuart, M.A. 2010 *The Journal of Nutritional Biochemistry*, **21**, 147.
- [17] Takeda, A., Tamano, H. 2009 *Brain Research Reviews*, **62**, 33.
- [18] Piotrowska, K., Baranowska-Bosiacka, I., Marchlewicz, M., Gutowska, I., Noceń, I., Zawiślak, M., Chlubek, D., Wiszniewska, B. 2011 *Nutrition*, **27**, 372.
- [19] Fedeles, F., Murphy, M., Rothe, M.J., Grant-Kels, J.M. 2010 *Clinics in Dermatology*, **28**, 627.
- [20] Mocchegiani, E., Costarelli, L., Giacconi, R., Cipriano, C., Muti, E., Malavolta, M. 2006 *Experimental Gerontology*, **41**, 1094.
- [21] Wolfgang, M. 2008 *Experimental Gerontology*, **43**, 363.
- [22] Tercier, M.L., Buffle, J., Graziottin, F. 1998 *Electroanalysis*, **10**, 355.
- [23] Brown, R.J.C., Roberts, M.R., Brett, D.J.L. 2009 *Anal. Chim. Acta*, **635**, 1.
- [24] Attar, T., Harek, Y., Medjati, N., Larabi, L. 2011 *Der Pharma Chemica*, 2011, **3**, 400.
- [25] Attar, T., Harek, Y., Medjati, N., Larabi, L. 2012 *International Journal of Analytical and Bioanalytical Chemistry*, **2**, 160.
- [26] Mahajan, R.K., Walia, S., Tejinder, P., Sumanjit, S.K. 2005 *Online Journal of Health and Allied Sciences*, **4**, 1.
- [27] Inam, R., Somer, G. 1998 *Talanta*, **46**, 1347.
- [28] Attar, T., Harek, Y., Larabi, L. 2013 *J. Korean Chem. Soc.*, **57**, 568.
- [29] Rodrigues, J.L., Bastista, L.B., Fillion, M., Passos, J.S.C., Mergler, D., Barbosa, F., 2009 *Sci Total Environ*, **407**, 4168.
- [30] Alimonti, A., Bocca, B., Mannella, E., Petrucci, F., Zennaro, F., Cotichini, R., D'Ippolito, C., Agresti, A., Caimi, S., Forte, G. 2005 *Ann Ist Super Sanita*, **41**, 181.
- [31] Benes, B., Spevackova, V., Smid, J., Batariova, A., Cejchanova, M., Zitkova, L. 2005 *Central European Journal of Public Health*, **13**, 202.
- [32] Liu, J., Yang, H., Shi, H., Shen, C., Zhou, W., Dai, Q., Jiang, Y. 2010 *Biol Trace Elem Res*, **135**, 31.

# Dosage du cadmium et du plomb dans le sang humain par voltamétrie à redissolution anodique

## *Dosage of cadmium and lead in human blood by anodic stripping voltammetry*

Tarik Attar<sup>1</sup>

Yahia Harek<sup>1</sup>

Nouria Dennouni-Medjati<sup>2</sup>

Larabi Lahcen<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire d'électrochimie et chimie analytique, Département de chimie, Faculté des sciences, <att.tarik@gmail.com>

<sup>2</sup> Laboratoire antibiotiques, antifongiques, physico-chimie, Synthèse et activité biologique, Département de biologie, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie

**Résumé.** L'objectif est la détermination des conditions opératoires optimales afin de trouver la concentration du cadmium et du plomb dissous dans le sang humain. La polarographie à redissolution anodique à impulsion différentielle sur une électrode à goutte de mercure pendante (HMDE) est une méthode électroanalytique qui a été développée pour le dosage du cadmium et du plomb dans le sang total. Des meilleures conditions ont été trouvées, l'électrolyte support acide perchlorique est de 0,02 M, le potentiel d'accumulation est de -950 mV, le temps d'accumulation est de 320 s. Les limites de détection obtenues sont égales à 0,46 et 0,08 ng/mL respectivement pour le plomb et le cadmium. La méthode développée a été validée par l'analyse des matériaux de référence certifiés de sang total.

**Mots clés :** cadmium, plomb, sang total, voltamétrie à redissolution anodique à impulsion différentielle (DPASV)

**Abstract.** The objective is the determination of the conditions operating optimal to determine the concentration of the cadmium and the lead dissolved in the human blood. An electroanalytical method has been developed for the determination of lead and cadmium in whole blood by differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV) on a hanging mercury drop electrode (HMDE). The best conditions were found to be electrolyte support perchloric acid 0.02 M, the accumulation potential is -900 mV, and the accumulation time is 320 s. The obtained limits of detection are equal to 0.46 and 0.08 ng/mL respectively for the lead and the cadmium. The developed method was validated by the analysis of reference materials certified by total blood.

**Key words:** cadmium, lead, whole blood, differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV)

Article reçu le 20 janvier 2012,  
accepté le 11 mars 2012

Certains éléments traces sont indispensables aux organismes vivants alors que d'autres, en revanche, ne sont pas essentiels. La toxicité, même à de très faibles concentrations, de certains de ces métaux non essentiels est reconnue. L'exposition à des doses parfois faibles peut avoir des conséquences importantes pour la santé. À long terme, le cadmium est un métal présent à l'état d'impuretés dans divers minerais. Les deux principales sources d'exposition au cadmium de la population générale sont l'alimentation et le tabagisme [1]. Il est utilisé dans des batteries, accumulateurs ou piles électriques alcalines (80 %) et dans des

pigments de peintures ou de matières plastiques (10 %). L'inhalation de fumées d'oxyde de cadmium est à l'origine de fièvres d'inhalation ou de pneumopathies chimiques. Après la phase d'absorption, le cadmium présent dans le compartiment sanguin est principalement intraérythrocytaire lié à l'hémoglobine [2] et il pourrait jouer un rôle dans la survenue d'hypertension artérielle [3, 4]. Le cadmium plasmatique est, quant à lui, lié à des protéines de haut poids moléculaire, essentiellement l'albumine [5]. La demi-vie sanguine du cadmium, correspondant à la durée d'élimination de la moitié de la quantité de cadmium présent dans le sang, est d'environ 100 jours [6]. Une exposition prolongée de l'organisme développe des troubles rénaux, des maladies obstructives respiratoires et osseuses [7]. Le

**Tirés à part :** T. Attar

plomb est l'un des métaux les plus anciennement et les plus largement utilisés par l'homme. Sa toxicité est connue depuis l'Antiquité et elle est toujours d'actualité : les expositions professionnelles au plomb restent très fréquentes ; la libération d'écaillures ou de poussières par la peinture de revêtements muraux anciens et mal entretenus est la source de nombreux cas de saturnisme infantile [8]. Une exposition de brève durée à des concentrations élevées peut causer un goût métallique, des douleurs abdominales, des vomissements, de la diarrhée, des convulsions, le coma et même entraîner le décès [9]. Toutefois, de telles intoxications sont rares. Les effets d'une exposition prolongée à doses faibles sont moins perceptibles, mais non moins dommageables pour la santé : anémie [10], déficience de la fonction mentale et problèmes neurologiques chez les jeunes enfants [11]. La plombémie varie avec le sexe, l'âge, le lieu d'habitation, et la consommation de tabac et d'alcool [12].

Le choix d'une méthode dépendra en particulier de la nature du milieu étudié, du nombre d'éléments à doser et de leurs concentrations, du nombre d'analyses à effectuer, de la rapidité exigée de l'analyse, de la précision imposée au dosage et enfin de l'appareillage dont on dispose ou dont on peut disposer. Les méthodes électrochimiques présentent de nombreux avantages comparés aux méthodes spectrométriques, l'équipement étant moins coûteux et les mesures pouvant être réalisées dans des milieux difficiles d'accès [13].

Le principe de base d'une mesure électrochimique repose sur le fait que certaines molécules ou ions peuvent échanger des électrons avec une électrode, ceci dans des conditions analytiques bien définies, en particulier par le potentiel auquel cet échange a lieu [14]. Parmi les méthodes électrochimiques les plus récentes, la polarographie à redissolution est une méthode électrochimique précise, sensible et sélective [15].

Cette technique occupe une place particulière car ses applications peuvent être extrêmement variées, aussi bien dans le domaine de l'analyse minérale que dans celui de l'analyse organique [16]. Son principe est habituellement basé sur l'accumulation de métaux par réduction électrochimique sur électrode de mercure, suivie de leur analyse qualitative et quantitative.

## Matériel et méthodes

### Appareillage

La mesure de la concentration totale du cadmium et du plomb dans le sang a été réalisée sur un stand MDE150. La cellule polarographique est composée d'une électrode de mercure à goutte pendante (HMDE), d'une électrode de référence (Ag/AgCl/KCl 3M) et d'une électrode auxiliaire

en platine. La formation des gouttes de mercure, et leur maintien au bout du capillaire, sont assurés par un système entièrement pneumatique. La solution est agitée à l'aide d'un agitateur magnétique. L'échantillon est purgé par de l'azote préalablement saturé en eau.

### Réactifs utilisés

La solution du cadmium et du plomb qui a servi aux analyses voltamétriques se prépare tous les jours par dilution de la solution 1 g/L (Pro Analysis Sigma-Aldrich). Les acides utilisés pour l'analyse sont l'acide nitrique (pureté supérieure à 69,5 %, Fluka), et l'acide perchlorique (70-72 %, Merck). Chaque dosage a été précédé d'un nettoyage poussé des électrodes et de la cellule électrolytique à l'acide nitrique 10 % et d'un rinçage par l'eau ultra-pure MilliQ Gradient A10 (résistivité 18,2 MΩ cm).

### Procédure de minéralisation du sang

Nous avons utilisé pour la minéralisation du sang, un ballon de 50 mL à fond plat et col long. À 1 mL de sang (prélevé à jeun) sont ajoutés dans le ballon, 3 mL d'acide nitrique et 1 mL d'acide perchlorique (3:1). La température est maintenue à 150 °C pendant 4 h. Cette température est ensuite fixée à 280 °C, jusqu'à évaporation quasi totale du contenu. Après refroidissement, nous ajoutons le même mélange d'acides au résidu, puis nous laissons évaporer jusqu'à obtention d'un résidu sec. Ce résidu est repris par 5 mL d'acide nitrique à 0,25 % [17, 18], et conservé dans des tubes en polyéthylène.

