REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID - TLEMCEN

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE CHIMIE

LABORATOIRE DE CHIMIE ANALYTIQUE ET D'ELECTROCHIMIE

MEMOIRE

Pour l'obtention du diplôme de

MASTER EN CHIMIE

Option

CHIMIE PHYSIQUE ET ANALYTIQUE

Théme :

Détermination polarographique de la vitamine C dans quelques jus de fruits commercialisés en Algérie

Présenté par : Boudjemaa Faris

Soutenu le : 21/06/2017

Devant le jury composé de :

Président :

M. DAHMANI Benamar	**Professeur**	**U.A.B.B-Tlemcen**

Examinateur :

M. HAREK Yahia	**Professeur**	**U.A.B.B-Tlemcen**

Encadreur :

M. LARABI Lahcène	**Professeur**	**U.A.B.B-Tlemcen**

Année Universitaire 2016/2017

Remerciement

Ce travail à été réalisé au sein du laboratoire de chimie analytique et d'électrochimie de l'Université Abou Bekr BELKAID. Il a été dirigé par Monsieur le Professeur L.LARABI de l'université de Tlemcen. Je le remercie pour m'avoir fait l'honneur de diriger ce travail et pour son dynamisme pour la recherche scientifique. Il a été pour moi une source de motivation. Je le remercie pour tous le savoir qui m'a transmit, pour ses conseils et ses commentaires qui ont enrichis mon travail expérimental et ma rédaction. Qu'elle Soit assurée de ma profonde gratitude.

J'adresse également ma profonde reconnaissance à Monsieur Y. HAREK, Professeur à l'UABT, qui a largement contribué au bon déroulement de cette étude en m'apportant toute l'aide dont j'avais besoi. Je le remercie vivement pour les discussions et les suggestions enrichissantes, sa disponibilité, son aide et ses précieux conseils, son écoute mais aussi pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes remerciements les plus sincères s'adressent à Monsieur le professeur B. DAHMANI de l'Université de Tlemcen, pour l'intérêt qu'il porte à ce travail et pour nous avoir honoré de présider le jury de cette mémoire.

Il m'est particulièrement agréable de remercier mes camarades aussi Monsieur Imade, Mademoiselle Djamila, et Madame Imane.
Un grand merci à tous mes proches et amis, merci pour votre soutien et vos encouragements.
J'adresse enfin mes remerciements à toutes les personnes qui ont contribué à l'aboutissement de ce mémoire, Merci à toutes et à tous.

B.Fares

TABLE DE MATIERES

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

LISTE DES PRINCIPAUX SIGLES ET ABREVIATIONS UTILISES

INTRODUCTION GENERALE…… (1)

CHAPITRE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. les médicaments en général…… (3)

I.1.1. Histoire du médicament…… (3)

I.1.2. Définition …… (3)

I.1.3. Composition…… (3)

a. principe actif…… (3)

b. Excipient…… (3)

I.1.4. Le devenir du principe actif dans l'organisme…… (4)

a. Pharmacocinétique…… (4)

b. Activité thérapeutique…… (4)

I.2. les vitamines…… (4)

I.2.1. Métabolisme et fonctions physiologiques des vitamines…… (4)

I.2.2. Vitamine C…… (4)

a. La perspective historique…… (4)

b. La chimie de L-acide-ascorbique…… (5)

c. Les sources de la vitamine C…… (5)

d. Rôle de la vitamine…… (6)

e. Catabolisme d'acide ascorbique…… (6)

I.3. Généralités sur les méthodes de dosage des médicaments…… (6)

I.3.1. Méthodes colorimétriques…… (7)

I.3.2. La chromatographie…… (7)

I.3.3. Les méthodes électrochimiques…… (8)

a. Ampérométrie…… (8)

b. Conductométrie…… (8)

c. Potentiométrie…… (8)

d. Polarographie…… (8)

I.4. Description des méthodes polarographiques…… (9)

I.4.1. Polarographie classique…… (9)

a. Principe…… (9)

b. Domaines d'électroactivité de l'électrode de mercure…… (9)

c. Le dispositif expérimental…… (9)

c-1. Les électrodes…… (10)

c-2. Electrolytes supports…… (11)

d. Caractéristiques de la polarographie à courant continu …… (11)

d.1. Equation de la courbe polarographique I=f(E) …… (12)

d.2. Courant de diffusion …… (13)

d.3. Courant résiduel…… (14)

e. Facteurs influençant les potentiels de demi-vague E½…… (14)

e.1. Influence de l'oxygène dissous…… (14)

e.2. Maximums polarographiques…… (15)

f. Performances de la méthode…… (15)

f.1. Sensibilité…… (15)

f.2. Pouvoir de séparation-sélectivité…… (16)

g. Exemples d'application…… (16)

I.4.2. Polarographie impusionnelle …… (16)

a. Introduction…… (16)

b. Principe…… (16)

c. Allure du polarogramme…… (17)

c. 1. en PIN…… (17)

c. 2. en PID…… (18)

d.Caractéristiques de la polarographie impusionnelle…… (19)

e. Exemples d'applications…… (19)

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE II : LES CONDITIONS EXPERIMENTALES

II.1. Appareillage…… (20)

II.2. Préparation des solutions…… (21)

II.2.1. Préparation de la Solution d'acétate tampon 0,01 M…… (21)

II.2.2. Préparation de la solution standard d'acide ascorbique 1g/L …… (22)

II.3. Conditions polarographiques…… (22)

II.4. Validation analytique de la méthode PID…… (23)

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Les jus commercialisés locaux…… (25)

III.1.1. Ngaous…… (25)

III.1.2. Ramy…… (27)

III.1.3. Rouiba…… (28)

III.2. Les jus importés…… (29)

III.2.1. Joker…… (29)

III.2.2. Rauch…… (31)

III.2.3.Paquito…… (32)

III.3. Etude statistique…… (33)

III.4. Détermination des conditions optimales pour le dosage de

l'acide ascorbique…… (39)

a. Effet de la vitesse de balayage…… (39)

b. Effet de l'amplitude…… (39)

c. Effet de l'électrolyte support…… (40)

CONCLUSION GENERALE…… (42)

REFERENCES

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Catabolisme d'acide ascorbique ..... (06)

Figure 2 : Schéma conventionnel d'une cellule polarographique avec une électrode à goutte demercure[29]..... (10)

Figure 3 : Schéma de principe d'un polarographe..... (11)

Figure 4 : Allure générale d'un polarogramme..... (23)

Figure 5 : Courant de diffusion ..... (13)

Figure 6 : Sans et avec les substances tensioactives..... (15)

Figure 7 : Forme du signal en potentiel en polarographie impusionnelle PIN et PID [26]..... (17)

Figure 8 : Allure de PIN ..... (17)

Figure 9 : Voltampérométrie différentielle à impulsions surimposées [46]..... (18)

Figure 10 : Allure des voltampérogrammes différentiels à impulsions constants surimposées selon la cinétique de transfert de charge du systéme étudié [47]..... (18)

Figure 11 : Systéme de mesure polarographique..... (20)

Figure 12 : Balance analytique..... (20)

Figure 13 : Station de production d'eau ultra pure..... (21)

Figure 14 : Courbe E=f(t) de (PID)..... (22)

Figure 15 : Polarogrammes de la solution standard..... (23)

Figure 16 : Courbe d'étalonnage..... (24)

Figure 17 : Polarogrammes du jus Ngaous..... (25)

Figure 18 : Courbe de dosage relative au jus Ngaous..... (26)

Figure 19 : polarogrammes du jus Ramy..... (27)

Figure 20 : Courbe de dosage relative au jus Ramy ..... (27)

Figure 21 : Polarogrammes du jus Rouiba..... (28)

Figure 22 : Courbe de dosage relative au jus Rouiba..... (29)

Figure 23 : Polarogrammes du jus Joker (29)

Figure 24 : Courbe de dosage relative au jus Joker..... (30)

Figure25 : Polarogrammes du jus Rauch..... (31)

Figure 26 : Courbe de dosage relative au jus Rauch..... (31)

Figure 27 : Polarogrammes du jus Paquito..... (32)

Figure 28 : Courbe de dosage relative au jus Paquito..... (33)

Figure 29 : Effet de la vitesse de balayage sur l'intensité du pic..... (39)

Figure 30 : Effet de l'amplitude sur l'intensité du pic…… (40)

Figure 31 : Effet de La concentration de l'électrolyte support sur l'intensité du pic dans une solution standard d'acide ascorbique 1g/L…… (40)

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Des aliments riches en vitamine C et leur teneur en (mg)…… (5)

Tableau 2 : Conditions polarographiques…… (22)

Tableau 3 : Les calculs de La concentration incrémentée…… (23)

Tableau 4 : Valeurs de I_{pic} pour différentes concentrations de l'acide ascorbique…… (24)

Tableau 5 : Evolution de I_{pic} en fonction de la concentration de l'addition en acide ascorbique…… (25)

Tableau 6 : Effet de la répétabilité (jus Ngaous)…… (26)

Tableau 7 : Evolution de I_{pic} en fonction de la concentration de l'addition en acide ascorbique…… (27)

Tableau 8 : Effet de la répétabilité…… (28)

Tableau 9 : Evolution de I_{pic} en fonction de la concentration de l'addition en acide ascorbique…… (28)

Tableau 10 : Effet de la répétabilité…… (29)

Tableau 11 : Evolution de I_{pic} en fonction de la concentration de l'addition en acide ascorbique…… (30)

Tableau 12 : Effet de la répétabilité…… (30)

Tableau 13 : Evolution de I_{pic} en fonction de la concentration de l'addition en acide ascorbique…… (31)

Tableau 14 : Effet de la répétabilité…… (32)

Tableau 15 : Evolution de I_{pic} en fonction de la concentration de l'addition en acide ascorbique…… (32)

Tableau 16 : Effet de la répétabilité…… (33)

Tableau 17 : Résultats des calculs de la vitamine C dans le jus Ngaous…… (34)

Tableau 18 : des valeurs de $t\alpha$ pour les diverses grandeurs du degré de certitude α et du nombre de dosage n…… (35)

Tableau 19 : Résultats des calculs de la vitamine C dans le jus Ramy…… (35)

Tableau 20 : Résultats des calculs de la vitamine C dans le jus Rouiba…… (36)

Tableau 21 : Résultats des calculs de la vitamine C dans le jus Joker…… (36)

Tableau 22 : Résultats des calculs de la vitamine C dans le jus Rauch……. (37)

Tableau 23 : Résultats des calculs de la vitamine C dans le jus Paquito……. (37)

Tableau 24 : Les concentrations de la vitamine C dans les jus locaux et importés……. (38)

LISTE DES PRINCIPAUX SIGLES ET ABREVIATIONS UTILISES

Notations :

A L'aire de la goutte

C Concentration des espèces eléctroactives

C_i Capacité par unité de surface de la double couche

C_{ox}, C_{red} Concentrations des espèces Ox et Red

D Coefficient de diffusion

$E°$ Potentiel standard apparent du couple redox

$E_{1/2}$ Potentiel de demi-vague polarographique

$E_{réf}$ Electrode de référence

E_{ind} Potentiel indicatrice

E_i Potentiel initial

E_z Potentiel pour le quel la charge de l'électrode est nulle (maximum électrocapilaire)

F Constante de faraday

i Courant

i_c Courant de capacitif

i_D Courant de diffusion

i_f Courant faradique

i_r Courant résiduel

$I_{L\,ox}$ Courant limite d'oxydation

$I_{L\,red}$ Courant limite de réduction

m Débit du mercure dans le capillaire

n Nombre d'électrons impliqués dans la réaction électrochimique

R Constante des gaz parfaits

t Temps

v Vitesse de balayage dans le sens anodique ($v > 0$) ou cathodique ($v < 0$)

$W_{1/2}$ Largeur du pic à mi-hauteur

τ Durée de vie de la goutte

ΔE_{imp} Amplitude d'impulsion

Δt_{imp} Temps d'impulsion

Abréviations :

CPG Chromatographie en phase gazeuse

CPL Chromatographie en phase Liquide

CLHP Chromatographie liquide haute pression

EGM Electrode à goutte de mercure

LD Limite de détection

LQ Limite de quantification

PID Polarographie impusionnelle différentielle

PIN Polarographie impusionnelle Normale

SMDE Electrode à goutte de mercure tombante statique

INTRODUCTION GENERALE

L'analyse du médicament se décompose en une succession d'étapes que l'on doit parfaitement maîtriser pour assurer la qualité du résultat final. Cette maîtrise passe par une vigilance permanente et la mise en place de points de contrôle pertinents notamment en matière de métrologie [1].

il faut distinguer l'analyse d'une matière première ou d'un produit fini pour en contrôler la pureté ou la teneur, de l'analyse d'une molécule médicamenteuse réalisée dans le cadre d'études pharmacocinétique ou toxicologique, ce qui implique des dosages dans des liquides biologiques (sérum, plasma, urine) et qui nécessite une étape supplémentaire d'extraction à partir de la matrice biologique

Le processus analytique peut se décomposer en cinq étapes :

• prélèvement, échantillonnage, stockage et conservation d'un échantillon représentatif d'un lot ;
• préparation ou prétraitement de l'échantillon (dilution, extraction) ;
• analyse proprement dite avec calibration, étalonnage ;
• acquisition des données, quantification ;
• interprétation et présentation des résultats

De la maîtrise de chacune de ces étapes, dépendra la qualité du résultat final [1].

Pour atteindre la qualité recherchée, l'analyste doit s'impliquer dès le début du processus en faisant le choix des paramètres à analyser et du niveau de précision et d'exactitude à obtenir pour donner une réponse correcte. C'est pourquoi la métrologie, étroitement liée au système d'assurance qualité doit intégrer tous les aspects du problème afin d'obtenir le meilleur résultat possible [1].

Parmi les méthodes d'analyses utilisées dans ce domaine, les méthodes électrochimiques occupent une position centrale. En effet ces méthodes présentent de nombreux avantages comparées aux méthodes spectrométriques étant moins couteux et les mesures pouvant être réalisées dans des milieux difficiles d'accès (directement sur site) [2].

La méthode électrochimique la plus utilisée est sans conteste la polarographie qui est une méthode rapide, sensible et sélective.

L'objectif de cette méthode ou de ce type d'analyse est d'obtenir un courant proportionnel à la concentration de l'analyte à étudier. On observe donc le transfert d'électrons durant une réaction d'oxydoréduction à la surface de la goutte de mercure [3].

Le présent travail s'inscrit dans ce cadre. Nous nous proposons de doser une vitamine, en l'occurrence la vitamine C (acide ascorbique) dans les jus commercialisés en Algérie

Le manuscrit est composé de trois chapitres.

