



HAL
open science

Dosage du bismuth et du cobalt par polarographie impulsionnelle avec redissolution anodique

Didier Deparis

► **To cite this version:**

Didier Deparis. Dosage du bismuth et du cobalt par polarographie impulsionnelle avec redissolution anodique. Ecotoxicologie. Université Paul Verlaine - Metz, 1978. Français. NNT : 1978METZ011S . tel-01775596

HAL Id: tel-01775596

<https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01775596>

Submitted on 24 Apr 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

THÈSE

présentée à l'Université de Metz

pour obtenir le titre de

DOCTEUR DE 3^e CYCLE

EN ECOTOXICOLOGIE ET CHIMIE DE L'ENVIRONNEMENT

par

Didier DEPARIS

Maître ès Sciences

BIBLIOTHEQUE UNIVERSITAIRE -METZ	
N° inv.	19780225
Cote	S/M3 78/μ
Loc	Magasin

DOSAGE DU BISMUTH ET DU COBALT PAR POLAROGRAPHIE IMPULSIONNELLE AVEC REDISSOLUTION ANODIQUE

soutenue le 23 Juin 1978



Jury : MM. JOUANY, Professeur Président
 BLOCH, Professeur
 BURNEL, Professeur
 Mme HUTIN, Maître-Assistant

} Examineurs

AVANT-PROPOS

Que Monsieur le Professeur JOUANY, Directeur scientifique de L'Institut Européen d'Ecologie, qui a bien voulu accepter la présidence de notre jury, trouve ici l'expression de notre gratitude.

Nos remerciements s'adressent également à Monsieur le Professeur BLOCH, qui nous a fait l'honneur de participer à notre jury et à Monsieur le Professeur PELT, Directeur de l'Institut Européen d'Ecologie, pour l'accueil qu'il nous a réservé dans son établissement.

Ce travail a été effectué dans le laboratoire de Chimie des Facultés de Médecine de l'Université de NANCY I, sous la direction de Monsieur le Professeur D. BURNEL.

Nous lui sommes profondément reconnaissant pour l'accueil qu'il nous a réservé dans son laboratoire. Ce travail n'a pu être réalisé que grâce aux encouragements et aux conseils qu'il n'a cessé de nous prodiguer.

Nos remerciements s'adressent également à Madame HUTIN, Maître Assistant, pour l'aide constante et les conseils qu'elle nous a donnés tout au long de ce travail.

Nous remercions nos camarades de laboratoire pour l'amitié qu'ils nous ont accordée.

Nous exprimons toutes nos reconnaissances à MM. les Professeurs GAUCHER, ROYER, PENIN et les Assistants Chefs de Clinique FAURE et NETTER pour l'intérêt qu'ils n'ont cessé de porter à notre travail.

TABLE DES MATIERES

	page.
CHAPITRE I - <u>INTRODUCTION</u>	1
CHAPITRE II - <u>THEORIE</u>	5
1°) Polarographie classique	5
2°) Evolution de la polarographie : polarographie impulsionnelle différentielle-redissolution anodique	6
a) Polarographie impulsionnelle différen- tielle	6
b) Utilisation de la technique par redis- solution anodique en polarographie classique et en polarographie impulsion- nelle	9
CHAPITRE III - <u>APPAREILLAGE</u>	16
CHAPITRE IV - <u>MISE AU POINT DU DOSAGE DU BISMUTH</u>	18
A) <u>Utilisation de l'électrode à goutte pendante de mercure</u>	18
1°) Description de l'électrode utilisée	18
2°) Choix du milieu	19
3°) Potentiel de préélectrolyse	19
4°) Vérification de la relation $I_m = Kct$	20
a) proportionnalité au temps	21
b) proportionnalité à la concentration	21
B) <u>Electrodes solides</u>	22
1°) Electrode de carbone vitreux	23
a) description	23
b) résultats	23
2°) Electrodes d'or et de platine	24
3°) Electrode de carbone vitreux recouverte d'un dépôt d'or	24
C) <u>Choix du milieu et du potentiel de préélectrolyse</u>	26

D) <u>Résultats</u>	28
E) <u>Etude des interférences</u>	30
1°) Réactifs	32
2°) Mode opératoire	33
3°) Résultats	
a) Domaine 10^{-9} - 10^{-8} M	33
b) Domaine 10^{-8} - 10^{-7} M	33
c) Domaine 10^{-7} - 10^{-6} M	33
d) Domaine 10^{-6} - 10^{-5} M	33
F) <u>Applications du dosage à différents milieux</u>	34
1°) Modé opératoire	35
2°) Application du dosage à différents milieux	36
a) l'eau	37
b) Milieux biologiques	38
. Dosage du Bismuth dans les urines	39
. Dosage du Bismuth dans le sang	40
. Dosage du Bismuth dans le tissu osseux	42
G) <u>Applications du dosage du Bismuth à la toxicologie</u>	43
1°) Dosage dans les liquides biologiques	43
2°) Dosage du Bismuth dans les tissus osseux	
Application à trois cas d'arthropathie	45
a) Malade n° 1	45
b) Malade n° 2	46
c) Malade n° 3	46
<u>CONCLUSION</u>	48
<u>CHAPITRE V - MISE AU POINT DU DOSAGE DU COBALT</u>	50
A) <u>Choix de l'électrode de travail</u>	50
1°) Utilisation de l'électrode à goutte pendante de mercure	50
2°) Utilisation des électrodes d'or ou platine	51
3°) Utilisation de l'électrode de carbone vitreux	51

4°) Utilisation de l'électrode de carbure de bore	52
5°) Utilisation d'une électrode de carbone vitreux recouverte d'un film de mercure	53
B) <u>Choix du milieu</u>	54
1°) Milieu acide perchlorique	54
2°) Milieu thiocyanate	55
3°) Milieu ammoniacal	55
a) Milieu ammoniacal en présence de chromates ou de nitrites	57
b) Milieu ammoniacal en présence d'E.D.T.A.	58
c) Milieu ammoniacal en présence de diéthylthiocarbamate	58
d) Milieu ammoniacal en présence d'iodures	58
C) <u>Choix du potentiel de préélectrolyse</u>	59
D) <u>Vérification des relations de proportionnalité</u>	
$I_m = Kct$	60
E) <u>Influence de la purge</u>	61
F) <u>Etude des interférences</u>	62
1°) Réactifs	64
2°) Mode opératoire	64
3°) Rappels	65
G) <u>Résultats</u>	66
1°) Tests de reproductibilité	66
2°) Milieux biologiques	67
a) urines	67
b) sang total	68

CONCLUSION

ABREVIATIONS

mm	millimètre
cm	centimètre
mm ²	millimètre carré
cm ³	centimètre cube
μl	microlitre
μg	microgramme
mg	milligramme
μg/l	microgramme par litre
t	temps de préélectrolyse
mn	minutes
s	secondes
$E \frac{1}{2}$	potentiel de demi-vague
ΔE	amplitude des impulsions
V	Volt-potentiel
mV	millivolt
Ve	potentiel de préélectrolyse
Vr	potentiel de repos
Va	potentiel de réoxydation anodique
q	quantité de métal déposé sur l'électrode
Q	Quantité d'électricité
Im	hauteur maximum du pic de redissolution
Ia	intensité du courant en présence d'agitation
Id	intensité du courant en présence uniquement de diffusion
Ir	intensité du courant de redissolution
μA	microampère
pH	cologarithme de la concentration en ions H ⁺
c	concentration
E.C.S.	Electrode au calomel saturé en Chlorure de potassium

I - INTRODUCTION

Le but de notre travail est la mise au point du dosage du Bismuth et du Cobalt par polarographie impulsionnelle avec redissolution anodique dans l'eau et les milieux biologiques. Ce travail se place dans le cadre des recherches effectuées au laboratoire de Chimie des Facultés de médecine de Nancy et commence par le dosage de ces éléments dans l'eau. C'est donc dans ce milieu que seront recherchées les conditions optimales de dosage et que sera testée dans un premier temps la méthode. Dans un deuxième temps, nous appliquerons les résultats à des milieux plus complexes comme le sang, les urines dans le cas du Bismuth et du Cobalt, dans les os dans le cas du Bismuth.

Nous rappellerons très brièvement la place du Bismuth et du Cobalt dans le domaine biologique afin de mieux apprécier la nécessité d'une bonne connaissance de leur concentration.

On connaît depuis longtemps les effets secondaires liés à l'absorption de sels de Bismuth et touchant plusieurs systèmes, entre autres digestif et urinaire. Les complications osseuses des sels injectables de Bismuth, utilisés dans le traitement de la syphilis sont connues également de longue date : troubles de la croissance squelettique chez l'enfant (1 - 2), ostéoses décalcifiantes mixtes chez l'adulte (3-4-5).

Si le Bismuth a été progressivement abandonné dans sa forme injectable, ses sels dits insolubles (sous nitrates, carbonates etc.) ont été très largement utilisés par voie orale jusqu'à ces toutes dernières années en pathologie digestive.

Les sous-nitrates de Bismuth sont responsables d'accidents respiratoires par transformations intrainlestinales des nitrates en nitrites et formation de composés méthémoglobinémiques. Depuis quelques années, de nombreux cas d'encéphalopathies myocloniques ont pu être enregistrés en Australie et en France (6-7-8-9-10-11-12-13-14) après absorption de sels insolubles de Bismuth au cours desquelles des arthropathies des épaules ont été décrites (15). Les relations entre ces arthropathies et l'intoxication au Bismuth semblent certaines mais d'une nature non élucidée non plus que la stricte sélectivité des atteintes des épaules.

Les propriétés pharmacologiques du sous nitrate de Bismuth plus particulièrement responsable de l'encéphalopathie (avec son proche voisin le sous gallate de Bismuth) seraient d'absorber l'eau (raison de leur utilisation en cas de diarrhées) de retarder la fermentation et la putréfaction, et d'exercer un pouvoir bactéricide sur un certain nombre de coques et de colibacilles.

Les symptômes de ces encéphalopathies sont généralement : l'asthénie, le ralentissement psychique, la confusion mentale, des troubles de la statique et de la marche. L'évolution de ces encéphalopathies aiguës s'avère constamment régressive après l'arrêt de l'ingestion du bismuth et son élimination intestinale avec guérison sans séquelles. On peut observer des rechutes par poussées successives lors de la reprise du médicament.

Les dosages sanguins et urinaires du Bismuth s'accordent pour confirmer une élévation considérable des taux de Bismuth dans le sang et les urines lors de l'intoxication.

La biochimie du Cobalt est dominée par celle de la vitamine B 12 et il n'est pas certain que le métal joue un rôle biologique en dehors de la cobalamine (16). Les animaux, comme les végétaux, sont incapables de synthétiser la vitamine B12, seuls les microorganismes ont ce pouvoir. La vitamine B12 est absorbée au niveau de l'estomac et dans la partie toute supérieure de l'intestin. Elle doit donc être présente dans le bol alimentaire des portions supérieures du tube digestif.

Chez les animaux carnivores, et chez l'homme non strictement végétarien, la nourriture contient des taux suffisants de cobalamine, dont un microgramme par jour suffit si l'absorption est correcte.

Malgré quelques recherches effectuées à l'aide du Cobalt ordinaire ou du ⁶⁰Co radioactif, le métabolisme du métal est encore mal connu.

L'absorption dépend probablement de la dose, une dose faible (moins de 10 µg) est absorbée et éliminée dans l'urine chez l'homme, une dose plus forte n'est que partiellement absorbée et la plus grande part se retrouve dans les fèces.

La toxicité du Cobalt est faible. L'homme supporte une dose de 150 mg par jour, mais non de 500 mg.

La manifestation de l'effet du Cobalt aux doses modérées est la polyglobulie (17) dont le mécanisme semble encore incertain. Il ne passe pas par la vitamine B12, qui ne la provoque pas. On a invoqué la formation de complexes de coordination avec les groupements thiols interférant avec la respiration cellulaire et activant l'hématopoïèse par anoxie (18).

L'effet hématopoïétique du Cobalt a été utilisé dans diverses anémies mais n'apparaît pas convaincant sur le plan thérapeutique.

Le Cobalt aurait également un effet indirect sur le métabolisme de l'iode (19-17) et pourrait donc avoir un rôle dans le développement ou la prévention du goître.

Le Cobalt a été établi comme étant un agent étiologique dans une série d'accidents cardiaques graves chez des personnes consommant de grandes quantités de bière, cette bière ayant été traitée par des sels de Cobalt afin de stabiliser la mousse (17).

Enfin, le Cobalt 60, un des isotopes radio-actifs du Cobalt, possède une durée de vie de 5 ans et des radiations gamma très pénétrantes. Employé en radiothérapie, il permet d'atteindre des tumeurs très profondes. La mise au point de la bombe à Cobalt a été un énorme progrès dans la lutte menée contre le cancer.

Du point de vue analytique, le Bismuth a fait l'objet d'un très grand nombre de travaux utilisant essentiellement quatre grandes techniques : la colorimétrie (20), la spectroscopie d'absorption atomique (21-22-23-24-), la fluorescence atomique (25) et la polarographie (26 à 36).

La colorimétrie, par suite de son manque de sensibilité n'est utilisable que dans des cas bien particuliers d'intoxication aiguë.

L'absorption atomique, d'après les utilisateurs, manque de reproductibilité et de spécificité.

Quant à la fluorescence atomique, c'est une technique très peu utilisée sur laquelle il est difficile de porter un jugement de valeur.

Si nous considérons les techniques polarographiques utilisées jusqu'à présent, elles sont loin de donner toute satisfaction par suite d'un manque de spécificité et de sensibilité. Néanmoins, la littérature fait état de techniques polarographiques variées.

Le manque de sensibilité est lié essentiellement à l'utilisation la plus courante de l'électrode à goutte pendante de mercure. Quant au manque de spécificité, il est lié à l'interférence du cuivre et d'autres éléments.

Il nous paraissait donc intéressant dans le cadre du dosage du Bismuth, de mettre au point un dosage qui permette d'atteindre des sensibilités de l'ordre de 10^{-9} ion g/l avec une très bonne reproductibilité et sélectivité par élimination des interférences.

Le dosage du Cobalt est basé essentiellement sur trois techniques, la colorimétrie (20-37), la spectroscopie d'absorption atomique (38-39-40-), les méthodes électrochimiques (41 à 63)

Par colorimétrie, NGUYEN HAC HUONG (37) a déterminé la cobaltémie moyenne chez les vietnamiens et a trouvé 794 μg de Cobalt par litre de sérum.

Par absorption atomique, MUZZARELLI (39) et DELVES (38) trouvent des chiffres beaucoup moins importants de l'ordre de 6 à 8 μg par litre de sérum.

Nous observons donc au niveau du Cobalt, un manque sérieux de connaissance des concentrations.

Il nous paraissait intéressant de mettre au point dans notre spécialité, donc par polarographie, un dosage du Cobalt qui nous permette d'approcher plus sérieusement les concentrations dans les milieux biologiques tels que le sang et les urines.

II - THEORIE

II.1. Polarographie classique

Découverte par HEYROVSKY en 1922, la polarographie classique est basée sur l'application des courbes intensité-potentiel (64). L'électrode indicatrice ou électrode de travail a été pendant très longtemps l'électrode à goutte de mercure tombante. L'utilisation d'électrodes solides (graphite, carbone vitreux, métaux divers) est beaucoup plus récente et augmente le champ d'application de la méthode polarographique. Toutefois, les performances de cette technique restent très limitées puisqu'il est très difficile de détecter des concentrations inférieures à 10^{-3} - 10^{-4} M en éléments électroactifs. Cette limite de sensibilité est liée à l'existence d'un courant capacitif résiduel très important qui masque pratiquement le courant faradaïque d'électrolyse lorsque la concentration devient faible (10^{-3} - 10^{-4} M).

Quant à la sélectivité de cette méthode, elle est liée à la séparation des vagues polarographiques qui ne peuvent être identifiées que si l'écart des potentiels de demi-vague est supérieur à 150 ou 200 mV. Cette sélectivité est encore affaiblie lorsque les concentrations des différentes substances présentes sont très différentes les unes des autres.

On a pu constater expérimentalement que le rapport de concentration tolérable entre deux éléments ne pouvait guère dépasser 10. La précision de cette technique est très satisfaisante (2 à 3 % d'erreur relative) lorsque l'on travaille dans des conditions normales d'utilisation.

Depuis une vingtaine d'années, on utilise en polarographie classique et en polarographie plus évoluée le montage à trois électrodes :

- électrode de travail ou électrode indicatrice
- électrode de référence
- électrode auxiliaire qui est généralement une électrode de platine de grande surface.

On applique une différence de potentiel entre l'électrode de travail et l'électrode de référence et on mesure le courant qui traverse l'électrode de travail et l'électrode auxiliaire. Il est bien évident que ce courant doit être limité par les phénomènes électrochimiques qui se produisent à l'électrode indicatrice et non à l'électrode auxiliaire. Cette technique évite à l'électrode de référence d'être traversée par un courant qui aurait pour conséquence de modifier son potentiel propre qui doit être le plus constant possible.

II.2. Evolution de la polarographie : polarographie impulsionnelle différentielle- redissolution anodique

Depuis la dernière guerre, on a cherché à améliorer la polarographie tant dans le domaine de la sélectivité que dans celui de la sensibilité. C'est ainsi que l'on est passé par la polarographie sinusoïdale, la polarographie à tension carrée (65), la polarographie oscillographique (66), pour aboutir à la polarographie impulsionnelle différentielle ou intégrale.

II.2.a. Polarographie impulsionnelle différentielle.

Nous ne traiterons que ce type de polarographie impulsionnelle puisqu'il correspond à celui que nous avons constamment utilisé dans nos recherches. D'une manière générale, l'intérêt de la polarographie impulsionnelle est d'augmenter la sensibilité de la méthode en éliminant de la mesure le courant résiduel capacitif et d'augmenter parallèlement la sélectivité.

Cette technique décrite par BARKER et GARDNER (67) en 1958 est basée sur la surimposition à la tension continue d'impulsions synchronisées. L'amplitude, la fréquence et la durée de ces impulsions constituent trois paramètres qui, sur des polarographes perfectionnés, peuvent être réglés pour obtenir les meilleurs résultats.

Toutefois, sur des appareils moyens du type de celui que nous avons utilisé dans notre recherche (PR G5 TACUSSEL), seules l'amplitude et la fréquence des impulsions sont réglables. La durée

de l'impulsion est une constante qui vaut environ 50 ms.

Nous reviendrons par la suite dans les conditions expérimentales sur les valeurs utilisées pour l'amplitude et la fréquence des impulsions.

Le courant total qui traverse l'électrode indicatrice ou électrode de travail, est la résultante de 3 composantes principales :

- une composante liée à l'application d'une tension continue, composante déjà rencontrée en polarographie classique
- deux composantes liées à l'existence de l'impulsion
 - . une composante capacitive qui provient de la charge et de la décharge de la double couche lors de l'impulsion.
 - . une composante faradaïque

En polarographie impulsionnelle différentielle, on élimine deux des trois composantes ; la composante liée à l'existence de la tension continue et la composante capacitive impulsionnelle. Pour cela, le courant enregistré représente la différence entre le courant existant à l'instant même qui précède l'impulsion et le courant existant dans la seconde moitié de l'impulsion, c'est-à-dire à un moment où le courant capacitif impulsionnel est devenu négligeable. Le courant avant l'impulsion représente le courant continu, le courant en fin d'impulsion représente le courant continu augmenté de la composante impulsionnelle faradaïque ; la différence représente donc bien la composante impulsionnelle faradaïque.

Le courant dû à la réduction du composé sous l'effet des impulsions produit son effet maximum au voisinage du potentiel de demi-vague ($E = E_{1/2} - \frac{\Delta E}{2}$, ΔE étant l'amplitude de l'impulsion). Son effet minimum correspond au début et à la fin de la vague normale. On trace donc la courbe dérivée qui se présente sous la forme d'un pic dont le maximum est proportionnel à la concentration de l'élément.

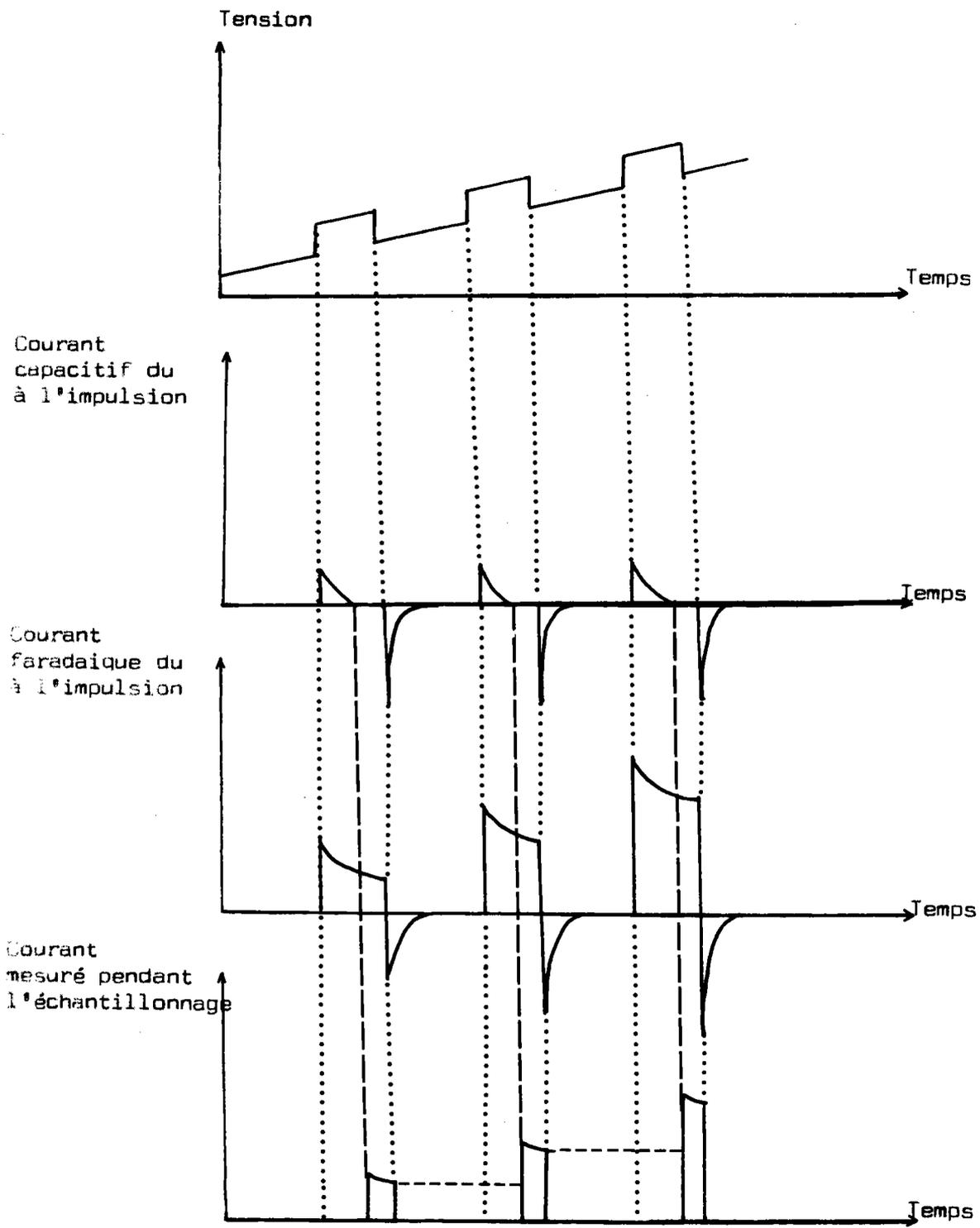


Fig. 1 Variation de la tension imposée et des composantes principales du courant traversant la cellule en fonction du temps dans le cas de la polarographie impulsionnelle.

Une telle technique permet d'atteindre aisément des concentrations de 10^{-7} - 10^{-8} M, ce qui représente très facilement un gain de sensibilité de 1000 voire 10000 par rapport à la polarographie classique. L'allure des polarogrammes permet d'augmenter la sélectivité ; la séparation de deux pics ne nécessitant qu'un écart de 50 mV. De même, l'effet dû à la différence de concentrations de plusieurs substances actives présentes est considérablement affaibli.

II.2.b. Utilisation de la technique par redissolution anodique en polarographie classique et en polarographie impulsionnelle : voltamétrie ou voltampérométrie.

En polarographie classique comme en polarographie plus évoluée, on est toujours limité à un moment donné par la concentration en substance électroactive dans la solution. La technique par redissolution qui est généralement anodique mais qui peut être éventuellement cathodique, permet de concentrer la substance électroactive sur l'électrode de travail en effectuant une préélectrolyse préalablement. Cette technique s'applique tout particulièrement au dosage des métaux à l'état de traces.

Préélectrolyse

Lorsqu'une solution contient un ion métallique électroactif, il est possible en appliquant à l'électrode indicatrice un potentiel suffisamment bas appelé potentiel de préélectrolyse V_e , d'obtenir la réduction de ces ions métalliques en métal. Ce métal se dépose donc sur l'électrode indicatrice. Pour augmenter la quantité de dépôt, il est possible d'agiter la solution de la manière la plus constante possible.

L'agitation augmente considérablement la vitesse d'arrivée des ions réductibles à l'électrode. La préélectrolyse est effectuée pendant une durée convenable d'autant plus longue que la solution est plus diluée. Toutefois, pour des concentrations particulièrement faibles, on ne peut pas augmenter indéfiniment le temps de dépôt, car il faut veiller à ne pas trop appauvrir la solution en ions actifs, de manière à pouvoir considérer la concentration comme une constante. Il est bien évident que la quantité de dépôt à l'électrode est proportionnelle à la concentration en ions actifs et au temps de préélectrolyse. La constante de proportionnalité dépend essentiellement de la nature de l'électrode indicatrice

et de celle de l'ion, de la vitesse d'agitation.

Redissolution

Une fois la préélectrolyse terminée, on laisse reposer la solution quelques instants en arrêtant l'agitation puis on redissout le dépôt métallique en se plaçant dans les conditions convenables à la réoxydation. Ainsi, on balayera les potentiels théoriquement depuis le potentiel V_e vers les potentiels positifs. L'électrode indicatrice fonctionne donc alors en anode. Le courant i correspondant à la réoxydation de l'élément métallique est enregistré. On constate dans ce cas que la courbe $i = f(V)$ qui se ramène à la courbe courant fonction du temps de balayage des potentiels a la forme d'un pic. Dans la plupart des cas, lorsque les pics ne sont pas trop larges, l'intensité du courant au maximum du pic est proportionnelle à la quantité de substance reoxydée (proportionnelle à la quantité de dépôt).