## Résultats et discussion

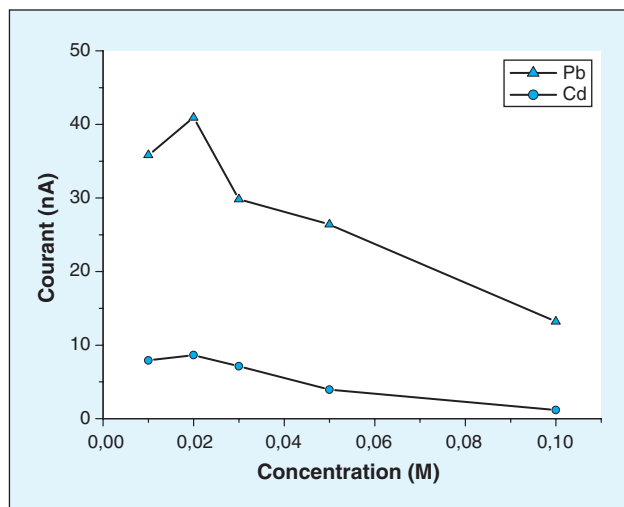
### Détermination des conditions optimales

#### Effet de l'électrolyte support

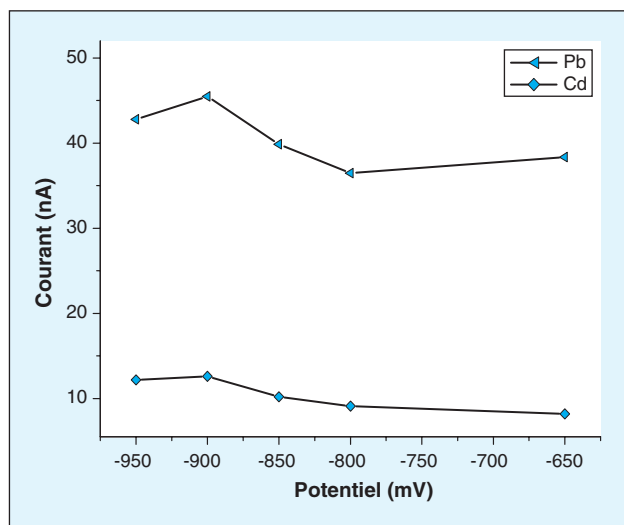
Le premier paramètre étudié est l'effet de la concentration de l'électrolyte support (l'acide perchlorique) sur la sensibilité de la méthode proposée. Les concentrations en électrolyte support testées sont : 0,01 M, 0,02 M, 0,03 M, 0,05 M à 0,1 M. Les résultats obtenus montrent que l'augmentation de la concentration de l'électrolyte support diminue la sensibilité et la résolution à 0,1 M (*figure 1*). Les intensités du pic du cadmium et du plomb atteignent des valeurs maximales quand la concentration de l'électrolyte support est de 0,02 M. Cette concentration a donc été choisie comme une concentration optimale par la suite.

#### Effet du potentiel d'accumulation

Le potentiel d'accumulation est un paramètre important pour les techniques d'analyse, et possède une influence non négligeable sur la sensibilité de la détermination des métaux lourds. L'effet du potentiel d'accumulation sur l'intensité



**Figure 1.** Effet de l'électrolyte support sur l'intensité du pic dans une solution contenant 0,85 µg/L de cadmium et 75 µg/L de plomb.



**Figure 2.** Influence du potentiel d'accumulation sur l'intensité du pic du cadmium et du plomb.

du pic, du plomb et du cadmium, a été examiné dans la gamme de potentiel qui varie entre - 950 mV et - 650 mV. Les résultats obtenus montrent une augmentation significative de l'intensité du pic quand le potentiel est balayé vers les potentiels les plus négatifs pour le plomb et le cadmium (figure 2). Le courant atteint le maximum pour ces deux éléments à - 900 mV. Ce potentiel a donc été choisi comme potentiel d'accumulation dans la suite du travail.

### Effet du temps d'accumulation

Le temps d'accumulation du plomb et du cadmium en milieu acide perchlorique dans la gamme étant compris entre 200 s et 360 s, nous avons procédé au tracé des polarogrammes correspondants par redissolution anodique. Les

résultats obtenus montrent une augmentation de l'intensité du pic en fonction du temps d'accumulation, ce qui indique une augmentation de la concentration des ions à la surface de l'électrode (figure 3). Ces ions s'accrochent, en effet, de plus en plus à la goutte de mercure pendant la phase de déposition jusqu'à un certain plateau. L'intensité du pic augmente considérablement avec le temps de dépôt et devient constante par la suite pour le cadmium à partir de 320 s. Pour minimiser le temps de dosage, nous avons donc considéré comme temps de dépôt optimum pour les prochaines analyses celui de 320 s.

### Validation et application

La linéarité est validée par l'établissement de la droite de régression sur la plage de concentrations allant de 1,53 à 164 ng/mL pour le plomb et 0,26 à 0,825 ng/mL pour le cadmium. Les coefficients de régression des deux éléments sont dans cette gamme de linéarité et sont supérieurs à 0,9999, avec une exactitude mesurée de 96,98 % pour le plomb et 96,19 % pour cadmium. Les valeurs certifiées du cadmium et du plomb sont de 0,74 et de 27,6 µg/L respectivement, avec une gamme de valeurs acceptables situées entre 0,68 et 0,80 µg/L pour le cadmium et entre 26,2 et 29,0 µg/L pour le plomb, Seronorm™ Trace Element Whole blood (level 1, MR4206). Le taux de récupération du cadmium et du plomb est calculé à partir du matériel de référence, il est de 96,78 % et 97,17 % respectivement. Les limites de détection obtenues par redissolution anodique sont égales à 0,46 et 0,08 ng/mL respectivement pour le plomb et le cadmium calculé à partir de 10 replica la solution à blanc. Les résultats obtenus pour le dosage de 33 échantillons des sujets sains sont présentés dans le tableau 1.

La figure 4 représente un polarogramme relatif au dosage du cadmium et du plomb dans le sang minéralisé à partir des conditions qui ont été optimisées précédemment. Les concentrations en cadmium et en plomb dans cet échantillon, calculées après soustraction de l'effet du blanc, sont égales à 0,851 µg/L pour le cadmium et 76,824 µg/L pour le plomb.

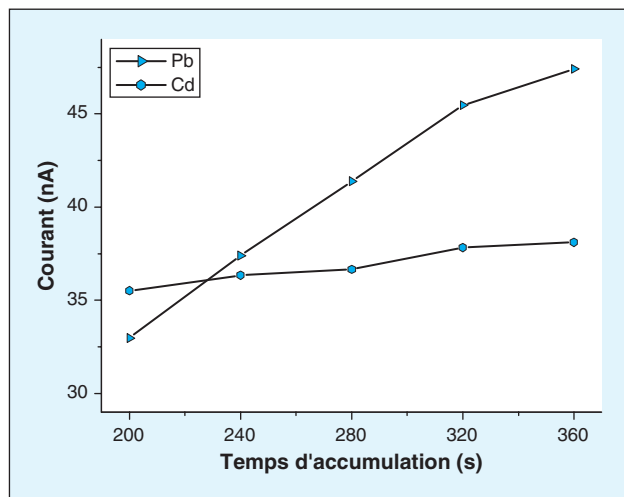
## Conclusion

Nos résultats expérimentaux ont également montré que la redissolution anodique à une électrode à goutte pendante de

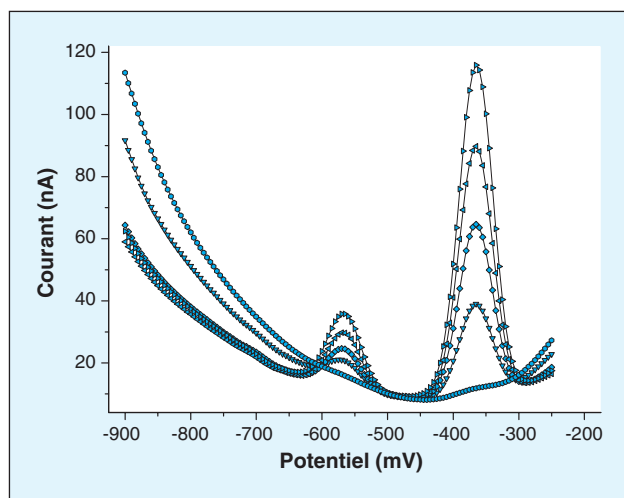
**Tableau 1.** Le dosage de 33 échantillons de sang total.

	Moyenne (µg/L)	Intervalles (µg/L)
Cadmium	0,720 ± 0,121	0,451-1,032
Plomb	86,981 ± 15,230	49,989-150,961

P < 0,01



**Figure 3.** Influence du temps d'accumulation sur l'intensité du pic du cadmium et du plomb.



**Figure 4.** Détermination du cadmium et du plomb dans le sang minéralisé.

mercure suivie par polarographie impulsionnelle différentielle est suffisamment sensible pour le dosage du cadmium et du plomb dans le sang. La voltamétrie à redissolution anodique présente également l'avantage d'être peu onéreuse comparée à d'autres méthodes d'analyses telles que l'ICP-MS ; elle est de surcroît précise et sélective, d'où l'intérêt de son utilisation pour la spéciation des éléments traces.

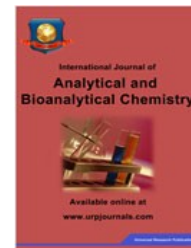
De plus, et en l'absence de données de référence concernant les normes des taux sanguins des éléments traces dans une population algérienne saine, ce travail constitue donc une première contribution à l'établissement d'une base de données spécifique à la ville de Tlemcen.