Le premier chapitre est consacré à une étude bibliographie sur les médicaments en général et la vitamine C en particulier, sur les méthodes de dosage des médicaments, et sur quelques notions de la polarographie.

Le deuxième chapitre décrit les conditions expérimentales ainsi que le dispositif utilisé pour le dosage de la vitamine C, et la validation de la méthode.

Le troisième chapitre est consacré à la présentation des résultats obtenus lors de cette étude et à la discussion de ces résultats moyennant les calculs statistiques de validation analytique.

Une conclusion générale résume l'ensemble de cette étude

CHAPITRE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Les médicaments en général

I.1.Histoire du médicament

La découverte de nouveaux médicaments est longtemps limitée à l'observation empirique des effets produits par certaines substances naturelles sur le cours des maladies. C'est Paracelse au XVI^{e} siècle qui prônera la nécessité d'un médicament spécifique pour chaque maladie. Avec la découbles verte du nouveau monde, les explorateurs rapporteront des grands principes actifs comme le quinquina, l'ipéca, le coca, le café etc. Grâce aux progrès de la chimie et de la physiologie le XIXe siècle marque une étape nouvelle avec l'isolement des principes actifs : de l'opium, on isole la morphine puis la codéine [4].

Exemples :

1803 *La Morphine* est isolée à partir de végétaux par Friedrich Wilhelm Adam Satürner
1853 *Aspirine* : l'acide acétylsalicylique synthétisé à Strasbourg par Charles Frederich Gerhardt
1893 *Aspirine* commercialisée (les études ont été reprises par Félix Hoffmann)
1923 Prix Nobel de médecine pour Banding et Mc Léod pour *l'Insuline*
1941 Le premier antibiotique devient médicament : découverte de la *Pénicilline*
1951 Première utilisation d'un *anti-tuberculeux par voie orale* (Isoniazide)
En bleu, les découvertes et en vert, les mises sur le marché [4].

I.1.2.Définition

un médicament Toute substance ou composition présentée comme possédant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines ou animales, ainsi que tout produit pouvant être administré en vue d'établir un diagnostic médical ou de restaurer, corriger ou modifier leurs fonctions organiques (article L 511 du Code de la santé publique) [4].

I.1.3.Composition

a. Principe actif

Le principe actif, c'est-à-dire une substance dont l'activité thérapeutique a été établie et qui a fait l'objet de nombreuses études de la part des chimistes, des toxicologues et des pharmacologues [5].

b. Excipient

La Pharmacopée Européenne définit un excipient comme « tout composant, autre que le(s) principe(s) actif(s), qui est présent dans un médicament ou utilisé pour sa fabrication. La fonction d'un excipient est de servir de vecteur au(x) principe(s) actif(s), ou d'entrer dans la composition du

vecteur, contribuant ainsi à certaines propriétés du produit telles que la stabilité, le profil pharmacocinétique, l'aspect et l'acceptabilité pour le patient, la facilité de fabrication » [6].

I.1.4. Le devenir du principe actif dans l'organisme [7] [8]

a. Pharmacocinétique

La pharmacocinétique se décompose en 4 étapes : absorption, distribution, métabolisme et élimination, qui décrivent le devenir du principe actif dans l'organisme après son administration.

b. Activité thérapeutique

Une fois dans l'organisme, le principe actif va agir sur un organe cible selon un mécanisme d'action propre. Ces données renseignent et orientent sur la voie d'administration la plus appropriée.
La marge thérapeutique, c'est-à-dire l'écart entre la dose thérapeutique et la dose qui déclenche des effets indésirables, est aussi une caractéristique d'un principe actif. Plus cette marge thérapeutique est étroite, plus l'administration du médicament est délicate.

I.2.Les vitamines

Les vitamines sont des substances sans valeur énergétique qui jouent un rôle indispensable au sein de l'organisme et dont l'apport est quasi exclusivement exogène. Le caractère à la fois ubiquitaire et vital des fonctions assurées par les vitamines explique la grande variété et la potentielle gravité des manifestations cliniques des carences vitaminiques. Ceci est d'autant plus vrai lorsqu'il s'agit de déficits profonds et/ou multiples ou de patients fragilisés aux besoins spécifiques comme le sujet âgé ou la femme enceinte [10].

I.2.1 Métabolisme et fonctions physiologiques des vitamines

Les vitamines sont au nombre de treize. Elles peuvent être divisées en deux groupes différents par leurs propriétés physico-chimiques et métaboliques: 1) 4 vitamines liposolubles A, D, E et K et 2) 9 vitamines hydrosolubles B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9, B12 et C [11].

I.2.2 Vitamine C

a. La perspective historique

Les voyageurs marins ont développé une maladie particulière appelée le scorbut quand ils étaient en mer. Il semblerait que le manque de fruits frais et de légumes dans leur régime était à l'origine de cette maladie. Un docteur naval britannique, Lind ayant pris connaissance qu'il y avait de la substance dans les agrumes à même de guérir le scorbut, a développé une méthode permettant de

concentrer et préserver du jus d'agrume en vue d'être utilisé par les marins. C'est un ainsi que la marine britannique a décider de réserver pour chaque marin une ration quotidienne de tilleul ou de jus jaune de citron pour pallier au manque d'acide ascorbique. L'acide ascorbique a été d'abord isolé de ses sources naturelles et caractérisé structurellement par Szent-Gyorgyi, Waugh et le Roi. La vitamine C a été ensuit synthétisée par Haworth et Hirst [12].

b. La chimie de L-acide-ascorbique

L'acide ascorbique ($C_6H_8O_6$) est le nom banal de Vitamine C. Le nom chimique est le 2-oxo-L-threo-hexono-1,4-lactone-2,3-enediol. L-ascorbique et l'acide déhydroascorbique sont les formes alimentaires importantes de la vitamine C. Le Palmitate ascorbylique est utilisé dans les préparations antioxydantes commerciales. Toutes les formes commerciales d'acide ascorbique excepté les palmitates sont solubles dans l'eau. Le L-acide-ascorbique et son acide gras esters sont utilisés comme additifs de nourriture, antioxydants, inhibiteurs de roussissement, stabilisateurs de goût et de couleur et modificateurs de pâte. Le Palmitate ascorbylique a été utilisé pour sa plus grande solubilité lipide dans les préparations anti-oxydantes dans les nourritures. Le pH influence la stabilité de l'acide ascorbique. La stabilité maximale est atteinte entre pH 4 et 6 [12].

c. Les sources de la vitamine C

Les meilleures sources de la vitamine C sont les fruits et légumes frais. En voici les détails. Contrairement à ce qu'on dit, les agrumes ne sont pas les mieux lotis en vitamine C ! Ils ne sont pas les premiers parmi les fruits, et certains légumes en ont beaucoup plus [13].

Tableau 1 : Des aliments riches en vitamine C et leur teneur en mg *

ALIMENT	TENEUR EN VITAMINE C (mg)
cassis	200,00 mg
persil	190,00 mg
poivron rouge cru	162,00 mg
herbes aromatiques (aliment moyen)	143,00 mg
zeste de citron	129,00 mg
poivron vert, jaune ou rouge cru	120,00 mg
céréales pour petit déjeuner nature enrichies en vitamines et minéraux	100,00 mg
raifort cru	97,30 mg
kiwi	92,70 mg
céréales aux fruits	90,00 mg
poivron rouge cuit	81,00 mg
poivron vert, jaune ou rouge cuit	74,40 mg
litchi	71,50 mg
poivron vert cuit	69,00 mg
fruits rouges	67,90 mg
fraise	67,00 mg
coulis de fruits rouges	60,90 mg
papaye	59,70 mg
chou de Bruxelles cuit	58,20 mg
chou-fleur	57,90 mg
jus d'orange pressé	53,80 mg
citron	53,00 mg

d. Le rôle de la vitamine C [13]

Elle renforce le système immunitaire **:** Concrètement, elle booste la résistance aux infections, virales ou bactériennes.
La vitamine C est anti-oxydante **:** C'est un puissant antioxydant qui s'attaque aux radicaux libres responsables du vieillissement des cellules.
Elle est essentielle pour la santé du tissu conjonctif **:** Elle participe à la fabrication du collagène : la peau, les tendons, les ligaments et le squelette dépendent d'elle. Pas de belle peau sans la vitamine C !
Elle est bénéfique pour le système cardiovasculaire **:** Elle agit positivement sur les parois des vaisseaux sanguins et prévient l'oxydation des lipides du sang.
La vitamine C agit aussi contre le stress **:** Son intervention dans la formation des hormones surrénales, dont le cortisol, participe à réduire le stress.

e. Catabolisme d'acide ascorbique

Les métabolites importants d'acide ascorbique chez l'homme sont l'acide déhydroascorbique, l'acide 2,3 L-dicétogulonique et l'acide oxalique (Figue 1). L'élimination de l'acide ascorbique et de ses métabolites se fait via l'urine. Il est excrété sans changement quand de hautes doses d'acide ascorbique sont consommées. L'acide ascorbique est généralement non-toxique mais à de fortes doses (2–6 g/jr) il peut provoquer des troubles gastro-intestinaux ou des diarrhées [14,15].

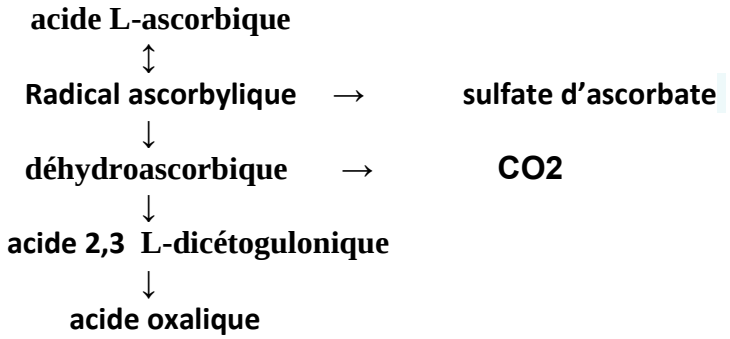


Figure 1 : Catabolisme d'acide ascorbique

I.3.Généralités sur les méthodes de dosage des Médicaments

Plusieurs méthodes sont utilisées pour la détermination d'un médicament : les méthodes colorimétriques, la chromatographie, …..et les méthodes électrochimiques.

I.3.1.Méthodes colorimétriques [16]

Basées sur :

la réaction du médicament avec un réactif dérivé coloré

ex: dosage des salicylés avec le réactif de Trinder

l'absorbance de la molécule à une longueur d'onde spécifique:

ex: dosage de la chloroquine à 343 nm

Sensibilité limitée, dosage simultanée : médicaments + métabolite(s)

I.3.2.La chromatographie (CPG et CLHP)

a. Chromatographie phase gazeuse (CPG)

a.1 Principe CPG

En chromatographie en phase gazeuse CPG, on sépare le mélange en ses constituants en faisant passer une phase gazeuse mobile sur une phase stationnaire absorbante ou adsorbante qui ne peut être que solide ou liquide. Les mécanismes de séparation sont donc limités a l'adsorption et au partage. La séparation nécessite que l'échantillon puisse exister en phase gazeuse. Elle est applicable uniquement à des matériaux volatils, cette catégorie des substances ayant une pression de vapeur non négligeable a des températures pouvant atteindre 400 ^{O}C, la condition de volatilité de l'échantillon signifie que des substances non polaires sont généralement plus faciles a séparer que des substances polaires et que les composés ioniques ne peuvent pas traverser la colonne de CPG. La technique ne concerne donc que qu'environ 20% des produits chimiques connus [17].

a.2 Domaines d'applications : limité car molécules doivent être thermostables et volatiles, exemples de médicaments: antidépresseurs, certains anticancéreux (ifosfamide) [16].

b. Chromatographie liquide haute pression (CLHP)

b.1.Principe CLHP:

La chromatographie en phase liquide classique sur colonne suppose l'utilisation d'une colonne de verre de grand diamètre, remplie d'un phase stationnaire finement divisée, au travers de laquelle la

phase mobile s'écoule par gravité. Ces techniques ont permis de réussir des séparations de mélange complexes, Avec l'avènement des techniques à hautes performances, la CPL a supplanté la chromatographie en phase gazeuse CPG car la CLHP donne : haute résolution, séparation rapide, mesures quantitatives précise….[17].

Plus la molécule est apolaire, plus elle sera éluée et détectée tardivement : métabolites élués avant les médicaments .Dans des conditions prédéfinies de chromatographie, chaque produit sera caractérisé par un temps de rétention caractéristique de ce composé [16].

b. 2 Domaines d'applications : applicable à tous les composés, très bien adaptée aux dosages des médicaments: antibiotiques, antifongiques, antiviraux, ß bloquants,… pas de destruction des composés [16].

I.3.3.Les méthodes électrochimiques

Les différentes méthodes électrochimiques les plus utilisées dans le domaine de l'analyse chimique sont : l'ampérométrie, la conductométrie, la potentiométrie, la polarographie.

a. Ampérométrie

Selon l'IUPAC, l'ampérométrie consiste en la mesuré du courant parcourant une cellule lorsque la différence de potentiel entre l'électrode indicatrice et l'électrode de référence est contrôlée. La variable indépendante est la concentration C du soluté à déterminer. Le système indicateur de fin de titrage est composé de deux électrodes (une électrode indicatrice et une de référence ou deux indicatrices) entre les quelles on impose une différence de potentiel constante. L'intensité qui circule dans la cellule est enregistrée au fur et à mesure de l'avancement du titrage [18].

b. Conductimétrie

La notion d'ion a été introduite a la fin du XIX^{e} siècle pour expliquer la conductivité de certains milieux liquides. Par conductimétrie on peut estimer la teneur globale en ions d'une solution, la mesure de la conductance consistant en celle de sa grandeur inverse, la résistance, entre deux électrodes qui plongent dans la cellule de mesure [19].

c. Potentiométrie [20]

La potentiométrie est une méthode analytique qui permet de relier une mesure de potentiel d'électrode à une activité d'espèce en solution. L'électrode correspondante est appelée électrode indicatrice L'électrode indicatrice (de potentiel E_{ind}), choisie en fonction de la nature du soluté à déterminer.

d. Polarographie

La polarographie est une branche de voltamétrie où les changements dans le courant, en

provenance de l'électrolyse de la solution étudiée sont mesurés en utilisant une gouttelette de mercure renouvelable comme électrode indicatrice (la cathode). L'anode de la cellule électrolytique est appelée électrode de référence [21].