- Relations entre la hauteur maximum du pic de redissolution, la concentration et le temps.

Lors de la préélectrolyse, la quantité de métal déposé sur l'électrode est exprimée par la relation

$$q = k c t$$

t représente le temps de préélectrolyse évalué en secondes

c la concentration en ions électroactifs

k le coefficient de proportionnalité qui dépend à la fois de la nature de l'électrode, de la vitesse d'agitation et de la nature de l'ion électroactif.

Nous remarquons tout de suite que pour obtenir un dépôt q donné, on peut jouer soit sur l'importance de la concentration, soit sur la valeur du temps de dépôt. En conséquence, lorsque la concentration augmente, on diminue le temps t en le ramenant à une valeur minimale de 15 à 30 secondes. Si la concentration diminue, on augmente le temps t jusqu'à une valeur d'environ 5 minutes pour des concentrations approchant 10^{-9} M.

Nous voyons tout de suite la possibilité de jouer sur le paramètre temps lorsqu'on nous impose la concentration dans les conditions de dosage.

Au niveau de la réoxydation, le pic est d'autant plus élevé que le dépôt q est plus important, ceci jusqu'à une limite qui correspond à des dépôts très épais. Dans ce cas précis, on ne réoxyde dans le temps Δt de balayage des potentiels que la partie superficielle du dépôt, auquel cas la hauteur du pic maximum n'est plus proportionnelle à la quantité q du dépôt, mais l'est à une quantité q' réoxydée, avec q' inférieure à q

Si nous restons dans le domaine de validité, nous avons donc
$$I_m = k'q = k'kct = Kct$$
$$I_m \text{ étant la hauteur maximum du pic.}$$

Nous voyons donc que la hauteur maximum du pic de redissolution est proportionnelle à la concentration et au temps de préélectrolyse. La constante K dépend à la fois des unités utilisées, de la nature de l'ion étudié, de l'agitation de la solution pendant la préélectrolyse et de la nature de l'électrode de travail utilisée. Cette relation est de la plus grande importance et conditionne le fonctionnement d'un dosage.

Dans la mise au point du dosage et des conditions de sa validité, il sera fait couramment usage de cette relation à savoir :

I_m proportionnel à la concentration pour un temps donné

I_m proportionnel au temps de dépôt pour une concentration donnée.

Enfin, pour déterminer le potentiel de préélectrolyse V_e , nous nous fixerons une concentration moyenne donnée, un temps t donné et nous ferons varier le potentiel de préélectrolyse V .

A partir d'une certaine valeur de V , on s'aperçoit que la hauteur du pic reste constante si ce potentiel vient encore à diminuer. La courbe $I_m = f(V)$ présente donc un palier et V_e représente une valeur moyenne de ce palier.

- Gain de sensibilité

Nous allons montrer par un calcul très simple que l'utilisation de la redissolution anodique permet de gagner facilement un facteur 1000 dans le domaine de la sensibilité, ce qui signifie que dans le cas

de la polarographie classique on atteindra 10^{-7} M en concentration et que dans le cas de la polarographie impulsionnelle différentielle on atteindra des concentrations égales à 10^{-10} - 10^{-11} M.

Calcul approché.

Raisonnons sur l'utilisation de la redissolution anodique en polarographie classique et mettons en évidence le gain de sensibilité de 1000.

Au niveau de la préélectrolyse, l'agitation permet de réduire environ cinquante fois plus de matière qu'en absence d'agitation, c'est-à-dire en présence uniquement de diffusion. Cela signifie que le courant de réduction est cinquante fois plus grand avec agitation que sans agitation.

$$\text{Soit : } I_a = 50 I_d$$

avec I_a : courant avec agitation

I_d : courant obtenu en présence uniquement de diffusion

Pendant le temps t de préélectrolyse, la quantité d'électricité mise en jeu Q est égale au courant maximum obtenu avec agitation I_a multiplié par le temps t . Or, le dépôt q de métal pendant la période correspondante est proportionnel à la quantité Q .

Au niveau de la réoxydation, la même quantité d'électricité est nécessaire pour réoxyder la quantité q de dépôt. Or cette réoxydation du dépôt va se faire dans un temps Δt beaucoup plus court que t d'où la relation :

$$Q = I_a \times t = I_r \times \Delta t$$

I_r courant de redissolution

$$\text{donc } I_r = \frac{I_a \times t}{\Delta t} = 50 \frac{I_d \times t}{\Delta t}$$

Si nous prenons comme exemple $t = 2$ minutes et $\Delta t = 4$ secondes, nous voyons que

$$I_r = 50 \times 30 I_d = 1500 I_d$$

Cette relation n'est que tout à fait approximative car elle suppose que l'on considère le courant de redissolution I_r comme constant au cours de la réoxydation. C'est-à-dire que la courbe obtenue a la forme d'un rectangle très fin, ce qui n'est valable qu'en toute première approximation.

Nous voyons donc apparaître un gain de sensibilité de 1500 : valeur donnée à titre d'exemple.

- Allure de la courbe de redissolution

Nous avons déjà parlé de l'allure de la courbe correspondant à la réoxydation du dépôt qui est un pic. Nous allons, en prenant comme exemple un dépôt obtenu sur une électrode de carbone vitreux, expliquer pourquoi on obtient un tel pic de redissolution.

Considérons un dépôt q sur cette électrode de carbone vitreux obtenu après une électrolyse à un potentiel V_e donné. Si nous balayons progressivement les potentiels vers des valeurs plus positives, on atteint à un certain moment un potentiel tel que la réoxydation du métal commence à se produire. A partir de ce moment, si nous continuons à balayer les potentiels vers des valeurs plus positives, la vitesse de réoxydation va augmenter d'une façon exponentielle. Le dépôt métallique qui est un dépôt polycouche va diminuer rapidement d'importance pour atteindre la monocouche. A partir de cet état monocouche, par suite de la réoxydation qui se poursuit, la surface recouverte devient inférieure à la surface totale de l'électrode.

En conséquence, à partir de la monocouche, le courant rediminue. Le courant maximum correspond donc à l'état de monocouche. Le courant i diminue jusqu'à la valeur zéro lorsqu'il n'y a plus de dépôt sur l'électrode. Lors de l'utilisation d'une électrode de mercure (goutte pendante), la courbe de redissolution se présente également sous la forme de pic. Les courbes courant-potentiel obtenues présentent un maximum lorsque l'arrivée de métal par diffusion au sein de la goutte de mercure ne peut plus compenser sa perte par la réaction d'oxydation à la surface de l'électrode (68).

Remarque

La théorie suppose une réoxydation totale de tout le dépôt ; or, nous avons constaté expérimentalement qu'après chaque mesure, un résidu représentant quelques pour cent de la quantité q déposée demeure sur l'électrode indicatrice. Si ce résidu est éliminé après chaque mesure en effectuant une purge (que nous décrirons par la suite puisqu'elle peut s'effectuer de différentes manières selon les cas), la proportionnalité à la concentration et au temps de préélectrolyse est respectée, condition indispensable pour l'application analytique. Si on n'effectuait pas de purge au cours des différentes manipulations, le résidu serait de plus en plus important, ce qui aurait pour conséquence de fausser les résultats. La non observation de ce phénomène chez les différents auteurs qui s'intéressent à la redissolution anodique explique très largement leurs conclusions qui peuvent paraître un peu hatives, à savoir :

- nécessiter de changer la goutte de mercure après chaque manipulation (avant chaque ajout)
- manque de reproductibilité des électrodes solides

Nature des électrodes indicatrices ou électrodes de travail.

L'électrode indicatrice la plus couramment utilisée est l'électrode à goutte pendante de mercure qui est soit l'électrode de KEMULA (69) soit l'électrode mise au point au laboratoire (70).

Cette électrode est très intéressante dans le cas de dosage des métaux qui donnent des amalgames. Toutefois, son utilisation est limitée par suite de l'existence du mur de réoxydation du mercure en ions métalliques. Ce mur correspond à peu près au potentiel zéro par rapport à l'électrode au Calomel saturé en présence d'ions chlorures. Nous sommes donc limités vers les potentiels positifs.

Dans le cas des métaux qui se réoxydent à un potentiel légèrement inférieur à ce mur, la sélectivité et la sensibilité seront donc très limitées (exemples : cuivre, bismuth etc...) Enfin, il n'est pas possible de doser des métaux ayant un potentiel de réoxydation supérieur à ce mur.

L'existence d'autres électrodes indicatrices dites solides par opposition au mercure qui est à l'état liquide, a augmenté le champ d'utilisation de la redissolution anodique, puisqu'elles permettent de retarder considérablement le mur de l'électrode indicatrice et de travailler dans des domaines de potentiels plus positifs. Citons parmi ces électrodes : l'électrode de graphite, de carbone vitreux, de carbure de bore, de platine, d'or; les électrodes de carbone vitreux, de platine recouvertes d'une fine pellicule de mercure ou d'or, etc...

Le choix d'une telle électrode, en dehors de l'exigence du point de vue domaine de potentiel, se fait de façon purement empirique car en dehors du rôle de support conducteur pour le dépôt électrolytique, l'électrode joue un rôle de catalyseur dans la formation de ce dépôt. Ce pouvoir catalytique est toujours très difficile à prévoir aussi est-ce l'expérience qui impose l'électrode par souci d'obtenir les meilleurs résultats. Ainsi, comme nous le verrons par la suite dans le cas du Bismuth, une électrode de carbone vitreux recouverte d'un dépôt électrolytique d'or, s'est présentée comme l'électrode la plus favorable parmi toutes celles utilisées.

III - APPAREILLAGE

L'ensemble du matériel polarographique utilisé est du matériel TACUSSEL.

Le polarographe est un polarographe impulsif type PRG5 associé à

- un enregistreur potentiométrique type EPL 2B équipé d'un tiroir préamplificateur type TV 11 GD. Les enregistrements sont effectués sur papier millimétré.
- une cellule de mesure thermostatable type CPR 3B ; sa cage de Faraday la protège contre les perturbations électrostatiques ou électromagnétiques d'origine extérieure

La cellule est surmontée d'un couvercle à rodage plan portant 5 tubulures rodées permettant de fixer les 3 électrodes :

- une électrode indicatrice qui peut être
 - . soit une électrode stationnaire à goutte pendante de mercure (70)
 - . soit une électrode tournante E.D.I. avec embout cylindrique de carbone vitreux de 3 mm de diamètre
- une électrode de référence au calomel saturé (E.C.S.)
- une électrode auxiliaire de platine

L'agitation de la solution est assurée soit

- par l'électrode à disque tournante
- par un système d'agitation indépendant constitué d'une hélice en verre surmontée d'un moteur type ATVV utilisé en présence d'une électrode à goutte de mercure pendante.

Le réglage précis de la vitesse de rotation est assuré par un amplificateur électronique d'asservissement indépendant type CONTROVIT.

Le polissage est effectué avec une polisseuse MECAPOL 2B (PRESI). L'ébauche et le polissage final de l'embout de carbone vitreux sont faits avec des suspensions diamantées MECAPREX référence 1 et 3 D E sur des tissus de polissage RAM et NT gris.

L'étalonnage est fait par la méthode des ajouts effectués grâce à des micropipettes EPPENDORFF de 10 μ l, 50 μ l et 500 μ l.

Pour une hauteur de pic H proportionnelle à la concentration C inconnue de l'ion à doser, une concentration ΔC connue du même ion la fait varier d'une valeur ΔH .

Nous avons donc $C = \frac{\Delta C \times H}{\Delta H}$, le temps de dépôt, l'agitation, les conditions de sensibilité d'appareillage, le potentiel V_e d'électrolyse et le milieu étant identiques dans les deux cas.

Pour obtenir une plus grande précision dans la détermination d'une concentration, il est conseillé de faire trois ou quatre ajouts.

Il est inutile dans le cas d'électrodes solides de thermostatier la cellule, si les variations de température de l'environnement, au cours d'une mesure, sont faibles. Pour supprimer l'oxygène dissous gênant, on dégaze les solutions par un courant d'azote pendant 5 à 10 minutes. Puis la solution est maintenue sous atmosphère d'azote.

Toute la verrerie nécessaire au dosage doit être lavée à l'acide nitrique concentré et soigneusement rincée à l'eau mono puis bi-distillée.

IV- MISE AU POINT DU DOSAGE DU BISMUTH

Dans ce travail nous allons donc chercher à mettre au point un dosage du Bismuth qui satisfasse à nos exigences déjà énoncées, à savoir : amélioration de la sensibilité, reproductibilité, sélectivité et commodité. Etant donnée l'existence d'un nombre non négligeable de travaux portant sur la polarographie avec redissolution anodique du Bismuth, nous allons nous appuyer sur leurs conclusions pour commencer la recherche.

Du point de vue milieu, tous les auteurs s'accordent à utiliser un milieu acide contenant des chlorures, qui ont le pouvoir de complexer les ions Bi^{3+} , complexation qui est toujours favorable à la redissolution anodique.

Quant au choix de l'électrode indicatrice, nous reprendrons différentes électrodes utilisées jusqu'à présent :

- électrode à goutte pendante de mercure
- électrode de carbone vitreux
- électrode d'or
- électrode de platine

afin de déterminer leurs avantages et leurs inconvénients. En fonction de notre choix de l'électrode de travail, nous préciserons la nature du milieu utilisé.

A) Utilisation de l'électrode à goutte pendante de mercure

1°) Description de l'électrode utilisée

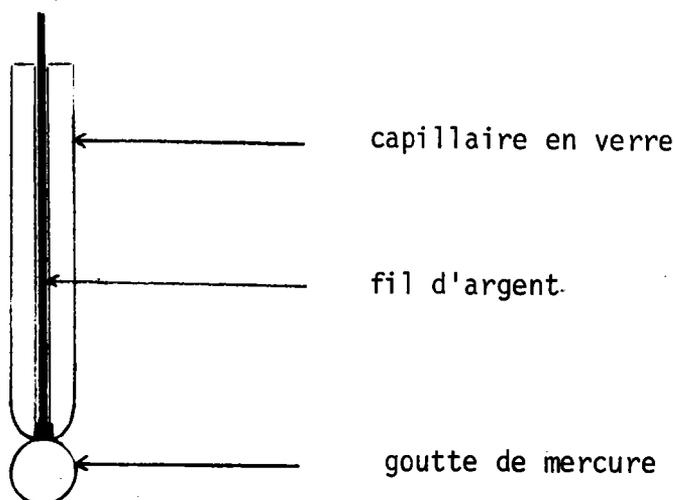


Fig.2 Electrode à goutte pendante de mercure

Cette électrode est constituée par un fil d'argent sur la section duquel on dépose une couche de mercure amalgamé de façon à pouvoir y faire adhérer une goutte de mercure pendante. L'amalgame est préparé par électrolyse de 10 minutes environ à un potentiel de $-1,1$ V/ECS d'une solution contenant des ions mercuriques (environ M/10). Cette couche de mercure est suffisamment adhérente pour pouvoir résister pendant plusieurs jours aux attaques corrosives du milieu, ce qui nous évite de répéter régulièrement cette opération. Il est très aisé de fixer une goutte de mercure (bidistillé), calibrée à l'aide d'une seringue micrométrique OUTFIT. Si l'on désire changer la goutte au cour d'un même dosage, la calibration doit être la plus parfaite possible, compte tenu de l'influence de la grosseur des gouttes (surface) sur la reproductibilité. Il est possible de conserver une même goutte pendant tout un dosage à condition d'éliminer après chaque manipulation les résidus métalliques amalgamés, par une purge adéquate.

Cette purge est effectuée par une dizaine de défilements successifs des potentiels à grande vitesse (400 mV par seconde) tout en agitant la solution, vers des potentiels suffisamment positifs (balayage entre $-0,15$ V et $+0,85$ V). A cette vitesse la goutte de mercure ne subit pas de modification importante due à la réoxydation du mercure. Il est facile de vérifier l'absence de Bismuth dans la goutte de mercure après la purge, par un enregistrement immédiat du courant $i = f(V_a)$, avec V_a potentiel de réoxydation anodique. On constate alors l'absence totale de pic de redissolution.

2°) Choix du milieu.

Nous avons utilisé comme support une solution chlorhydrique 0,1 M de qualité suprapur MERCK.

Cet électrolyte est celui préconisé par COHEN (27) pour le dosage du Bismuth par polarographie avec redissolution anodique en présence d'une électrode de mercure stationnaire.

3°) Potentiel de préélectrolyse

Comme nous l'avons rappelé dans la théorie, le potentiel de préélectrolyse V_e est déterminé en traçant les courbes $I_m = f(V)$ où V représente différents potentiels de préélectrolyse et I_m la hauteur du pic maximum de redissolution anodique (fig. 3)

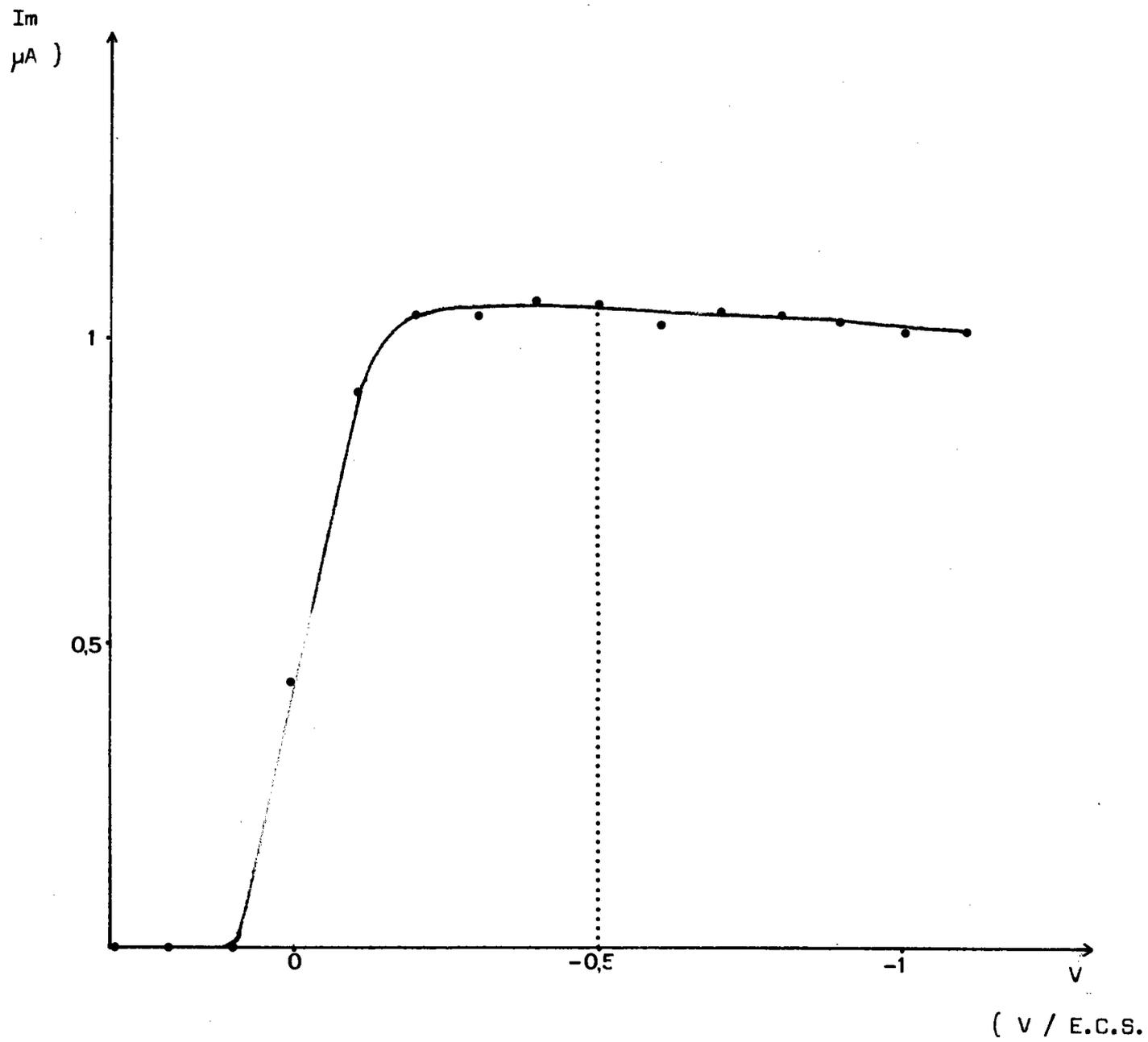


Fig 33 Choix du potentiel de pr electrolyse.

Nous constatons l'existence d'un large palier de potentiel pour lequel le courant I_m est constant. Ce très long palier s'explique par le fait

- que les ions Bi^{3+} sont très électroactifs à l'électrode de mercure
- que la surtension de l'hydrogène sur une telle électrode est importante, ce qui a pour conséquence de retarder la formation de bulles d'hydrogène. Ces bulles d'hydrogène, en se fixant sur une électrode, ont tendance à faire diminuer la surface active de l'électrode, ce qui entraîne une décroissance du courant I_m , décroissance qui est rarement reproductible.

En se fixant un potentiel de préélectrolyse V_e égal à $-0,5 \text{ V / ECS}$, nous sommes dans des conditions tout à fait convenables d'utilisation, à savoir :

- absence de dégagement d'hydrogène
 - potentiel suffisamment négatif pour réduire les ions Bi^{3+}
- quelles que soient les petites modifications du tracé des courbes $i = f(V)$ dues aux changements de concentration.

4°) Vérification de la relation $I_m = Kct$.

a) proportionnalité au temps.

Le courant maximum I_m a été enregistré pour des temps de dépôt variant entre quinze secondes et dix minutes. On arrête l'agitation et au bout de trente secondes (temps nécessaire à l'établissement d'un équilibre au sein de la goutte de mercure et de la solution) on déclenche le défilement des potentiels de $-0,15 \text{ V}$ jusqu'au mur du mercure.

Nous constatons que le courant I_m est proportionnel au temps de préélectrolyse dans le domaine $0 - 10$ minutes, dans le cas d'une solution contenant 10^{-7} M d'ions Bi^{3+} . Nous rappellerons brièvement la valeur des différents paramètres utilisés.

- support : HCl 0,1 M
- calibre de la goutte : 3 divisions (30 μ l)
- potentiel de préélectrolyse : - 0,5 V/ ECS
- temps de repos : 30 s
- vitesse de défilement des potentiels : 2 mV/s
- vitesse d'agitation : 250 tours/mn
- fréquence des impulsions : 0,5 s
- Amplitude des impulsions : 20 mV
- Sensibilité : 1,25 μ A

Les pics de redissolution présentent un maximum à un potentiel très voisin de 0V/ESC, c'est-à-dire dans le voisinage immédiat du mur du mercure.