**Conflits d'intérêts :** aucun.

## Références

- Andujar P, Bensefa-Colas L, Descatha A. Intoxication aiguë et chronique au cadmium. *Rev Med Int* 2010 ; 31 : 107-15.
- Nordberg GF, Piscator M, Nordberg M. On the distribution of cadmium in blood. *Acta Pharmacol Toxicol* 1971 ; 30 : 289-95.
- Jie L, Yaping L, Sultan S. Metallothionein-null mice are highly susceptible to the hematotoxic and immunotoxic effects of chronic CdCl<sub>2</sub> exposure. *Toxicol Appl Pharmacol* 1999 ; 159 : 98-108.
- Bartolin R, Bouvenot G, Arnaud C, Turzanski JM, Gadroy P, Rey PA. Cadmium sanguin et zinc plasmatique chez l'hypertendu : à propos de 76 observations. *Rev Med Int* 1985 ; 6 : 280-4.
- Nordberg GF, Nordberg M. Different binding forms of cadmium-implications for distribution and toxicity. *J UOEH* 1987 ; 9 : 153-64.
- Järup L, Rogenfelt A, Elinder CG, Nogawa K, Kjellström T. Biological half-time of cadmium in the blood of workers after cessation of exposure. *Scand J Work Environ Health* 1983 ; 9 : 327-31.
- Kabata-Pendias A, Mukherjee A. *Trace elements from soil to human*. Berlin Heidelberg : Springer-Verlag, 2007.
- Garnier R. Toxicity of lead and lead compounds. *EMC-Toxicol Pathol* 2005 ; 2 : 67-88.
- Winneke G, Kramer U. Neurobehavioural aspects of lead neurotoxicity in children. *Cent Eur J Public Health* 1997 ; 5 : 65-9.
- Garnier R. Plomb, In : Bismuth C, Baud F, Conso F, Dally S, Fréjaville J, Garnier R, eds. *Toxicologie clinique*. Paris : Flammarion Médecine-Sciences, 2000 : 638-55.
- Fraser C, Klistorner A, Graham SL, Garrick R, Billson F, Grigg JR. Multifocales évoqués visuels d'analyse de latence potentielle : la progression de la sclérose en plaques à la prédiction. *Archiv Neurol* 2006 ; 63 : 847-50.
- Awad L, Huel G, Lazar P, Boudene C. Facteurs de variation inter-individuelle de la plombémie. *Rev Épidémiol Sante Publ* 1981 ; 29 : 113-24.
- Mary-Lou T, Buffle J, Graziottin F. A novel voltammetric in-situ profiling system for continuous real-time monitoring of trace elements in natural waters. *Electroanalysis* 1998 ; 10 : 355-63.
- Brossier P, Authier L, Dequaire M, Grossiord C, Vienney F. Les colloïdes d'or et leur détection électrochimique : intérêt en immunanalyse et en biologie moléculaire. *Immuno-Anal Biol Spec* 2004 ; 19 : 121-5.
- Brown RJC, Roberts MR, Brett DJL. Stripping voltammetry using sequential standard addition calibration with the analytes themselves acting as internal standards. *Analytica Chimica Acta* 2009 ; 635 : 1-5.
- Pércio AM, Aniy K, Ohara, Iracema A. Cathodic adsorptive stripping voltammetry of nickel complexed with hydroxynaphthol blue at a static mercury drop electrode. *Talanta* 1993 ; 40 : 1167-71.
- Borkowska Z, Denobriga RM, Fawcett WR. Double layer structure at the mercury/*N*-methylformamide interface. *J Electroanal Chem* 1981 ; 12 : 263-75.
- Bond AM, O'Donnell TA, Waugh B. Techniques and procedures for palaeography in anhydrous hydrogen fluoride : fabrication of a talent DME by electrical discharge. *J Electroanal Chem* 1972 ; 39 : 137-46.





ISSN-2231-5012

Original Article

## Determination of copper levels in whole blood of healthy subjects by anodic stripping voltammetry

Attar Tarik<sup>1\*</sup>, Harek Yahia<sup>1</sup>, Medjati Nouria<sup>2</sup>, Larabi Lahcen<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire d'Electrochimie et Chimie Analytique, Département de Chimie, Faculté des Sciences, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen 13000, Algeria

<sup>2</sup>Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie, Synthèse et Activité biologique, Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen 13000, Algeria

\*Corresponding author Email address: [att.tarik@gmail.com](mailto:att.tarik@gmail.com)

Received 24 April 2012; accepted 16 May 2012

### Abstract

An electroanalytical method has been developed for the determination of copper in whole blood by differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV) on a hanging mercury drop electrode (HMDE). The best conditions were found to be electrolyte support perchloric acid 0.03M, an accumulation potential of - 150 mV, and an accumulation time of 175 s. The optimum values of stirring rate and scan rate were determined to be 525 rpm and 5 mV/s. Calibration curve is linear in the range 5.40 to 1015 µg/L with a detection limit of 1.62 µg/L. The correlation coefficient and relative standard deviation were 0.9999 and 4.29%. Copper levels in whole blood samples of 48 healthy subjects living in Tlemcen (west Algeria), the mean concentration of blood copper in forty eight healthy persons was 971.137±238.685 µg/L. The developed method was validated by analysis of whole blood certified reference materials.

© 2011 Universal Research Publications. All rights reserved

**Keywords:** Stripping voltammetry; Blood; Copper

### 1. Introduction

Copper is an essential trace metal that is important to support biological functions for the human organism, forming part of many copper-dependent enzymes and proteins joined to copper [1]. Of these enzymes it is important to notice those involved in oxide-reduction processes [2,3], when overt Cu deficiency occurs, symptoms include neutropenia, cardiac disorders, osteoporosis, and anemia [4]. Exposure of the general population to this essential trace element is of minor importance, limited to normal dietary intake of copper naturally occurring in plants, meat, and in drinking water.

Differential pulse anodic stripping voltammetry (DPASV) has proved a powerful method for the characterization and quantitative detection of trace metals, analyte preconcentration onto a working electrode surface and metal deposition/stripping detection steps were involved during one electroanalytical circulation. Anodic stripping voltammetry (ASV) have important advantages including high sensitivity,

low detection limit, relative simplicity and low cost of equipment [5-7]. The application of voltammetric techniques in the determination of trace copper has been reviewed [8].

In this study, we determined the whole blood copper concentrations in a total of 48 healthy subjects in Tlemcen (west Algeria) by Differential pulse anodic stripping voltammetry. The accuracy and precision of the method was checked previously. The copper concentration was primarily determined in a standard reference material a certified content in copper in order to compare the present method with that established as a reference one.

### 2. Experimental

#### 2.1. Apparatus:

Anodic stripping voltammetry measurements were performed using a commercially available polarography system POL 150 potentiostat linked to a polarographic stand MDE 150 and monitored by the Trace master 5 software (Radiometer

Analytical S.A, France). The three electrode system consists of a working hanging mercury dropping electrode (HMDE) that was renewed prior to each measurement, a platinum auxiliary electrode and Ag/AgCl saturated with KCl as reference electrode.

## 2.2. Reagents:

All chemicals used were of analytical-reagent grade or the highest purity available. Aqueous solutions were prepared by dissolving a certain amount of chemicals into high-purity deionized (DI) water (MilliQ water system). Acids used for the analysis, the nitric acid (69.5%, Fluka) and the perchloric acid (70-72%, Merck). Stock solutions of copper (1000 ppm, atomic adsorption standard, Aldrich), were diluted daily as required.

## 2.3. Procedures:

### 2.3.1 Blood sample preparation.

The samples (1 mL) were then digested with nitric acid and perchloric acid (3:1). Digested samples were made up to 5 mL using 0.25% nitric acid. Special care was taken to avoid all contaminations [9].

### 2.3.1. Voltammetric Measurement:

0.5 ml of digested sample was transferred into the voltammetric cell containing 10 ml of perchloric acid. Prior to electrochemical measurements, the solutions were deoxygenated by purging them for 5 min with pure nitrogen. The concentration of copper in the samples was determined using standard addition method. Reagent blanks were taken along with each batch of samples and the metal concentration observed in these blank samples were subtracted from the corresponding batch of field samples.

## 3. Results and discussion

### 3.1. Optimization of the experimental parameters:

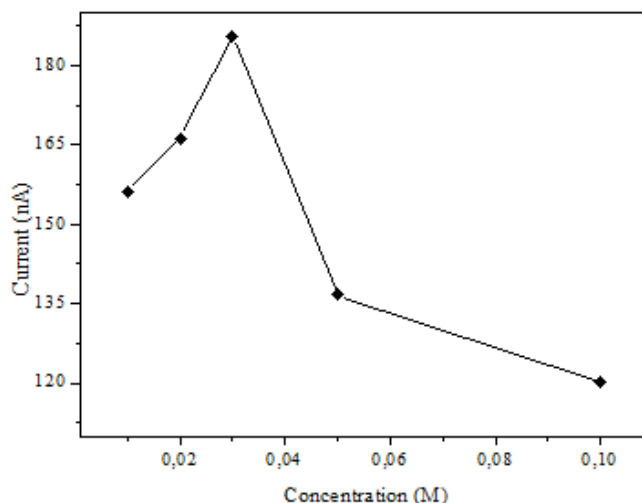
Although the DPASV is a very sensitive technique, the response obtained ( $i_p$ ) is notably influenced by variables such as time ( $t_{acc}$ ) and potential ( $E_{acc}$ ) of accumulation, concentration of the electrolyte support and stirring rate. Therefore, it is necessary to optimize those parameters which may have an influence on the measurement current in order to improve the quality of the analytical results.

#### 3.1.1. Effect of concentration of electrolyte support:

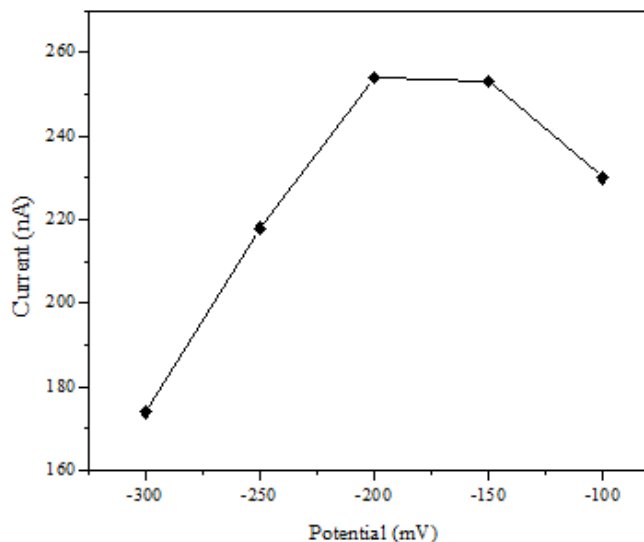
In a first step, the effect of concentration supporting electrolyte was investigated. Shows the influence of the concentration  $HClO_4$  (Fig. 1). The current of the peak depend on the concentration of electrolyte support. The peak current with concentration in the range from 0.01 to 0.1M. A decrease in the current is observed when the concentration electrolyte support is higher than 0.03M. Thus, the optimum concentration for further studies was fixed in 0.03M.

#### 3.1.2. Effect of accumulation potential:

Accumulation potential is an important parameter for stripping techniques that influences the sensitivity of the determination. The effect of the deposition potential on the stripping signals of copper ion was studied in the potential



**Fig. 1** Effect of electrolyte support. Accumulation at - 150 mV, 525 rpm, pulse amplitude 50mV, pulse repetition time 1 s, scan rate 5 mV/s.