I.4. Description des méthodes polarographiques

I.4.1 Polarographie classique

a. Principe [18]

La polarographie est une méthode indicatrice en régime stationnaire utilisant les courbes intensité-potentiel tracées sur une électrode a gouttes de mercure. Le transport en solution des espèces électroactives sur mercure est dû a la diffusion. Dans les conditions de la polarographie :
-les potentiels de demi-vague sont caractéristiques de la substance électroactive, d'où possibilité d'analyse qualitative.
-la hauteur des paliers est proportionnelle aux concentrations de ces substances, d'où possibilité d'analyse quantitative.

b. Domaines d'électroactivité de l'électrode de mercure

Le domaine d'électroactivité correspond, par définition, à la zone de potentiel dans laquelle des substances électroactives additionnées à l'électrolyte support vont pouvoir être analysées (oxydées ou réduites). Les deux limites anodique et cathodique peuvent être attribuées à l'oxydation ou à la réduction soit du solvant, soit du matériau d'électrode, soit encore d'un ion de l'électrolyte support concentré.
En polarographie avec une électrode à goutte de mercure, la limitation côté anodique est due à l'oxydation du mercure métallique dont le potentiel d'oxydation dépend de l'anion de l'électrolyte support (soit acide ,soit des ions forment complexe, $E \geq + 0,4$ V/ECS), la limitation en réduction en solutions aqueuses par la réduction des protons (milieux acides) ou de l'eau (milieux neutres ou basiques) ($E \leq -3$ V/ECS) [22].

c. Le dispositif expérimental

Poids supplante les forces capillaires et est alors remplacée par la goutte suivante. L'EGM constitue l'électrode de travail d'un dispositif classique à 3 électrodes (figure 2) [23].

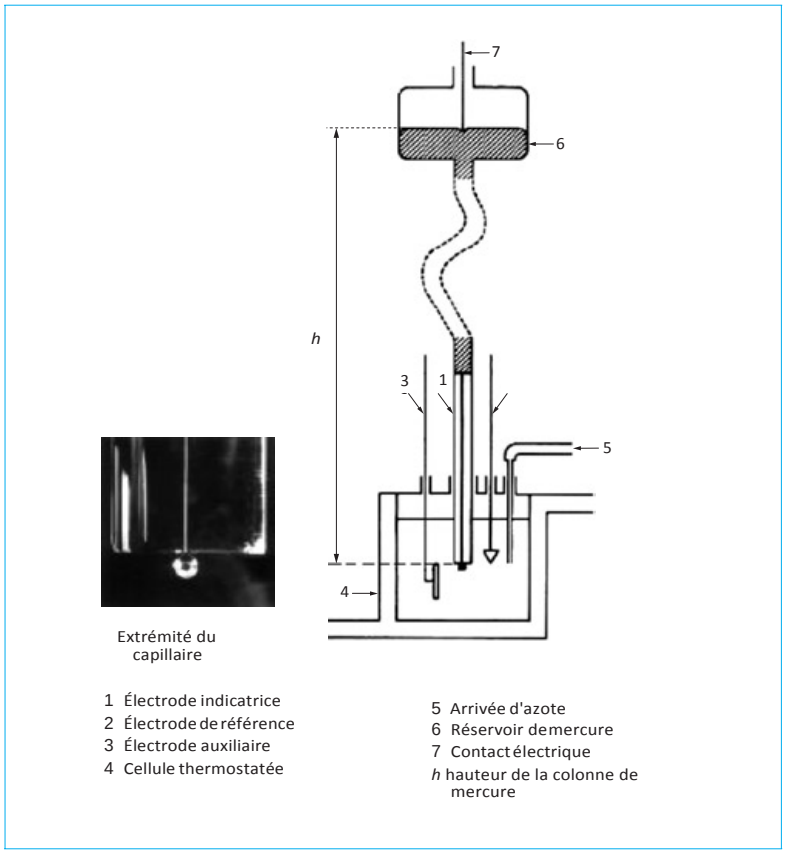


Figure 2 – Schéma conventionnel d'une cellule polarographique avec une électrode à goutte de mercure[29]

c-1 Les électrodes [24]

Comme nous venons de le mentionner, la cellule polarographique se compose de trois électrodes de types différents. L'électrode de travail, l'électrode de référence et l'électrode auxiliaire.

L'électrode de travail

En polarographie, l'électrode de travail est constituée principalement d'un réservoir de mercure surplombant un capillaire. Celui-ci permet de débiter, par l'intermédiaire d'une pression suffisante d'azote, une goutte de mercure. Les électrodes de travail au mercure se sont bien différenciées des autres électrodes conductrices solides par leurs propriétés particulières.

L'électrode de référence :

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. Actuellement, l'électrode au calomel saturé est remplacée par l'électrode d'argent en raison de la consommation déjà élevée de mercure au sein de l'électrode multi-mode et de sa grande toxicité.

L'électrode auxiliaire

Celle-ci sert à boucler le circuit et est constituée d'un barreau de platine ou de carbone.

c-2 Electrolytes supports [25]

Le rôle des électrolytes support est :

-d'assurer une bonne conductivité de la solution,
-rendre négligeable le courant de migration des espèces électroactives,
-former un environnement ionique constant avec la solution à étudier.

a. Caractéristiques de la polarographie à courant continu

Dans l'expérience de base, maintenant rarement utilisée, on applique à la goutte de mercure, une tension variable continue E_{indic}, fonction linéaire du temps, dont l'incrémentation (ou vitesse de balayage) est de l'ordre de 1 à 2 mV/s à partir du potentiel initial E_i choisi [26].

$$\mathbf{E_{indic} - E_{réf} = E_i \pm v \cdot t \quad (1)}$$

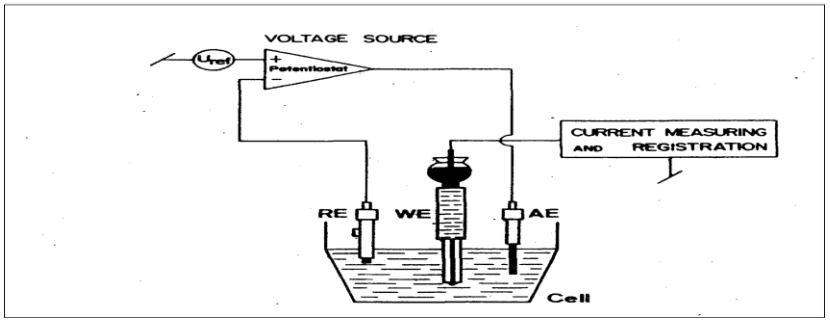


Figure 3 : Schéma de principe d'un polarographe

Le signe ± signifie que le balayage peut se faire dans le sens anodique ($v > 0$) ou cathodique ($v < 0$). Le polarogramme résultant, courbe $I = f(E)$, présente un ou plusieurs paliers (figure. 4). La

hauteur d'un palier, correspondant au courant limite de diffusion i_D est fonction de la concentration du dépolarisant (l'analyte, qui est réduit au contact du mercure) et permet donc une exploitation quantitative. Le potentiel de demi-vague, déterminé à la mi-hauteur $i_D/2$ du palier, est caractéristique de chaque analyte et permet une exploitation qualitative du polarogramme. Plusieurs espèces en présence dans une solution peuvent donc être étudiées au cours d'une même analyse, à condition que les potentiels de demi-vague soient suffisamment distincts [26].

Allure générale d'un polarogramme (figure 4) et les portions : A-B, B-C, C-D,D-E [25]

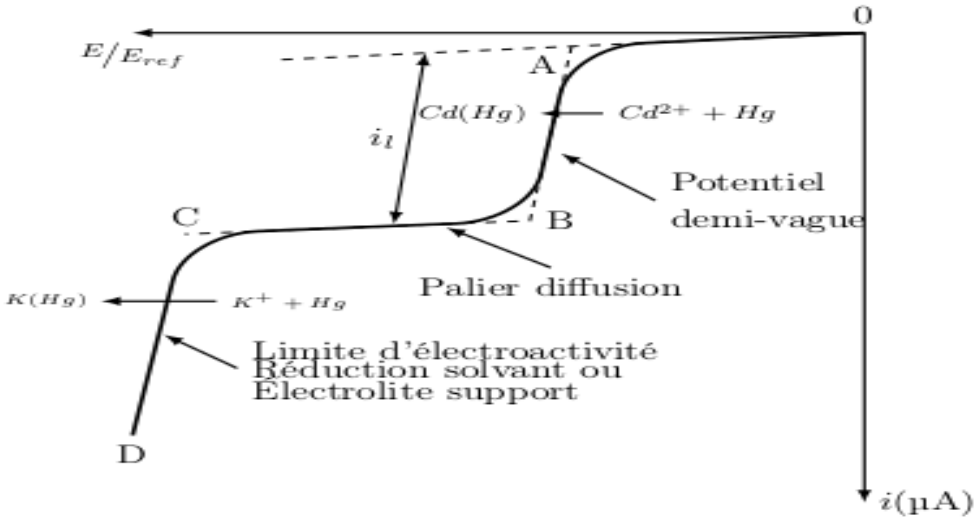


Figure 4 : Allure générale d'un polarogramme

La portion O-A : on n'enregistre pas de valeur concernant le courant car le potentiel n'est pas assez négatif (l'intensité du courant est faible <1µA).

La portion A-B : l'intensité du courant croit et elle est limitée par la vitesse du transfert de charge.

La portion B-C : dans cette partie la vitesse de réduction est limitée par la diffusion du substrat d'où on observe un courant il qui est proportionnel à la concentration de la substance électroactive ainsi qu'au nombre d'électrons mis en jeu dans la réaction d'électrode.

La portion C-D : l'intensité du courant croit très fortement sans atteindre de limite, cette partie représente la décharge des ions constituant l'électrolyte support (par exemple K^+)

d.1 Equation de la courbe polarographique I=f(E) réversible [27]

Dans le cas de la polarographie l'équation de la courbe E=f(I) est :

$$E = E^{\circ} + \frac{RT}{nF} \ln\left(\frac{I - I_{L\,red}}{I_{L\,ox} - I}\right) \quad \textbf{(2)}$$

Le potential de demi-vague $E_{1/2}$ correspond au potentiel pour lequel

I = (IL_{ox} + $I_{L\,red}$)/**2** ,ainsi on obtient :

$$\mathbf{E_{1/2} = E^{\circ}} \quad \mathbf{(3)}$$

Si seule l'espèce Ox est présente initialement à la concentration C_{ox} (C_{red}=0 et I_{Lox}=0), l'équation 2 se simplifie et l'on obtient **:**

$$E = E_{1/2} + \frac{RT}{nF} \ln(I_{Lred} - I)/I \qquad \mathbf{(4)}$$

Si seule l'espèce Red est présente initialement à la concentration $\mathbf{C}_{red}$ (C_{ox}=0 et I_{Lred}=0), l'équation 2 se simplifie et l'on obtient **:**

$$E = E_{1/2} + \frac{RT}{nF} \ln(I_{Lox} - I)/I \qquad \mathbf{(5)}$$

d.2 Courant de diffusion

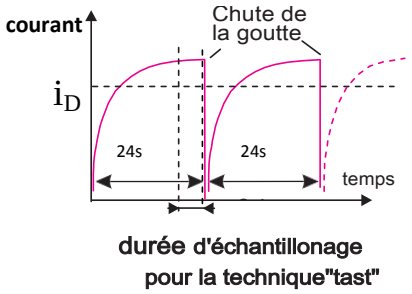
La vague polarographique s'appelle la vague commandée par diffusion, quand le courant limitant est commandé par le procédé de diffusion des espèces electroactives sur la surface d'électrode. Les courants limites dans ces cas dépendent de concentration de ces espèces qui donnent l'oxydation ou réduction au niveau de l'électrode [28].

Le courant limite moyen de diffusion i_D, dû pour l'essentiel au flux des ions de l'analyte considéré à l'instant qui précède la chute de la goutte, dépend de plusieurs paramètres[26].

$$\boldsymbol{i_D = 607 \cdot n \cdot D^{1/2} \cdot m^{2/3} \cdot t^{1/6} \cdot C} \qquad \mathbf{(6)}$$

i_D sera exprimé en mA avec les unités suivantes : D, coefficient de diffusion de l'ion (cm^2/s), m, débit massique en mercure (mg/s), t , durée de vie de la goutte (s), C , concentration ($mmol/cm^3$). n, nombre d'électrons transférés au cours de l'électrolyse de l'ion (i_D. sera en ampères (A) avec D en m^2/s, m en kg/s, t en secondes et C en mol/m^3). Le coefficient 607 est établi pour 25 °C

figure 5 : Courant de diffusion :



L'équation d'Ilkovic permet de calculer i_D max si on remplace le coefficient 607 par 706 dans l'équation (6) [26].

d.3. Courant résiduel [18]

Dans le pratique, le courant résiduel est considéré comme résultant de la somme des courants capacitifs et de ceux dus a l'électrolyse d'impuretés restantes.

$$\mathbf{i_r = i_f + i_c} \qquad \mathbf{(7)}$$

Il a deux origines :

-l'électrolyse d'impuretés telles que le dioxygène dissous. Il s'agit la d'un courant faradique. Il est sans intérêt. En principe, il est éliminable par électrolyse préalable de la solution ne contenant pas encore les solutés a analyser. D'un point de vue pratique l'électrolyse préalable constitue une opération longue et compliquée ;

-le courant capacitif. Il est le plus gênant des deux composantes évoquées. Rappelons que le comportement d'une interface métal-solution est en partie celui d'une capacité.

Le courant capacitif i_c est défini par :

$$\mathbf{i_c = 0.00567 C_i (E_z - E)\, m^{2/3}\, t^{-1/3}} \qquad \mathbf{(8)}$$

(i_c en µA , C_i en µF/cm^2)

C_i : est la capacité par unité de surface de la double couche

A : est l'aire de la goutte, m est le débit massique de mercure

E_z : le potentiel pour le quel la charge de l'électrode est nulle (maximum électrocapilaire)

e. Facteurs influençant les potentiels de demi-vague $E_{½}$

e. 1. Influence de l'oxygène dissous [22]

Comme les techniques polarographiques sont plutôt adaptées à l'analyse en réduction, l'oxygène dissous doit être éliminé de la solution électrolytique avant analyse. En effet, l'oxygène est présent en solutions aqueuses et organiques à une concentration d'environ 10^{-3} M (dépend des conditions de solubilité (température, pression partielle d'oxygène)) et se trouve réduit en deux étapes à l'électrode de mercure selon les équations suivantes.