Il a été vérifié pour une concentration en Bismuth de 10^{-6} M que la proportionnalité au temps était respectée pour des durées de préélectrolyse variant entre 0 et 9 minutes. Les paramètres utilisés sont les mêmes que précédemment mis à part la sensibilité qui est de 12,5 μ A (fig.4)

Il est à remarquer que la vitesse d'agitation n'est réglable que dans un domaine très restreint, car seules peuvent être retenues les vitesses d'agitation n'entraînant pas la chute de la goutte de mercure.

b) Proportionnalité à la concentration

En maintenant constant le temps de préélectrolyse pour un domaine de concentration donné, nous avons vérifié la proportionnalité du courant maximum I_m d'oxydation en fonction des variations de concentration, c'est-à-dire :

$$I_m = f(c) \text{ à temps constant}$$

Nous avons constaté qu'avec un choix judicieux des paramètres que nous préciserons ci-dessous, le courant I_m était proportionnel à la concentration dans le domaine 10^{-7} - 10^6 M et dans le domaine 10^{-6} - 10^{-5} M (fig. 5)

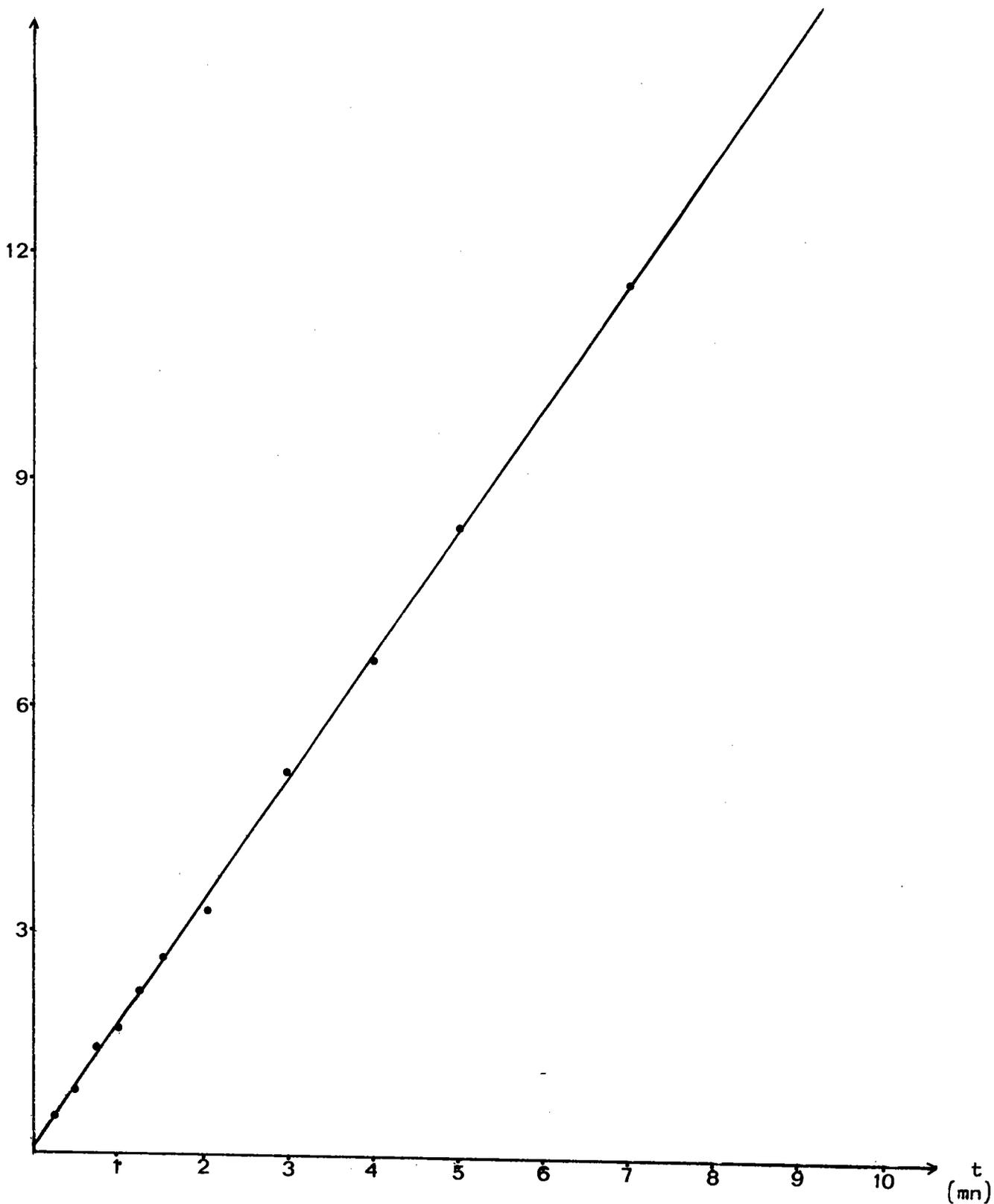


Fig. 4

Variation de I_m en fonction du
temps de préélectrolyse

Concentration en Bismuth : 10^{-6} M

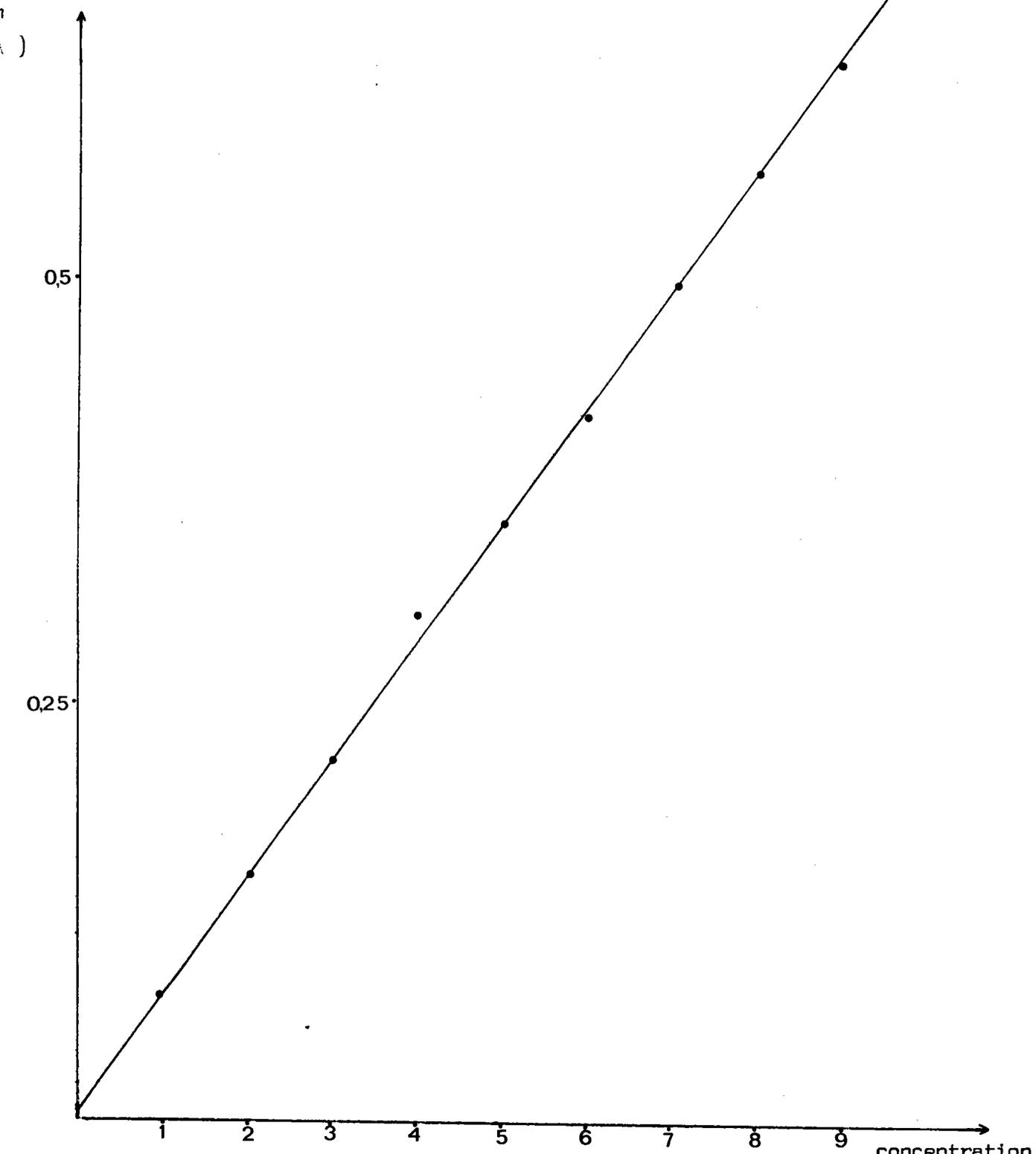


Fig. 5 Variation de I_m en fonction de la concentration en ions Bi^{3+} (x 10^7)
Domaine 10^{-7} - 10^{-6} M

- support : HCl 0,1 M
- calibre de la goutte : 3 divisions (30 μ l)
- potentiel de préélectrolyse : - 0,5 V/ ECS
- temps de préélectrolyse : 1 mn
- temps de repos : 30 s
- vitesse de défilement des potentiels : 2 mV/s
- vitesse d'agitation : 250 tours/mn
- fréquence des impulsions : 0,5 s
- Amplitude des impulsions : 20 mV
- Sensibilité : 1,25 μ A (10^{-7} - 10^{-6} M)
: 12,5 μ A (10^{-6} - 10^{-5} M)

Nous avons pu constater également qu'en diminuant la vitesse de défilement des potentiels (2 mV/s) lors de la réoxydation, on avançait très légèrement la réoxydation du Bismuth, ce qui améliorerait partiellement la détermination du pic dans le mur du mercure.

Néanmoins, il semble très difficile de définir quantitativement des pics de redissolution pour des concentrations en Bismuth très inférieures à 10^{-7} M. (fig.6), ceci même en augmentant le temps de préélectrolyse t.

Compte tenu qu'à la méthode devant être utilisée pour le dosage du Bismuth dans les milieux biologiques, il est exigé une sensibilité suffisante pour déterminer quantitativement des concentrations approchant 10^{-9} M, nous nous rendons compte très rapidement que l'utilisation d'une telle électrode est peu recommandée.

B) Electrodes solides

La faible sensibilité de l'électrode à goutte pendante de mercure nous a conduit à utiliser une électrode tournante E.D.I. présentant un embout cylindrique soit de carbone vitreux, soit d'or, soit de platine.

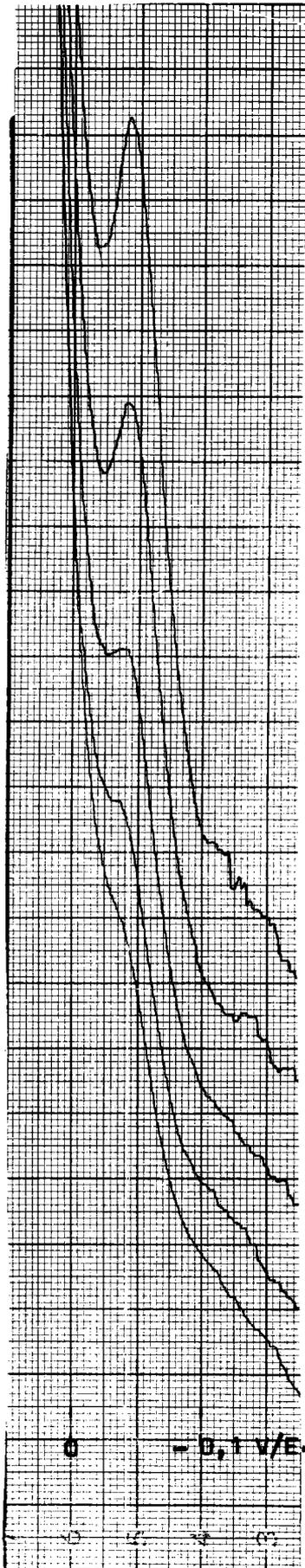


Fig . 6

Polarogramme du Bismuth

Domaine 10^{-8} - $5 \cdot 10^{-8}$ M

Electrode à goutte pendante de mercure

Temps de préelectrolyse : 2 mn

1°) Electrode de carbone vitreux

a) description

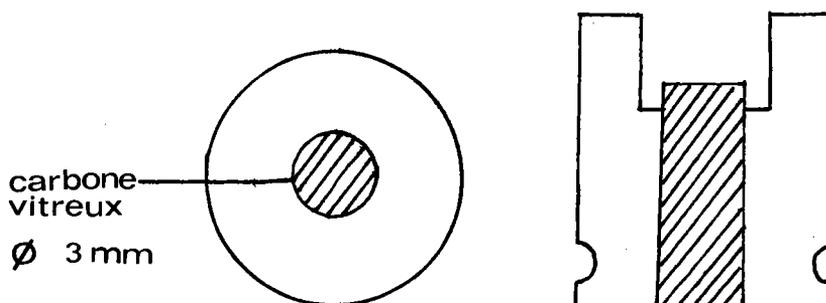


Fig. 7 : Embout d'électrode à disque tournant de carbone vitreux.

Dans le cas de l'électrode de carbone vitreux, la surface active est de 7 mm². Pour éviter sa dégradation au cours de manipulations répétées, nous régénérons cette surface par un polissage effectué avec un matériel que nous avons déjà décrit précédemment.

Par précaution, nous avons poli cet embout tous les jours pendant quelques minutes sur chaque disque imbibé de suspensions 1 et 3 D E. Il est à signaler qu'en absence de matières organiques, l'état de l'électrode reste satisfaisant pendant plusieurs jours.

b) Résultats

Nous conservons le même milieu à savoir un milieu chlorhydrique 0,1 à 0,5 M. Les purges de l'électrode sont effectuées par défillement des potentiels de 0 à + 1 V/ECS à raison de 400 mV/s en présence d'agitation de la solution.

- potentiel de préélectrolyse (Fig. 8)

En traçant la courbe $I_m = f(V)$ préélectrolyse, on constate l'absence totale de palier. Ceci s'explique très facilement par le fait que les ions Bi^{3+} sont réduits en Bismuth métallique à un potentiel beaucoup plus négatif que dans le cas de l'électrode à goutte pendante de mercure. Ce potentiel de dépôt se rapproche considérablement du potentiel de réduction des ions hydrogène sur cet électrode. Nous sommes donc amenés à choisir un potentiel V_e de préélectrolyse de - 1,2 V qui corres-

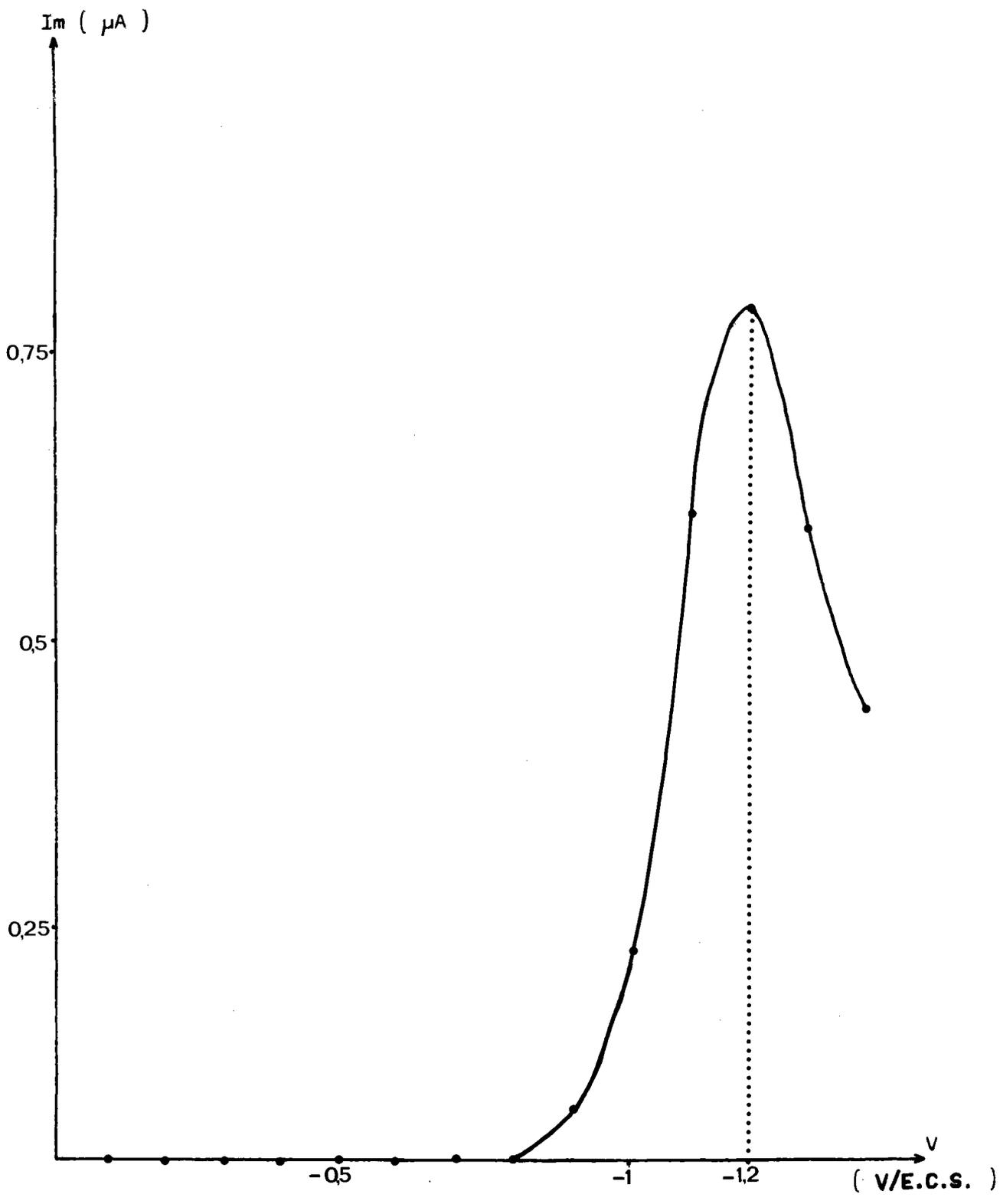


Fig. 8 Choix du potentiel de préélectrolyse
Electrode de carbone vitreux.

pond au maximum de la courbe $I_m = f(V)$ préélectrolyse. Nous avons pu constater que ce maximum se déplaçait très légèrement dans l'échelle des potentiels en fonction de l'état de surface de l'électrode.

Dans de telles conditions, la relation $I_m = Kct$ est vérifiée pour des concentrations comprises entre 10^{-5} et 10^{-6} M. En deçà de cette valeur, nous constatons que pour un temps t donné (1 minute), la courbe I_m fonction de la concentration a la forme parabolique. Ce résultat semble tout à fait comparable à celui obtenu par BILLAUD (71) dans le cas du dosage du mercure. Malheureusement, contrairement au cas du mercure, nous n'avons pas trouvé de solution susceptible d'améliorer l'allure de la courbe. L'électrode de carbone vitreux ne convient donc pas au cas précis de dosage qui nous intéresse.

2°) Electrodes d'or et de platine

L'utilisation d'une électrode d'or ou de platine, nous a conduit à aucun résultat reproductible que nous n'explicitons donc pas.

3°) Electrode de carbone vitreux recouverte d'un dépôt d'or

Certains auteurs (29-30-31-72-) ont constaté que la sensibilité et la sélectivité des électrodes solides (platine et carbone vitreux) étaient nettement améliorées en effectuant un dépôt simultané de mercure et de Bismuth sur l'électrode. Néanmoins, la sensibilité reste limitée par le pic de redissolution du mercure qui se situe dans les parages immédiats de celui du Bismuth. Il nous a donc paru intéressant de remplacer ce dépôt de mercure par un dépôt d'or qui se réoxyde à un potentiel nettement plus positif que le mercure. Nous effectuons un dépôt simultané d'or et de Bismuth par préélectrolyse à un potentiel V_e que nous déterminerons ultérieurement ; nous allons voir que cette solution est tout à fait satisfaisante pour résoudre notre problème.

Remarque. Ce résultat positif n'est pas incompatible avec le mauvais fonctionnement de l'électrode d'or polie ; en effet, un dépôt d'or obtenu par électrolyse est très divisé, c'est-à-dire que la surface réelle est très nettement supérieure à la surface apparente (surface de l'électrode polie). Or, comme nous l'avons signalé dans la théorie, l'électrode joue un rôle catalytique dans la formation du dépôt métallique, nous sommes

donc en présence d'une catalyse hétérogène très influencée par la surface réelle du catalyseur.

Les solutions d'or sont préparées à partir de sel mixte d'or et de sodium contenant un minimum de 50 % d'or (Chlorure de sodium et or (III) Prolabo). Nous avons remarqué très rapidement que l'importance du dépôt d'or influençait la détermination des pics obtenus et qu'il semblait souhaitable de garder approximativement un dépôt constant.

Cela signifie que lorsque la concentration en Bismuth augmente, le temps de préélectrolyse diminuant, il est indispensable d'augmenter la quantité de sel d'or. Au contraire, quand la concentration en Bismuth diminue, le temps de préélectrolyse augmentant, on peut alors diminuer la concentration en or.

Nous avons constaté expérimentalement qu'un dépôt minimum d'or est indispensable pour obtenir un bon fonctionnement de l'électrode indicatrice et qu'en particulier, une dizaine de fois plus d'or que de Bismuth en concentration dans la solution, semble correspondre à un minimum.

Cette concentration minimale d'or semble nécessaire pour obtenir, pratiquement dès le début de la préélectrolyse un dépôt de Bismuth sur or. Les concentrations optimales en or ont été définies expérimentalement en faisant varier ces concentrations et en suivant la fonction $I_m = f(c)_{or}$.

Ainsi, pour des concentrations en Bismuth supérieures ou égales à $10^{-8}M$, le temps de préélectrolyse utilisé étant voisin de une minute, la concentration optimale en or se situe aux environs de $5 \cdot 10^{-5}M$.

Lorsqu'on atteint des concentrations très importantes en Bismuth, de l'ordre de $10^{-5}M$, on obtient les meilleurs résultats avec une concentration double en or par rapport à la valeur précédente, à savoir : 2 fois $5 \cdot 10^{-5}M$ soit $10^{-4}M$.

De gros dépôts d'or ne devraient pas gêner en principe le dépôt de Bismuth car on atteint plus rapidement les conditions optimales de fonctionnement de l'électrode indicatrice. Néanmoins, compte tenu que

L'or déposé simultanément au Bismuth se réoxyde également à un potentiel plus positif que le Bismuth, la ligne de base au niveau du potentiel de réoxydation du Bismuth se trouve modifiée par rapport à celle obtenue sans or. Cette modification qui s'accroît au fur et à mesure que la quantité d'or déposée augmente, entraîne une diminution de la qualité des pics de redissolution du Bismuth. Ainsi, dans de telles conditions et pour des concentrations en Bismuth relativement faibles, la détermination précise de la valeur I_m devient-elle très délicate. C'est la raison pour laquelle nous travaillons avec des concentrations en sel d'or de $10^{-5}M$, lorsque les concentrations en Bismuth sont inférieures à $10^{-8}M$, le temps de préélectrolyse étant de l'ordre de 5 minutes.

Avec une telle électrode, on constate que la grandeur du pic de redissolution du Bismuth, I_m , atteint une valeur parfaitement stable (erreur de reproductibilité inférieure à 2 %) au bout du deuxième ou troisième dépôt d'or. Toutefois, il faut signaler que dès le premier dépôt d'or, l'électrode a atteint un état de fonctionnement pratiquement satisfaisant.

La répétition de ces deux ou trois dépôts initiaux pour obtenir une bonne reproductibilité s'explique très facilement par le fait que l'électrode doit "se faire", c'est-à-dire transformer les sites passifs en sites actifs qui se recouvrent plus facilement d'or selon la théorie énoncée par BILLAUD (71) dans le cadre du mercure.

C) Choix du milieu et du potentiel de préélectrolyse

La recherche du potentiel de préélectrolyse s'est effectuée comme précédemment en traçant la courbe $I_m = f(V)_{\text{électrolyse}}$. Cette courbe a été réalisée pour différentes concentrations en acide chlorhydrique pour tenir compte de la remarque de COHEN (27) relative à l'influence de l'acidité sur le potentiel de préélectrolyse. Enfin, ayant remarqué au laboratoire que les courbes $I_m = f(V)_{\text{électrolyse}}$ étaient fonctions de la concentration en ions actifs, nous avons également tracé les courbes pour différents domaines de concentration en Bismuth.

Ainsi, les différentes courbes suivantes ont été tracées :

Im en fonction du potentiel de préélectrolyse

. pour une concentration en Bismuth égale à 10^{-7} M avec une concentration en acide chlorhydrique égale à

- 0,1 M
- 0,2 M
- 0,3 M (Fig. 9)
- 0,4 M
- 0,5 M

. pour une concentration en Bismuth égale à $2 \cdot 10^{-8}$ M, avec une concentration en acide chlorhydrique égale à

- 0,1 M
- 0,2 M (Fig. 10)

. pour une concentration en Bismuth égale à $2 \cdot 10^{-9}$ M avec une concentration en acide chlorhydrique égale à

- 0,05 M
- 0,1 M (Fig. 11)
- 0,2 M

Les conditions opératoires générales sont les suivantes :

Volume de la solution	50 cm ³
Concentration en sel d'or	$5 \cdot 10^{-5}$ M à 10^{-5} M selon le domaine de concentration à étudier
HCl suprapur	0,05 M à 0,5 M
Potentiel de repos : Vr (entre la préélectrolyse et le défilement des potentiels pour la réoxydation)	- 0,15 V / ECS
Temps d'électrolyse	1 à 5 minutes selon le domaine de concentration en Bismuth
Temps de repos	30 secondes
vitesse d'agitation de la solution	500 tours par minute