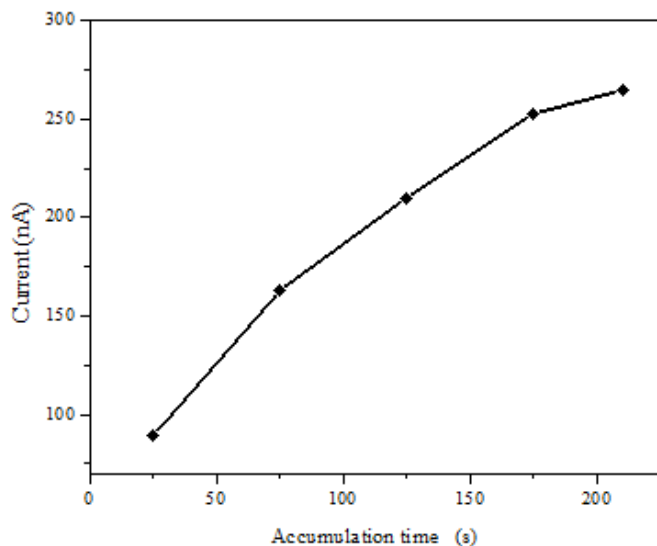


**Fig. 2** Effect of accumulation potential on the peak current, conditions same as in Fig. 1.

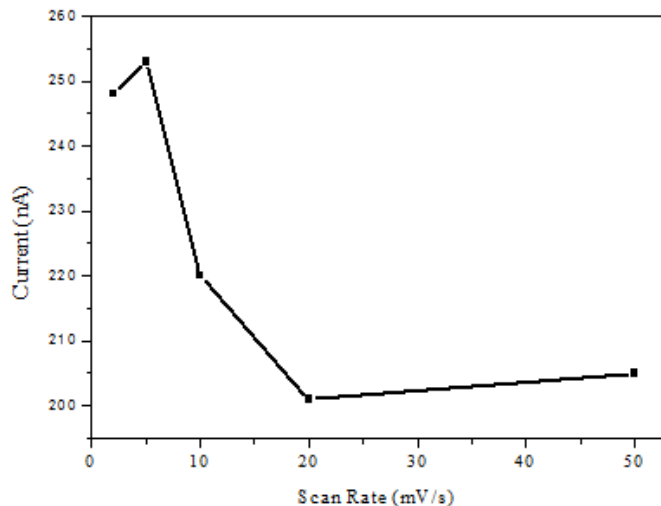
range from - 300 to - 100 mV, and the results are shown in (Fig. 2). It was observed that the current of the Cu peak increases as the potential changes from - 300 to - 100 mV and then slowly decreases. So - 150 mV was used to achieve high sensitivity and better response.

#### 3.1.3. Effect of accumulation time ( $t_{acc}$ ):

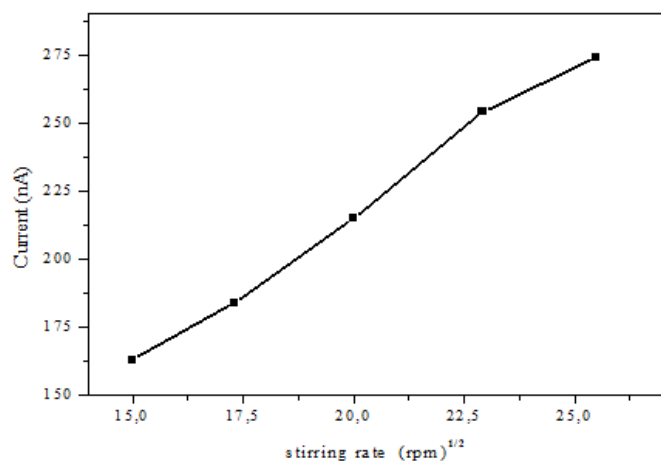
The accumulation time is always important factor in stripping voltammetric analysis because of its prevailing influence on sensitivity and detection limit of the method. When the accumulation time shifts from 25 s to 210 s, the stripping peak currents increase greatly (Fig. 3). However, further increase of accumulation time does not cause the obvious enhancing of the stripping peak currents, which is probably due to the saturation loading of the electrode surface, so the



**Fig. 3** Influence of the accumulation time on the voltammetric response, conditions same as in Fig. 1.



**Fig. 4** Effect of scan rate on the peak current, conditions same as in Fig. 1.



**Fig. 5** Effect of stirring rate on the peak current, conditions same as in Fig. 1.

prolonged accumulation time does not cause more metal ions to be reduced on the electrode surface. Thus, the accumulation time of 175 s was chosen for all subsequent analysis.

#### 3.1.4. Effect of Scan Rate:

The influence of scan rate on the peak current was examined. The scan rate was varied from 2 to 50 mV/s. Shows the influence of the scan rate (Fig. 4). The peak current has increased with an increase in the scan rate to 5 mV/s; after that, the peak current has decreased. Therefore, 5 mV/s could be selected for further studies.

#### 3.1.5. Effect of stirring rate:

Stirring with the TraceLab instrument is performed with a motorized propeller and controlled by the software. Stirring intensity is one of the important parameters that affect the accumulation efficiency. Agitation of the sample solution facilitated the mass transfer process. In present work, the samples were agitated at various stirring rates (225, 300, 400, 525, and 650 rpm). The result showed that the current intensity efficiency was first improved with increased agitation rate before 525 rpm and then remained nearly constant after that (Fig. 5). Hence, a stirring rate of 525 rpm was chosen for further studies.

#### 3.2. Calibration data:

Illustrates the percentage recovery, standard deviation, accuracy and precision (Table 1). It is observed that the precision for two levels is 4.29 and 6.59%. This is strong evidence that this method is precise and reproducible. Furthermore, the percentage recovery of the copper determination was tested by measurement of a standard reference material, and by comparison of results obtained by ASV with those obtained by inductively coupled plasma sector field mass spectrometer (ICP-SFMS) for the same set of samples, two levels seronorm were used as the standard whole blood certified reference materials with the recommended concentration of copper are ranging between 96.65 to 98.72% which is an indication that this method is accurate for copper is ranging between 96.69 to 105.45.

A linear response over the concentration range of 5.4 to 1015  $\mu\text{g/L}$  copper was observed under optimum conditions, with correlation coefficient of 0.9999. The detection limit for copper was found to be 1.96  $\mu\text{g/L}$  estimated from 10 replicate determination of blank solution.

#### 3.3. Application to blood samples:

Blood copper levels in female subjects ranged from 399.168 to 1541.099  $\mu\text{g/L}$  with a mean value of  $990.225 \pm 262.876$   $\mu\text{g/L}$  (Table 2). Copper concentrations determined in male subjects ranged between 498.586 and 1374.078  $\mu\text{g/L}$  and presented a mean concentration of  $952.049 \pm 215.757$   $\mu\text{g/L}$ . No significant differences were observed  $P < 0.005$  in blood copper concentrations among women and men after applying to them the Student's t-test.

This higher efficiency in the copper absorption in women can be due, in part, to the female hormones which have an

**Table: 1** Accuracy, precision and Recovery of the method against a standard reference material

Material	Mean±SD (µg/l)		Acceptable range <sup>1</sup> (µg/L)	Accuracy	Precision	Recovery
	Certified	Measured				
Seronorm (level 1,MR4206)	564±5.4	545.3±6.2	531-597	96.69	4.29	96.65
Seronorm (level 3,O512627)	1740±151	1834±159	1438-2042	105.45	6.59	98.72

<sup>1</sup>) SERO's assessment

**Table: 2** gives the results of means copper concentrations, S.D.s, range, and 95% confidence intervals for the mean present at blood samples of healthy individuals grouped according to sex.

Sex	n	Mean ± SD (µg/L)	95% Confidence	Range (µg/L)
Women	24	990.225 ± 262.876	879.223 - 1101.229	399.168 - 1541.099
Men	24	952.049 ± 215.757	860.943 - 1043.155	498.586 - 1374.078
All	48	971.137 ± 238.685	901.831 - 1040.443	399.168 - 1541.099

influence on the copper metabolism [10].

**Table: 3** Reported copper levels in whole blood

Country	Subject	Overall mean (µg/L)	References
Spanish	82	1070	[11]
Italy	215	1036	[12]
Germany	130	1020	[13]
Sweden	372	950	[14]
Brazil	253	920	[15]
China	120 (all Women)	1081	[16]
This study	48	971	-

The present study has revealed that blood copper level in the western Algerian population is relatively low compared to some world populations. (Table 3) summarizes the whole blood selenium levels from different countries.

#### 4. Conclusion

It is concluded that the DPASV based method described is sensitive, accurate and precise, and can be applied to a wide range of copper concentrations Further, It represents an important analytical alternative for the clinical chemistry laboratory.

#### Reference

- [1] J.R. Turnlund, Copper. In Modern Nutrition in Health and Disease, Lea and Febigen, Philadelphia, Pa, USA, 8th edition, pp. 231-241, 1994.
- [2] M.A. Johnson and J.G. Fischer, Is copper an antioxidant nutrient? Rev, Food Science and Nutrition, 32(1992) 1–31.
- [3] R.A. Jacob and D.B. Milne, Biochemical assessment of vitamins and trace metals, Clinics in Laboratory Medicine, 13(1993) 371–385.
- [4] D.M Williams, Copper deficiency in humans, Seminars in Hematology, 20(1983) 118–128, 1983.
- [5] J.F. Van Staden, M.C. Matoetoe, Simultaneous determination of copper, lead, cadmium and zinc using differential pulse anodic stripping voltammetry in a flow system, Analytica Chimica Acta, 411(2000) 201–207.
- [6] G. Hanrahan, D.G. Patila and J. Wang, Electrochemical sensors for environmental monitoring: design, development

and applications, Journal of Environmental Monitoring, 6(2004) 657–664.

- [7] E. Bakker and M. Telting-Diaz. Electrochemical sensors, Analytical Chemistry, 74 (2002) 2781–2800.
- [8] E.P. Gill, R.M. Garcia, A.S. Misiego, Determination of copper in human plasma by stripping potentiometry on a mercury film electrode in ethylenediamine medium, Analytica Chimica Acta, 315(1995) 69–76.
- [9] R.K. Mahajan, T.P.S. Walia, Sumanjit, T.S. Lobana, The versatility of salicylaldehyde thiosemicarbazone in the determination of copper in blood using adsorptive stripping voltammetry, Talanta, 67 (2005) 755–759.
- [10] N.W. Solomons, On the assessment of zinc and copper nutriture in man, American Journal of Clinical Nutrition, 32(1979) 856–871.
- [11] M.A. Moreno, C. Marin, F. Vinagre, P. Ostapczuk, Trace element levels in whole blood samples from residents of the city Badajoz, Spain, Science of The Total Environment, 229(1999) 209–215.
- [12] B. Bocca, R. Madeddu, Y. Asara, P. Tolu, J.A. Marchal, G. Forte, Assessment of reference ranges for blood Cu, Mn, Se and Zn in a selected Italian population, Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 25 (2011) 19–26.
- [13] P. Heitland, H.D. Koster, Biomonitoring of 37 trace elements in blood samples from inhabitants of northern Germany by ICP-MS, Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 20(2006) 253–262.
- [14] E. Bárány, I.A. Bergdahl, L.E. Bratteby, T. Lundh, A.G.

Samuelson, B.A. Schutz, Trace element levels in whole blood and serum from Swedish adolescents, *Science of The Total Environment*, 286(2002) 129–141.

[15] J.L. Rodrigues, B.L. Batista, M. Fillion, C.J.S. Passos, D. Mergler, F.J. Barbosa, “Trace element levels in whole blood of riparian villagers of the Brazilian Amazon, *Science*

of The Total Environment, 407(2009) 4186–4173.