En milieu acide :

$$O_2 + 2\,H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O_2 \qquad (-0{,}1\ V)$$

et $$H_2O_2 + 2\,H^+ + 2e^- \rightarrow 2H_2O \qquad (-0{,}7\ V)$$

En milieu basique :

$$O_2 + 2\,H_2O + 2e^- \rightarrow H_2O_2 + 2\,OH^- \qquad (-0{,}3\ V)$$

et $$H_2O_2 + 2e^- \rightarrow 2\,OH^- \qquad (-1{,}3\ V)$$

Ces étapes de réduction dépendent du pH. Les courants causés par la réduction de l'oxygène interfèrent avec les vagues de réduction des autres analytes. On élimine facilement l'oxygène dissous par barbotage d'azote ou d'argon pur pendant 5 à 10 min et on maintient ensuite une pression de gaz inerte au-dessus de la solution (utiliser de l'azote de pureté suffisante (99,996 à 99,999 %) pour l'analyse en milieu organique).

e.2. Maximums polarographiques

Parmi les phénomènes qui peuvent modifier les vagues polarographiques, il existe certaines déformations très particulières qui ont reçu le nom de **maximums** car elles conduisent à des courants plus élevés que les courants attendus en certains points du polarogramme. Ces maximums sont en général dus à des mouvements anormaux de la solution au voisinage immédiat de l'électrode, entraînant des variations brutales du flux de l'espèce électroactive, donc du courant.

Suppression des maximums : En analyse polarographique, l'apparition d'un maximum est en général un inconvénient auquel il faut remédier. L'addition de gélatine a été d'abord proposée, mais la stabilité dans le temps du *Triton X 100* le fait souvent préférer [29].

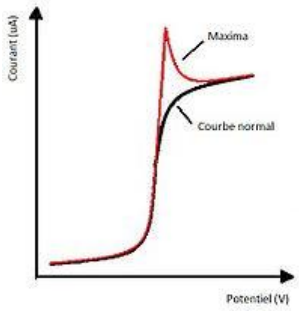


Figure 6 : Sans et avec les substances tensioactives

f. Performance de la méthode [30]

f.1 Sensibilité

– le courant capacitif varie en fonction de $t^{-1/3}$ dans le cas où le potentiel de l'électrode pendant la durée de vie de la goutte a une variation négligeable [faibles vitesses de balayage des potentiels (< 10 $mV \cdot s^{-1}$)] ;

– le courant de diffusion varie, en fonction de $t^{1/6}$.

À la fin de la vie de la goutte, le courant capacitif qui limite en Polarographie à courant direct la détection d'analytes à des concentrations comprises entre 5. 10^{-6} et 10^{-5} M.

f.2 Pouvoir de séparation-sélectivité

il faut que la différence entre les potentiels de demi-vague soit au moins supérieure à 100 mV.

g. Exemples d'application

Les applications de la polarographie classique ont été par le passé très nombreuses, que ce soit pour des composés organiques, inorganiques (métaux) ou des molécules d'intérêt biologique et biochimique [31-41] Par ailleurs, la polarographie classique est toujours utilisée pour la détermination de constantes de complexation de métaux [38,42,43] et la détermination de P_{Ka} en exploitant le déplacement de potentiels de demi-vague en fonction du pH pour des pesticides ou des molécules organiques par exemple [39,41].

I.4.2 Polarographie impusionnelle

a. Introduction

La polarographie classique présente comme inconvénient principal de générer des courants capacitifs importants dus a l'application d'un potentiel a l'électrode pendant toute la croissance de la goutte. On peut pallier ce problème en diminuant la durée d'application du potentiel d'électrode servant a la mesure du courant, d'où l'idée d'imposer des impulsions de potentiel de courte durée [23].

b. Principe

Barker et coll. [44] ont proposé dans les années 1960 la technique suivante appelée polarographie impulsionnelle : a la tension continue entre l'électrode indicatrice a gouttes de mercure et l'électrode de référence, éventuellement variable au cours du temps, on superpose des impulsions de faible amplitude ($\left|\Delta E_{imp}\right|$ = 10-20 mV) et de courte durée (Δt_{imp}= 20-40 ms).Chacune de ces impulsions se produit a un instant donné de la durée de vie de la goutte τ, en fait un instant correspondant a la fin de celle-ci (juste avant sa chute commandée par le marteau, figure 7).

Il existe principalement deux versions de la polarographie impusionnelle :

Normale (PIN) et différentielle (PID). Dans la première, à partir d'une valeur constante de potentiel, choisie de manière a ce qu'aucune réaction électrochimique ne se produise, on surimpose des impulsions d'amplitude variable, incrémentée régulièrement de 1 a 2 mV de façon a balayer la zone

de potentiels intéressante. Dans la seconde, l'amplitude de l'impulsion reste constante et c'est le potentiel continu qui est incrémenté a chaque temps de goutte pour explorer la fenêtre de potentiels intéressante (figure 7) [23].

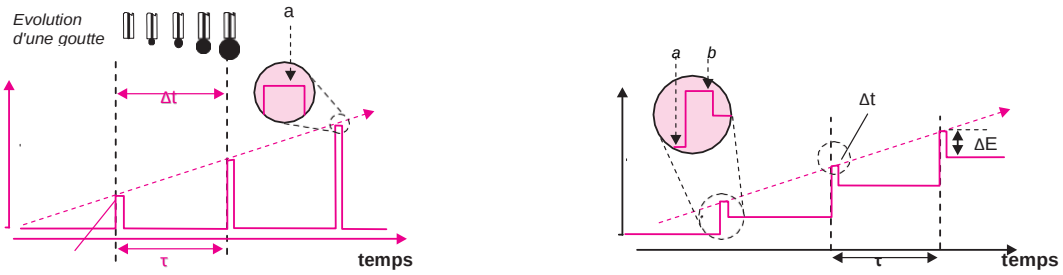


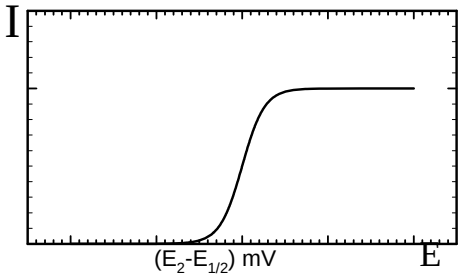
Figure 7 : Forme du signal en potentiel en polarographie impusionnelle PIN et PID [26].

c. Allure du polarogramme

c.1. en PIN [45]

E_1 est maintenu constant, pendant t_1, a une valeur ou Ie courant faradique est pratiquement nul alors que E_2 est incrémenté a chaque saut de potentiel et il décrit Ie domaine d'électroactivité de I 'espèce étudiée. Le courant i échantillonné au bout d'une durée Δt après chaque saut de potentiel, est porté en fonction du potentiel E_2. La courbe $i=f(E_2)$ qui en résulte a une allure sigmoïde (Figure 7).
Si Ie courant est observé a un temps long ($\Delta t > 0.5$ s) la NPP équivaut a la polarographie classique. Une vague est réversible, si à tout potentiel Ie courant est contrôlé par la diffusion.
(l'expression du potentiel demi-vague obtenue, est la même qu'en polarographie)

Figure 8 : Allure de PIN

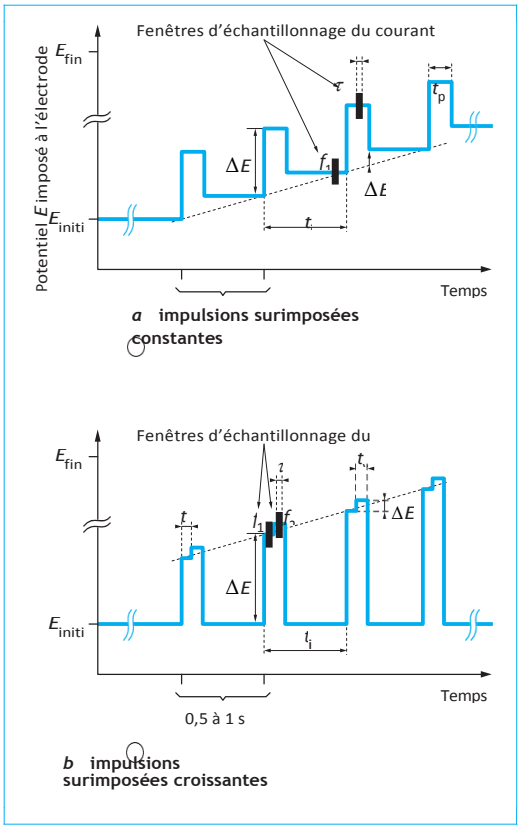


La PIN sert à la fois a des fins analytiques (limite de détection 10^{-6}M) et à des études de cinétique électrochimique.

c.2 en PID

La voltampérométrie différentielle a impulsions constantes surimposées posséde la particularité de minimiser la part du courant capacitif dans la composition de la réponse de l'électrode par résolution

temporelle des courants engendrés a sa surface. Cela est obtenu par un balayage continu de potentiel en fonction linéaire du temps, effectué par une suite d'incréments de potentiel d'amplitude ΔE_i et a la vitesse $\Delta E_i / t_i$ (figure 9a). Une impulsion d'amplitude ΔE_p constante et de durée t_p est surimposée périodiquement toutes les $t_i - t_p$ secondes lors du balayage de potentiel. Le courant est alors mesuré a chaque période t (millisecondes) avant le début de l'impulsion et avant la fin de celle-ci. La représentation de la variation de ΔI, obtenue par le double échantillonnage du courant due a l'application de l'impulsion ΔE_p , en fonction du potentiel $E = E_{initial} + n\Delta E_i$ ($E_{initial}$ est le potentiel de départ et n est le nombre d'incréments déja` exécutés) est la courbe de voltampérométrie différentielle a impulsions d'amplitude constante [46].
Aoki a développé la théorie de cette technique sur électrode de dimension millimétrique [47]. Il ressort de son étude que l'allure generale d'une telle courbe est du type gaussien avec un maximum dont l'amplitude et la position varient selon les caractéristiques cinétiques de la réaction de transfert de charge (rapide, quasi rapide ou lent) du système étudié (figure 10).



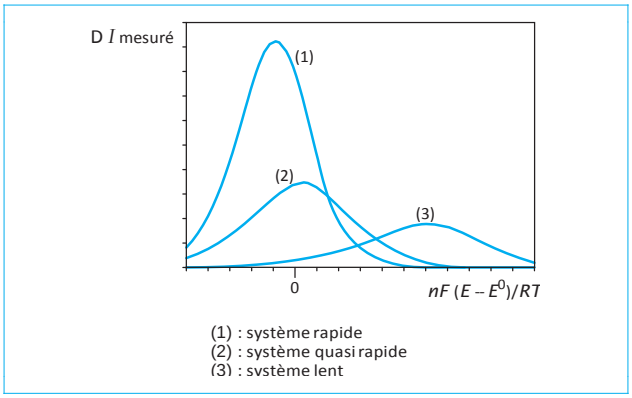


Figure 10 – Allure des voltampé rogrammes différentiels à impulsions constantes surimposées selon la cinétique de transfert de charge du système étudié (d'après[47])

Figure 9 – Voltampérométrie différentielle à impulsions surimposées[46].

Le voltampérogramme obtenu a une forme gaussienne avec un pic dont l'amplitude est proportionnelle à la concentration de l'espèce électroactive, La largeur du pic à mi-hauteur W1/2 permet de déterminer le nombre d'électrons échangés pour un système rapide grâce à la relation de Barker [48].

$$W_{1/2} = 3{,}5\ (RT/nF) \qquad (9)$$

$$W_{1/2} = (90{,}5/n) \qquad (13)$$

d. Caractéristiques de la polarographie Impusionnelle [23]

Sensibilité : la limite de détection de PID est 10^{-8} , 10 a 50 fois mieux que la PIN
Pouvoir de séparation : en PID on arrive a séparer les potentiels de demi-vague qui sont distants d'au moins 40/n mV

b. Exemples d'applications [30]

On y trouve notamment des exemples d'application :
*Pour l'analyse de **traces dans le domaine environnemental** (métaux lourds, polluants organiques).
*Pour l'analyse des **constituants de bains dans l'industrie du traitement de surface** (métaux, additifs, réducteurs, impuretés).
*Pour l'**analyse de médicaments ou de principes actifs** dans l'industrie pharmaceutique (vitamines, stéroïdes, antibiotiques, psychotropes (dérivés 1, 4 benzodiazépine par exemple) notamment dans les produits formulés mais aussi dans le sang, le sérum, les urines et le plasma où les concentrations vont de la
dizaine de $\mu g \cdot L^{-1}$ au $mg \cdot L^{-1}$.
*Pour l'analyse et le contrôle qualité de **matrices alimentaires** comme par exemple l'acide ascorbique, des vitamines mais aussi des composés contaminants tels des antibiotiques, certains pesticides (Parathion), des toxines (aflatoxine) ou métaux.
*Pour l'analyse et le contrôle dans l'**industrie des plastiques et des polymères** notamment des additifs utilisés.

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE II :

LES CONDITIONS EXPERIMENTALES

II.1. Appareillage

Le polarographe utilisé dans cette étude est un TraceLab 50. Il est constitué du potensiostat polarographique POL150, du stand de mesure MDE150 et du logiciel PC TraceMaster 5. La cellule polarographique est composée d'une électrode de travail à goutte de mercure tombante statique (SMDE), d'une électrode de référence Ag/AgCl à KCl 3M et d'une électrode auxiliaire de platine.

La figure 11 montre le montage complet de mesure.



→

Figure 11 : Systéme de mesure polarographique

Pour effectuer la pesée on a utilisé une balance analytique de marque Sartorius, sa précision est de l'ordre de 0.001mg (figure12)



Figure 12 : Balance analytique

Pour préparer l'eau ultra pure indispensable pour ce type d'étude nous avons fait usage d'une station de marque PURELAB Classic (Figure 13).

Figure 13 : Station de production d'eau ultra pure



II.2. Préparation des solutions

II.2.1. Préparation de la solution d'acétate tampon 0,05 M

La solution tampon est un mélange d'acide acétique 0,1 mol/l et d'acétate de sodium 0,1 mol/l.

Pour préparer une solution d'acétate de sodium 0,1 mol/l, on pèse précisément une masse m à l'aide d'une balance analytique. Cette masse est calculée d'après la relation suivante :

m = C.V.M = 0,1.0,5.136,08 = 6,8 g

Où M : la masse molaire du sel.
C : Concentration de la solution à préparer.
V : Volume de la solution à préparer.

Ainsi on introduit 6,8 g d'acétate de sodium dans une fiole jaugée de 500 ml puis on ajoute l'eau ultra pure jusqu'au trait de jauge.

Pour la préparation de la solution d'acide acétique 0,1M, il faut calculer la concentration de la solution d'acide acétique glacial qu'il faut diluer dans une fiole jaugée.

La concentration C est calculée comme suit :

$C = \frac{Cm}{M} = 17,31 mol/l$

où C_m : est la Concentration massique de l'acide

M : est la masse molaire de l'acide

Le volume V_1 qu'il faut prélever est calculé comme suit :

$C_1.V_1 = C_2.V_2 \rightarrow 17,31.V_1 = 0,1.0,5 \quad \rightarrow \quad V_1 = 2,88$ ml

A l'aide d'une pipette on prélève volume de 2,88 ml de l'acide acétique, que l'on verse dans une fiole jaugée contenant l'eau ultra pure, puis on ajuste jusqu'au trait de jauge.