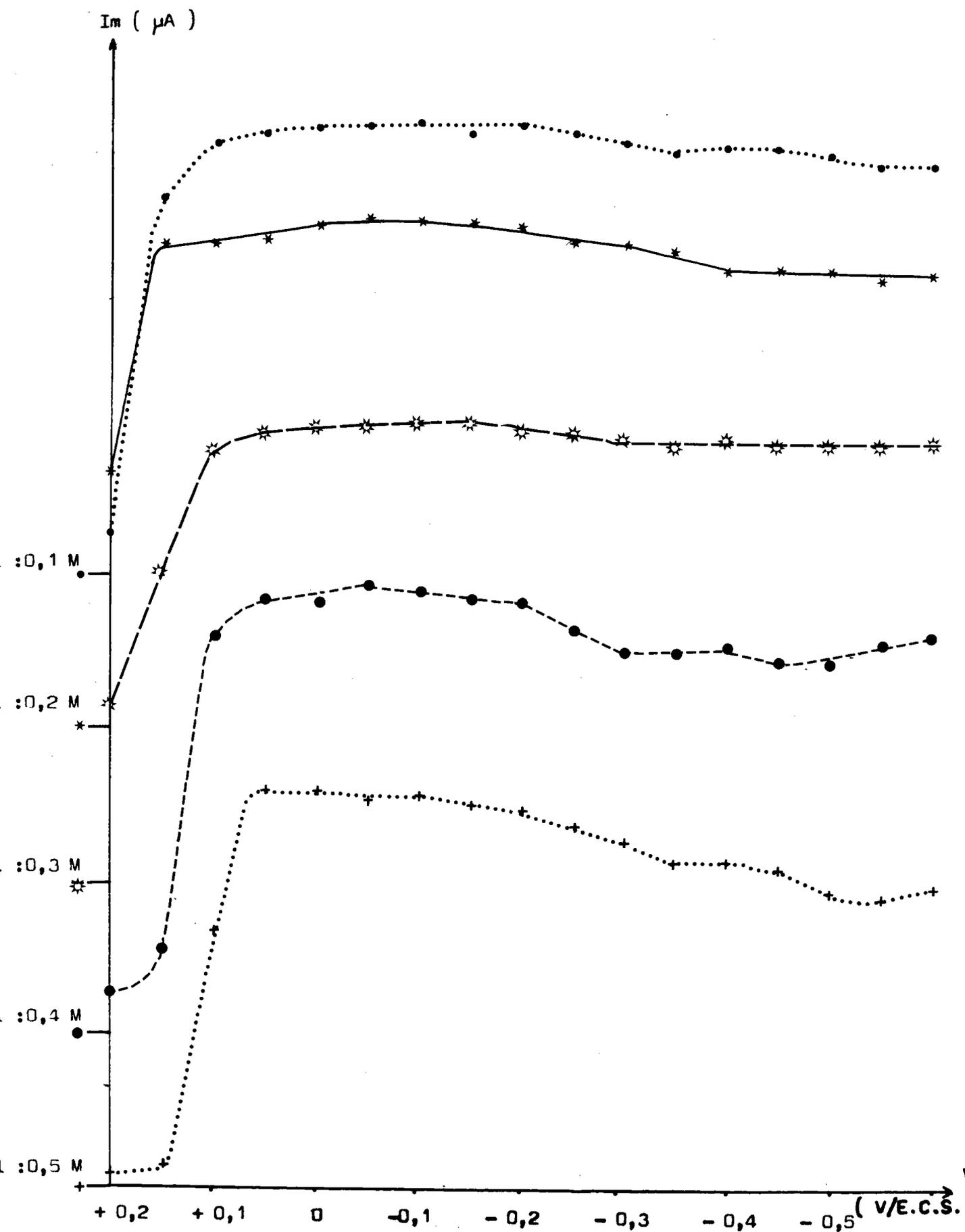


Fig. 9

CHOIX DU POTENTIEL DE PREELECTROLYSE - CONCENTRATION EN BISMUTH $10^{-7} M$

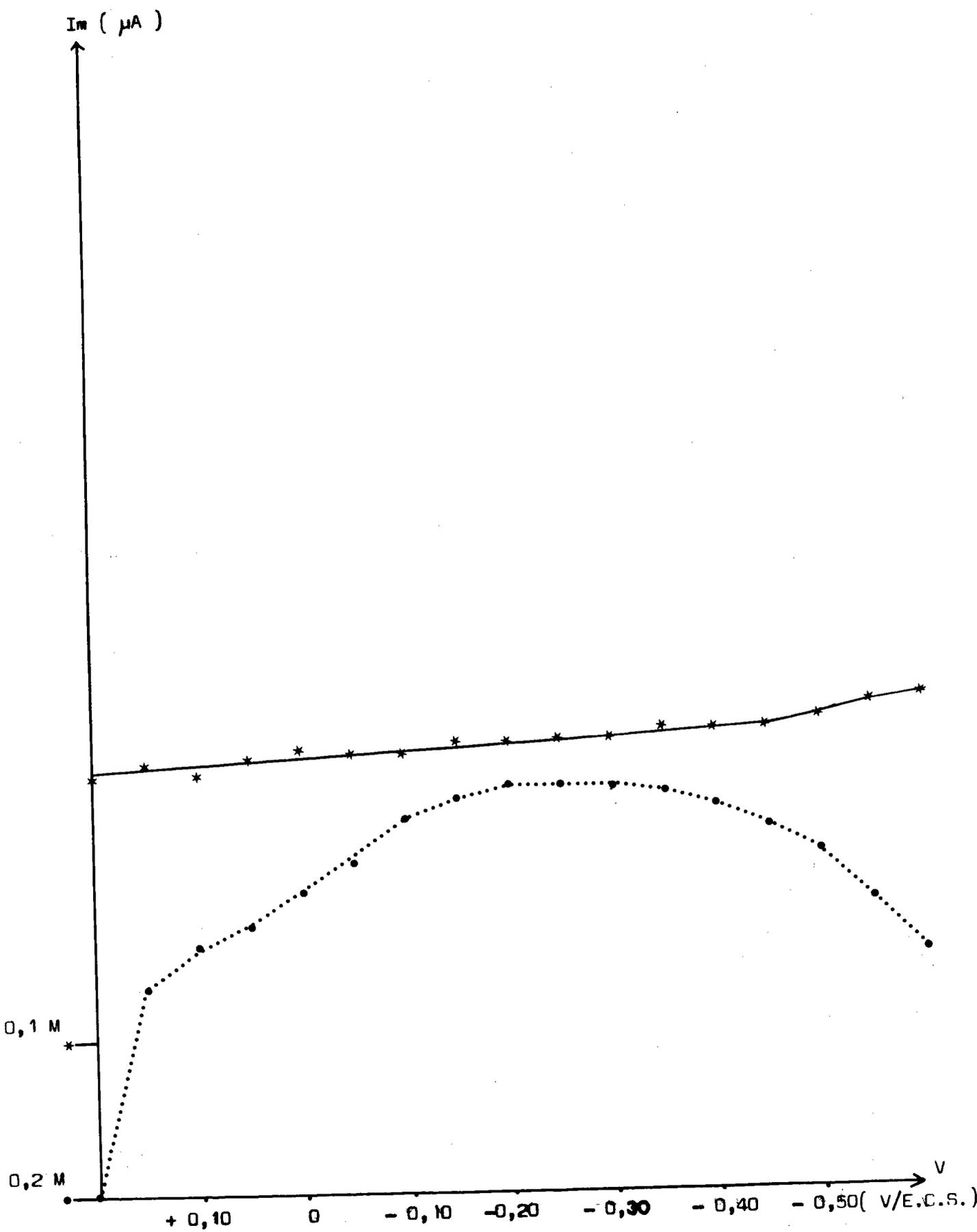


Fig. 10
 CHOIX DU POTENTIEL DE PREELECTROLYSE - CONCENTRATION EN BISMUTH $2 \cdot 10^{-8} \text{ M}$

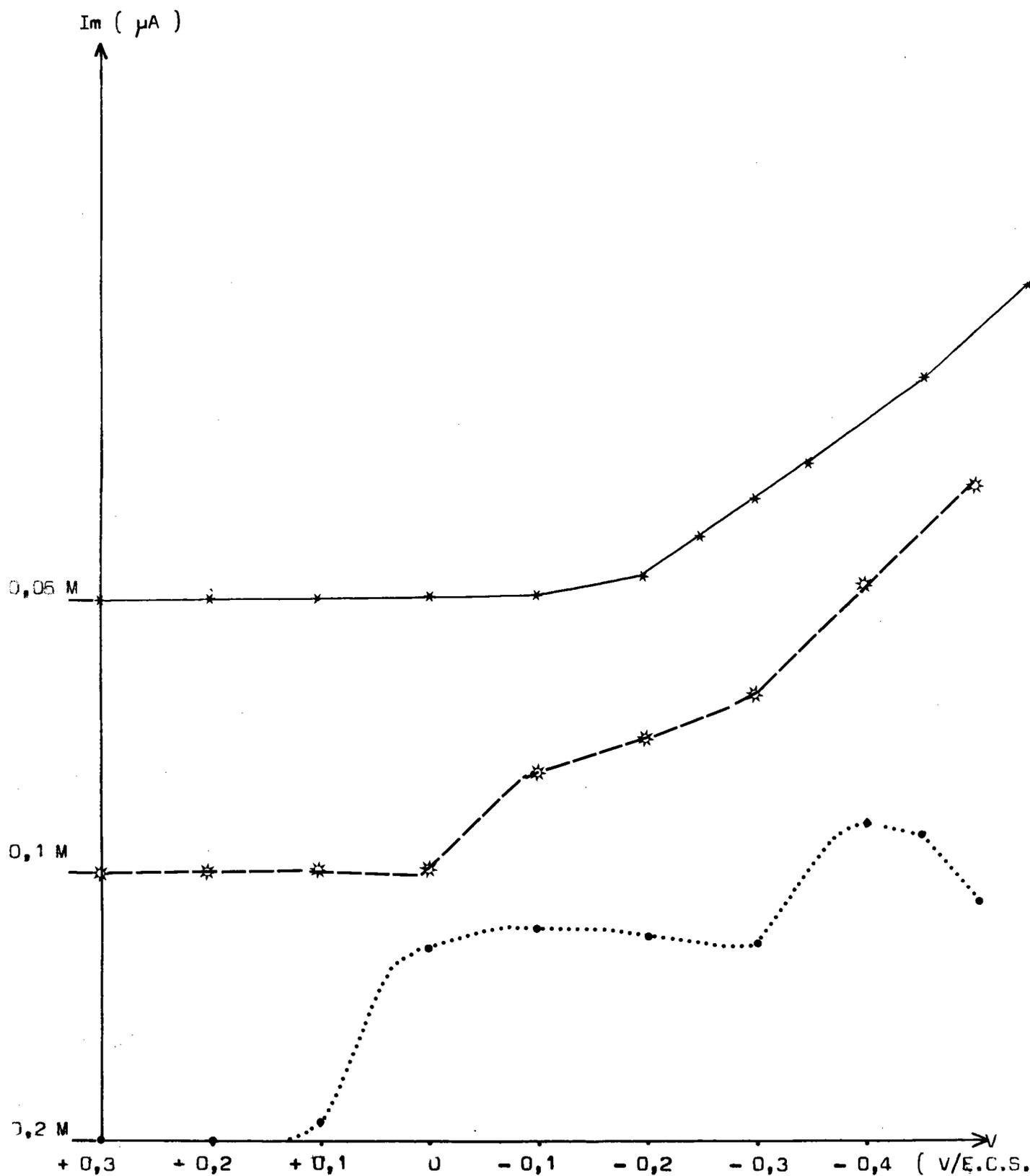


Fig. 11

Choix du potentiel de préélectrolyse
 Concentration en Bismuth: $2 \cdot 10^{-9}$ M.

Vitesse de défilement des potentiels	20 mV par seconde
Balayage des potentiels	- 0,15 V à + 0,85 V / ECS
Amplitude des impulsions	50 mV
Fréquence des impulsions	0,2 secondes
Sensibilité	1,25 ou 2,5 μ A selon le cas (pour 25 cm de papier)

Nous signalons tout de suite que la position du maximum du pic, I_m , est très légèrement fonction de la concentration en Bismuth dans la solution, mais dépend surtout de la valeur de l'acidité (le potentiel du pic pouvant varier de + 0,15 à 0,30 Volts)

Conclusions.

Des différentes courbes obtenues, nous déduisons les conclusions suivantes :

- Le domaine d'acidité le plus favorable correspond à une concentration en acide chlorhydrique égale à 0,2 - 0,3 M.

- Avec une telle acidité, le meilleur potentiel de préélectrolyse qui reste valable quelle que soit la concentration en Bismuth à déterminer, se situe aux environs de - 0,15. - 0,30 V/ ECS. Pour plus de sécurité, c'est donc un potentiel de - 0,30 V/ECS qui sera dorénavant utilisé dans toutes les études et nous pouvons affirmer dès à présent qu'il s'est révélé tout à fait satisfaisant dans tous les cas envisagés.

D) Résultats.

Vérification de la relation I_m proportionnelle à la concentration pour un temps de préélectrolyse constant et I_m proportionnelle au temps pour une concentration constante.

Les paramètres utilisés sont les suivants :

- potentiel de préélectrolyse : - 0,3 V
- Electrolyte support : HCl 0,2 M
- vitesse d'agitation : 500 tours par minute
- vitesse de défilement des potentiels : 20 mV par seconde
- amplitude des impulsions : 50 mV
- fréquence des impulsions : 0,2 seconde
- temps de repos : 30 secondes
- défilement des potentiels : de - 0,15 V à + 0,85 V/ECS
lors de la réoxydation

Les ajouts de Bismuth sont faits à l'aide de micropipettes EPPENDORF de 10,50, et 500 μ l à partir de solutions titrées 10^{-3} - 10^{-4} - 10^{-5} et 10^{-6} M contenant de l'acide chlorhydrique N.

La purge est effectuée à partir de dix défilements successifs, à la vitesse de 400 mV par seconde, avec une vitesse d'agitation de 500 tours par minute, de 0 à + 1V/ECS.

Cette purge est indispensable pour éliminer après chaque mesure, le dépôt d'or qui se réoxyde à un potentiel plus positif que le Bismuth. Ainsi, après chaque mesure, nous régénérons une électrode identique, ce qui est une condition indispensable pour une bonne reproductibilité.

Lors des études en fonction de la concentration en Bismuth, le temps de préélectrolyse varie entre 30 secondes et une minute suivant le domaine de concentration étudié (supérieur à 10^{-8} M), la concentration en sel d'or étant de $5 \cdot 10^{-5}$ M (10^{-4} pour des quantités de Bismuth supérieures à 10^{-6} moles par litre).

Le temps de dépôt est de 5 minutes pour une concentration en Bismuth inférieure à 10^{-8} M, la concentration en sel d'or étant égale à 10^{-5} M.

Nous constatons sur les courbes $I_m = f(c)$ à temps constant et $I_m = f(t)$ à concentration constante une très bonne proportionnalité du courant maximum I_m à la concentration et au temps de préélectrolyse, ceci dans le domaine très large de concentration en Bismuth 10^{-9} à 10^{-5} M (Fig : 12 à 20)

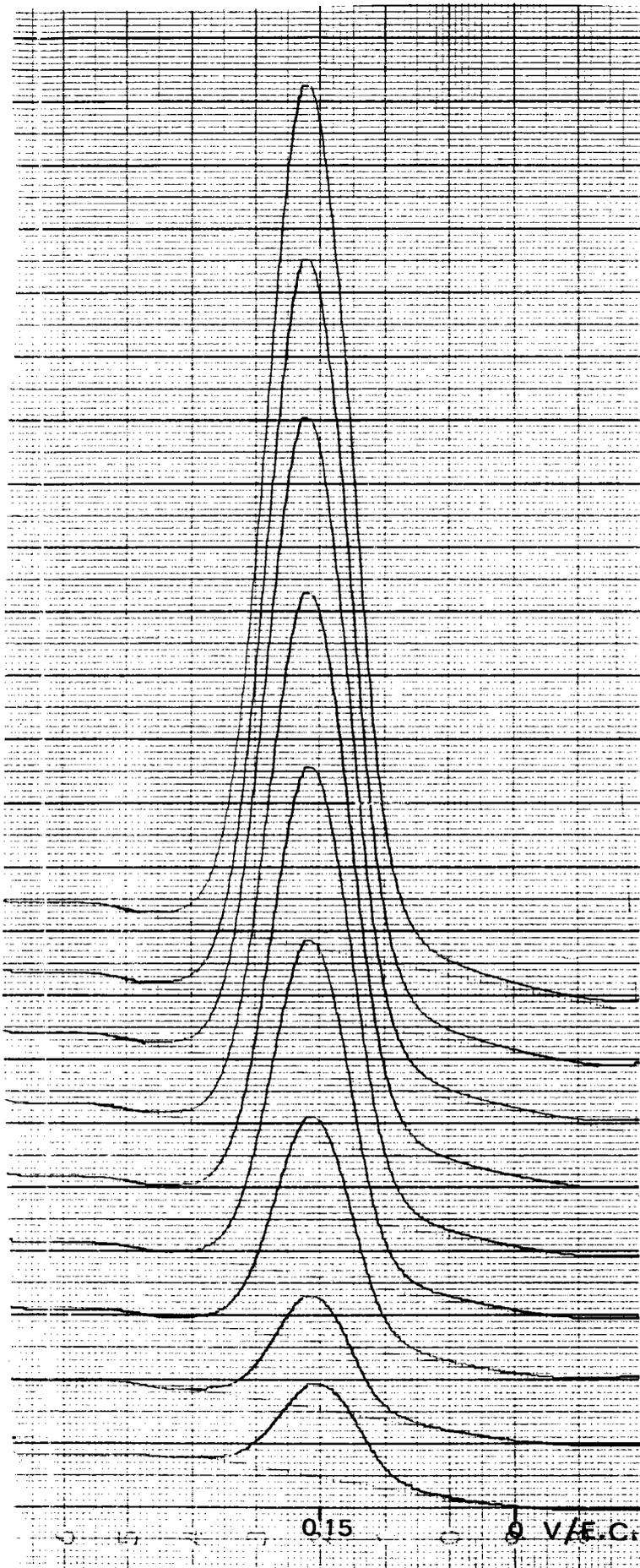


Fig. 12

Polarogramme du Bismuth

Domaine 10^{-7} - $8 \cdot 10^{-7}$ M

Electrode de carbone vitreux
recouverte d'or

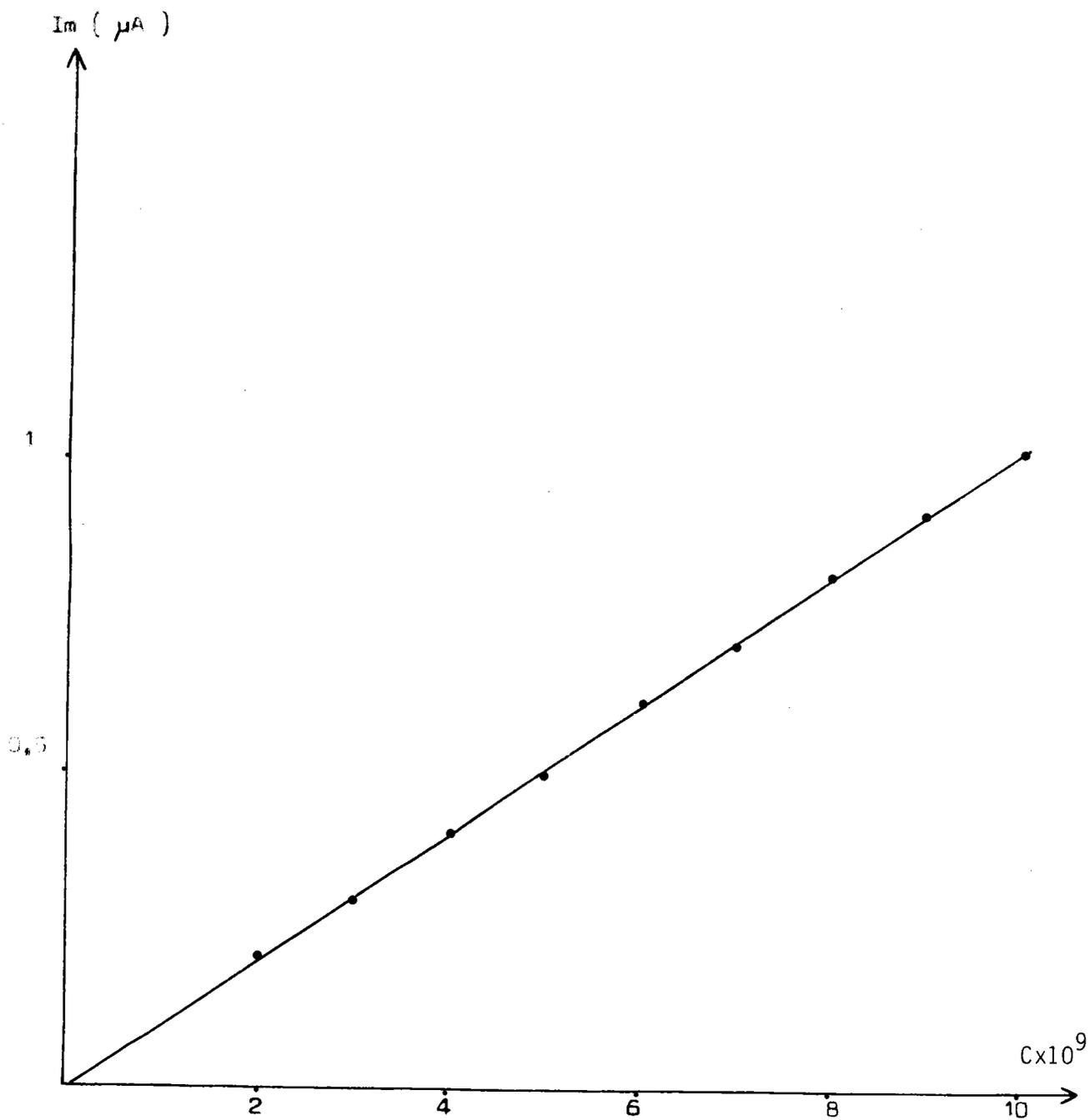


Fig. 13

VARIATION DE I_m EN FONCTION DE LA CONCENTRATION EN BISMUTH (10^{-9} - $10^{-8}M$)

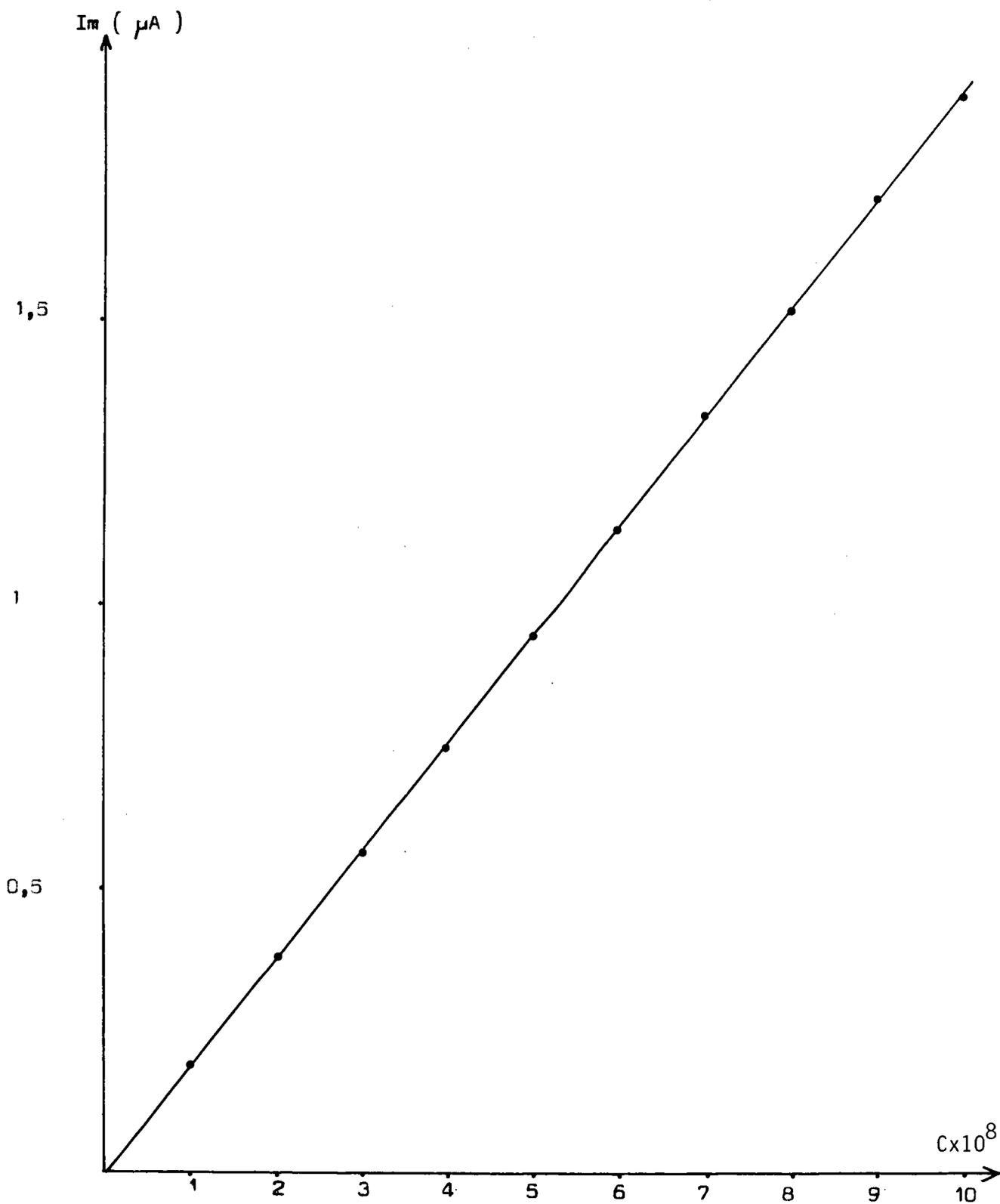


Fig. 14

VARIATION DE I_m EN FONCTION DE LA CONCENTRATION EN BISMUTH (10^{-8} - $10^{-7}M$)

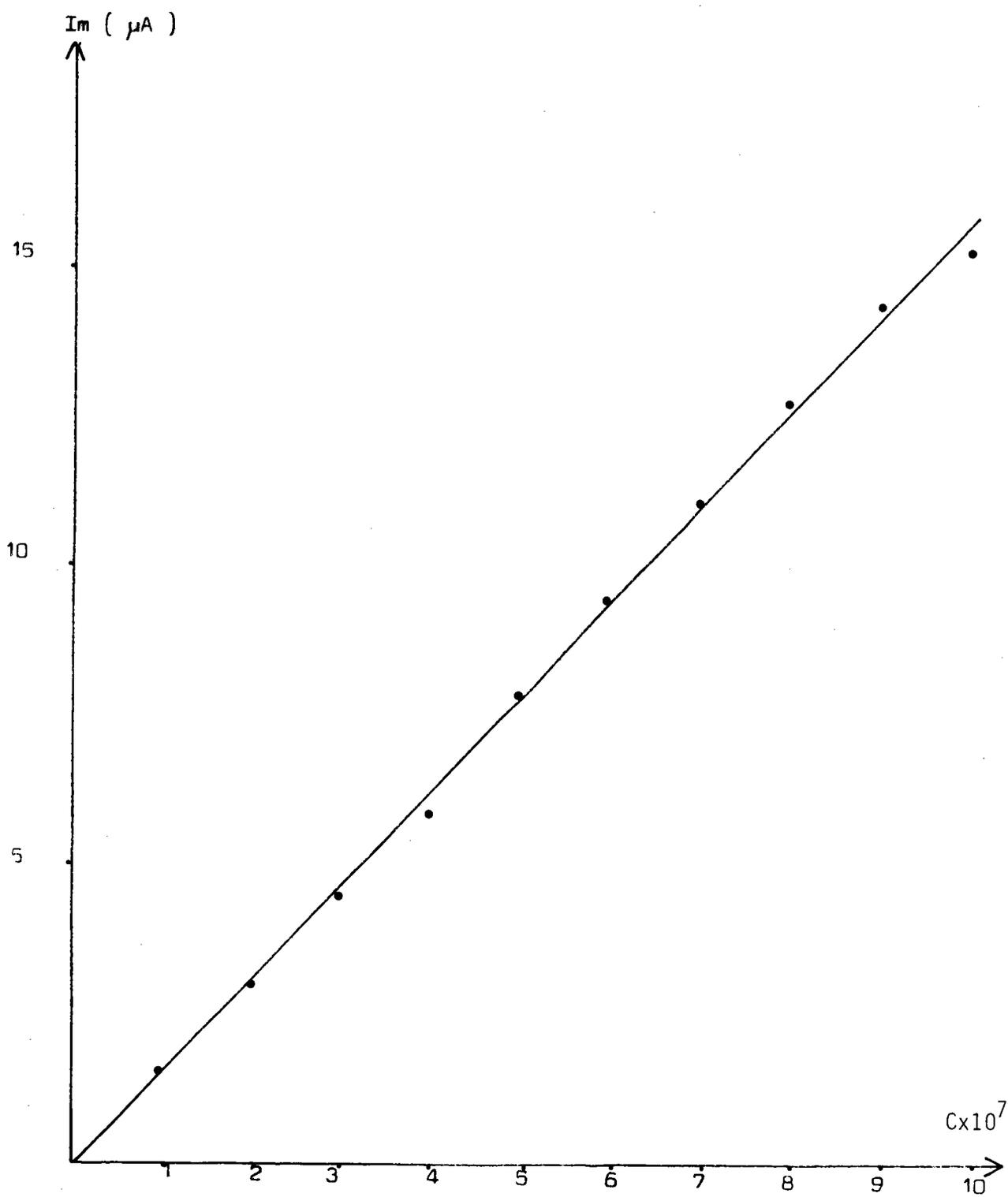


Fig. 15

VARIATION DE I_m EN FONCTION DE LA CONCENTRATION EN BISMUTH (10^{-7} - $10^{-6}M$)