[16] J. Liu, H. Yang, H. Shi, C. Shen, W. Zhou, Q. Dai, Y. Jiang, Blood Copper, Zinc, Calcium, and Magnesium Levels During Different Duration of Pregnancy in Chinese, *Biological Trace Element Research*, 135(2010) 31–37.

Source of support: Nil; Conflict of interest: None declared



## Scholars Research Library

Der Pharma Chemica, 2011, 3 (6):400-405  
(<http://derpharmachemica.com/archive.html>)



ISSN 0975-413X  
CODEN (USA): PCHHAX

### Determination of optimal conditions for the dosage of selenium in whole human blood by differential pulse cathodic stripping voltammetry

Tarik. ATTAR<sup>1\*</sup>, Yahia. HAREK<sup>1</sup>, Nouria. Denouni-Medjati<sup>2</sup>, Lahcen. LARABI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Chemistry, Faculty of Sciences, University Aboubekr Belkaïd Tlemcen, Algeria

<sup>2</sup>Department of Biology, Faculty of Natural and Life Sciences and Sciences of Earth and the Universe, Abu Bakr Belkaid University, Tlemcen 13000, Algeria

#### ABSTRACT

*The objective is the determination of the conditions operating optimal to determine the concentration of the selenium dissolved in the human blood. An electroanalytical method has been developed for the determination of selenium in whole blood by differential pulse cathodic stripping voltammetry (DPASV) on a hanging mercury drop electrode (HMDE). The best conditions were found to be electrolyte support 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$  of copper in HCl 0.3M, the accumulation potential is -325 mV and the accumulation time is 300 s. The optimum value of stirring rate was determined to be 400 rpm. Calibration curve is linear in the range  $9.75 \cdot 10^{-3}$  to  $3.25 \mu\text{g L}^{-1}$  with a detection limit of  $29 \mu\text{g L}^{-1}$ . The correlation coefficient and relative standard deviation were 0.9999 and 1.62%. The developed method was validated by the analysis of reference materials certified by total blood.*

**Key words:** Selenium, whole blood, Differential pulse cathodic stripping voltammetry.

#### INTRODUCTION

The analysis of trace and ultra-trace elements is continuously stimulating the progress in analytical chemistry. Environmental chemistry, radiochemistry, biology, health, agri-food are prescriptors of trace analyses, with continuously increasing exigencies: lowering detection limits, lowering costs and analysis time [1]. Selenium is a trace element associated with the activity of the antioxidant enzyme glutathione peroxidase. It is considered to be a protective agent against free radicals through enhanced enzyme activity [2]. Keshan disease is a dilated cardiomyopathy closely related with a diet deficient in the mineral selenium. It is named for the northeastern Chinese county Keshan, where the disease prevalence is high because of selenium-deficient soil [3]. Selenium deficiency results in microangiopathy, muscular dystrophy, edema, hemorrhage and necrosis of the liver, impaired immune response, impaired reproduction and sudden death [4,5]. Furthermore, selenium status decreases with old age [6]. Therefore, marginal or deficient selenium status may be a risk factor for a decline of cognitive functions. Selenium and cognition changes could also both reflect the ageing process [7]. Selenium toxicity can also develop chronically with signs of weight loss, hair loss and hoof damage with resulting lameness [8]. If

selenium deficiency is suspected, it is prudent to undertake testing to confirm the diagnosis rather than leaping straight to supplementation as unwarranted selenium supplementation could have dire consequences.

The electrochemical methods have many advantages compared with the spectrometric methods, the equipment being less expensive and measurements being able to be realized in difficult mediums of access [9]. These methods occupy a particular place because its applications can be extremely varied, as well in the field of the mineral analysis as in that of the organic analysis [10]. Its principle is usually based on the accumulation of metals per electrochemical reduction on electrode of mercury, followed by their qualitative and quantitative analysis. Among the electrochemical methods most recent, the stripping voltammetry is a precise, significant and selective method electrochemical [11].

In this work we will study the influence of the principal experimental parameters on the current of stripping, namely the potential of accumulation, the time of deposit and the stirring rate of the solution. The effects of scan rate, drop size, duration pulse and equilibrium time on the voltammetric response were examined in developing a suitable analytical procedure for the determination of selenium. The chosen working conditions were: drop size of 1, scan rate of 20  $\text{mV s}^{-1}$ , duration pulse 20 ms and equilibrium time of 5 sec. The objective is the determination of the optimal operating conditions for each one as of these parameters in order to determine the concentration of the selenium dissolved in whole blood.

## MATERIALS AND METHODS

### 2. 1. Equipment

The measurement of the total concentration of selenium in blood was carried out on a stand MDE150. It is made up by Polarographic Analyzer POL150; the unit is controlled by a microcomputer, using the software Trace Master degree 5. The Polarographic cell is made up of a mercury electrode with hanging drop (HMDE), of an electrode of reference (Ag/AgCl/KCl 3M) and of an auxiliary platinum electrode. The solution is agitated using a magnetic stirrer, the cell of electrolysis to double wall, allows the temperature control by the circulation of the fluid. The sample is purged by the argon saturated beforehand with water. Equipment is installed under a hood to minimize the contaminations.

### 2. 2. Reagents

The selenium solution which was used for the voltametric analyses prepares every day by dilution of the solution 1g/L (Pro Analysis Sigma-Aldrich). Acids used for the analysis, the nitric acid (high purity than 69.5%, Fluka), the perchloric acid (70-72%, Merck) and hydrochloric acid (37%, Merck). Each proportioning was preceded by a thorough cleaning of the electrodes and electrolytic cell with the nitric acid 10% and by a rinsing by ultrapure water (MilliQ Gradient A10).

### 2. 3. Sample digestion

A 1.0 ml of whole blood in a long-necked 50 ml flask, 4.0 ml of acid mixture (3 ml  $\text{HNO}_3$  and 1 ml  $\text{HClO}_4$ ) was added in flask. The temperature is maintained with  $150^\circ\text{C}$  during 4 hours and then the temperature is fixed at  $200^\circ\text{C}$  until quasi total evaporation of the contents. After cooling, we add the same mixture of acids to the residue, then we let evaporate until obtaining a dry residue. Digestion was completed when the solution was clear. Finally 1 mL of HCl was added in the residue until obtaining a dry residue. This residue is taken again by 5 ml of nitric acid with 0.25% and preserved in polyethylene tubes [12,13]. In this case, the mixtures of strong acids

used allow, in combination with high temperatures, to destroy the organic matter and to transform it into by-products of gas reaction, which are then eliminated under the hood. It is in fact necessary, to reduce the contaminations, to use quantities as weak as possible reagents. The hydrochloric acid addition plays a very important part for selenium (reduction of selenite a selenate) [14,15]. This method of digestion was selected among so many others because it gave the best results.

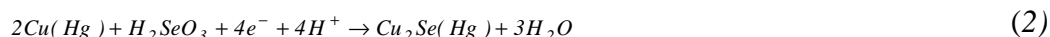
## RESULTS AND DISCUSSION

### 3.1. Effect of operational parameters

Taking into account that the differential pulse voltammetry technique was used to develop the method for quantitative determination of selenium, and in order to choose the optimum conditions, some analytical and instrumental parameters were studied.

### 3.2. Effect of the electrolyte support

The surface of the mercury electrode with hanging drop is put in contact with a solution containing of copper (II) and of the selenium because from an electrochemical point of view, selenium alone cannot deposit directly on the mercury electrode. For watch the effect of copper on the electrolyte support we proceeded, by means of the method of the proportioned additions, with the layout of polarograms (Fig. 1) of 2 groups of solutions containing or not copper (groups A and S respectively). The results obtained proved the effect of copper on the linearity of the answers obtained. In the cathodic stripping, it there thus not interferences between copper and selenium, copper make it possible moreover to increase the sensitivity of the peak of selenium like obtaining a better linearity. The Copper concentration was fixed, thereafter, with  $200\mu\text{g mL}^{-1}$  (in acid HCl 0.3M); this optimal value indeed gave us best reproducibility and a good linearity. In this preconcentration step, elemental copper as soon as deposited onto the mercury surface is chemically oxidized by selenite to yield copper (II) selenide, according to the reaction pathway (1,2). Subsequently, by applying a differential pulse voltammetric scan towards negative potentials a cathodic peak is detected at -620 mV for the reduction of copper (II) 'reaction (3)'. Copper is necessary to form copper selenite which is the base of selenium determination. The reactions can be written as [16]:



### 3.3. Effect of the potential of accumulation

Accumulation potential is an important parameter for stripping techniques that influences the sensitivity of the determination. The effect of varying deposition potential on the peak height for selenium is shown in (Fig. 2). The effect of the deposition potential on the stripping signals was studied in the potential range from -300 to -400 mV versus reference electrode. The peak current was found to increase with decreasing deposition potential up to -325 mV. The peak currents decreased in more negative potentials thereafter. Thus, a deposition potential of -325 mV was chosen.

### 3.4. Effect of the time of accumulation

The deposition time is always important factor in stripping voltammetric analysis because of its prevailing influence on sensitivity and detection limit of the method. A pre-electrolysis was studied between 120 and 360 seconds (Fig. 3). The height of the peak increases considerably



with the time of deposit and decreases from 300 S, we thus regarded as optimum time of deposit for the next analyses that of 300 S.

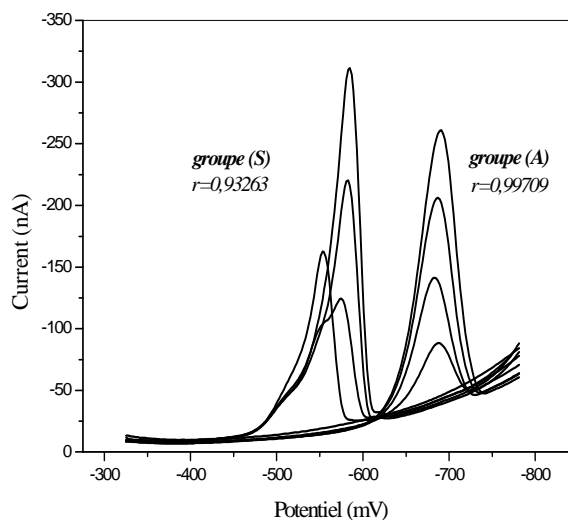


Fig. 1. Effect of copper in support electrolyte.  $E_{acc} = -325$  mV,  $u = 400$  rpm,  $t_{acc} = 300$  s.