II.2.2. Préparation de la solution standard d'acide ascorbique 1 g/L

Pour la préparation d'une solution d'acide ascorbique de concentration C =1 g/l on pèse Précisément une masse m d'acide ascorbique solide, puis on introduit cette masse dans une fiole jaugée de volume V =100 ml et on ajoute l'eau ultra pure jusqu'au trait de jauge (cette solution est renouvelée chaque jour).

La masse m est calculée par la relation suivante :

$$m = C_m.V = 0,1 \text{ g}$$

II.3. Conditions polarographiques

On met 20 ml d'acétate tampon (pH = 6.4) dans la cellule polarographique, puis on ajoute la solution d'échantillon (200µl pour le jus, 80µl pour la solution standard), le mélange se fait tout en barbotant avec l'azote. La méthode est enregistrée selon les paramètres suivants :

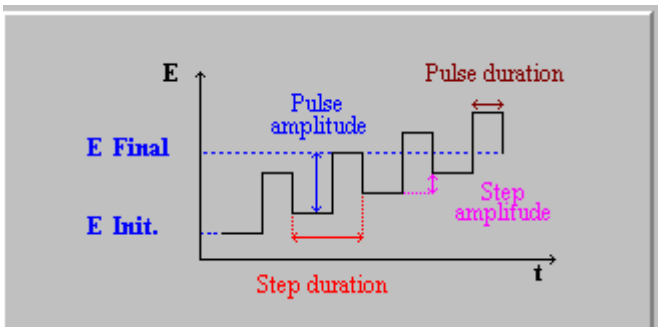


Figure 14 : Courbe E=f(t) de (PID)

Tableau2 : Conditions polarographiques

Conditions polarographiques	
Electrode de travail en mode	SMDE (tombante)
Le temps de désaération	500 s
La vitesse de rotation	300 rpm
Limites de potentiel	0 - +200 mV
La vitesse de balayage	10 mV/s
Amplitude de pulsation	10 mV
Le temps de pulsation	40 ms
Le temps de croissance de la goutte	0.5 s
Potentiel de demi-vague (solution standard)	70 mV

Ces paramètres sont ceux adoptés par METROHM pour le dosage polarographique de la vitamine C dans les jus de fruit [49].

La concentration est déterminée par la méthode des additions standards (des ajouts dosées)

II.4. Validation analytique de la méthode PID

Validation veut dire démontrer l'aptitude de la méthode par les calcules de LQ et LD.

La limite de quantification (LQ) : est la plus faible valeur de concentration de l'analyte quantifiable avec un niveau de confiance acceptable [50].

La limite de détection (LD) : est la plus faible valeur de concentration de l'analyte détectable mais non quantifiable avec un niveau de confiance acceptable [51].

Tableau 3 : Les calculs de La concentration incrémentée.

Volume d'acide ascorbique standard ajouté	Concentration de l'acide ascorbique	Volume de l'électrolyte support	La concentration incrémentée
V1 = 80 µl	C = 1 g/l	V = 20 ml	ΔC1 = 4 mg/l
V2 = 120 µl	C = 1 g/l	V = 20 ml	ΔC2 = 6 mg/l
V3 = 160 µl	C = 1 g/l	V = 20 ml	ΔC3 = 8 mg/l

La concentration incrémentée pour chaque solution est calculée comme suit :

$\Delta C_1 = \frac{1.80.10-6}{20.10-3} = 4$ mg/l-

$\Delta C_2 = 6$ mg/l

$\Delta C_3 = 8$ mg/l

On ajoute successivement les 3 solutions de l'acide ascorbique standard (de volume et de concentration connus), et on mesure I_{pic} pour chaque solution ajoutée à partir de la courbe I-E suivante :

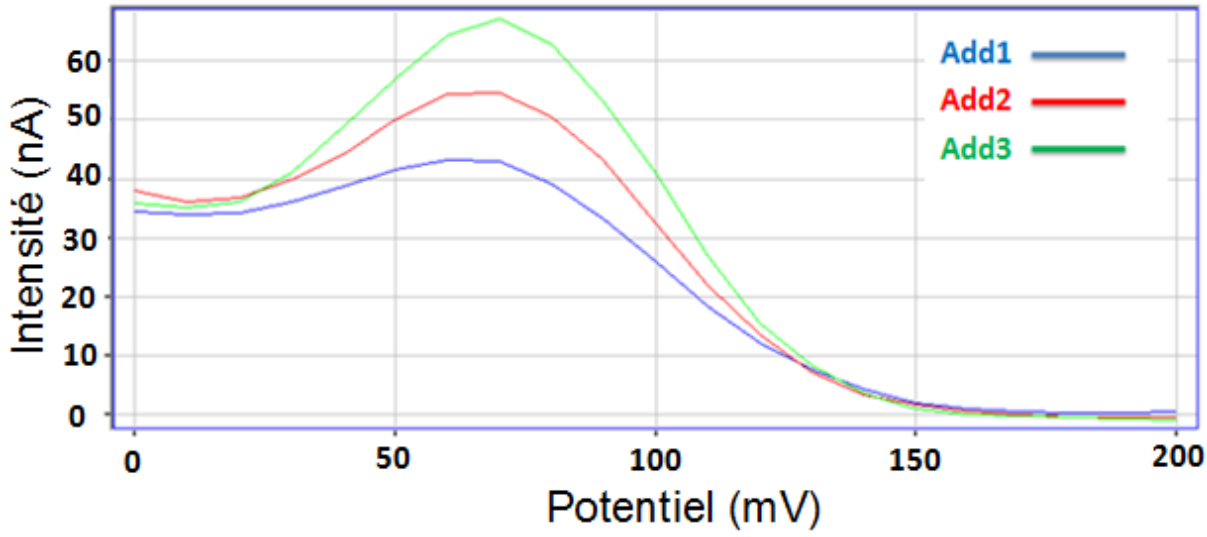


Figure 15 : Polarogrammes de la solution standard

Les résultats sont regroupés dans le tableau 4 :

Tableau 4 : Valeurs de I_{pic} pour différentes concentrations de l'acide ascorbique

I_{pic} (nA)	ΔC (mg/l)
26.02	4
37.39	6
49.88	8

L'évolution de I_{pic} en fonction de ΔC est illustrée par la figure 6.

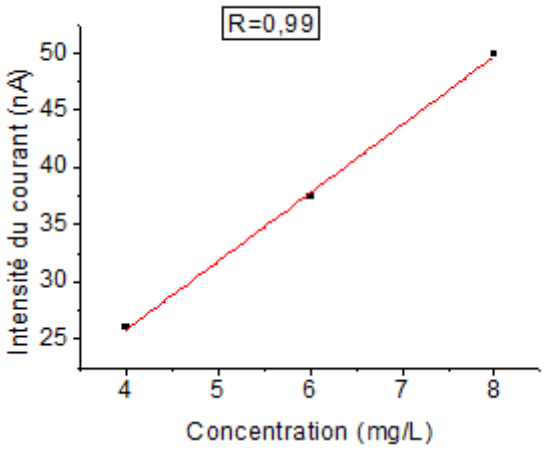


Figure 16 : Courbe d'étalonnage

La courbe d'étalonnage ainsi tracée est une droite ayant pour équation :

$y = b+ax$; $a = 5.97*10^{-6}$; $b = 3{,}78.10^{-8}$

D'après [49,50]: $LQ = \frac{b+10Sb}{a}$ et $LD = \frac{b+3Sb}{a}$

Écart type sur l'ordonné à l'origine (Sb) il est calculé par la formule :

$$Sb = St* \sqrt{\frac{1}{N-\frac{(\sum xi)^2}{\sum xi^2}}}$$

Écart type de résidu (St) qu'on calcule en utilisant l'équation :

$$St = \sqrt{\frac{Syy-m^2Sxx}{N-2}}$$

$S_{yy} = \sum yi^2 - \frac{(\sum yi)^2}{N}$; $S_{xx} = \sum xi^2 - \frac{(\sum xi)^2}{N}$

$b = y_{moy} - mx_{moy}$; $m = \frac{Syy}{Sxx}$

On a trouvé :

LQ = 6 µg/L et LD = 2 µg/L

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE III :
RESULTATS ET DISCUSSION

III. 1. Les jus commercialisés locaux

III. 1. 1. Ngaous

On introduit 200µL de jus Ngaous dans la cellule polarographique qui contient déja 20mL d'acétate tampon (pH=4,6), puis on ajoute 100µL de la solution standard d'acide ascorbique (2additions) et on trace les polarogrammes correspondants. Les courbes I-E de jus Ngaous (en 4 essais) sont de la forme suivante :

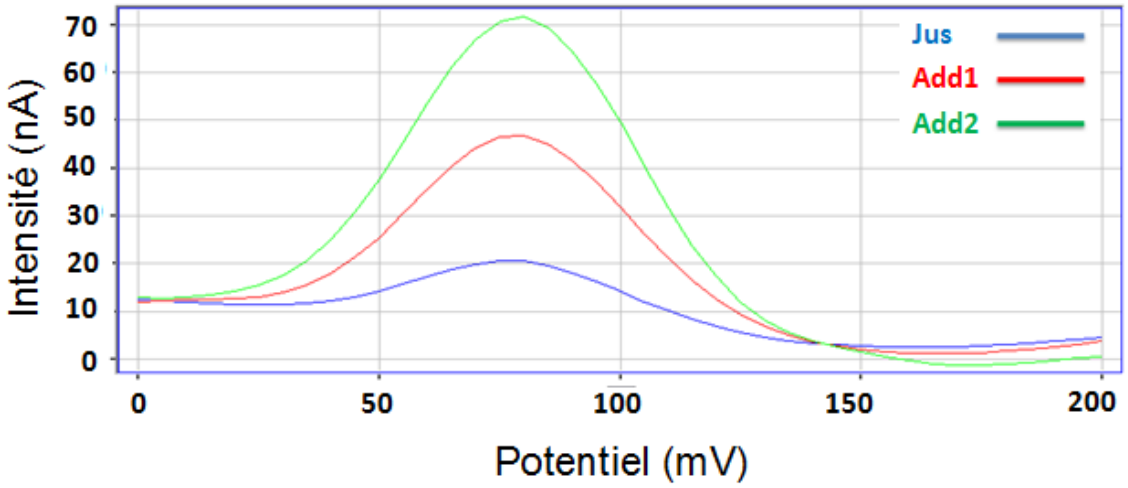


Figure 17 : Polarogrammes du jus Ngaous

La figure 17 met en évidence des pics d'oxydation relatifs à la réaction :

$$C_6H_8O_6\ (aq) \rightarrow C_6H_6O_6\ (aq) + 2e^- + 2H^+$$

Dans cette réaction le potentiel rédox dépend du pH selon :

$$\mathbf{E_{pic} = 0,059 / 2 \log a_{H+}}$$

D'après cette équation on voit que I_{pic} dépend du pH d'où la nécessité de tamponner le milieu.

On trace I_{pic} en fonction de la concentration en utilisant les données du tableau 5, puis ondétermine la concentration par la méthode des ajouts dosés :

Tableau 5 : Evolution de I_{pic} en fonction de la concentration de l'addition en acide ascorbique.

	C (mg/l)	I_{pic} (nA)
Echantillon	0	15.54
Adition 1	5	41.57
Adition 2	10	64.44

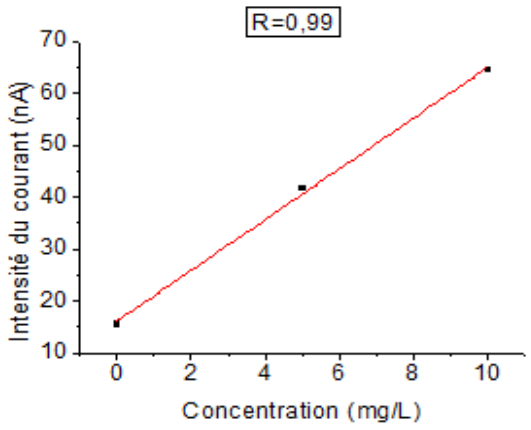


Figure 18 : Courbe de dosage relative au jus Ngaous

La concentration est calculée comme suit :

L'équation de la droite de dosage est de la forme : y = a + bx :

Avec y = 0 on a $x = \frac{a}{b}$ donc → C_x = 328.6 mg/l

Les résultats des autres essais sont mentionnés dans le tableau suivant tableau 6 :

Tableau 6 : Effet de la répétabilité (jus Ngaous)

N° d'essai	C(mg/l)
1	328.6
2	222.7
3	249.9
4	282.6

Soulignons que la répétabilité traduit les conditions où les résultats d'essais indépendants sont obtenus par la même méthode sur des échantillons d'essais identiques dans la même laboratoire, par le même opérateur, utilisant le même équipement et pendant un court intervalle de temps[52].

La concentration moyenne de la vitamine C dans le jus Ngaous est : C_{moy} = 270.950 mg/l

La même procédure a été utilisée pour déterminer la teneur en vitamine C des autres jus étudiés.

Ainsi, dans ce qui suit, nous allons présenter directement les résultats pour avoir à d'écrire la méthode.

III. 1. 2. Ramy

La figure 19 représenté les polarogrammes du jus Ramy à différents ajouts.

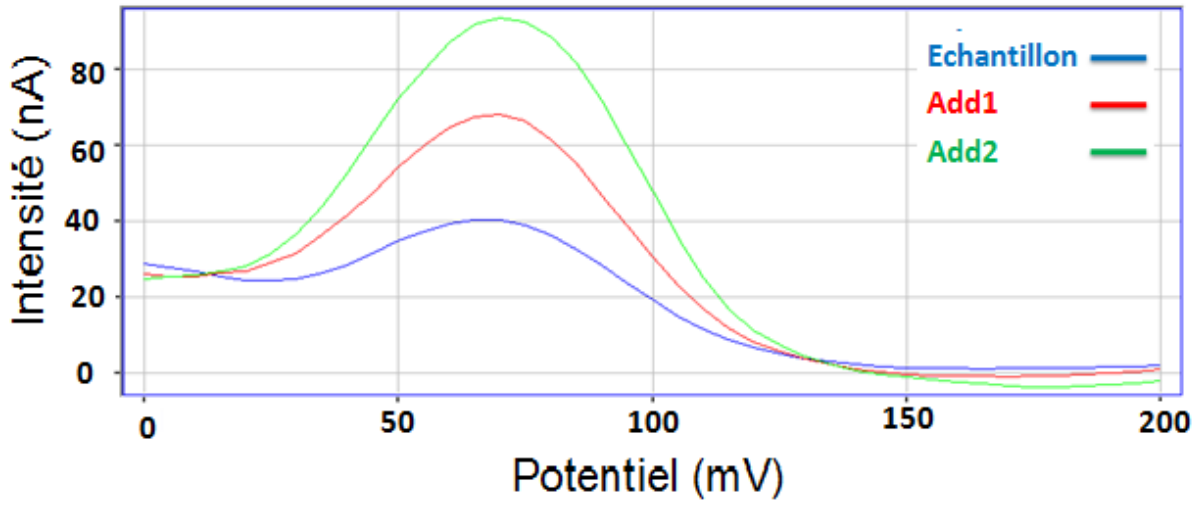


Figure 19 : polarogrammes du jus Ramy

A partir du ces courbes nous avons pu dresser le tableau 7 :

Tableau 7 : Evolution de I_{pic} en fonction de la concentration de l'addition en acide ascorbique.