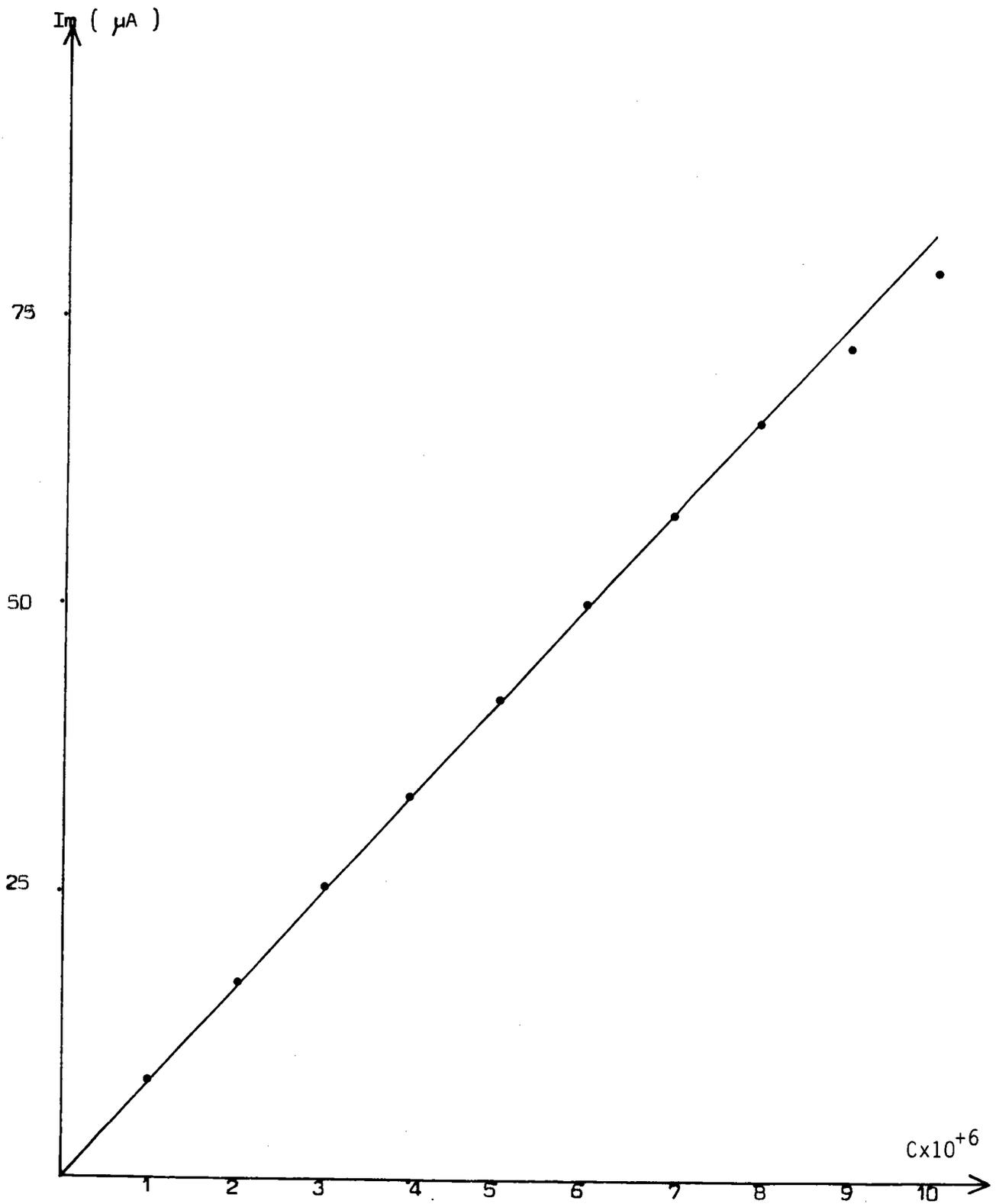


Fig. 16

VARIATION DE I_m EN FONCTION DE LA CONCENTRATION EN BISMUTH (10^{-6} - $10^{-5}M$)

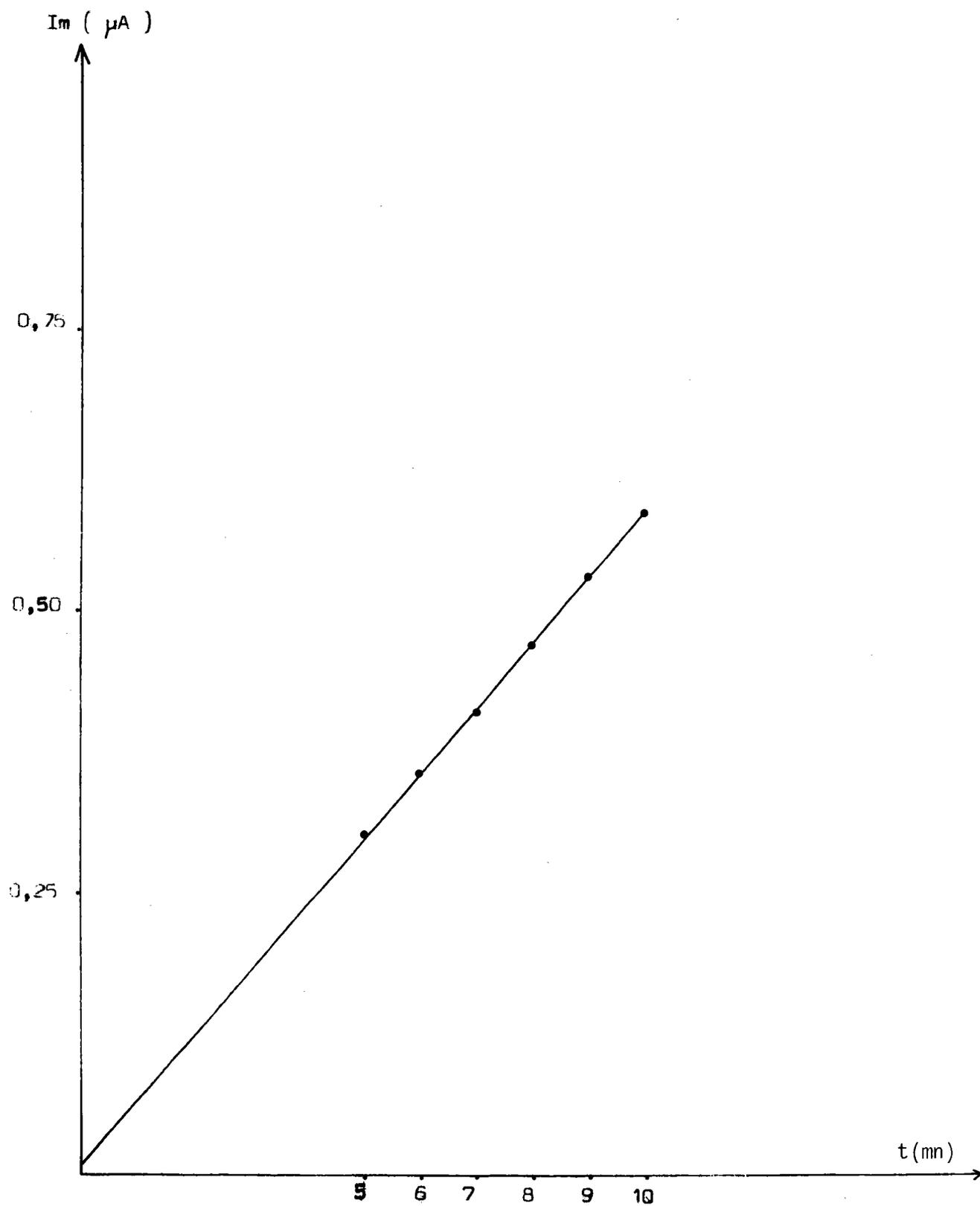


Fig. 17

VARIATION DE I_m EN FONCTION DU TEMPS DE PREELECTROLYSE -
CONCENTRATION EN BISMUTH : $2 \cdot 10^{-9}$ M.

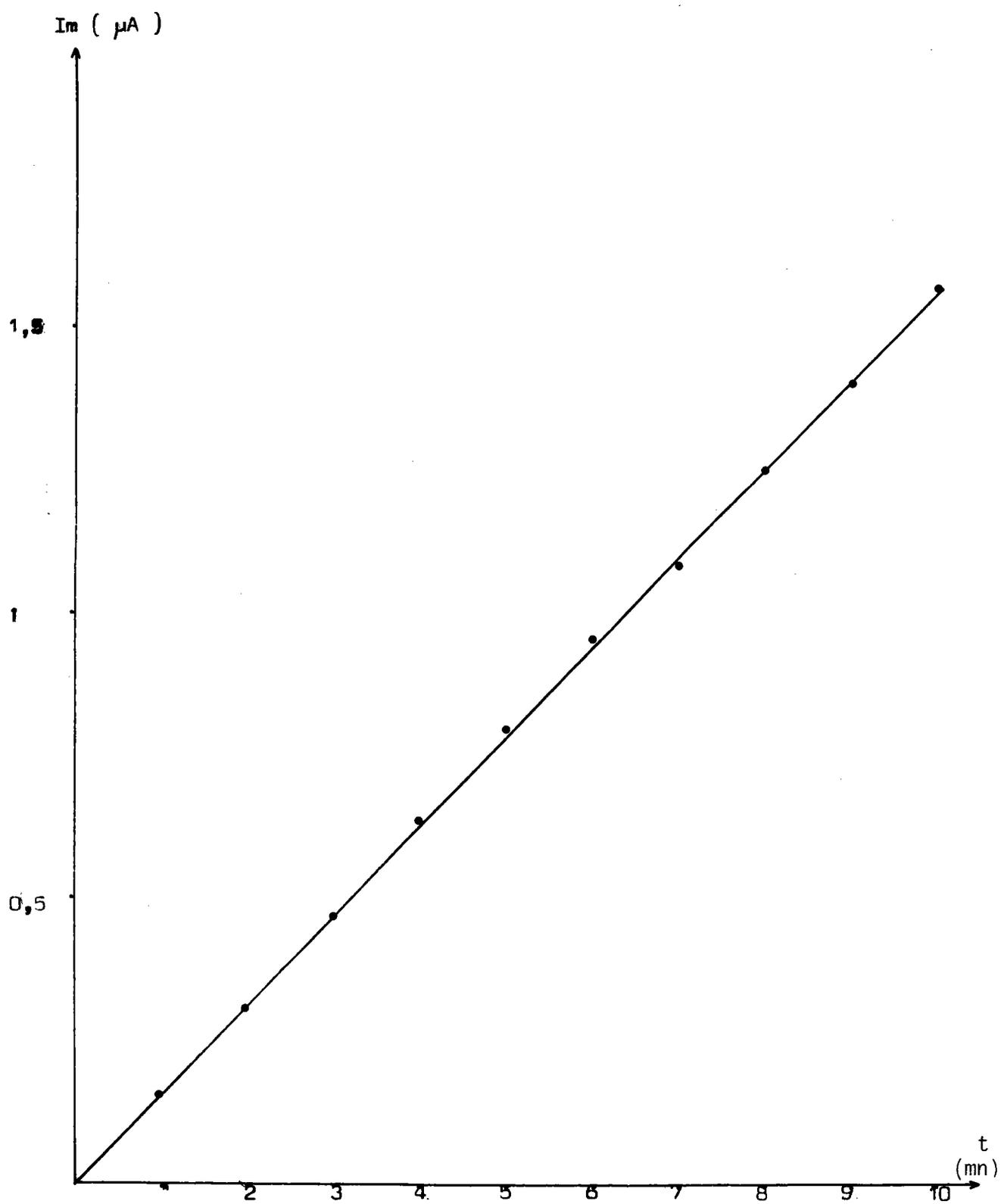


Fig. 18 Variation de I_m en fonction du temps de préélectrolyse.

Concentration en Bismuth : $2 \cdot 10^{-8}$ M

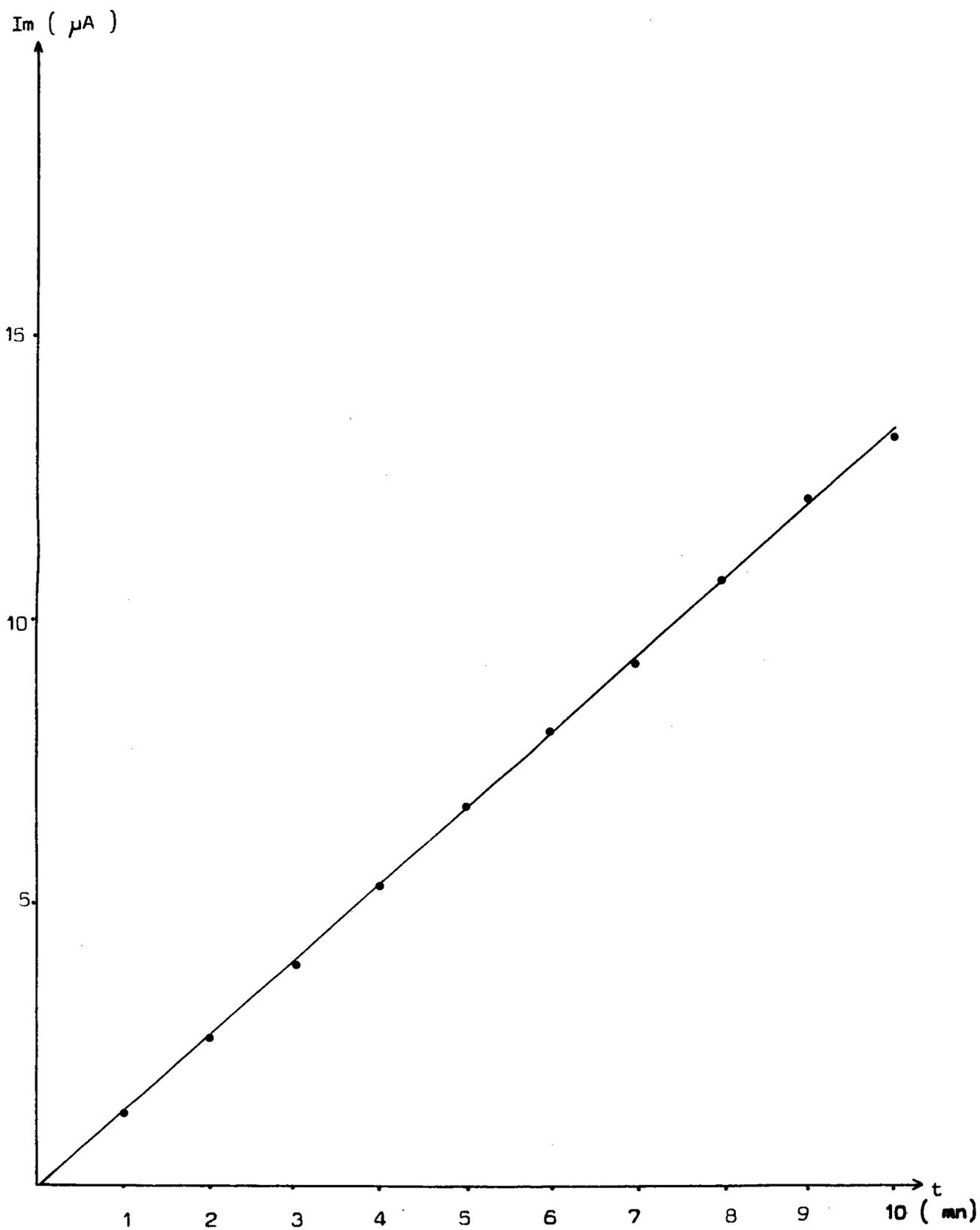


Fig. 19

VARIATION DE I_m EN FONCTION DU TEMPS DE PREELECTROLYSE
CONCENTRATION EN BISMUTH : 10^{-7}M

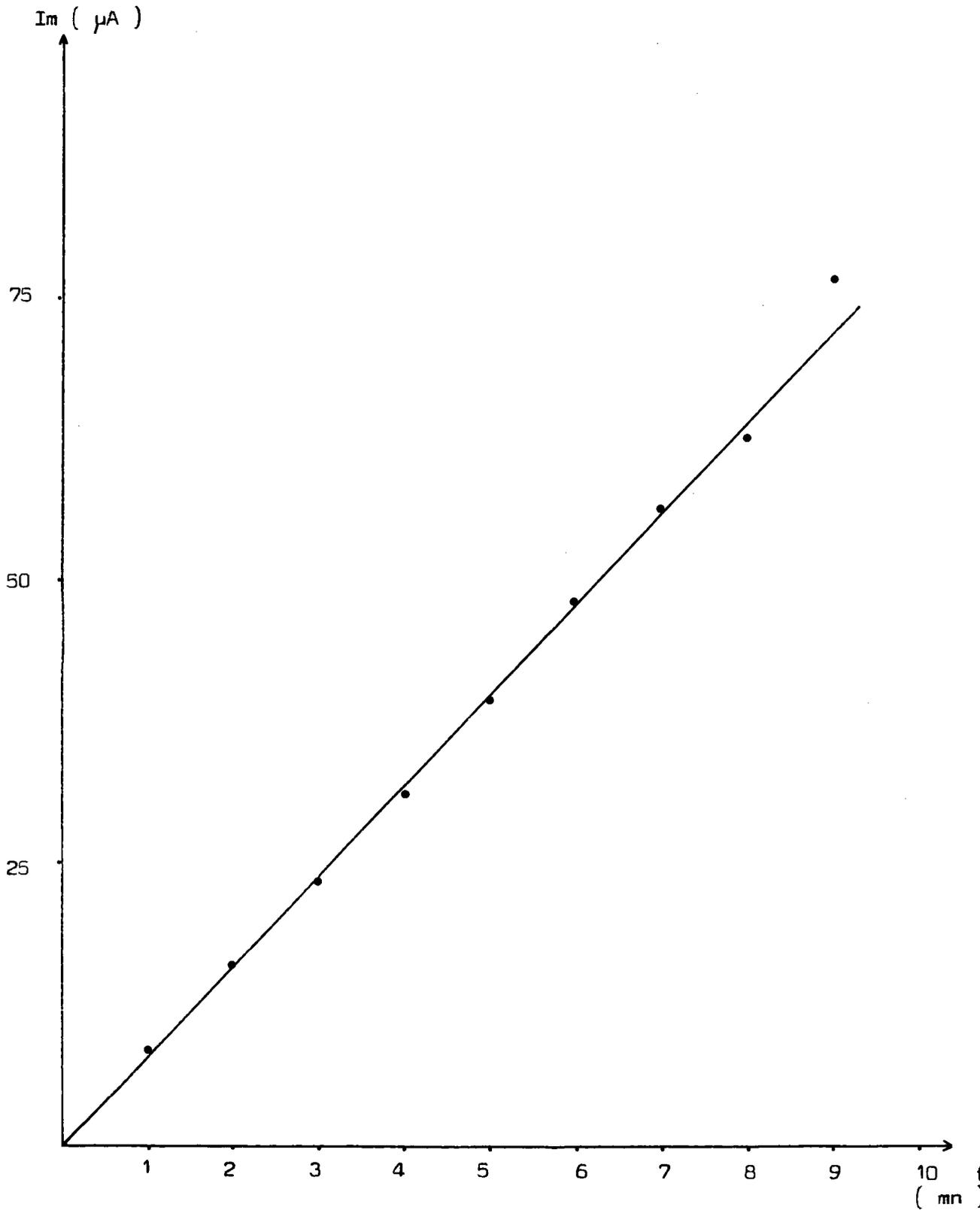


Fig. 20

Variation de I_m en fonction
du temps de préélectrolyse

Concentration en Bismuth : 10^{-6} M

E) Etude des interférences

Avant d'effectuer des tests statistiques sur la reproductibilité et la précision des mesures, lors du dosage de Bismuth en concentration connue dans l'eau, nous allons envisager les interférences afin de modifier la méthodologie si nécessaire.

L'étude de ces interférences est particulièrement importante dans notre cas précis où nous devons doser du Bismuth dans les milieux biologiques, milieux très complexes renfermant des ions métalliques les plus divers en concentration parfois importante, comme le cuivre ($10^{-5}M$ dans le sang), le plomb (10^{-6} dans le sang) etc...

Compte tenu de nos connaissances dans le domaine de la polarographie impulsionnelle avec redissolution anodique et des risques présumés d'interférences, nous allons porter nos efforts essentiellement sur le cuivre et le plomb dont les potentiels de réduction ne se situent pas très loin de celui du Bismuth, dans le cas de l'utilisation d'une électrode de mercure. Pour cela, à une solution de Bismuth à doser dans la cellule polarographique, nous ajouterons successivement des quantités croissantes de cuivre et de plomb, et nous observerons les variations du courant maximum d'oxydation du Bismuth.

Nous constatons que le pic de redissolution du Bismuth se situe à + 0,15 V, celui du plomb à 0 V et celui du cuivre à +0,25 V/ECS environ.

La position du pic de redissolution du Bismuth dans l'échelle des potentiels, est telle que si les concentrations en cuivre et en plomb deviennent importantes, la définition de ce pic en souffre considérablement et tend à s'estomper si la concentration en Bismuth devient très faible.

Des essais de masquage du cuivre (qui est nettement le plus interférant) par modification du milieu, ont été envisagés ; en particulier par modification de l'acidité de la solution. En effet, en travaillant en milieu HCl 0,5 M, le pic de redissolution du cuivre s'estompe partiellement, ce qui améliore directement la définition du pic du Bismuth. Néanmoins, il est difficile de dépasser un rapport de concentration cuivre/Bismuth de 25, ce qui est très nettement insuffisant dans notre cas présent. De plus, une telle concentration en acide chlorhydrique n'est

pas satisfaisante, comme nous l'avons vu précédemment dans le cas d'une concentration très faible en Bismuth.

Les interférences dues au cuivre et au plomb peuvent donc être considérées comme importantes, ce qui exige une séparation préalable.

Parmi les techniques de séparation envisagées (20,73) la plus utilisée est évidemment la technique par extraction en milieu organique. Nous devons donc choisir les réactifs organiques qui perturberont le moins possible nos résultats, par suite de réactions secondaires avec les ions Au (III) ou avec les ions Bi (III)

L'extraction au diéthylldithiocarbamate proposée par CHARLOT (20) s'est révélée la plus efficace dans notre cas présent. Le diéthylldithiocarbamate donne avec Cu(II) un composé coloré jaune à brun soluble dans le tétrachlorure de carbone, le chloroforme, l'amylol le n-butanol, l'acétate d'amyle, etc.... Les solutions chloroformiques sont les plus stables. Le bismuth donne également un complexe avec le diéthylldithiocarbamate extractible par le chloroforme. Un très grand nombre d'autres éléments donne aussi des complexes dans les mêmes conditions d'acidité (pH : 8,5) avec le diéthylldithiocarbamate ; il en est ainsi du plomb (II) et du mercure (II) Pour éviter leur complexation par le diéthylldithiocarbamate et leur extraction ultérieure, on les complexe par des ions citrates et éthylène diamine tétraacétates. Néanmoins les ions mercuriques sont extraits par le chloroforme sous forme de complexes avec le diéthylldithiocarbamate au pH considéré (8,5)

Dans une première étape, on extrait donc après addition de citrate de sodium, E.D.T.A., diéthylldithiocarbamate de sodium, de chloroforme, les éléments Cu (II), Bi (III) et Hg (II)

Dans une deuxième étape, en changeant l'acidité du milieu (acide chlorhydrique 5 M) seul le Bismuth repasse de la phase organique vers la phase aqueuse, le cuivre et le mercure restant dans la phase chloroformique.

1°) Les réactifs utilisés sont :

- Citrate de sodium M/5
- solution d'EDTA M/5
- Diéthylthiocarbamate de sodium : dissoudre 100 mg de réactif dans 100 cm³ d'eau. Conserver à l'abri de la lumière.
- Rouge de crésol : dissoudre 100 mg dans 100 cm³ d'alcool
- chloroforme
- solution d'acide chlorhydrique 5 N
- Ammoniaque

2°) Mode opératoire

A 50 cm³ de la solution à analyser, ajouter 12,5 cm³ de citrate, 25 cm³ d'EDTA, puis 2 gouttes de rouge de crésol. Neutraliser par l'ammoniaque jusqu'à l'obtention d'une teinte violet (pH environ 8,5). Ajouter 5 à 10 cm³ de diéthylthiocarbamate de sodium. Extraire par 10 cm³ de chloroforme en agitant. Transvaser la phase organique dans une autre ampoule à décantier. Extraire à nouveau par 5 cm³ de chloroforme. Rincer la phase organique par 10 cm³ d'acide chlorhydrique 5 N. On en prélève la quantité voulue (en général 5 cm³) que l'on injecte dans la cellule. Compléter à 50 cm³ par de l'eau bidistillée. On peut si nécessaire ajuster le pH par de la soude, les pics subissent une légère diminution qui n'intervient pas sur le résultat du dosage.

Cette méthode a le grand intérêt de récupérer le Bismuth dans un milieu acide chlorhydrique concentré. Il suffit donc de diluer convenablement la phase aqueuse pour obtenir le milieu favorable au dosage.

La sensibilité de la méthode peut être augmentée en travaillant sur des quantités de liquide supérieures à 50 cm³ (cas des urines) et en concentrant le Bismuth dans la phase organique puis dans la phase aqueuse de récupération.

3°) Résultats

Nous avons testé l'efficacité de la séparation en dosant le Bismuth en concentration donnée, en présence de Hg (II), Pb(II), Cu(II), As (III), Sn (II).

a) Domaine 10^{-9} - 10^{-8} M.

- . Concentration en - Hg(II) : 10^{-6} M
- . Concentration en - Pb(II) ; As (III) ; Sn (II)
Cu (II) : 10^{-5} M

La quantité d'or dans la cellule équivaut à 10^{-5} moles d'or par litre de solution.

La courbe $I_m = f(c)$ pour des temps de préélectrolyse de 5 minutes est tout à fait linéaire (Fig. 21)

b) Domaine 10^{-8} - 10^{-7} M.