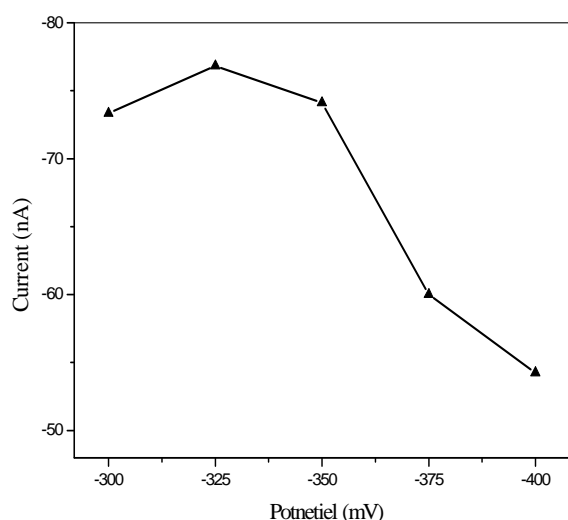


Fig. 2. Effect of deposition potential on peak current.  $u = 400$  rpm,  $t_{acc} = 300$  s.

### 3. 5. Effect of stirring rate

Stirring intensity is one of the important parameters that affect the accumulation efficiency. Agitation of the sample solution facilitated the mass transfer process. In present work, the samples were agitated at various stirring rates (150, 225, 300, 400, and 525 rpm). The result showed that the current intensity efficiency was first improved with increased agitation rate before 400 rpm and then decreases starting after this agitation rate (Fig. 4). Hence, a stirring rate of 400 rpm was chosen for further studies.

### 3. 6. Calibration data and Analytical application

A linear response over the concentration range of  $9.75 \cdot 10^{-3}$  to  $3.25 \mu\text{g L}^{-1}$  selenium was observed under optimum conditions, with correlation coefficient of 0.9999. The relative standard deviation is 1.69%. The certified value of selenium is of  $79.8 \mu\text{g L}^{-1}$ , with a range of acceptable values located between  $74.4$  and  $85.2 \mu\text{g L}^{-1}$ , Seronorm <sup>TM</sup> Trace Element Whole blood (level 1,

MR4206). The percentage recovery of the selenium determination was tested by measurement of a standard reference material is of 97.17%, with a measured exactitude is of 98.01% (n=06). As an application the figure below represents a voltammograms relating to the proportioning of selenium in the blood demineralized starting from the conditions which were optimized previously (Fig. 5). The selenium concentration of this sample is equal  $70.125 \mu\text{g L}^{-1}$ .

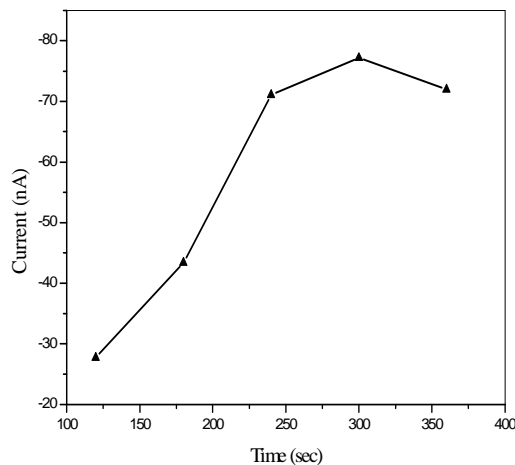


Fig. 3. Effect of deposition time on peak current.  $E_{acc} = -325 \text{ mV}$ ,  $u = 400 \text{ rpm}$ .

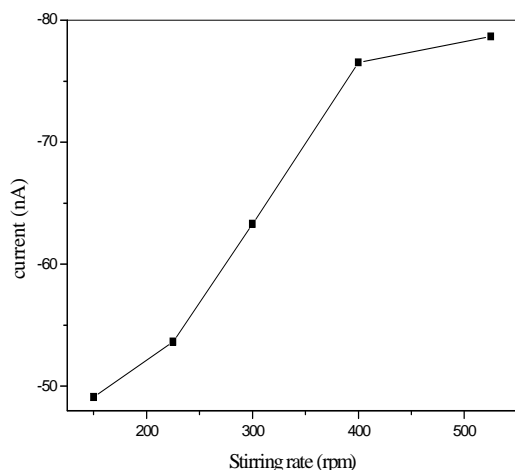


Fig. 4. Effect of stirring rate on peak current.  $E_{acc} = -325 \text{ mV}$ ,  $t_{acc} = 300$

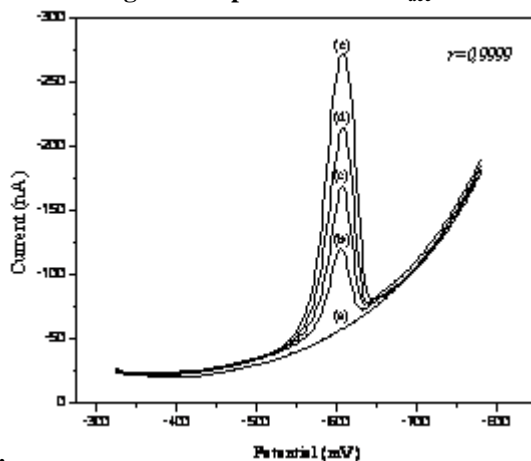


Fig. 5. Determination Effect of selenium in whole blood. (a): solution electrolyte support, (b):(a)+ demineralised blood, (c):(b)+(X= $0.20 \mu\text{g L}^{-1}$ ), (d):(c)+X, (e):(d)+X.

## CONCLUSION

The experimental results and those obtained by the analytical calculation of validation, enable us to conclude that the cathodic stripping in mode pulsed on electrode with hanging mercury drop has the advantage of being fast, reproducible, specific and does not ask a special installation for the proportioning of selenium. Indeed, the limit of detection obtained is better than that reported in the literature in same the conditions [17]. The DPCSV also has the advantage of being not very expensive compared with other methods of analysis such as the ICP-MS; it is in addition precise and selective. From where interest of its use for speciation of the elements traces.

## REFERENCES

- [1] P. Toulhoat, *Oil & Gas Science and Technology*. **2005**, 60, 967-977.
- [2] F. Tessier, P. Marconnet, *Science & Sports*. **1995**, 10, 1-13.
- [3] MD. Li. Guangsheng, MD. Fan-Wang, MD. Deren-Kang, MD. Cai Li, *Humain pathology*. **1985**, 16, 602-609.
- [4] A. Lescure, M. Deniziak, M. Rederstroff, A. Krol, *Chem Biodivers*. **2008**, 5, 408-413.
- [5] A. L. Trapp, K. K. Keahey, D. L. Whitenack and C. K. Whitehair, *Med. Assoc*. **1970**, 157, 289-300.
- [6] L. Savarino, D. Granchi, G. Ciapetti, E. Cenni, G. Ravaglia, P. Forti, F. Maioli and R. Mattioli. *Exp Gerontol*. **2001**, 36, 327-339.
- [7] C. Berr, B. Balansard, J. Arnaud, AM. Roussel, A. Alperovitch. *J Am Geriatr Soc*. **2000**, 48, 1285-1291.
- [8] LJ. Sioris, K. Cuthrie, PR. Pentel, *Veterinary and human toxicology*. **1980**, 22, 364-369.
- [9] Mary-Lou. Tercier, J. Buffle, F. Graziottin, *Electroanalysis*. **1998**, 10, 355-363.
- [10] A. M. Pércio, K. O. Aniy, T. Iracema, *Talanta*. **1993**, 40, 1167-1171.
- [11]. R. J. C. Brown, M. R. Roberts, D. J. L. Brett, *Anal. Chim Acta*. **2009**, 635, 1-5.
- [12] R. K. Mahajan, S. Walia, P. Tejinder, K. Sumanjit Sumanjit, *Online Journal of Health and Allied Sciences*. **2005**, 4, 1-8.
- [13] R. Inam and G. Somer. *Talanta*. **1998**, 46, 1347-1355.
- [14] M. G. Ventura, S. Vekoslava, Carmo-Freitas. Maria, and A. M. G. Pacheco, *Food Chemistry*. **2009**, 115, 200-206.
- [15] R. Toniolo, F. Tubaro, S. Bin, A. Pizzariello, S. Susmel, N. Dossi, and G. Bontempelli, *Talanta*. **2009**, 78, 753-758.
- [16] R. Piech, W. Kubiak, W. *Electrochimica Acta*. **2007**, 53, 584-589.
- [17] M. A. Moreno, C. Marin, F. Vinagre and P. Ostapczuk, *Sci. Total Environ*. **1999**, 229, 209-215.

# Whole Blood Selenium Levels in Healthy Adults from the West of Algeria

Nouria Dennouni-Medjati · Yahia Harek · Attar Tarik · Larabi Lahcene

Received: 21 October 2011 / Accepted: 22 November 2011 / Published online: 6 December 2011  
© Springer Science+Business Media, LLC 2011

**Abstract** The purpose of this study was to assess whole blood selenium levels of 300 healthy adults living in four selected areas of the west of Algeria. Selenium was measured using differential pulse cathodic stripping voltammetry with a detection limit of 29.20  $\mu\text{g/L}$ . The mean of whole blood selenium concentrations was  $85.65 \pm 21.60 \mu\text{g/L}$  ranging between 30.90 and 144.04  $\mu\text{g/L}$ . This concentration did not vary significantly ( $P > 0.05$ ) in relation to the gender of the subject, with concentrations of  $87.75 \pm 21.30 \mu\text{g/L}$  in men and  $83.95 \pm 21.60 \mu\text{g/L}$  in women group. Individuals older than 60 years had a whole blood selenium concentration significantly lower than the rest of the population. However, the measured selenium concentrations in the residential areas were not statistically different ( $P > 0.05$ ). A total of 32 (10.70%) individuals exhibited whole blood selenium level below 60  $\mu\text{g/L}$ . These results are similar to

those of some European countries but are much lower than data observed in USA or seleniferous regions.

**Keywords** Selenium (Se) · Whole blood · Healthy Algerian · DPCSV

## Introduction

Selenium (Se) is an essential micronutrient to human health [1–3]. The interest concerning this element has increased considerably since the discovery of its nutritional essentiality by Schwartz and Foltz in 1957 [4]. The biological actions of selenium are mediated by several selenium-dependent enzymes, the best known of which are glutathione peroxidase [5], thioredoxin reductase [6], and the iodothyronine 5'-monodeiodinase [7].

Selenium is unevenly distributed on the Earth's crust with low-selenium regions predominating [8]. Geographic differences in the content and availability of selenium from soils to food crops and animal products have a marked effect on the selenium status of entire communities [9]. For example, the dietary selenium intakes of adults vary from 3 to 11  $\mu\text{g/day}$  in Keshan disease area to 1,338  $\mu\text{g/day}$  in naturally high-selenium region of China [10–12].

Some epidemiological studies suggest low selenium levels might predispose an individual to an increased incidence of cardiovascular disorders, certain types of cancer, and cretinism in populations from areas with low environmental availability of selenium [13–17]. Deliberate importation of cereals from areas with relatively high available selenium in soil has occurred or been recommended in some low-selenium areas of former USSR, Finland, New Zealand, and the UK after steady declines in the selenium status of some communities were noted [9, 18].