	C(mg/l)	I_{pic} (nA)
Echantillon	0	25.9
Addition 1	5	53.28
Addition 2	10	74.32

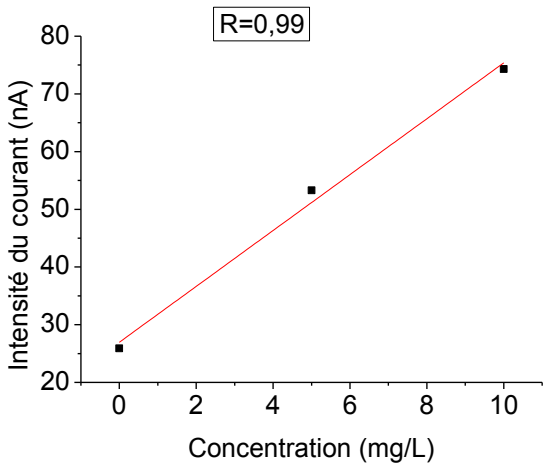


Figure 20 : Courbe de dosage relative au jus Ramy

L'analyse de cette droite nous permis de déterminer la concentration au vitamine C du jus Ramy

C_x = 557.02 mg/l

Les résultats des autres essais sont mentionnés dans le tableau suivant tableau 8 :

Tableau 8 : Effet de la répétabilité

N° d'essai	C(mg/l)
1	557.0
2	436.6
3	641.2

La concentration moyenne de la vitamine C dans le jus Ramy est : C_{moy} = 544.933 mg/l

III. 1. 3. Rouiba

La figure 21 représenté les polarogrammes du jus Rouiba à différents ajouts.

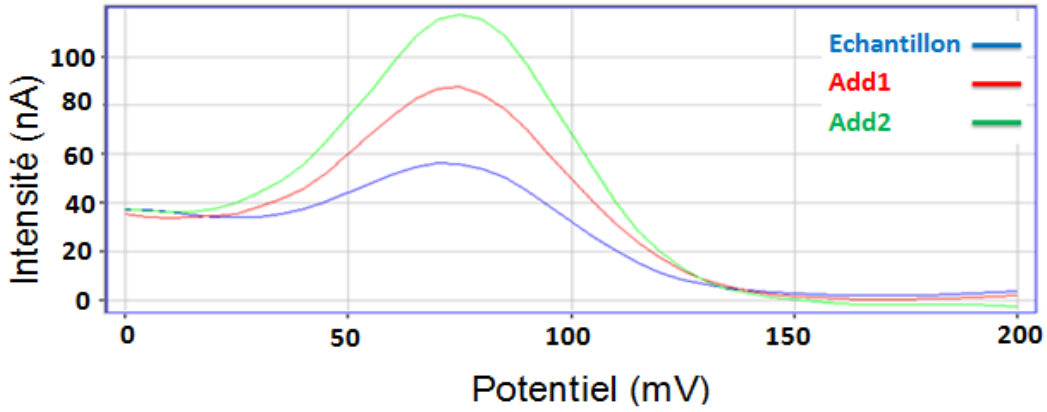


Figure 21 : Polarogrammes du jus Rouiba

A partir du ces courbes nous avons pu dresser le tableau 9 :

Tableau 9 : Evolution de I_{pic} en fonction de la concentration de l'addition en acide ascorbique.

	C(mg/l)	I_{pic} (nA)
Echantillon	0	39.12
Addition 1	5	71.12
Addition 2	10	97.16

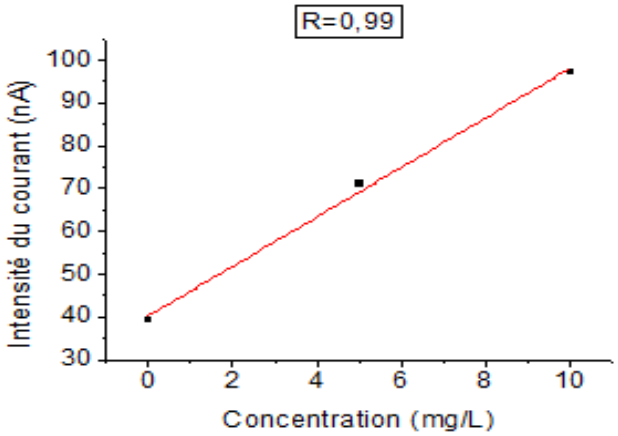


Figure 22 : Courbe de dosage relative au jus Rouiba

L'analyse de cette droite nous permis de déterminer la concentration au vitamine C du jus Rouiba : C_x = 557.02 mg/l

Les résultats des autres essais sont mentionnés dans le tableau suivant tableau 10 :

Tableau 10 : Effet de la répétabilité

N° d'essai	C(mg/l)
1	691.5
2	798.1
3	506.1
4	607.7

La concentration moyenne de la vitamine C dans le jus Rouiba est : C_{moy} = 650,850 mg/l

III. 2. Les jus importés

III. 2. 1. Joker

La figure 23 représenté les polarogrammes du jus Joker à différents ajouts.

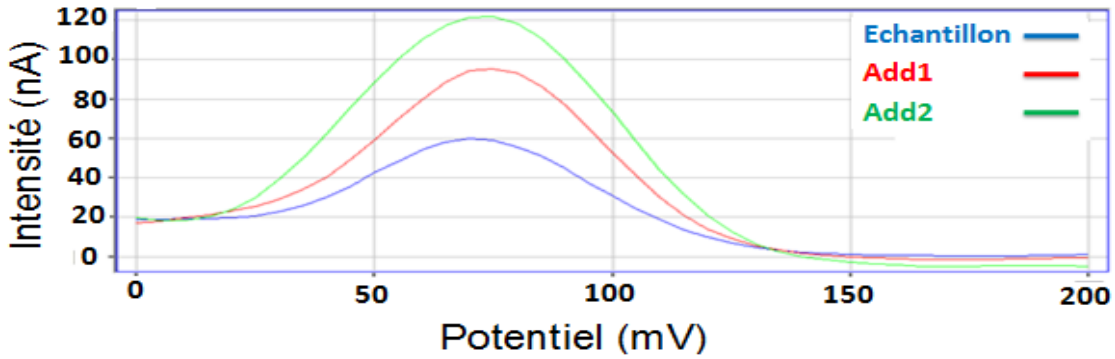


Figure 23 : Polarogrammes du jus Joker

A partir du ces courbes nous avons pu dresser le tableau 11 :

Tableau 11 : Evolution de I_{pic} en fonction de la concentration de l'addition en acide ascorbique.

	C(mg/l)	I_{pic} (nA)
Echantillon	0	50.64
Addition 1	5	85.1
Addition 2	10	112.48

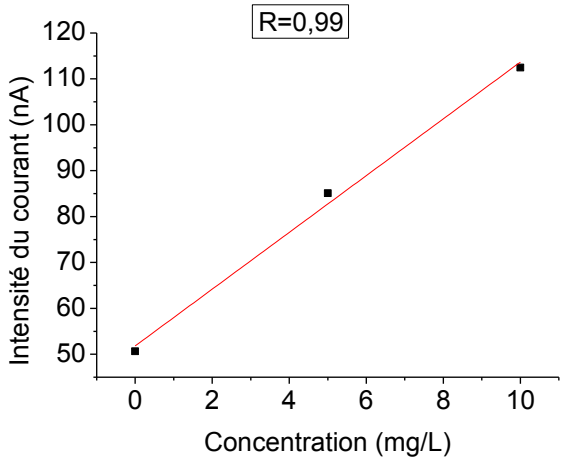


Figure 24 : Courbe de dosage relative au jus Joker

L'analyse de cette droite nous permis de déterminer la concentration au vitamine C du jus Joker :

C_x = 838,511 mg/l

Les résultats des autres essais sont mentionnés dans le tableau suivant tableau 12 :

Tableau 12 : Effet de la répétabilité

N° d'essai	C(mg/l)
1	838.5
2	938.1
3	871.1
4	808.2

La concentration moyenne de la vitamine C dans le jus Joker est : C_{moy} = 863.975 mg/l

III. 2. 2. Rauch

La figure 25 représenté les polarogrammes du jus Rauch à différents ajouts.

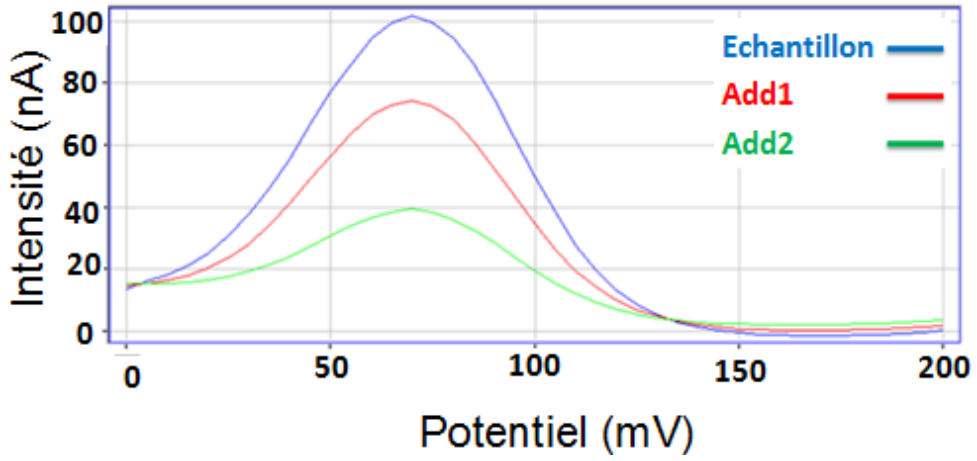


Figure25 : Polarogrammes du jus Rauch

A partir du ces courbes nous avons pu dresser le tableau 13 :

Tableau 13 : Evolution de I_{pic} en fonction de la concentration de l'addition en acide ascorbique.

	C(mg/l)	I_{pic} (nA)
Echantillon	0	33.01
Addition 1	5	65.24
Addition 2	10	96.13

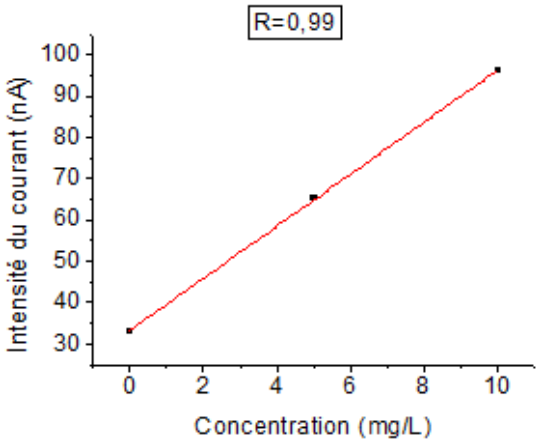


Figure 26 : Courbe de dosage relative au jus Rauch

L'analyse de cette droite nous permis de déterminer la concentration au vitamine C du jus Rauch : C_x = 526,624 mg/l

Les résultats des autres essais sont mentionnés dans le tableau suivant tableau 14 :

Tableau 14 : Effet de la répétabilité

N° d'essai	C(mg/l)
1	526.6
2	508.0
3	504.1
4	512.5

La concentration moyenne de la vitamine C dans le jus Rauch est : C_{moy} = 512.800 mg/l

III. 2. 3. Paquito

La figure 17 représenté les polarogrammes du jus Paquito à différents ajouts.

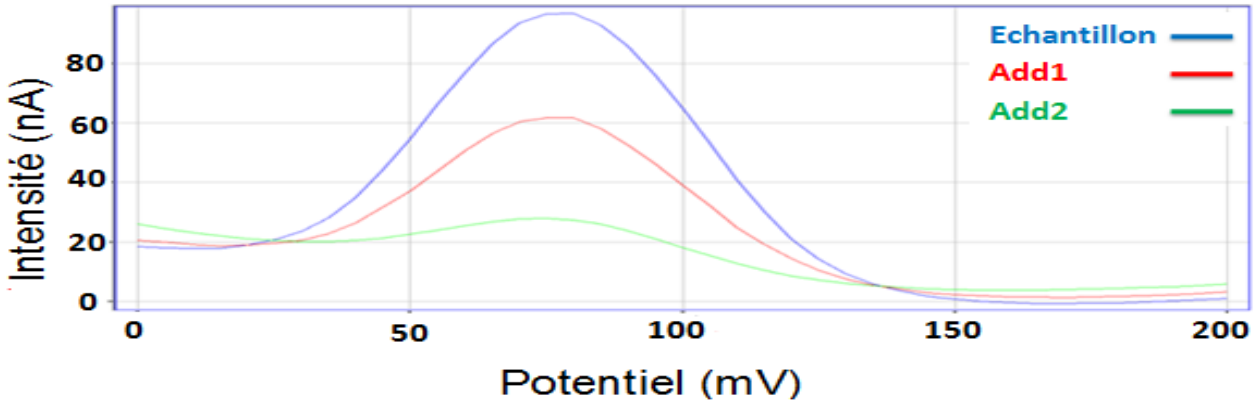


Figure 27 : Polarogrammes du jus Paquito

A partir du ces courbes nous avons pu dresser le tableau 15 :

Tableau 15 : Evolution de I_{pic} en fonction de la concentration de l'addition en acide ascorbique.