- . Concentration en - Hg (II), Pb (II), As (III),
Sn(II) ; Cu (II) : 10^{-5} M
- . La concentration en or dans la cellule est égale à 5.10^{-5} M.

Nous observons une très bonne linéarité de la fonction $I_m = f(c)$ pour des temps de dépôt de 1 minute. (fig : 22)

c) Domaine 10^{-7} - 10^{-6} M.

- . Concentration en Hg (II), Pb (II), As (III), Sn(II)
Cu (II) : 10^{-5} M
- . La concentration en or dans la cellule est toujours égale à 5.10^{-5} M.

On observe une très bonne linéarité de la fonction $I_m = f(c)$ avec un temps de préélectrolyse de 1 minute. (fig. 23)

d) Domaine 10^{-6} - 10^{-5} M

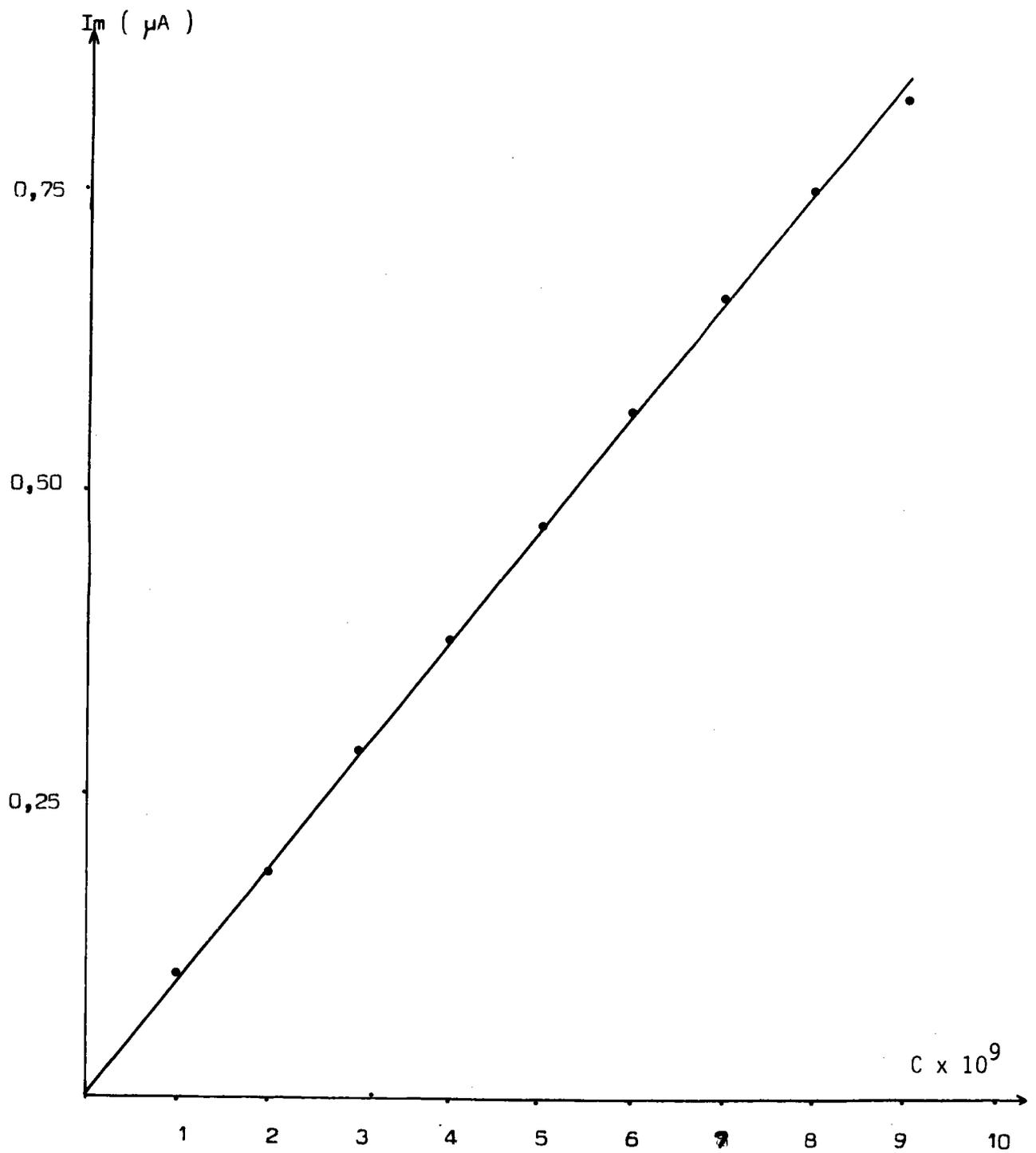


Fig. 21.

VARIATION DE I_m EN FONCTION DE LA CONCENTRATION EN BISMUTH APRES EXTRACTION
(DOMAINE 10^{-9} - 10^{-8} M)

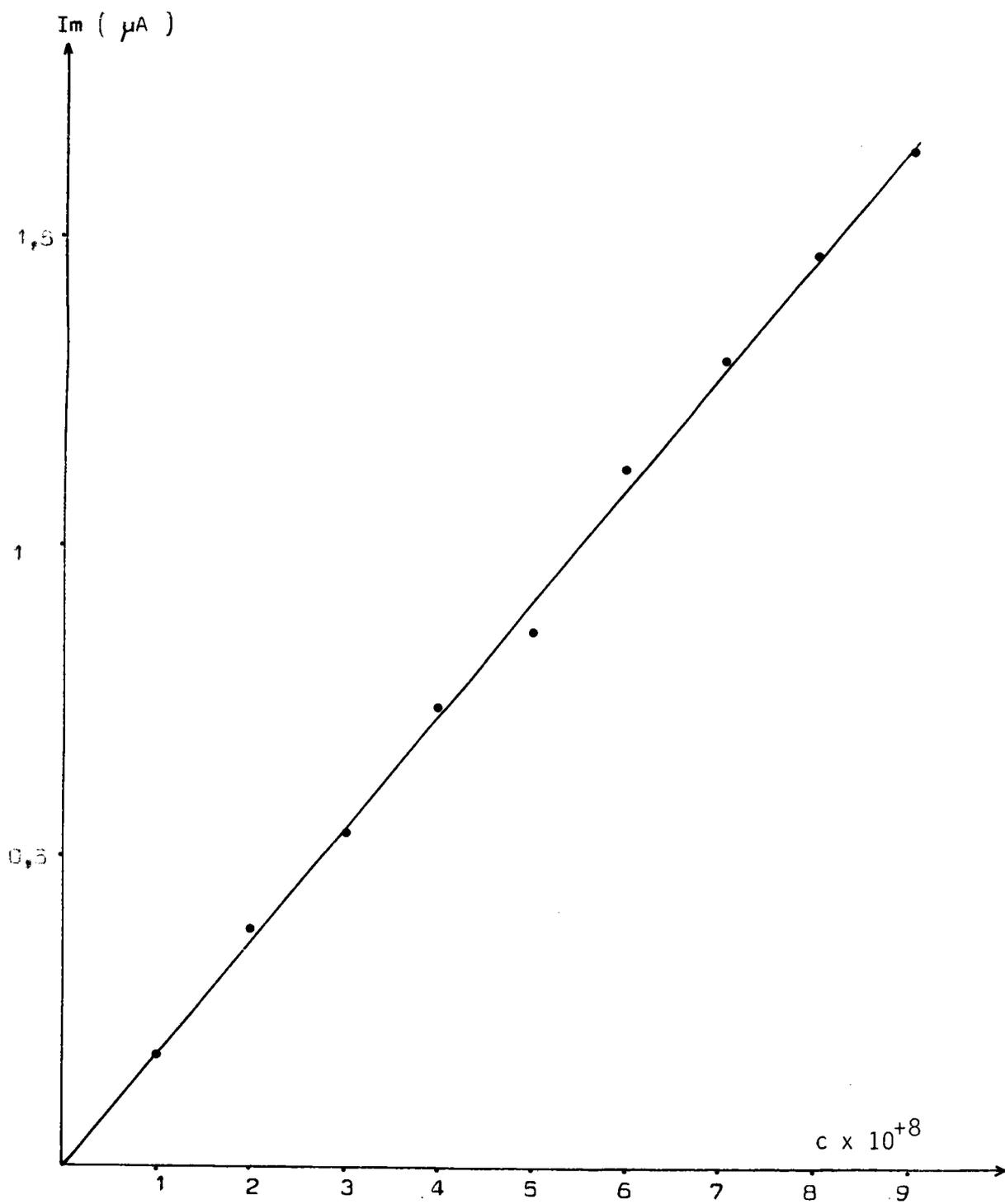


Fig. 22

VARIATION DE I_m EN FONCTION DE LA CONCENTRATION EN BISMUTH, APRES EXTRACTION
(DOMAINE 10^{-8} - 10^{-7} M)

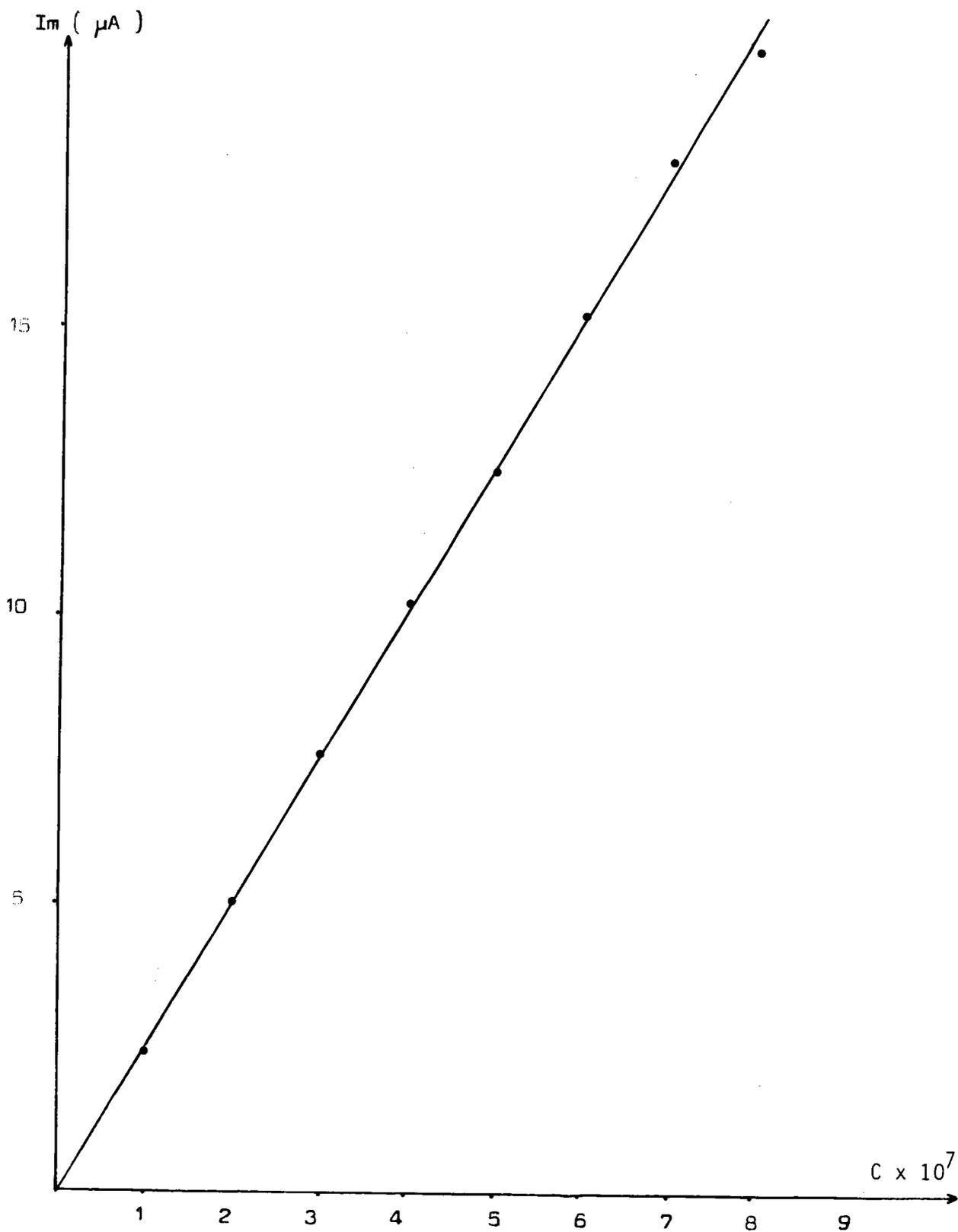


Fig. 23

VARIATION DE I_m EN FONCTION DE LA CONCENTRATION EN BISMUTH APRES EXTRACTION
(DOMAINE 10^{-7} - 10^{-6} M)

. Concentration en Hg(II), Pb (II), As (III), Sn(II), Cu (II) : 10^{-5} M

La linéarité de la fonction $I_m = f(c)$, pour des temps de préélectrolyse de une minute, n'est respectée (en particulier dans le domaine où les concentrations en Bismuth sont voisines de 10^{-5} M) que si on utilise une concentration en or égale à 10^{-4} ou $1,5 \cdot 10^{-4}$ M.

En présence d'une quantité d'or inférieure à 10^{-4} M, on atteint très rapidement une saturation, c'est-à-dire que le courant maximum d'oxydation n'augmente plus en fonction des variations de concentration.

Il semble que les ions auriques soient très légèrement complexés par des traces de diéthylthiocarbamate et il est nécessaire de compenser ces pertes par une légère augmentation de la concentration en or. Toutefois, en présence de telles quantités de Bismuth (qui ne sont pratiquement jamais rencontrées en biologie) il est possible de se ramener à des concentrations plus utilisables, par dilution. Une concentration égale à $5 \cdot 10^{-5}$ M d'or reste très largement suffisante pour tout le domaine qui nous intéresse.

Nous pouvons donc conclure que notre système d'extraction s'est révélé tout à fait efficace et ne présente aucune contre-indication dans les conditions où nous travaillons.

F) Applications du dosage à différents milieux

Il nous paraît donc indispensable maintenant de rappeler schématiquement le mode opératoire complet du dosage du Bismuth et de vérifier sur un grand nombre d'opérations la bonne reproductibilité et précision des mesures. Pour cela, dans différents domaines de concentration connue en Bismuth, nous déterminerons expérimentalement ces concentrations. Une quinzaine de déterminations seront effectuées dans chaque domaine de concentration :

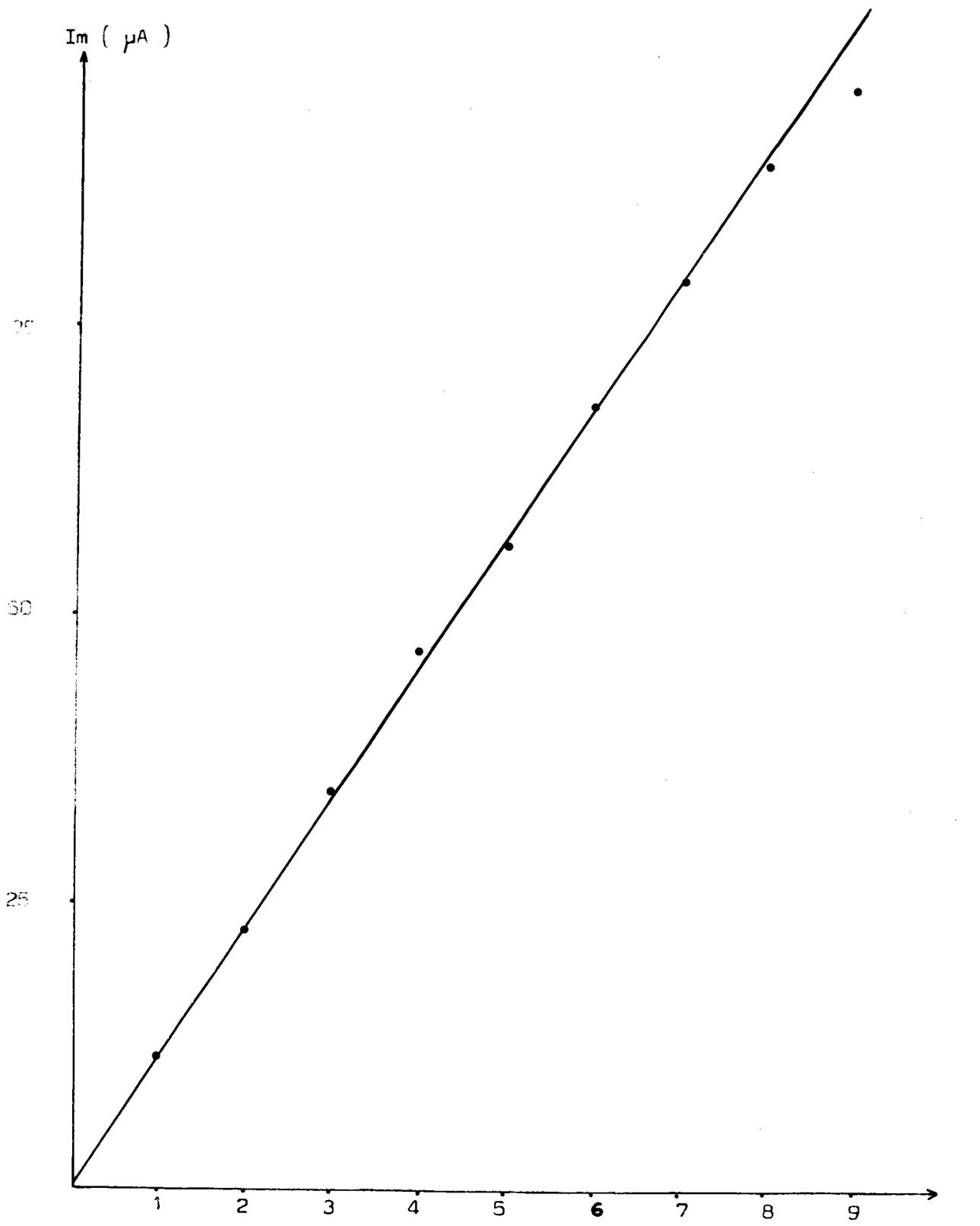


Fig. 24

Variation de Im en fonction
de la concentration, après extraction.
Domaine 10^{-6} - 10^{-5} M

Concentration
en Bismuth
($\times 10^6$)

- 10^{-9} - 10^{-8} M
- 10^{-8} - 10^{-7} M
- 10^{-7} - 10^{-6} M
- 10^{-6} - 10^{-5} M

Toutes ces déterminations seront réalisées en présence d'éléments en concentration égale à 10^{-5} M, ces éléments étant Cu (II), Hg (II), Pb(II), Sn (II), As (III)

1°) Mode opératoire

Avant d'appliquer la méthode polarographique aux dosages dans différents milieux, il est bon de rassembler toutes les données précédentes afin d'avoir un aperçu général des conditions expérimentales du dosage.

- . Electrode de carbone vitreux
- . Milieu - HCl 0,2 M (il est possible de travailler avec des concentrations de 0,5 M)
- . AuCl_3 . $5 \cdot 10^{-5}$ M
 - . 10^{-5} M selon le temps de préélectrolyse
- . Amplitude des impulsions : 50 mV
- . Fréquence des impulsions : 0,2 s
- . Potentiel de préélectrolyse : - 0,3 V
 - de repos : - 0,15 V
 - du pic : + 0,15 à + 0,3 V
- . Vitesse de défilement des potentiels : 20 mV/s
 - d'agitation : 500 tours/ mn
- . temps de repos : 30 s

Les facteurs variables tels que le temps de préélectrolyse, la sensibilité, la concentration en sel d'or peuvent être réunis dans un tableau (Tabl. I)

Domaine de concentration en Bismuth	$10^{-9}M$	$10^{-8}M$	$10^{-7}M$	$10^{-6}M$
temps de dépôt	5 minutes	1 minute	1 minute à 30 secondes	30 ou 15 secondes
sensibilité	1,25 ou 2,5 μA	2,5 μA	12,5 ou 25 μA	125 μA
Concentration en or	$10^{-5} M$	$5 \cdot 10^{-5} M$	$5 \cdot 10^{-5} M$	$10^{-4} M$

Tableau I

La purge est effectuée en faisant défiler une dizaine de fois les potentiels de 0 à + 1 V à raison de 400 mV par seconde tout en agitant la solution.

D'un point de vue pratique, lorsqu'il s'agit d'une solution inconnue à doser, généralement de concentration en Bismuth très faible, nous commençons par faire un premier dépôt de une minute en présence de $10^{-5}M$ de sel d'or. S'il n'y a pas de pic ou si le pic est très petit, (sensibilité utilisée 1,25 μA) nous effectuons des préélectrolyses de cinq minutes dans ce même milieu.

Par contre, si le pic est assez grand et bien défini, nous augmentons la concentration en or jusqu'à $5 \cdot 10^{-5}M$, et nous utilisons des temps de dépôt de une minute ou moins. Cette manoeuvre particulièrement rapide évite les désagréments dus à un dépôt d'or trop important.

2°) Applications au dosage à différents milieux.

Les différentes conditions étant bien définies (électrode de travail - électrolyte support- potentiel de préélectrolyse V_e - étude des interférences) nous allons appliquer ce dosage à divers milieux, eau urines, sang, matières osseuses.

a) l'eau

Nous avons réalisé des extractions de Bismuth par le diéthyl-dithiocarbamate, à partir de mélanges contenant des quantités importantes de cuivre, mercure, plomb, étain, arsenic. Les dosages ont été réalisés sur des séries de solutions contenant des concentrations en Bismuth connues. Nous utilisons la technique des ajouts titrés. Pour une plus grande précision, nous avons fait trois ou quatre ajouts à chaque détermination.

Tests de reproductibilité

Pour chaque domaine de concentration, nous avons fait n dosages avec n compris entre 12 et 15.

Soit c_i la concentration en Bismuth obtenue. A partir de n résultats, on peut calculer leur moyenne

$$\bar{c} = \frac{\sum c_i}{n}$$

En adoptant comme résultat la moyenne des n mesures on fixe des limites de confiance au moyen de la formule

$$\bar{c} - t s_m \leq c_i \leq \bar{c} + t s_m$$

s_m étant l'écart type estimé sur la moyenne $s_m = \sqrt{\frac{\sum (\bar{c} - c_i)^2}{n(n-1)}}$
 c_i étant une nouvelle mesure.

t est donné en fonction du nombre de mesures n qui ont servi à déterminer \bar{c} et s_m . Dans notre cas particulier où le nombre de mesures n varie entre 12 et 15, t est égal à 2,2 (74)

Les tests de reproductibilité ont permis de réaliser le tableau suivant :

Concentration connue en Bismuth dans la solution à polarographe	concentration trouvée $c_i = \bar{c} \pm t s m$
10^{-9} ion g/l	$1,04 \pm 0,08 \cdot 10^{-9}$ ion g/l
10^{-8} ion g/l	$1,06 \pm 0,04 \cdot 10^{-8}$ ion g/l
10^{-7} ion g/l	$1,02 \pm 0,02 \cdot 10^{-7}$ ion g/l
10^{-6} ion g/l	$1,00 \pm 0,03 \cdot 10^{-6}$ ion g/l

Tableau II

La technique de polarographie impulsionnelle avec redissolution anodique permet le dosage du Bismuth en solution aqueuse avec une sensibilité et une sélectivité exceptionnelles, et ceci dans une gamme de concentration très étendue. Cette méthode est suffisamment rapide pour pouvoir être utilisée en analyse de routine puisque, extraction comprise, elle ne nécessite guère que quinze à vingt minutes. Dans le cas des très faibles concentrations en Bismuth (10^{-9} - 10^{-8} M), ces dosages sont un peu plus longs puisqu'ils demandent des temps de préélectrolyse de cinq minutes.

b) Milieux biologiques

Les techniques les plus utilisées actuellement pour déterminer les concentrations en Bismuth dans les milieux biologiques sont la spectroscopie d'absorption atomique et la polarographie.

Dans tous les cas, il est procédé à une minéralisation. Lors du dosage par absorption atomique, certains auteurs font une extraction par l'ammonium pyrrolidine dithiocarbamate dans la méthyl isobutyl-cétone (38 - 75 -), la méthyl - n - amyl - cétone (76) ou l'hexane (77). BOURDON (78) a décrit les conditions expérimentales du dosage du Bismuth dans les liquides biologiques à l'aide du mini-four de MASSMAN. Ces techniques permettent de doser des concentrations comprises entre 10 et 2000 $\mu\text{g/l}$.

ALLAIN (77) a pu montrer que les taux sanguins chez des adultes des deux sexes n'ayant pas été traités préalablement par des sels de Bismuth, oscillent entre 1 et 10 $\mu\text{g/l}$ avec une valeur moyenne de 4,5 $\mu\text{g/l}$. Ces résultats concordent avec ceux de BOURDON (78), DELVES (38).

En ce qui concerne les méthodes polarographiques classiques de dosage du Bismuth, elles ont été décrites pour l'urine (79-80-81) alors que le Bismuth sanguin a été dosé par polarographie avec redissolution anodique (82).

. Dosage du Bismuth dans les urines

Le dosage direct du Bismuth dans les urines après son extraction par le diéthylthiocarbamate de sodium n'est pas possible, les matières organiques susceptibles de repasser en phase aqueuse pouvant adhérer à la surface de l'électrode et empêcher le dépôt du Bismuth.

Le dosage du Bismuth dans les milieux biologiques ne peut se réaliser qu'en faisant une attaque préalable sur cette urine.

. Méthode d'attaque

- . prélever 50 cm³ d'urine
- . ajouter 10 cm³ d'acide perchlorique concentré suprapur
5 cm³ d'acide sulfurique concentré suprapur

Le mélange est chauffé au bain de sable ou sur un bec Bunsen. La solution noircit en se concentrant. Lorsque l'eau s'est évaporée, la solution s'éclaircit avec apparition de fumées blanches. On retire le mélange lorsque la solution est incolore. Le volume restant est repris par de l'eau bidistillée et transvasé dans l'ampoule à décanter. Les conditions de dosage sont alors celles de l'eau.

De nombreux essais (une vingtaine) effectués sur des urines de personnes différentes n'ayant jamais reçu ou absorbé de Bismuth, n'ont pas permis de déceler de traces de Bismuth.