---

N. Dennouni-Medjati  
Laboratoire Antibiotiques, Antifongiques, Physico-chimie,  
Synthèse et Activité biologique, Département de Biologie,  
Université Abou Bekr Belkaid,  
Tlemcen 13000, Algeria

Y. Harek (✉)  
Laboratoire d'Electrochimie et Chimie Analytique,  
Département de Chimie, Faculté des Sciences,  
Université Abou Bekr Belkaid,  
Tlemcen 13000, Algeria  
e-mail: y\_harek63@yahoo.fr

Y. Harek  
e-mail: y\_harek@mail.univ-tlemcen.dz

A. Tarik · L. Lahcene  
Laboratoire d'Electrochimie et Chimie Analytique,  
Département de Chimie, Faculté des Sciences,  
Université Abou Bekr Belkaid,  
Tlemcen 13000, Algeria

**Table 1** Accuracy and precision of the assay

Reference material	Certified mean± SD (µg/L)	Observed mean± SD (µg/L)	Accuracy (%)	Precision (%) R.S.D
Seronorm <sup>TM</sup> Trace Element Whole blood (level 1, MR4206)	79.8±5.4	81.3±6.2	98.12	7.62
Seronorm <sup>TM</sup> Trace Element Whole blood (level 3, O512627)	146±10	142.1±10.2	97.33	7.17

R.S.D. Relative standard deviation, SD standard deviation

In Algeria, no data are available in the literature regarding the selenium status in general population. Thus, the present study is designed to evaluate whole blood selenium levels in apparently healthy individuals from Tlemcen department, west of Algeria. The influence of several factors such as age, gender, residential area is also considered.

## Material and Methods

### Study Area

The department of Tlemcen is situated in the northwest of Algeria. It is characterized by four big natural groups which are distinct and can be identified as follows: the littoral group, the sublittoral plain, the mountainous group, and the high steppe plains. The studied regions were Tlemcen city (mounts), Seb dou city (mounts), the littoral region of Honaine, and sublittoral plain of Maghnia.

A total of 300 healthy adults who are between 20 and 72 years of age, from the four regions agreed to participate at the study. Age and gender distributions were similar to the entire population, except for those over 60 years, who were underrepresented. They had to answer to a standardized questionnaire. All the subjects were disease-free and did not take any medication. The ethic committee at the University of Tlemcen approved the study, and all participants gave their informed consent.

### Blood Samples

The collection of blood samples was performed from March to June 2009. The samples were collected after overnight fasting from the antecubital veins into Monovettes (Sarstedt, S-Monovette) containing heparin as an anticoagulant.

### Digestion

The procedure consisted in placing 0.5 mL of whole blood in a long-necked 50-ml flask together with 2 mL HNO<sub>3</sub>/HClO<sub>4</sub> mixture (3:1 v/v). The temperature of this mixture was slowly increased to 150°C for 4 h in a hot plate, and then the temperature was maintained at 180°C until the evaporation of half of the acids. After cooling the flasks at room

temperature, 2 mL from the same acid mixture was added and re-evaporated until ~0.5 mL was left. After cooling, 0.5 mL of conc. HCl was added and heated at 150° to reduce the Se (VI) to Se (IV) and evaporated to nearly dryness. After cooling, the digested blood samples were made up to 5 mL using 0.25% nitric acid.

Special care was taken to avoid all contaminations. All the chemicals used were of suprapur quality.

### Selenium Determination

Se analysis was performed using differential pulse cathodic stripping voltammetry with a POL150 potentiostat linked to a polarographic stand MDE 150 and monitored by the Tracemaster-5 software (Radiometer Analytical, Copenhagen). The electrochemical cell, deposition potential, and deposition time were described by Moreno et al. [19]. Digestion solution (0.5 mL) was added and the sample curve was recorded. The concentration in the solution was evaluated after two standard additions.

### Accuracy and Precision

The accuracy and precision of the method used were tested in 10 replicate tests with a reference material (Seronorm Trace Elements Whole Blood, levels 1 and 3, Billingstad, Norway) (Table 1) and studies of recovery in samples of whole blood enriched with selenium. All samples and standards were analyzed by duplicates.

### Statistical Analysis

Statistics were calculated with the SPSS statistics version 17 Windows. The Kolmogorov–Smirnov's test was applied to

**Table 2** Characteristics of the study population

Region	Women participants	Men participants	Total	Mean of age (years)
Tlemcen	75	65	140	38.86±14.2
Maghnia	37	32	69	41.35±15.3
Seb dou	29	22	51	40.59±13.6
Honaine	24	16	40	40.52±14.7

**Table 3** Whole blood selenium concentrations ( $\mu\text{g/L}$ ) according to age groups

Group (years)	Number (n)	Selenium concentrations	
		Mean $\pm$ SD	Range
20–29	89	89.15 $\pm$ 21.4*	32.28–144.04
30–39	67	91.04 $\pm$ 24.0*	45.85–143.22
40–49	56	84.90 $\pm$ 20.3	41.42–131.04
50–59	51	80.40 $\pm$ 19.4	30.88–110.10
>60	37	75.84 $\pm$ 17.0*	42.43–105.10
Mean males	135	87.75 $\pm$ 21.3	30.88–143.22
Mean females	165	83.95 $\pm$ 21.6	32.28–144.04

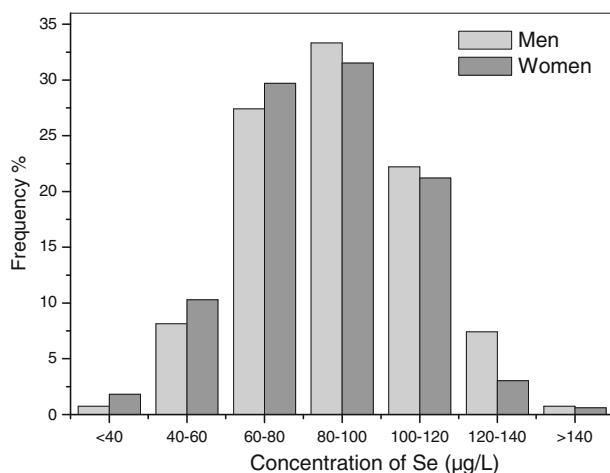
\* $P < 0.05$  statistically significant differences of the subgroups comparison (Dunnett test)

check if the variables have a normal distribution. The mean values obtained in the different groups were compared by one-way ANOVA and  $t$  test. The Dunnett post hoc test was applied to compare the individual subgroups. Statistical significance was set on  $P < 0.05$ .

## Results

The characteristics of the population groups are shown in Table 2. About 55% of the studied populations were women and 45% were men; all of them were no smokers. The average age of the monitored population groups was 39.94  $\pm$  14.40 years.

The mean of the individual selenium levels in the studied population was 85.65 $\pm$ 21.60  $\mu\text{g/L}$ . The range for all samples was 30.88–144.04  $\mu\text{g/L}$ . Table 3 summarizes the measured selenium concentrations of the healthy adults according to age. The Se content tended to be somewhat

**Fig. 1** Distribution of Se concentrations in whole blood for both groups of men and women**Table 4** Se levels ( $\mu\text{g/L}$ ) in whole blood of the studied individuals living at different locations

Area*	Mean $\pm$ SD	Range
Tlemcen	86.09 $\pm$ 20.3	30.88–131.04
Maghnia	86.99 $\pm$ 22.0	41.42–144.04
Sebdou	79.78 $\pm$ 23.1	32.28–135.91
Honaine	89.31 $\pm$ 22.1	39.48–132.23

\* $P > 0.05$

lower in females than in males but at a statistically non-significant level ( $P > 0.05$ ).

The age group of 30–39 years had the highest mean whole blood selenium concentration; however, the age group of 60 years and more had the lowest mean selenium concentration at a significant difference ( $P < 0.05$ ).

The distribution frequency of whole blood selenium concentration according to gender is illustrated in Fig. 1. Most of the analyzed samples (61%=183 adults) ranged from 60 to 100  $\mu\text{g/L}$ . Thirty-two (10.70%) individuals had a blood selenium concentration lower than 60  $\mu\text{g/L}$ . Eighty-two (27.40%) individuals had blood Se level 100  $\mu\text{g/L}$  or higher.

Average whole blood Se concentrations in the western Algerian population in different parts of the department of Tlemcen were found to vary between 79.78 and 89.31  $\mu\text{g/L}$  (Table 4). The lowest mean value of Se was observed for the population living at Sebdou while the highest was observed for the Honaine population.

## Discussion

Selenium status is most often expressed as the concentration of serum (plasma) and reflects recent dietary intake [20]. In our study, selenium concentration is determined in whole blood because it represents a longer term indicator of selenium status.

**Table 5** Reported Se levels in whole blood

Country	Overall mean ( $\mu\text{g/L}$ )	References
Spain(Badajoz)	116.0	[19]
Czech Republic	84.2	[20]
Austria (Vienna)	85.9	[21]
USA	157.0	[22]
Canada	180.0	[23]
Greece	165.0	[24]
Nigeria	119.0	[25]
India	165.0	[26]
India (Mumbai)	99.6	[27]

The present study has revealed that blood selenium level in the western Algerian population is relatively low compared to some world populations. Table 5 summarizes the whole blood selenium levels from different countries.

Whole blood Se mean of the study population is similar to those of some European countries especially Czech Republic [20] and Austria [21] but inferior to those of some populations from seleniferous regions such as USA [22] or Canada [23] as well as healthy Greek [24], Spanish subjects [19], Nigerian [25], and Indian [26, 27] populations. However, it is substantially higher than other data observed in people from seleno-deficient areas such as New Zealand [28] or from some regions of China [29]. Nevertheless, these values remain in the range of 20–240 µg/L in whole blood observed by Iyengar [30] in different regions of the world.

The limits Se concentrations of 45 µg/L in serum and 60 µg/L in whole blood are used as the cutoff values for the detection of a population group at risk from selenium deficiency [20, 31]. A total of 10.70% of our population has a blood selenium concentration lower than 60 µg/L. This result was similar to that obtained by Batárióvá et al. [20] which indicates that approximately 10% of the healthy Czech adults had blood level below 60 µg/L.

The selenium content of whole blood of Tlemcenian males does not differ significantly ( $P>0.05$ ) from that of females. Neither gender differences were also observed in the blood of Austrian [21], Spanish [19], and Greek populations [24]. While Kafai and Ganji [32] have observed that selenium concentrations were significantly lower in women than in men. Clark et al. [33] suggest that the discrepancies reported in different populations may reflect gender differences in dietary habits and in muscle mass. Selenium shows a normal distribution in human tissues such as the heart, liver, and blood [34], thus, the whole blood selenium of children and elderly is significantly lower than that of adults. Elderly Algerians of >60 years had significantly lower blood selenium than Algerians 20–40 years old. These results agree with those from Austria [21], but in this case, the lower blood Se is encountered earlier (>50 years) in life. In Greece, the lower blood selenium was observed in the age group >70 years and could partially be explained by the deficient nutrition and low selenium intake of this group of people [24].