	C(mg/l)	I_{pic} (nA)
Echantillon	0	15.44
Addition 1	5	48.5
Addition 2	10	81.62

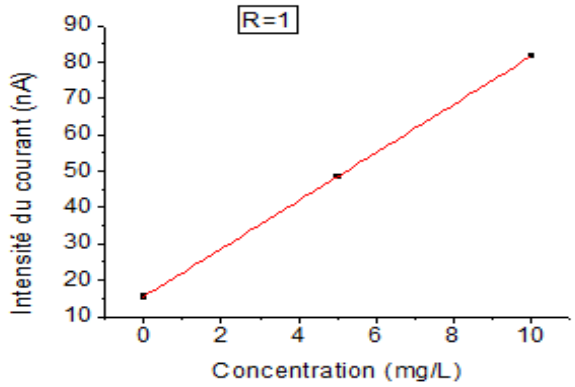


Figure 28 : Courbe de dosage relative au jus Paquito

L'analyse de cette droite nous permis de déterminer la concentration au vitamine C du jus Paquito : C_x = 233,081 mg/l

Les résultats des autres essais sont mentionnés dans le tableau suivant tableau 16 :

Tableau 16 : Effet de la répétabilité

N° d'essai	C(mg/l)
1	233.0
2	275.8
3	256.2
4	253.3

La concentration moyenne de la vitamine C dans le jus paquito est : C_{moy} = 254.575 mg/l

III. 3. Etude statistique

Le but de l'analyse est de trouver la valeur la plus probable de la quantité à déterminer et d'apprécier le degré de précision du résultat obtenu.

Pour déterminer la précision de l'essai, on utilise l'écart quadratique moyen d'un résultat

unique, ce dernier est défini comme suit :

$\sigma = \sqrt{\frac{\sum d2}{n-1}}$ où d : écart de la valeur moyenne.

n : nombre de tests.

En utilisant cette valeur, il possible de calculer l'erreur d'analyse due au hasard, qui est la plus probable.

Tableau 17 : Résultats des calculs de la vitamine C dans le jus Ngaous

N° de l'essai	C (mg/l)	Moyenne arithmétique $M=\frac{\sum X}{n}$	Ecart de la valeur moyenne d = x-M	Carrés des écarts de la valeur moyenne d^2
1	328.6	M=270.95	57.65	3323.5
2	222.7		-48.25	2328.0
3	249.9		-21.05	443.1
4	282.6		11.65	135.7
				$\sum d^2 = 6230.3$

$\sigma = \pm 45.57$

L'erreur probable due au hasard en matière d'analyse est alors égale :

$\sum = \pm \frac{t\alpha * \sigma}{\sqrt{n}}$

La valeur de l'erreur est proportionnelle à l'écart quadratique moyen σ , celui-ci doit être d'abord multiplié par un certain facteur $t\alpha$ qui dépend non seulement du degré de certitude α mais aussi du nombre des essais n.

Les limites de la valeur x à déterminer (limites de confiance) sont définies par la formule :

$x = M \pm \sum = M \pm \frac{t\alpha * \sigma}{\sqrt{n}}$

Les valeurs $t\alpha$ sont calculées d'après une table abrégée

Tableau 18 : des valeurs de $t\alpha$ pour les diverses grandeurs du degré de certitude α et du nombre de dosage n.

α / K= n-1	0.5	0.7	0.9	0.95	0.99	0.999
1	1.00	1.96	6.31	12.71	63.66	636.62
2	0.82	1.34	2.92	4.30	9.92	31.60
3	0.76	1.25	2.35	3.18	5.84	12.94
4	0.74	1.19	2.13	2.78	4.60	8.61
5	0.73	1.16	2.04	2.57	4.03	6.86
6	0.72	1.13	1.94	2.45	3.71	5.60
.	.	.	.	.	.	.
.	.	.	.	.	.	.
120	0.68	1.04	1.66	1.98	2.62	3.37

Dans le cas considéré, k = 4-1 = 3. Si le degré de certitude proposé est α = 0.95, on trouvera la valeur $t\alpha$= 3.18

Pour le jus Ngaous la concentration de la vitamine C trouvée est :

$$x = 270.95 \pm 72.45$$

Tableau 19 : Résultats des calculs de la vitamine C dans le jus Ramy

N° de l'essai	C (mg/l)	Moyenne arithmétique $M=\frac{\sum X}{n}$	Ecart de la valeur moyenne d = x-M	Carrés des écarts de la valeur moyenne d^2
1	557.0		12.06	145.44
2	436.6		-108.33	11735.38
3	641.2	M=544.933	96.26	9265.98
				$\sum d^2 = 21146.8$

$\sigma = \pm 102.82$

Dans le cas considéré, k = 3-1 = 2. Si le degré de certitude proposé est α = 0.95, on trouvera la valeur $t\alpha$= 4.30

La concentration de la vitamine C dans le jus Ramy est égale :

$$x = 544.933 \pm 255.26$$

Tableau 20 : Résultats des calculs de la vitamine C dans le jus Rouiba

N° de l'essai	C (mg/l)	Moyenne arithmétique $M=\frac{\sum X}{n}$	Ecart de la valeur moyenne d = x-M	Carrés des écarts de la valeur moyenne d^2
1	691.5	M=650.850	40.65	1652.42
2	798.1		147.25	21682.56
3	506.1		-144.75	20952.56
4	607.7		-43.15	1861.92
				$\sum d^2 = 46149.46$

$\sigma = \pm 124.02$

Dans le cas considéré, k = 4-1 = 3. Si le degré de certitude proposé est $\alpha = 0.95$, on trouvera la valeur $t\alpha = 3.18$

La concentration de la vitamine C dans le jus Rouiba est égale :

$$x = 650.850 \pm 197.19$$

Tableau 21 : Résultats des calculs de la vitamine C dans le jus Joker

N° de l'essai	C (mg/l)	Moyenne arithmétique $M=\frac{\sum X}{n}$	Ecart de la valeur moyenne d = x-M	Carrés des écarts de la valeur moyenne d^2
1	838.5	M=863.975	-25.47	648.97
2	938.1		74.12	5494.51
3	871.1		7.12	50.76
4	808.2		-55.77	3110.85
				$\sum d^2 = 9305.09$

$\sigma = \pm 55.69$

Dans le cas considéré, k = 4-1 = 3. Si le degré de certitude proposé est $\alpha = 0.95$, on trouvera la valeur $t\alpha = 3.18$

Pour la vitamine C dans le jus Joker on a trouvé

$$x = 863.975 \pm 88.54$$

Tableau 22 : Résultats des calculs de la vitamine C dans le jus Rauch

N° de l'essai	C (mg/l)	Moyenne arithmétique $M=\frac{\sum X}{n}$	Ecart de la valeur moyenne d = x-M	Carrés des écarts de la valeur moyenne d^2
1	526.6	M=512.8	13.8	190.44
2	508.0		-4.8	23.04
3	504.1		-8.7	75.69
4	512.5		-0.3	0.09
				$\sum d^2 = 289.26$

$\sigma = \pm 9.81$

Dans le cas considéré, k = 4-1 = 3. Si le degré de certitude proposé est $\alpha = 0.95$, on trouvera la valeur $t\alpha = 3.18$

Pour la vitamine C dans le jus Rauch on trouvé

$$x = 512.8 \pm 15.61$$

Tableau 23 : Résultats des calculs de la vitamine C dans le jus Paquito

N° de l'essai	C (mg/l)	Moyenne arithmétique $M=\frac{\sum X}{n}$	Ecart de la valeur moyenne d = x-M	Carrés des écarts de la valeur moyenne d^2
1	233.0	M=254.575	-21.57	465.26
2	275.8		21.22	450.28
3	256.2		1.62	2.62
4	253.3		-1.27	1.61
				$\sum d^2 = 919.77$

$\sigma = \pm 17.50$

Dans le cas considéré, k = 4-1 = 3. Si le degré de certitude proposé est $\alpha = 0.95$, on trouvera la valeur $t\alpha = 3.18$

Pour la vitamine C dans le jus Paquito on trouvé :

$$x = 254.575 \pm 27.82$$

Tableau récapitulatif

Tableau 24 : Les concentrations de la vitamine C dans les jus locaux et importés.

	Jus	Concentration trouvée (mg/l)	Concentration donnée (mg/l)
Locaux	Ngaous	270.95 ± 72.45	248
	Ramy	544.933 ± 255.26	
	Rouiba	650.850 ± 197.19	120
Importés	Joker	863.975 ± 88.54	
	Rauch	512.8 ± 15.61	
	Paquito	254.575 ± 27.82	200

Les résultats obtenus montrent que globalement la teneur en vitamine C est présente de manière presque égale dans les jus locaux et importés, bien que la concentration de la vitamine C dans le jus Joker soit assez grande. On note également que les teneurs en vitamine C sont du même ordre de grandeur que celles qu'on trouve d'habitude dans les oranges (30 – 40 mg /100g) [53]. Cependant la différence observée que ce soit au niveau des jus locaux ou importés est due à : la variété et la maturité des oranges, la manipulation des fruits frais, aux procédés de transformation (pasteurisation, congélation) et au temps d'entreposage et d'emballage.

La différence de L'erreur probable observée au niveau des jus importés et locaux revient à la variation de la taille de la goutte de mercure.

A la fin de travail nous avons jugé utile de déterminer nos propres paramètres. Pour ce faire nous avons étudié l'influence de la vitesse de balayage, de l'amplitude de pulsation et de la concentration de l'électrolyte support sur l'intensité du pic.

III. 4. Détermination des conditions optimales pour le dosage de l'acide ascorbique

On met 20ml d'acétate tampon (pH=4.6) dans la cellule polarographique, puis on ajoute 120µL de la solution standard d'acide ascorbique et on trace le polarogramme en mode PID et ceci en faisant varier la vitesse de balayage, l'amplitude de pulsation et la concentration de l'électrolyte support.

a. Effet de la vitesse de balayage

Le premier paramètre étudié est la vitesse de balayage. Les vitesses de balayage testées sur la sensibilité de la méthode proposée sont : 1mV/s, 2,5 mV/s, 5 mV/s, et 10 mV/s. Les résultats obtenus (figure29) montrent que la sensibilité augmentée avec la vitesse de balayage. On ne peut aller au delà de cette vitesse pour rester dans les conditions quasi-stationnaires.

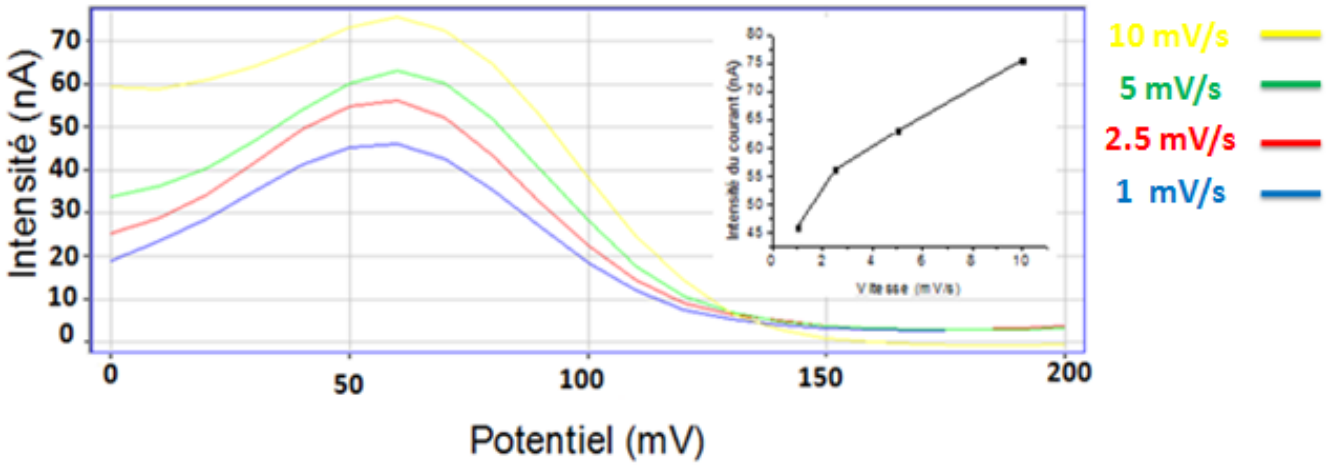


Figure 29 : Effet de la vitesse de balayage sur l'intensité du pic

Dans notre étude nous avons opté pour la vitesse de 5 mV/s proche de la littérature [Metrohm].

b. Effet de l'amplitude

Le deuxième paramètre étudié est l'amplitude de pulsation. Les valeurs de l'amplitude testées sont : 10 mV, 25 mV, 50 mV. D'après les résultats obtenus (figure30) on peut dire que l'augmentation de l'amplitude augmenté la sensibilité et la résolution à 50 mV.

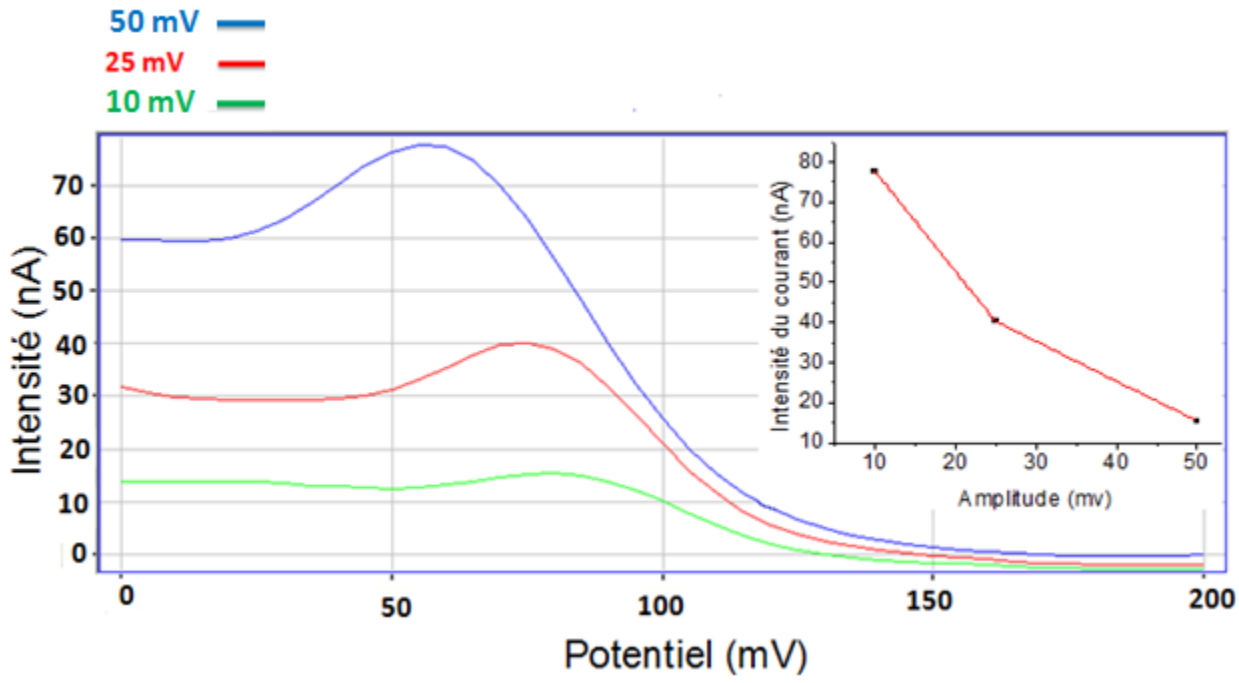


Figure 30 : Effet de l'amplitude sur l'intensité du pic

c. Effet de l'électrolyte support

Le troisième paramètre étudié est la concentration de l'électrolyte support (acétate tampon), les concentrations en électrolyte support testées sont : 0,01M, 0,03M, 0,05M, 0,1M. Les résultats obtenus (figure31) montrent que l'augmentation de la concentration de l'électrolyte support diminue la sensibilité et la résolution à 0,1M.