En pratique, nous considérons un taux voisin de 0,1 µg/l comme limite inférieure appréciable à l'aide de cette technique de dosage.

Les taux de Bismuth moyens dans les urines sont donc inférieurs à cette limite de sensibilité.

. Tests de reproductibilité

La Bismuthurie a été déterminée sur 3 séries de 10 urines auxquelles nous avons respectivement ajouté 10^{-6} , 10^{-7} et 10^{-8} moles de Bismuth par litre.

Les résultats obtenus sont les suivants :

Concentration connue en Bismuth dans les urines	Concentration trouvée $c_i = c \pm t s m (t = 2,2)$
10^{-6} ion g/ litre	$0,96 \pm 0,04$ 10^{-6} ion g/litre
10^{-7} ion g/litre	$0,93 \pm 0,05$ 10^{-7} ion g/litre
10^{-8} ion g/litre	$1,02 \pm 0,02$ 10^{-8} ion g/litre

Tableau III

. Dosage du Bismuth dans le sang

Nous avons utilisé des échantillons de sang humain héparinés fournis par le centre de transfusion sanguine de Nancy.

Le dosage du Bismuth dans le sang total ne peut se faire qu'après une minéralisation sulfo-perchlorique complète.

. Méthode de minéralisation

- . Prélever 5 cm³ de sang total
- . Ajouter environ 10 cm³ d'eau bidistillée
 - 5 cm³ d'acide perchlorique suprapur
 - 3 cm³ d'acide sulfurique suprapur.

On chauffe le mélange au bain de sable jusqu'à décoloration de la solution. Le résidu est repris par de l'eau bidistillée. Les conditions de dosage sont les mêmes que précédemment.

Les dosages ont été réalisés sur 20 échantillons sanguins différents. Pour vérifier la valeur de nos résultats, chaque échantillon de sang a fait l'objet de deux dosages :

N°échantillon	Concentration moyenne trouvée µg/litre	N°échantillon	concentration moyenne trouvée en µg/l
1	4,0	11	2,2
2	1,1	12	2,5
3	2,9	13	3,6
4	1,1	14	3,5
5	1,4	15	1,6
6	5,0	16	3,8
7	1,1	17	4,4
8	0	18	1,7
9	4,2	19	7,0
10	11,0	20	7,0

Tableau IV

La moyenne obtenue sur 20 échantillons est de 3,5 µg/litre de sang, ce qui correspond aux valeurs obtenues par ALLAIN (77), BOURDON (78), DELVES (38), SINKO (82)

. Test de reproductibilité

Nous avons par ailleurs réalisé une série de dosages sur

les échantillons précédents dont la teneur en Bismuth est maintenant connue. Nous y avons rajouté des quantités précises de Bismuth. Les valeurs indiquées dans le tableau V sont obtenues après avoir retranché des résultats la teneur réelle en Bismuth des échantillons sanguins.

Concentration en Bismuth ajouté dans le sang	concentration trouvée
$2 \cdot 10^{-6}$ ion g par litre	$1,88 \pm 0,09 \cdot 10^{-6}$ ion g par litre
$2 \cdot 10^{-7}$ ion g par litre (échantillons 16 à 20)	$1,95 \pm 0,09 \cdot 10^{-7}$ ion g/l
$2 \cdot 10^{-8}$ ion g par litre (échantillons 11 à 15)	$1,97 \pm 0,07 \cdot 10^{-8}$ ion g/l

Tableau V

En conclusion, cette technique de dosage du Bismuth dans les liquides biologiques par polarographie impulsionnelle avec redissolution anodique après extraction est une méthode simple, rapide, parfaitement reproductible et suffisamment sensible pour doser les taux sanguins normaux, la quantité de Bismuth contenu dans les urines étant inférieure à la limite de sensibilité de la méthode.

Dosage du Bismuth dans le tissu osseux

Comme nous le verrons par la suite, la technique de polarographie impulsionnelle avec redissolution anodique est parfaitement utilisable pour doser le Bismuth dans le tissu osseux. (par exemple en cas d'intoxication). Si l'on désire obtenir des résultats cohérents, il est nécessaire de connaître la quantité de Bismuth physiologiquement contenue dans ce tissu osseux. Pour cela, des dosages systématiques ont été réalisés sur des prélèvements osseux recueillis au cours d'interventions chirurgicales orthopédiques chez des malades n'ayant jamais reçu ou absorbé de Bismuth.

Il n'était pas question pour nous d'effectuer une minéralisation à partir du prélèvement complet, les fragments recueillis étant parfois importants (tête fémorale). Par ailleurs, il était essentiel de doser le Bismuth sur un échantillon représentatif de tout le prélèvement. C'est pourquoi, après avoir très finement broyé ces os, nous avons effectué une attaque sulfoperchlorique classique sur un gramme de matière osseuse par 10 cm³ d'acide perchlorique et 5 cm³ d'acide sulfurique. Les différents dosages réalisés sur 8 prélèvements osseux ont tous indiqué un chiffre inférieur à 5 microgrammes de Bismuth par kilogramme de matière osseuse.

G) Applications du dosage du Bismuth à la toxicologie

Les nombreuses observations relevées dans la littérature ont montré que le Bismuth administré par voie digestive à doses thérapeutiques provoquait une augmentation sensible des taux de Bismuth sanguins et urinaires (77-78-80-81), pouvant entraîner des intoxications aiguës accompagnées de syndromes neurologiques graves.

ALLAIN (77) retient arbitrairement un chiffre de 100 µg/l comme anormalement élevé. Au cours des intoxications aiguës, les taux de Bismuth dans le sang et les urines peuvent atteindre 1000 µg par litre et même plus. La fréquence de ces intoxications par le Bismuth explique la nécessité de disposer d'une technique simple, sensible et rapide de dosage du Bismuth dans les milieux biologiques.

Nous nous proposons d'appliquer la méthode mise au point aux problèmes toxicologiques.

1°) Dosage dans les liquides biologiques

Les résultats des dosages du Bismuth effectués sur le sang et les urines de malades traités par Bismuth par voie digestive et présentant des signes d'intoxication, sont indiqués dans le tableau VI. Par précaution ces dosages ont été doublés ou même triplés, le chiffre indiqué étant la moyenne des résultats obtenus.

sujet	Dosage sanguin	Dosage urinaire
Mme H..	207 $\mu\text{g}/\text{l}$	208 $\mu\text{g}/24\text{h}$
Mr C..	36 $\mu\text{g}/\text{l}$	23 $\mu\text{g}/24\text{ h}$
Mme B..	501 $\mu\text{g}/\text{l}$	---
Mme J..	4 $\mu\text{g}/\text{l}$	---
Mme R..	4,5 $\mu\text{g}/\text{l}$	----
Mr F..	5,1 $\mu\text{g}/\text{l}$	1,8 $\mu\text{g}/24\text{ h}$
Mme M..	13,4 $\mu\text{g}/\text{l}$	---
Mme L..	5 $\mu\text{g}/\text{l}$	0 $\mu\text{g}/\text{l}$

Tableau VI

Les taux de Bismuth sanguins et urinaires sont extrêmement élevés dans le cas de Mme H et Mme B. Chez ces malades présentant tous les signes de l'intoxication par le Bismuth (voir introduction), les taux de Bismuth dans les urines et le sang certifient sans aucun doute l'existence d'une intoxication aiguë. Par ailleurs chez les autres malades présentant sensiblement les mêmes symptômes d'intoxication, les analyses n'ont pas permis d'affirmer une éventuelle intoxication.

Dans le cas de Mme H., l'évolution des taux de Bismuth dans le sang et les urines a été suivie pendant la période d'hospitalisation. Un traitement à l'EDTA fut appliqué à partir du 12.12.77.

Date	Bismuthurie	Bismuthémie
9.12.77 Traitement EDTA	208 $\mu\text{g}/24\text{ h}$	207 $\mu\text{g}/\text{l}$
13.12.77	193 $\mu\text{g}/24\text{ h}$	308,5 $\mu\text{g}/\text{l}$
16.12.77	115 $\mu\text{g}/24\text{ h}$	210 $\mu\text{g}/\text{l}$
20.12.77	----	112 $\mu\text{g}/\text{l}$
21.12.77	53 $\mu\text{g}/24\text{ h}$	---
23.12.77	34 $\mu\text{g}/24\text{ h}$	57 $\mu\text{g}/\text{l}$

Tableau VII

A la fin de l'hospitalisation les symptômes ont considérablement regressé, les quantités de Bismuth dans les milieux biologiques ayant nettement diminué.

Un prélèvement sanguin chez Mme B. a été effectué 17 jours après le précédent (501 $\mu\text{g/l}$). Les dosages ont montré une diminution très sensible de la Bismuthémie (54 $\mu\text{g/l}$)

Ces résultats confirment les données de la littérature (6 à 14 - 78) indiquant que l'évolution des encéphalopathies aiguës s'avère constamment régressive après l'arrêt de l'ingestion du Bismuth et son élimination intestinale, avec guérison sans séquelles.

2°) Dosage du Bismuth dans les tissus osseux

Application à trois cas d'arthropathie

Les complications osseuses des sels injectables de Bismuth ont été mentionnées précédemment. Si la fixation du Bismuth sur l'os a été démontrée expérimentalement chez l'animal par CAFFEY (1) et MUSUMECI (83) elle n'a pas pu être confirmée jusqu'à présent chez l'homme par colorimétrie ou absorption atomique, dans les ostéoses bismuthiques.

Chez trois malades traités par du Bismuth, porteurs d'arthropathies, la polarographie impulsionnelle avec redissolution anodique, a permis d'affirmer la présence du Bismuth dans les tissus osseux à des taux très élevés.

a) Malade n° 1

Mme J. née en 1912 a contracté à l'âge de 36 ans une syphilis pour laquelle elle a reçu plusieurs séries d'injections de Bismuth. Aucune autre thérapeutique ne lui a été administrée depuis. En février 1977, la malade est hospitalisée pour une arthropathie douloureuse de la hanche gauche, évoluant cliniquement depuis 4 mois.

La radiographie montre (Fig 25), outre les traces des injections anciennes, une ostéonécrose polaire supérieure de la tête fémorale gauche. La transparence osseuse est normale. Les réactions sérologiques (réaction de Klein et réaction d'hémagglutination passive avec l'antigène tréponémique de Nichols) sont positives. Le bilan phospho-calcique est sans particularité. Aucune étiologie classique d'ostéo-nécrose n'est retrouvée. Des dosages de Bismuth sont demandés dans le sang et dans le tissu osseux (ponction biopsie de la crête iliaque).

b) Malade n° 2

Monsieur K.. né en 1928 est traité pour un ulcère de l'estomac depuis 25 années, de façon intermittente, par des sels de Bismuth (carbonates et sous nitrates). Il est hospitalisé le 14.3.1977 pour des scapulalgies gauches rebelles évoluant depuis 4 années. L'administration de Bismuth avait été interrompue 6 mois avant son admission.

La radiographie (Fig. 26) montre une arthropathie gléno-humérale à la fois ostéolytique et remodelante comparable à celles décrites par BUGE, HUBAULT et Coll. (15).

Ce patient n'a pas présenté d'encéphalopathie, ce qui le différencie des malades des auteurs précités. La scintigraphie osseuse fait suspecter une atteinte contro-latérale infraradiologique. Le Bismuth est recherché dans le sang et le tissu osseux (ponction- biopsie de la crête iliaque)

c) Malade n° 3

Madame L... née en 1910 a contracté il y a 20 ans une syphilis pour laquelle elle a reçu plusieurs injections de Bismuth. Hospitalisée en mai 1978, elle présente des syndrômes mixtes ostéoporotiques et ostéomalassiques.

La radiographie montre des traits de fractures au niveau des hischio-pubiennes et iliopubiennes.

Une recherche du Bismuth au niveau des os et du sang nous a confirmé la présence de Bismuth à un taux élevé dans l'os (voir tableau VIII) avec un taux sanguin normal.



Fig. 25 Observation n° 1 : Ostéonécrose polaire supérieure de la tête fémorale gauche. Les opacités intramusculaires correspondent aux injections de Bismuth.



Fig. 26 Observation n° 2 : Arthropathie gléno-humérale gauche ostéolytique et remodelante.

Chaque prélèvement osseux ou sanguin a fait l'objet de deux ou trois dosages avec deux ou trois minéralisations différentes. Les résultats sont indiqués dans le tableau VIII

Sujets	dosage sanguin ($\mu\text{g/l}$)		dosage osseux ($\mu\text{g/kg}$)
	absorption atomique	polarographie	
Mme J..	—	4	6750 6760 6770
Mr. K..	10 *	—	2000 2010 2005
Mme L..	—	5	1470 1470

Tableau VIII

* Remarque : Le dosage du Bismuth dans le sang a été réalisé par spectroscopie d'absorption atomique car notre méthode de dosage n'était pas encore totalement mise au point. Par contre, le fragment d'os fut conservé dans le formol jusqu'au moment où le dosage put être effectué.

Notre méthode de dosage par polarographie impulsionnelle avec redissolution anodique affirme la présence de Bismuth dans le tissu osseux après traitement bismuthique par voie parentérale dans la première et la troisième observations par voie orale dans la seconde.

Les travaux expérimentaux de CAFFEY (1) et MUSUMECI (83) se trouvent ainsi confirmés chez l'homme. Les taux sont très élevés pour les trois malades (1470, 2005, et 6760 $\mu\text{g/kg}$). La sensibilité de la méthode permet d'établir que chez les témoins, les taux sont inférieurs à 5 $\mu\text{g/kg}$. L'os semble stocker le Bismuth qui est retrouvé plusieurs mois après l'arrêt du traitement par voie orale et de nombreuses années après les injections intra-musculaires.

La présence de Bismuth en quantité importante dans le tissu osseux de ces malades doit être prise en compte dans la discussion étiologique de leur arthropathie.

Un dosage de Bismuth osseux se justifie pour toute manifestation ostéo-articulaire survenant au cours d'une thérapeutique par voie orale ou chez les syphilitiques traités antérieurement par Bismuth. Le Bismuth contenu dans l'os peut-il être un facteur favorisant les arthropathies tabétiques ?

La polarographie impulsionnelle avec redissolution anodique permet maintenant de mesurer l'imprégnation osseuse du Bismuth avec une très bonne précision.

Conclusion

Par polarographie impulsionnelle avec redissolution anodique, nous sommes parvenus à mettre au point un dosage du Bismuth.

La méthode utilisée présente des qualités suffisantes de reproductibilité, de sensibilité, de spécificité et même de rapidité (possibilité de doser du Bismuth en moins d'une demi-heure, mise à part la minéralisation) pour avoir pu être appliquée aux milieux biologiques tels que le sang, les urines, les os.

Les cliniciens, très intéressés par notre technique nous ont soumis un certain nombre de cas à étudier :

- en rhumatologie, il nous a été possible de mettre en évidence dans un certain nombre de nécroses, la présence de Bismuth due à des injections anciennes de sel. Il est à noter que dans tous les cas, la Bismuthurie et la Bismuthémie étaient tout à fait normales.

- en toxicologie, l'application de cette méthode nous a permis de déceler plusieurs intoxications aiguës de personnes âgées ayant absorbé des doses thérapeutiques de Bismuth.

- en neurologie, nous avons eu à doser du Bismuth dans le sang de personnes présentant apparemment des signes cliniques d'intoxication bismuthique. Il est à noter que dans tous les cas considérés, le taux de Bismuth était tout à fait normal.

En conclusion, dans les intoxications aiguës on rencontre des Bismuthurie et Bismuthémie particulièrement élevées. Dans les autres cas, l'intoxication ne se manifeste plus par une élévation normale de la Bismuthurie et de la Bismuthémie.

Il faut donc se montrer particulièrement prudent dans l'utilisation de la Bismuthurie et de la Bismuthémie pour identifier une intoxication; en effet, ces taux ne sont caractéristiques que dans le cas d'intoxications aiguës; or, l'utilisation thérapeutiques du Bismuth conduit le plus souvent à des intoxications chroniques.

V - MISE AU POINT DU DOSAGE DU COBALT

Le manque de connaissances que nous avons sur la concentration précise en Cobalt dans les milieux biologiques tels que le sang et les urines, exige une technique de dosage susceptible d'atteindre facilement 10^{-8} mole par litre. Dans la mise au point d'une telle méthode, nous ferons porter nos efforts essentiellement sur le choix de l'électrode de travail ou électrode indicatrice et sur le choix du milieu, ces deux facteurs s'étant révélés particulièrement importants dans nos études.

A) Choix de l'électrode de travail

L'électrode à goutte tombante de mercure est la plus couramment utilisée dans le dosage du Cobalt par polarographie classique (47-49-50-58-59). En redissolution anodique, il semble, d'après les auteurs que l'utilisation de l'électrode à goutte pendante de mercure soit beaucoup moins aisée (42-54-55)

Les électrodes généralement employées en redissolution anodique (56-57) ou cathodique (45-52) sont des électrodes de carbone vitreux recouvertes ou non d'une fine pellicule de mercure. Néanmoins, nous reviendrons sur l'utilisation de l'électrode à goutte pendante de mercure, les phénomènes observés pouvant être utiles par la suite.

1°) Utilisation de l'électrode à goutte pendante de mercure

Cette électrode, précédemment décrite pour le dosage du Bismuth fut employée en présence d'un milieu ammoniacal souvent utilisé par les auteurs par suite de la formation des complexes Cobalt-Ammoniaque (84). Nous constatons l'existence de pics de redissolution anodique situés à un potentiel très proche du mur du mercure, ce qui nous laisse rapprocher le cas du Cobalt de celui du Bismuth. En multipliant les mesures, on constate, en maintenant tous les paramètres constants, que la hauteur maximale du pic de redissolution I_m diminue sensiblement alors que la goutte de mercure se ternit progressivement. On peut donc penser que cette diminution est engendrée par une modification de l'électrode de mercure, modification que nous avons cherché à éliminer en effectuant des purges de l'électrode à des potentiels plus ou moins positifs.

Nous n'avons constaté aucune amélioration. Evidemment, nous aurions pu envisager le changement de goutte à chaque mesure, ce qui constitue toujours une difficulté pour la reproductibilité précise. Nous nous sommes sentis très peu encouragés dans cette voie, compte tenu de la position du pic de redissolution qui limitera sans aucun doute la sensibilité et la sélectivité du dosage.

2°) Utilisation des électrodes d'or ou platine

Quel que soit le milieu utilisé, nous ne sommes parvenus à aucun résultat exploitable, étant donné les mauvaises reproductibilité et sensibilité de ces mesures.

3°) Utilisation de l'électrode de carbone vitreux

En milieu ammoniacal, nous avons réussi à obtenir des pics de redissolution du Cobalt décrits par BRAININA (85), mais nous avons constaté un manque considérable de sensibilité qui excluait toute possibilité de descendre aux concentrations inférieures à 10^{-6} M.

D'autre part la reproductibilité d'une manipulation à une autre était tout à fait aléatoire, l'état de polissage de l'électrode jouant un rôle considérable. Même au cours d'une même série de mesures, malgré l'existence de purges sérieuses, l'électrode avait tendance à se modifier et à entraîner des variations de hauteur des pics de redissolution. La nécessité de recourir à des potentiels très positifs pour la purge, afin d'éliminer l'ensemble du dépôt est certainement responsable de cette dégradation par suite de la formation "d'oxydes graphitiques" que BILLAUD (71) avait déjà rencontré dans le cas du dosage de l'argent.

Nous pouvons conclure qu'une telle électrode n'est pas utilisable à des fins analytiques. Généralement, les auteurs qui ont publié sur ce sujet se sont limités à une étude fondamentale.

La voltamétrie à redissolution cathodique a trouvé de nombreuses applications dans l'analyse de traces pour la détermination de substances qui peuvent être accumulées comme un produit d'oxydation sur l'électrode de travail.

BRAININA (45) et HAVEL (52) se heurtant aux difficultés que nous avons rencontrées en dosant le Cobalt par redissolution anodique (manque de sensibilité, obtention de plusieurs pics difficilement utilisables) ont essayé de doser le Cobalt par redissolution cathodique sur électrodes solides. Par préélectrolyse, l'électrode de travail jouant alors le rôle d'anode, ils oxydent à un potentiel suffisamment positif le Cobalt (II) en Cobalt (III) qui se fixe à la surface de l'électrode sous forme d'oxydes (52) ou sous forme de composés peu solubles formés avec le diéthylthiocarbamate (45) ou les nitroso-naphtols (45).

Au cours de la redissolution cathodique, on se place à un potentiel suffisamment négatif pour pouvoir réduire le Cobalt (III) du composé insoluble en Cobalt (II) qui lui n'existe pas à l'état insoluble dans le milieu électrolytique présent. Cette réduction entraîne donc la redissolution du Cobalt, d'où le nom de redissolution cathodique. Il est bien évident qu'au cours de cette redissolution cathodique, l'électrode de travail fonctionne en cathode.

L'application de leurs résultats nous montre l'existence d'un pic de redissolution très large (4 à 500 mV) et très peu sensible (la limite de détection que nous avons observée est de 10^{-6} M), ce qui réduit considérablement l'utilisation d'une telle technique.

En effet, une telle allure de courbe est caractéristique d'un système très irréversible qui entraîne généralement un manque de sensibilité et de reproductibilité.

4°) Utilisation de l'électrode de carbure de bore

Une telle électrode, beaucoup moins sensible à l'existence de potentiels très positifs, devrait mieux résister que l'électrode de carbone vitreux, lors de la purge effectuée à des potentiels très positifs (# 0,5 V /ECS).

On avait en effet remarqué (71) que dans le cas de l'étude du dosage du mercure, la formation "d'oxydes graphitiques" était pratiquement inexistante avec une électrode de carbure de Bore.

Les résultats obtenus manquent totalement de sensibilité (concentration minimum décelable de l'ordre de 10^{-5} - 10^{-6} M). De plus, il est particulièrement difficile de polir une telle électrode avec le matériel disponible au laboratoire (matériel pourtant parfaitement adapté au polissage des électrodes de carbone vitreux)

5°) Utilisation d'une électrode de carbone vitreux recouverte d'un film de mercure.

Ayant passé en revue les principales électrodes solides, nous avons envisagé l'utilisation d'une électrode de carbone vitreux recouverte d'une mince couche de mercure. La détermination de l'épaisseur optimale de ce film s'est révélée particulièrement délicate. En effet,

- pour des films très épais, nous avons rencontré les mêmes difficultés qu'avec une électrode à goutte pendante de mercure
- pour des films insuffisamment épais, l'électrode se présente comme une électrode de carbone vitreux à peine améliorée.

KENDALL (56) et LUONG (57) ont utilisé ce type d'électrode pour doser le cobalt dans un milieu composé d'acide perchlorique ou de thiocyanate de potassium. Leurs résultats se sont révélés peu probants (existence de plusieurs pics, manque de sensibilité).

Pour la formation du dépôt de mercure sur l'électrode de carbone vitreux, nous avons le choix entre deux possibilités :

- soit effectuer un dépôt électrolytique préalable
- soit effectuer un dépôt simultané au dépôt de Cobalt

La nécessité de recourir à des potentiels très positifs (+ 0,5 V/E.C.S.) pour l'élimination des résidus de Cobalt par purge supprime d'ores et déjà la première solution, car la couche préalable de mercure se modifierait progressivement au cours des différentes mesures successives.

C'est donc vers un dépôt simultané que nous nous sommes orientés, la concentration en mercure dans le milieu pour obtenir le dépôt optimal sera définie après le choix du milieu. Nous reviendrons donc sur cette question.

B) Choix du milieu

Le choix du milieu favorable s'est révélé long et difficile, en effet :

- les ions Co^{2+} sont difficilement réductibles
- l'oxydation du Cobalt métallique peut se faire en présence de complexant, à des potentiels très voisins,
 - . soit en conduisant à du Cobalt (II)
 - . soit en conduisant à du Cobalt (III)

La détermination des conditions optimales pour l'obtention d'un pic unique exploitable analytiquement nécessitera une étude très précise de différents milieux.

Partant des milieux généralement utilisés (acide perchlorique, thiocyanate de potassium, milieu ammoniacal) qui ne donneront pas de résultats satisfaisants, tout à fait conformément à la littérature nous poursuivrons notre recherche par l'étude des milieux plus sophistiqués agissant :

- . soit au niveau de l'ion Co^{2+} (nitrites, chromates, en présence d'ammoniaque)
- . soit au niveau du dépôt de mercure (ammoniaque plus :
 - acide éthylène diamine tétracétique
 - diethyl dithiocarbamates
 - iodures)

1°) Milieu acide perchlorique

Nous avons déjà signalé les travaux de KENDALL (56) portant sur le dosage du Cobalt dans un tel milieu. En reprenant ses travaux et en les élargissant, nous avons pu constater qu'en milieu perchlorique (0,1 N), en présence de chlorures mercuriques de concentration variant entre 10^{-6} et 10^{-8} M, nous observons un pic de redissolution du Cobalt à + 0,3 V/ECS. Ce pic n'augmente malheureusement ni en fonction du temps de préélectrolyse ni en fonction des ajouts.

La présence d'un milieu perchlorique nous avait paru intéressante, non pas qu'il constitue un milieu très favorable pour le Cobalt, mais parce qu'il constitue un milieu très favorable à la réoxydation du dépôt de mercure lors de la purge. En effet, les ions perchlorates ont un effet catalytique lors de la réoxydation du mercure en ions mercuriques, même en présence de chlorures(71).

2°) Milieu thiocyanate

L'utilisation d'un milieu thiocyanate de potassium 10^{-1} M (57) n'a pas apporté de résultats satisfaisants susceptibles d'exploitation analytique (pics larges et peu sensibles). Nous avons pu constater empiriquement que de petites quantités d'ammoniaque (entre 10^{-3} et 10^{-2} M) amélioreraient très nettement les résultats.

Dans ce cas précis, l'ammoniaque joue un triple rôle:

- il alcalinise le milieu (pH voisin de 9 -10)
- il complexe les ions Co^{2+} , complexation toujours favorable à la redissolution anodique
- il complexe les ions mercuriques, complexation favorable à une bonne réoxydation du dépôt de mercure lors de la purge.

Néanmoins, malgré l'amélioration notée, les résultats ne se sont pas révélés suffisamment reproductibles pour nécessiter une étude plus approfondie.