The blood Se concentrations were not significantly different between the four studied regions. Thus, there is no apparent influence of the geochemical soil in selenium status of healthy individuals of this department. It is worthwhile to note that, for Algerian population, the most of the dietary selenium intake comes from cereals and, to a less extent, from fish. The origin of cereals in Algeria is varied and they are brought from different countries. Cereals are consumed essentially in bread and couscous (couscous is the

traditional dish of Maghreb populations, made with flour and semolina).

In conclusion, the results of our study indicate that the selenium content of healthy western Algerian population tended to be somewhat lower than a lot of world populations, but we did not observe any symptoms or signs in our population that could be allotted to selenium deficiency. This study will be further extended for monitoring of selenium dietary intake, plasma selenium level, and the glutathione peroxidase activity in healthy adults of this department and another western region of Algeria.

**Acknowledgments** This work was supported by the University of Abou Bekr Belkaid of Tlemcen. The authors would like to thank all those who have graciously agreed to participate in the study and Dr. M. Zerga who enabled blood samples to be held under optimum conditions.

## References

1. Navarro-Alarcon M, Lopez-Martinez MC (2000) Essentiality of selenium in the human body: relationship with different diseases. *Sci Total Environ* 249:347–371
2. Rayman MP (2000) The importance of selenium to human health. *Lancet* 356:233–241
3. Schrauzer GN (2000) Anticarcinogenic effects of selenium. *Cell Mol Life Sci* 57:1864–1873
4. Schwarz K, Foltz CM (1957) Selenium as an integral part of factor 3 against necrotic dietary liver degeneration. *J Am Chem Soc* 79:3292–3293
5. Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE et al (1973) Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science* 179:588–590
6. Gladyshev VN, Jeang KT, Stadman TC (1996) Selenocysteine, identified as the penultimate C-terminal residue in human T-cell thioredoxin reductase, corresponds to TGA in the human placental gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:6146–6151
7. Behne D, Kyriakopoulos A, Meinhold H et al (1990) Identification of type I iodothyronine 5'-monodeiodinase as a selenoenzyme. *Biochem Biophys Res Commun* 173:1143–1149
8. Schrauzer GN, Surai PF (2009) Selenium in human and animal nutrition: resolved and unresolved issues. A partly historical treatise in commemoration of the fiftieth anniversary of the discovery of the biological essentiality of selenium, dedicated to the memory of Klaus Schwartz (1914–1978) on the occasion of the thirtieth anniversary of his death. *Crit Rev Biotechnol* 29:2–9
9. FAO/WHO Report (2001) Human vitamin and mineral requirements. Chapter 15: Selenium. FAO Rome, Food and Nutrition Division. 235–256.
10. Yang G, Wang S, Zhou R, Sun S (1983) Endemic selenium intoxication of humans in China. *Am J Clin Nutr* 37:872–881
11. Luo XM, Yang CL, Wei HJ et al. (1984) Selenium intake and metabolic balance in 10 men consuming self-selected diets in a selenium-deficient area of Hebei Province. PR China. *FASEB* 43: Abstract 1097.
12. Parr RM, Crawley H, Aldulla M et al. (1992) Human dietary intakes of trace elements: A global literature survey mainly for the period 1970–1991. I Data listings and sources of information. NAHRES 12, Vienna, International Atomic Energy Agency.

13. Lockitch GP, Taylor LTK, Wong AGF et al (1990) Cardiomyopathy associated with nonendemic selenium deficiency in a Caucasian adolescent. *Am J Clin Nutr* 52:572–577
14. Salonen JT, Salonen R, Lappeteläinen R et al (1985) Risk of cancer in relation to serum concentrations of selenium and vitamins A and E: matched case–control analysis of prospective data. *Br Med J* 290:417–420
15. Schrauzer GN, White DA, Schneider CJ (1977) Cancer mortality correlation studies-III: statistical associations with dietary selenium intakes. *Bioinorg Chem* 7:23–34
16. Nomura A, Heilbrun LK, Morris JS, Stermmmermann GN (1987) Serum selenium and the risk of cancer by specific sites: case–control analysis of prospective data. *J Natl Cancer Inst* 79:103–107
17. Vanderpas JB, Contempéré NL, Duale W et al (1990) Iodine and selenium deficiency associated with cretinism in northern Zaire. *Am J Clin Nutr* 52:1087–1093
18. Aro A, Kumpalainen J, Alfthan G et al (1994) Factors affecting the selenium intake of people in Tranbaikalian Russia. *Biol Trace Elem Res* 40:277–285
19. Moreno MA, Marin C, Vinagre F, Ostapezuk P (1999) Trace element levels in whole blood samples from residents of the city Badajoz, Spain. *Sci Total Environ* 229:209–215
20. Batáriová A, Černá M, Spěváčková V et al (2005) Whole blood selenium content in healthy adults in the Czech Republic. *Sci Total Environ* 338:183–188
21. Gundacker C, Komarnicki G, Zödl B et al (2006) Whole blood mercury and selenium concentrations in a selected Austria population: does gender matter? *Sci Total Environ* 372:76–86
22. World Health Organization (1987) Selenium: Environmental Health Criteria. Geneva 58:1–24 & 67–90
23. Thompson JN, Erdody P, Smith DC (1975) Selenium content of food consumed by Canadians. *J Nutr* 105:274–277
24. Bratakos MS, Kanaki HC, Vasiliou-Waite A et al (1990) The nutritional selenium status of healthy Greeks. *Sci Total Environ* 91:161–176
25. Gbadbo AM, Babalola OO, Ajigbotesho FL (2010) Selenium concentration in food and blood of residents of Abeokuta Metropolis, Southwestern Nigeria. *J Geochem Explor* 107:175–179
26. Jasvinder KG, Pramod L (1999) Blood selenium levels in healthy Indian subjects and patients with rheumatoid arthritis. *Clin Biochem* 8:665–666
27. Raghunath R, Tripathi RM, Mahapatra S, Sadasivan S (2002) Selenium levels in biological matrices in adult population of Mumbai, India. *Sci Total Environ* 285:21–27
28. Thompson C, Robinson M, Butler J et al (1993) Long-term supplementation with selenate and selenomethionine: selenium and glutathione peroxidase in blood components of New Zealand residents. *Br J Nutr* 69:577–588
29. Chen X, Jang G, Chen J et al (1980) Studies on the relationship of selenium and Keshan disease. *Biol Trace Elem Res* 2:91–107
30. Iyengar GV (1987) Reference values for the concentrations of As, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, I, Hg, Mn, Mo, Ni, Pb, Se and Zn in selected human tissue and body fluids. *Biol Trace Elem Res* 12:263–295
31. Willet WC, Morris JS, Pressel S et al (1983) Prediagnostic serum selenium and risk of cancer. *Lancet* 2:130–134
32. Kafai MR, Ganji V (2003) Sex, age, geographical location, smoking, and alcohol consumption influence serum selenium concentrations in the USA: third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994. *J Trace Elem Med Biol* 17:13–18
33. Clark NA, Teschke K, Rideout K, Copes R (2007) Trace element levels in adults from the west coast of Canada and associations with age, gender, diet, activities, and levels of other trace elements. *Chemosphere* 70:155–164
34. Howe H (1979) Selenium in the blood of South Dakotans. *Arch Environ Health* 34:444–448



### الخلاصة:

العناصر ذات المقدار الضئيل هي عناصر غير عضوية، وجود فائض أو نقص في هذه العناصر تسبب اضطرابات بيولوجية هامة يمكن التنبؤ بها سريريا. إن العديد من الأساليب الفيزيوكيميائية المتاحة للمحلل، فإن الطريقة الكهروكيميائية تحتل مكاناً خاصاً في أساليب التحليل. تم تطوير أسلوب فولتامترية إعادة الانحلال فهي حساسة ويمكن الاعتماد عليها لتحديد الزنك، الكاديوم، الرصاص، النحاس و السيلينيوم في دم الإنسان. يعتمد أسلوب تحديد عنصر النحاس على تراكم من المجمع هذا النحاس مع يغاندس بقطب قطره الزئبق المثبتة ومن ثم حملة سلبية. لتحقيق حساسية عالية، تم التحقيق في مختلف المتغيرات التجريبية مثل الالكترولايت الداعمة ودرجة الحموضة وتراكم الوقت والإمكانات، تفحص معدل، مطال النبض، معدل التحريك و القطب الكهربائي العامل. هذه الطرق تتميز بحساسية جيدة بالنسبة لتحليل هذا العنصر. إن النتائج المتحصل عليها في هذه الدراسة تعتبر هي الأفضل مقارنة مع تلك التي استعملت

**مفتاح الكلمات:** الأقطاب المعدلة ؛ فولتامترية إعادة الانحلال ذات نبض التفاضلية ؛ العناصر ذات المقدار الضئيل؛ التحقق من صحة التحليلية ؛ الدم.

### Abstract :

Essential trace elements are inorganic substances : insufficient or excess intakes cause predictable biological and clinical alterations. Many physicochemical methods available to the analyst, the electrochemical method occupies a special place in the methods of analysis. A sensitive and reliable stripping voltammetric method was developed to determine the rate of zinc, cadmium, lead, selenium and copper in human blood. The determination of copper is based on the adsorptive accumulation of the complex of this copper with ligand at a hanging mercury drop electrode and then a negative sweep was initiated. To achieve high sensitivity, various experimental and instrumental variables were investigated such as supporting electrolyte, pH, accumulation time and potential, scan rate and stirring, working electrode. The detection limits obtained are, indeed better compared to those reported in the literature.

**Key words:** Electrodes modified ; Differential pulse stripping voltammetry ; Trace elements ; Analytical Validation ; Blood.

### Résumé :

Les éléments traces sont des éléments inorganiques dont l'excès ou le déficit causent de manière prévisible des perturbations biologiques cliniquement significatives. Parmi les nombreuses méthodes physico-chimiques à la disposition de l'analyste, la méthode électrochimique occupe une place particulière dans les méthodes d'analyse. La voltampérométrie par redissolution est une méthode sensible et fiable, elle a été développée pour déterminer le taux du zinc, cadmium, plomb, sélénium et cuivre dans le sang humain.

La détermination du cuivre repose sur l'accumulation d'adsorption du complexe du cuivre avec le ligand à un accrochage électrode de goutte de mercure et suivi d'un balayage négatif. Pour obtenir une haute sensibilité, diverses variables expérimentales et instrumentales telles que l'électrolyte, le pH, le temps d'accumulation, le potentiel, la vitesse de balayage, l'agitation et l'électrode de travail ont été testées. Les limites de détections obtenus sont, en effet, meilleures par rapport à celles rapportées dans la littérature.

**Mots clés:** Electrodes modifiées ; Voltampérométrie de redissolution à impulsion différentielles ; Eléments traces ; Validation analytique ; Sang.