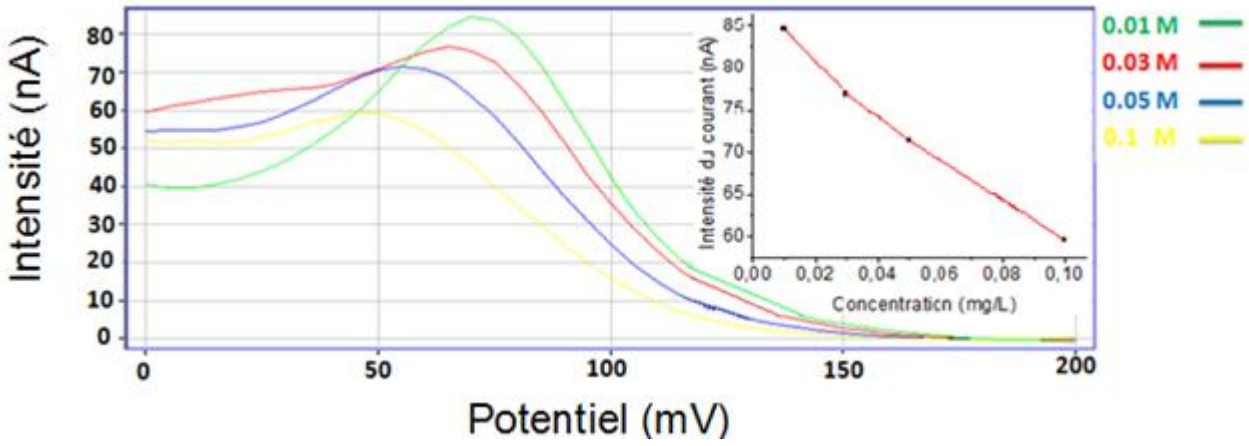


Figure 31 : Effet de La concentration de l'électrolyte support sur l'intensité du pic dans une solution standard d'acide ascorbique 1g/L

D'après notre étude les meilleures conditions sont :

- vitesse de balayage : 10 mV/s
- Amplitude ; 50 mV
- Concentration de l'électrolyte support : 0,0l M

Toutefois il est important de noter que les conditions que nous avons utilisées conviennent parfaitement au dosage de la vitamine C dans les jus de fruit car elle s'y trouve à des teneurs relativement grandes.

CONCLUSION GENERALE

Parmi les nombreuses méthodes physico-chimiques à la disposition de l'analyste, la polarographie impulsionnelle différentielle 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.

Les résultats de ce travail permettent d'avoir une idée sur la composition des jus commercialisés en Algérie. Grace aux avantages qu'elle présente, la polarographie impulsionnelle différentielle semble être une technique adéquate pour la quantification de la vitamine C dans d'autre aliments d'origine végétale ou animale.

Ceci incite à proposer d'utiliser cette technique au niveau de secteur industriel (dosage des substances inorganiques, organiques, organométalliques ou biologiques) en Algérie à cause de ses avantages qui sont nombreux notamment en termes de coûts (analyse et appareillage), de simplicité de l'appareillage mais aussi et surtout de performances analytiques (limites de détection, analyse multiélémentaire, sensibilité etc..).

Références

[1] M.F. Dreyfuss , P. J.P. Cardot, Métrologie et analyse du médicament, ANALUSIS, 1999, P499-500

[2] M.L. Tercier et al.Stripping voltammery using sequential standard addition calibration with the anlytes themselves actind as internal standard analytica chimica, 2009, P1-5.

[3] Wang J. Analytical Electrochemistry, 3th., Hoboken, New Jersey, USA : John Wiley & Sons, Inc, 2006, P250

[4] Ankri, J. Médecin, Université Paris V . Médicament et santé publique, 1999, P20

[5] Alain Le Hir , Jean-Claude Chaumeil, Denis Brossard, Bonnes pratiques de fabrication des médicaments, Pharmacie galénique, 2009, P2-5

[6] DEQM. Pharmacopée Européenne. 5e édition. Strasbourg : Conseil de l'Europe, 2004, P2976.

[7] Aiache JM., Aiache S., Renoux R., Initiation à la connaissance du médicament.4e édition. Paris : Masson, 2001, P337. (Collection Abrégés)

[8] Le hir A. Pharmacie Galénique : Bonnes Pratiques de Fabrication des médicaments. 8e édition. Paris : Masson, 2001, P394. (Collection Abrégés)

[9] Véronique Mallo. Sous-traitance et développement pharmaceutique d'un médicament : application a la conception d'un comprimé a croquer. Sciences pharmaceutiques, 2015, P77-78

[10] Khalid Serraj, Laure Federici, Ecatherina Ciobanu, Emmanuel Andrès, Les carences vitaminiques : du symptôme au traitement, vol. 13, n° 6, novembre-décembre 2007, P411

[11] Sauvant P, Azaïs-Braesco V. Vitamines liposolubles. In : Basdevant

A, Laville M, Lerebours E, eds. Traité de nutrition clinique de l'adulte. Paris : Médecine-Sciences Flammarion, 2001, P183-93.

[12] K Akhilender Naidu, Vitamin C in human health and disease is still a mystery ? An overview, Nutrition Journal, 2003, P1-2

[13] Emmanuelle Couturier, Alimentaion, Les aliments riches en vitamine C, 2016, P 1

[14] Anderson D, Phillips BJ, Yu T, Edwards AJ, Ayesh R and Butterworth KR: The effect vitamin C supplementation on biomarkers of oxygen radical generated damage in human volunteers with low or high cholesterol levels. of Environ Mol Mutagens, 1997, P161-174

[15] Johnson CS, Steinberg FM and Rucker RB: Ascorbic acid**.** In: Hand book of Vitamins Edited by: Rucker RB, Sultie JW, McCormick, DB, Machlin LJ. Marcel Dekker Inc, New York, 1998, P529-585.

[16] Dr P. Houzén , Généralités sur le dosage des médicaments**,** Pharmacologie et Thérapeutique, 2011, P55-66

[17] Mendham.Denney.Barnes.Thomas, Analyse chimique quantitative de vogel.6éme edition, 1998, P283,314

[18] Jean-Louis Burgot, méthodes électrochimiques d'analyse, 2011. P157,195,196,223,224,243

[19] Christian Ducauze. chimie analytique, analyse chimique et chimiométrie. concepts, démarche et méthodes, 2014, P140

[20] Gérard Durand**.** Potentiométrie – Définitions et principes généraux, 2010, P2115 V2

[21] Babu,K. Sudhakar, Polarographic study of metal complexes 2 amino 2 ethyl 1 3 propanediol as complexing agent, Sri Krishnadevaraya University, 1995, P26

[22] Didier Hauchard**.**Polarographie – Techniques polarographiques en analyse, 2008**.** P2135 V1

[23] Fabian Miomandre, said Sadki, Pierre Audebert, Rachel Méallet-Renault, Electrochimie Des concepts aux applications, 2éme édition, 2011, P156,167,168,171

[24] Cédric Hubert, optimisation et validation de deux méthodes de dosage dans le cadre de la mise au point d'un dispositif intra-utérin à libération hormonale contrôlée, universite de liege**,** faculté de médecine, département de pharmacie, 2005, P16

[25] Khebbab Leila, Etude électrochimique de dérivés de l'acide 2nitrophenyl sulfonyl acétique, l'universite mentouri de constantine, 2010, P9,11

[26] Francis Rouessac ,Annick Rouessac avec la collaboration de Daniel Cruché, analyse chimique, Méthodes et techniques, instrumentales modernes**,** 6e édition, 2004, P396-399

[27] Denise Krulic. Techniques électroanalytiques à potentiel imposé Notes de cours, universite pierre et marie curie, 2005, P32,33

[28] Satyanarayana,D.N,Studies in organic polarography including some other aspects of organic compounds synthesis electrochemical behaviour and corrosion studies of some substituted arthydrazono pyrazoline 5 ones and arythydrazono isoxazoline5ones, Sri KrishnadevarayaUniversity,2002,P50,52

[29] Olivier Vittori**.** Polarographie, 1988, P2135 V1

[30] Didier Hauchard**.** Polarographie – Principes d'application et mise en oeuvre des techniques polarographiques, 2011, P2136 V1

[31] Kolthoff.I.M , Lingane.J.J. Polarography, Polarographic analysis and voltammetry (Polarographie – Analyse polarographiqueet voltampérométrie).Interscience Publishers 1946.

[32] Kolthoff.I.M, Lingane.J.J.Polarography (Polarographie). 2eéd.vol.2, Interscience Pub1 1952.

[33] Zuman.P, Organic polarographic analysis(Analyse organique par polarographie). Mac Millan 1964.

[34] Eberson (L.) et Schafer (H.) . – Topics in current chemistry. Organic electrochemistry (Revue de chimie : électrochimie organique). Springer Verlag 1971.

[35**]** Zuman (P.) . – Substituent effects in organic polarography (Influence de la substitution en polarographie organique) . Plenum Press 1967.

[36] Meites .L. Zuman .P. CRC Handbook series in organic electrochemistry. Vol. I à IV, CRC Press, Inc. 2000.

[37**]** Siegerman .H. Oxidation and reduction half-wave potentials of organic compounds (Potentiels de demi-vague d'oxydation et de réduction de composés organiques)Dans Technique of electro-organo synthesis (Technique d'électrosynthèse organique) WEINBERG .N.L. Wiley Interscience 1975.

[38**]** Brezina (M.) et Zuman (P.). – Polarography in medicine, biochemistry and pharmacy (Polarographie en médecine, biochimie et pharmacie). Wiley Interscience, New York 1958.

[39] Zuman (P.). – Topics in organic polarography (Au sujet de la polarographie organique).Plenum Press, New York 1970.

[40] meites (L.), zuman (P.), narayanan (A.), fenner (T.L.) et jandik (J.). – *CRC* Handbook Series in Inorganic Electrochemistry (Handbook en électrochimie inorganique).CRC Press, vol. I à VIII 1980 à 1988.

[41] Zuman (P). – Half *a* century of research using polarography. Microchemical Journal, *57*, 1997 P4-51.

[42] Crow (D.R.). – Polarography *of* metal complexes (Polarographie des complexes métalliques). Academic Press 1969.

[43] Koryta (J.). – Electrochemical kinetics of metal complexes (Cinétique électrochimique des complexes métalliques). Dans Advances in electrochemistry and electroanalytical engineering (Aspects récents de l'électrochimie et de l'appareillage électroanalytique) Delahay (P.) et Tobias (C.W.). John Wiley and Sons, P289-377.

[44] G.C.Barker,A.W.Gardner,Z.Anal.Chem. 1960, P79,173

[45] Denise Krulic. Aperçu des méthodes électrochimiques couramment utilisées. 1993. P5-7

[46] Fethi Bedioui, Sophie GRIVEAU**.**Voltampérométrie sur électrode solide - Perfectionnement des performances. 2009. P2128 V2

[47] Aoki (K.), Tokuda (K.) et Matsuda (H.). – Theory of differential pulse voltammetry at stationary planar electrodes. J. Electroanal. Chem. 1984. 175, P1

[48] M. Attar Tarik. Dosage des éléments traces dans le sang humain par voltampérométrie à

redissolution anodique et /ou cathodique. universite abou bekr belkaid – tlemcen. 2014. P42-43

[49] U. Schrorder, H. Kahlert Pratical Voltammetry with the 757 VA Computrace Metrohm

[50] C. Sablayrolles et al. Development and validation of methods for the trace determination of phthalates in sludge and vegetables. *J.* Chromatography A., 1072.2005.P233-242.

[51] E. Ezan, J. M Grognet. Problèmes posés par la validation de I'immunoanalyse de médicaments. Immunoanal Biol Spéc., 9.1994.P153-158.

[52] M.M.W.B. Hendriks,H.J. Boer,A.K. Snilde. Robutnas of analytical chemical methods and pharmaceubical technological products. Data handling in science and technology. 19.1996. P346

[53] N. Benajiba[1], A. Frigola[2], I. Frasquet[2], L. Borghos [1-3], F. Rafiki[3], H. Aguenaou[1] Quantification par la technique de polarographie de la vitamine C, du zinc, du cuivre, du cadmium et du plomb dans les fruits et les légumes fraîs de la région du Nord-Ouest du Maroc. BiomatecEcho, Vol2,(5).2007.P63-69

ملخص

الفيتامينات هي عناصر أساسية للنمو والتنمية المتناغمة للجسم. وعلاوة على ذلك، فإن نقصها يشكل مشكلة صحية عامة رئيسية ولها عواقب على التنمية الاجتماعية - الاقتصادية للأسرة بوجه خاص للمجتمع عموما. من بين العديد من الطرق الفيزيوكيميائية المتاحة للمحلل، البولاروغرافيا النبضية التفاضلية تحتل مكانا خاصا في طرق التحليل, فى عملنا هذا استخدمنا هذه التقنية لتحديد محتوى فيتامين C في عصائر الفواكه المسوقة في الجزائر.

.

كلمات مفتاحية: البولاروغرافيا النبضية التفاضلية ; فيتامين **C**

Résumé

Les vitamines sont des éléments essentiels à la croissance et au développement harmonieux de l'organisme. Par ailleurs, leur carence constitue un problème majeur de la santé publique et a des conséquences sur le développement socioéconomique de la famille en particulier et de la communauté en général. Parmi les nombreuses méthodes physico-chimiques à la disposition de l'analyste, la polarographie impulsionnelle différentielle occupe une place particulière dans les méthodes d'analyse, elle est utilisée ici pour déterminer la teneur en vitamine C dans les jus de fruits commercialisés en Algérie.

Mots-clés : Polarographie impulsionnelle différentielle ; Vitamine C

Abstract

Vitamins are essential elements for the growth and harmonious development of the body. Moreover, their deficiency is a major public health problem and has consequences for the socio-economic development of the family in particular and of the community in general. Among many physicochemical methods available to the analyst, the differential pulse polarography occupies a special place in the methods of analysis, In this work we have used this technique in order to determine vitamin C content in fruit juice in the Algerian markets.

Key words: differential pulse polarography ; Vitamin C