3°) Milieu ammoniacal

BRAININA (85), ANZENBACHER (42) préconisent un milieu ammoniacal relativement concentré (0,1 M ou plus). Nous avons étudié un tel milieu en faisant varier successivement un des trois paramètres suivants, les deux autres restant constants :

- concentration en ammoniaque
- concentration en ions mercuriques
- Potentiel de préélectrolyse V_e .

Nous constatons, quelle que soit la valeur des paramètres choisis, un nombre de pics de redissolution variable d'un essai à un autre, nombre très largement influencé par l'état de surface de l'électrode.

Cette instabilité des pics peut être liée à deux facteurs :

- soit au Cobalt proprement dit
- soit au dépôt simultané de mercure.

Nous avons envisagé les deux possibilités, c'est la raison pour laquelle nous avons successivement amélioré le milieu ammoniacal en y ajoutant des réactifs susceptibles d'intervenir, soit au niveau du Cobalt, soit au niveau du mercure.

- Au niveau du Cobalt

- . addition de nitrites susceptibles de conduire aux cobaltinitrites d'ammonium insolubles
- . addition de chromates susceptibles de donner des composés insolubles mixtes Cobalt-Chromates-ammoniac(84)

Il est bien évident que la formation de produits insolubles n'est envisageable qu'avec les ions Co^{3+} , donc uniquement au niveau de l'électrode indicatrice lors de la réoxydation Cobalt métallique - Cobalt trivalent.

Nous avons pensé que la présence de plusieurs pics (Fig. 27) était liée à la réoxydation du Cobalt en différents stades. En favorisant la formation de composés insolubles avec les ions Co^{3+} , nous espérons transformer l'ensemble du Cobalt en Cobalt (III) sans passer par l'intermédiaire Co (II).

- Au niveau du mercure, par addition de complexants énergiques du mercure (II) comme

- . l'E.D.T.A.
- . le diéthylthiocarbamate
- . les iodures

Cette complexation devrait faciliter la réoxydation totale du dépôt de mercure susceptible de régénérer intacte l'électrode après

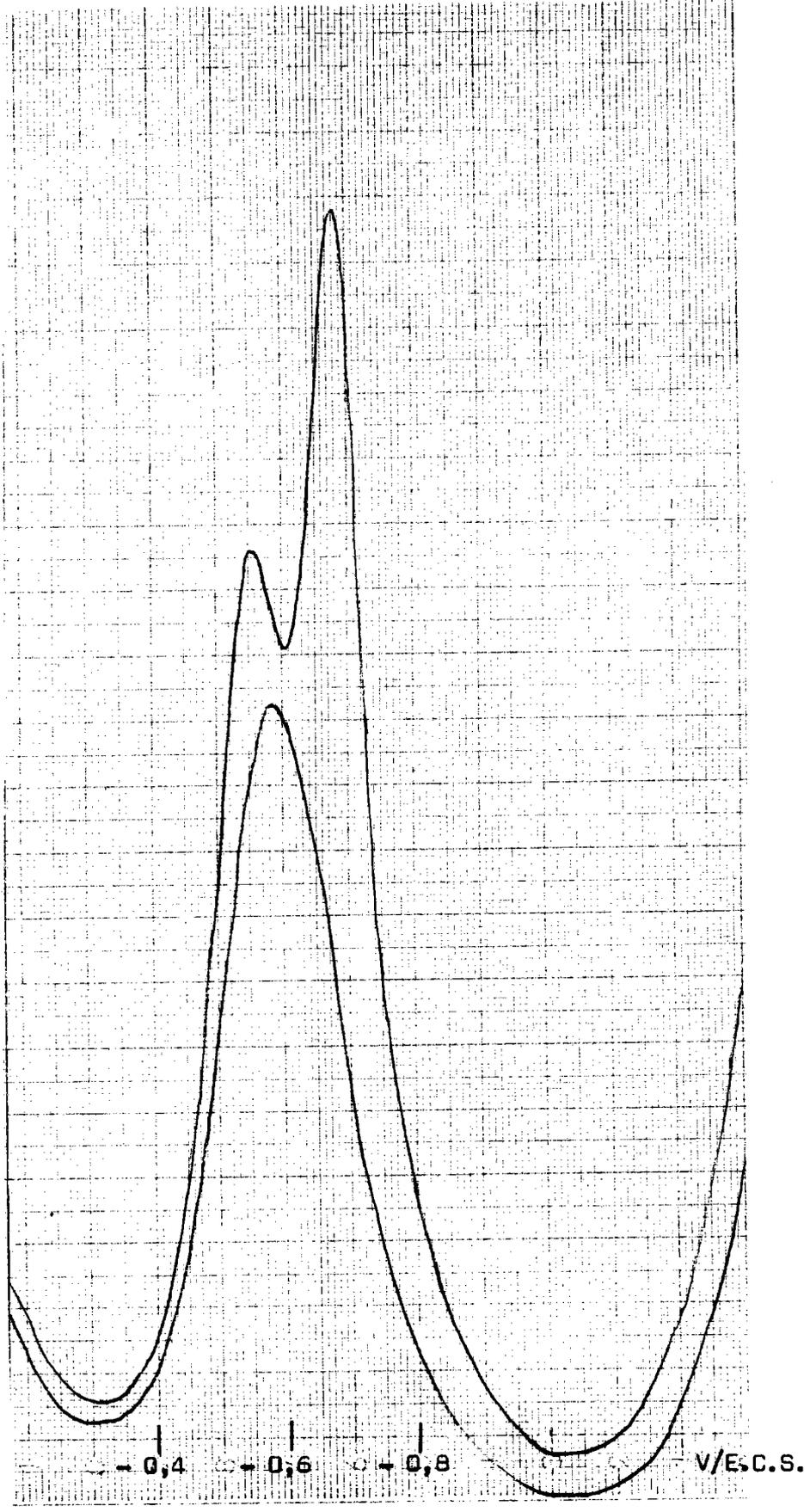


Fig. 27 Polarogramme du Cobalt
· 5 10^{-7} M
· 10^{-6} M
Milieu Ammoniacal

chaque mesure.

a) Milieu ammoniacal en présence de chromates ou de nitrites.

Nous avons fait varier successivement

- la concentration en ammoniacque de 0,1 à 1 N
- la concentration en mercure (II) de 10^{-6} à 10^{-8} M
- la concentration en nitrites ou chromates de 10^{-2} à 10^{-4} M

Nous constatons sans aucun doute une amélioration des courbes de redissolution se traduisant par la présence d'un seul pic de réoxydation relativement fin. Néanmoins, lorsque tout paramètre constant, nous multiplions les essais, nous observons une diminution progressive du pic.

Ce phénomène élimine toute possibilité d'utilisation de ces milieux à des fins analytiques.

L'affinement du pic de redissolution peut s'expliquer par le fait que l'on facilite l'oxydation du Cobalt en précipitant sur l'électrode au fur et à mesure de sa formation, le Cobalt (III).

La même explication reste valable pour la présence d'un seul pic de redissolution.

La diminution progressive du pic est certainement liée à une dégradation de l'électrode indicatrice par suite de la formation d'une couche protectrice insoluble de Cobalt (III), couche qui ne peut se solubiliser lors de la purge, malgré la présence d'un potentiel très positif (+ 0,5 V/ECS)

Nous sommes donc en présence d'une électrode indicatrice en perpétuelle modification.

N'étant pas parvenus à améliorer les résultats en portant nos efforts sur les paramètres liés au Cobalt, nous allons nous intéresser maintenant aux paramètres liés au dépôt et à la réoxydation du mercure.

b) Milieu ammoniacal en présence d'E.D.T.A.

Quelle que soit la concentration en ammoniaque (concentration variant entre 0,1 et 1 M) et en E.D.T.A. (de 10^{-2} à 10^{-5} M) nous ne constatons aucun pic de redissolution anodique. Il nous est difficile de déterminer les raisons exactes de ce résultat du fait que l'acide éthylènediamine tétraacétique est capable de complexer à la fois le mercure (II) et le Cobalt (II) et éventuellement le Cobalt (III) lors de la réoxydation.

De telles complexations exigent évidemment un potentiel de préélectrolyse très bas. Or, nous sommes limités dans ce domaine de potentiel par le dégagement possible d'hydrogène.

c) Milieu ammoniacal en présence de diéthyl-dithiocarbamate.

Nous observons les mêmes résultats qu'avec l'E.D.T.A. très certainement pour les mêmes raisons.

d) Milieu ammoniacal en présence d'iodures

Nous avons fait varier successivement et indépendamment l'un de l'autre (deux paramètres constants lors de la variation du troisième)

- la concentration en ammoniaque de 10^{-1} à 1 M
- la concentration en mercure (II) de 10^{-8} à 10^{-6} M
- la concentration en iodures de 10^{-4} à 10^{-2} M.

Nous constatons : que les résultats sont très nettement améliorés et permettent une exploitation analytique

que la concentration en ammoniaque importe peu qu'une concentration minimale en iodures est indispensable (10^{-3} M au minimum)

qu'une concentration en nitrates mercuriques de l'ordre de $5 \cdot 10^{-8}$ - $5 \cdot 10^{-7}$ M est largement suffisante.

Nous avons pu observer néanmoins que pour chaque concentration en Cobalt, trois essais successifs étaient nécessaires avant d'obtenir une hauteur de pic de redissolution stable.

Pour atteindre une stabilité à la première mesure, il s'avère que la présence de soude en concentration égale à environ 2.10^{-2} M est particulièrement favorable. Nous supposons que l'influence de la soude sur les résultats se situe au niveau de l'élévation de pH qui peut intervenir soit au niveau de la complexation du Cobalt, soit au niveau de la complexation ou de la précipitation des cations présents à l'état de traces parasites comme les ions Cu^{2+} .

Remarque : La présence de soude a modifié très légèrement la valeur minimale de la concentration en mercure qui était de l'ordre de 5.10^{-8} M et qui devient 2.10^{-7} M environ, cette concentration minimale étant particulièrement sensible à l'état de surface de l'électrode. Pour une électrode parfaitement polie, cette concentration de 2.10^{-7} M s'est révélée parfaitement suffisante.

Nous retiendrons donc comme milieu définitif pour une étude plus approfondie :

- ammoniacque : 0,5 M
- iodures de potassium : 10^{-2} M
- soude : 2.10^{-2} M
- nitrates mercuriques : 2.10^{-7} M

C) Choix du potentiel de préélectrolyse

Dans le milieu qui vient d'être défini, nous avons déterminé avec précision le potentiel de préélectrolyse V_e en traçant la courbe $I_m = f(V)_{\text{préélectrolyse}}$, ceci pour les concentrations en Cobalt égales à 10^{-6} et 10^{-7} M. (fig. 28)

Dans le cas de concentrations élevées (10^{-6} M) nous observons l'existence d'un large palier. En présence de 10^{-7} M de Cobalt, le palier s'est fortement estompé.

Il semble toutefois qu'un potentiel de préélectrolyse V_e de - 1,8 V/ECS soit tout à fait acceptable pour les différentes concentrations.

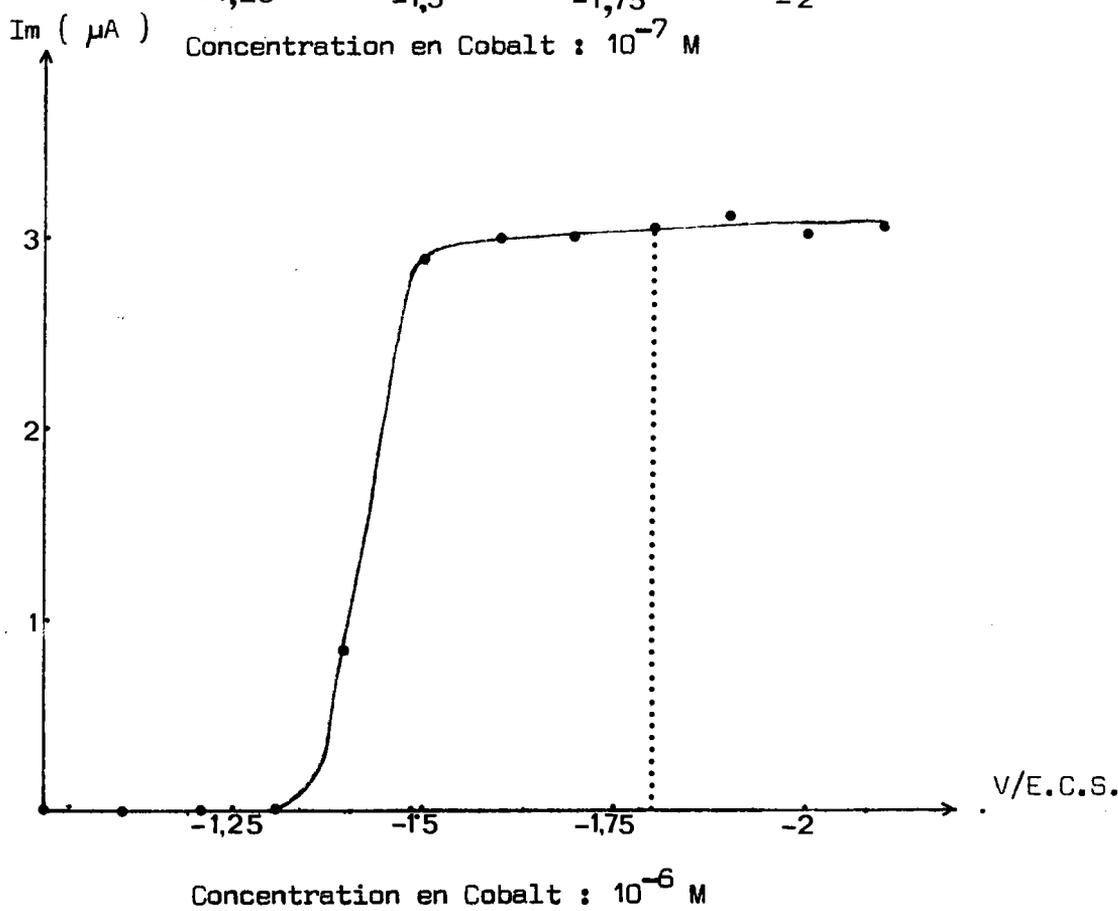
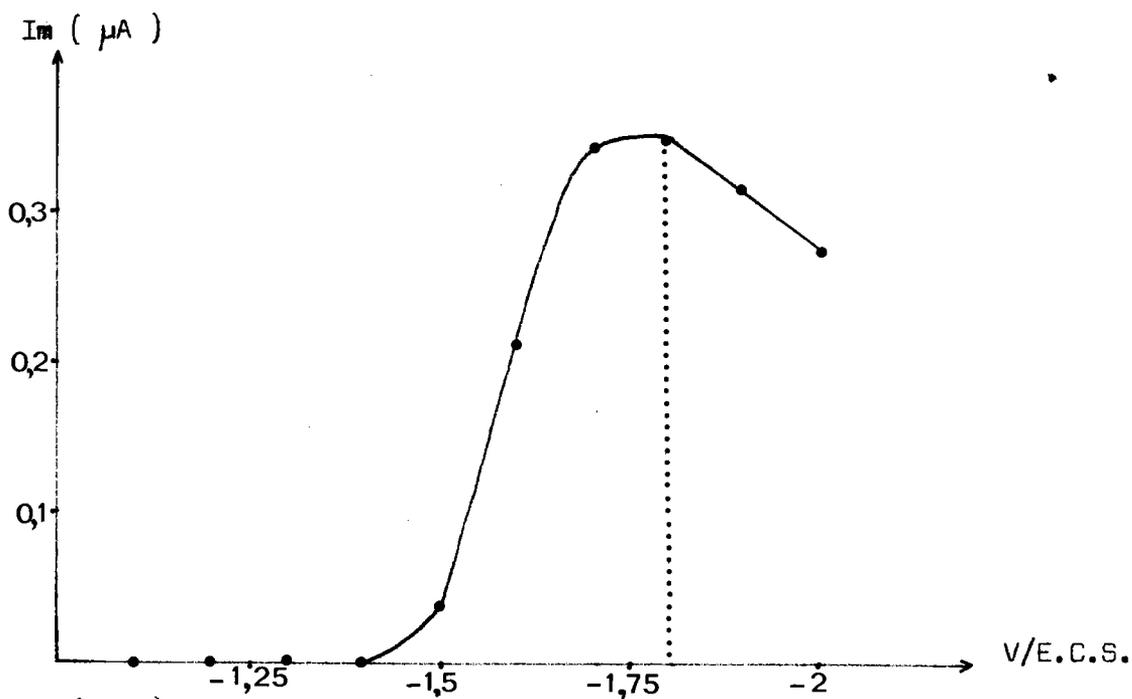


Fig. 28 Choix du potentiel de préélectrolyse.

D) Vérification des relations de proportionnalité $I_m = Kct$

Dans le milieu choisi, et pour un potentiel de préélectrolyse V_e égal à - 1,8 V/ECS, nous avons vérifié la proportionnalité du courant maximum de redissolution I_m à la concentration en Cobalt pour un temps de préélectrolyse donné, ainsi que la proportionnalité de I_m au temps de préélectrolyse pour une concentration donnée (FIG. 29-30-31-32-33)

Dans les domaines de concentration en Cobalt

- . 10^{-8} - 10^{-7} M
- . 10^{-7} - 10^{-6} M
- . 10^{-6} - $5 \cdot 10^{-6}$ M

nous constatons une très bonne relation de proportionnalité entre la hauteur du pic de redissolution anodique I_m (qui se situe à - 0,6 ; - 0,7 V/ECS selon la concentration en Cobalt et l'état de l'électrode) et la concentration.

Il est bien évident que le temps de préélectrolyse que nous avons maintenu constant dans un domaine de concentration donné, a varié malgré tout, lorsque nous avons changé de domaine de concentration.

Les temps de préélectrolyse utilisés sont égaux à :

- . 2 minutes dans le domaine 10^{-8} - 10^{-7} M
- . 30 secondes ou 1 minute dans le domaine 10^{-7} - $5 \cdot 10^{-6}$ M

Pour des concentrations en Cobalt de 10^{-6} et 10^{-7} M, nous avons vérifié la loi de proportionnalité du courant maximum de redissolution I_m au temps de préélectrolyse.

Nous constatons une très bonne proportionnalité pour des temps de préélectrolyse compris entre zéro et dix minutes, ceci à condition d'effectuer des purges parfaitement efficaces.

Il faut cependant noter que dans le cas de concentrations en Cobalt supérieures à 10^{-6} mole par litre, la proportionnalité entre le courant maximum I_m et le temps de préélectrolyse t_e est rarement respectée au-delà de quatre minutes.

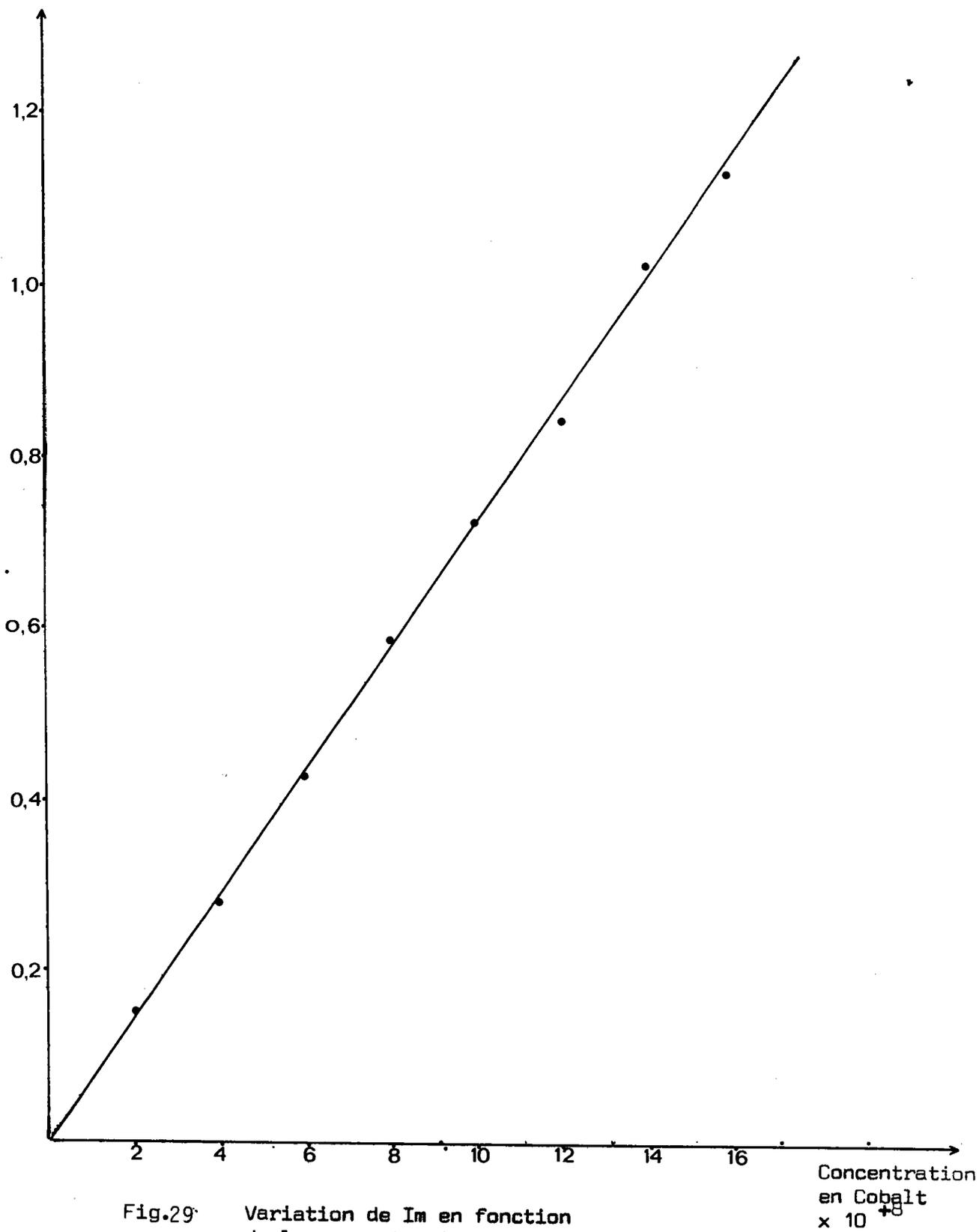


Fig.29 Variation de I_m en fonction de la concentration en Cobalt
 Domaine : 10^{-8} - $16 \cdot 10^{-8}$ M

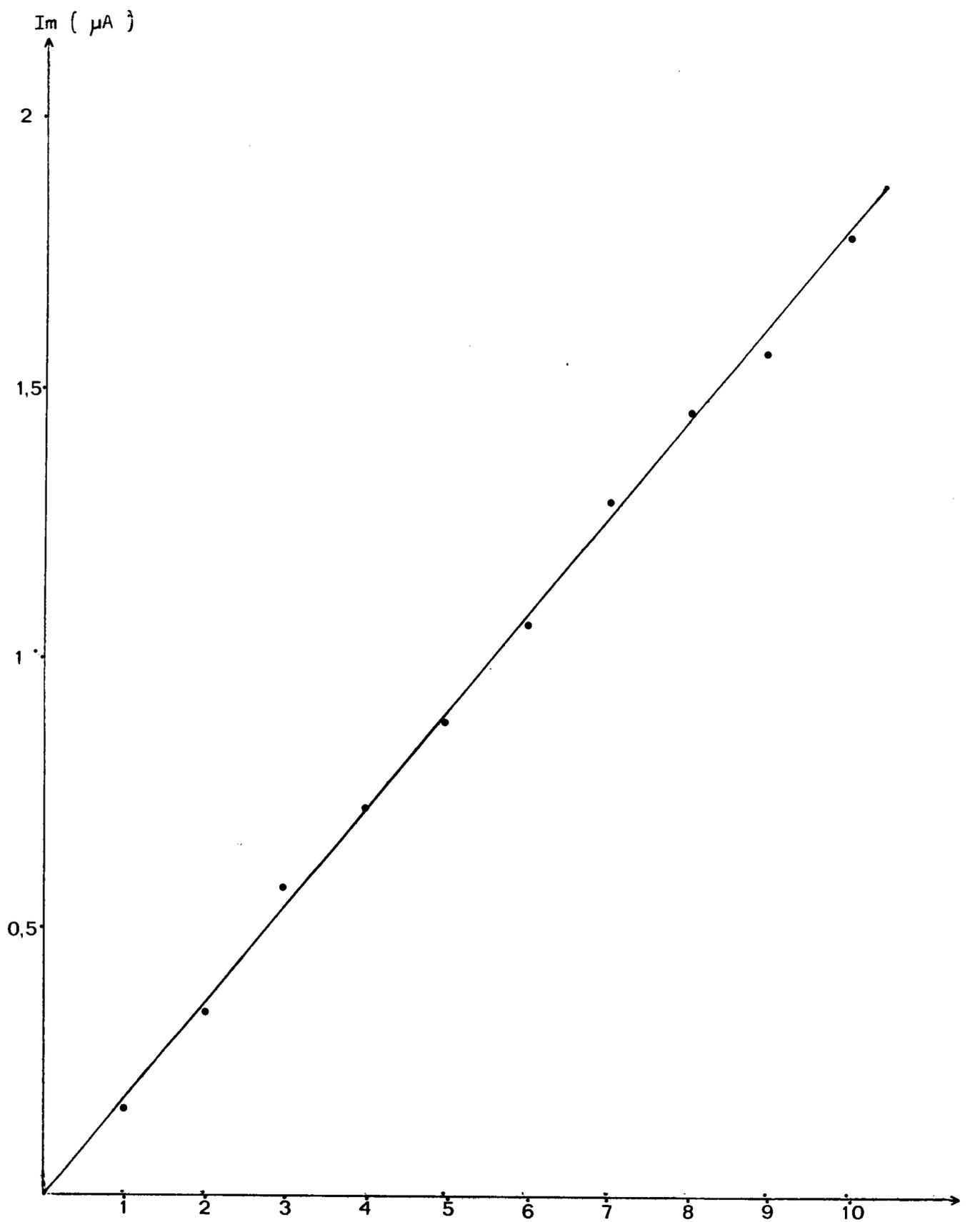


Fig.30

Variation de I_m en fonction
de la concentration en Cobalt
Domaine : $10^{-7} - 10^{-6}$ M

Concentration
en Cobalt
 $\times 10^7$

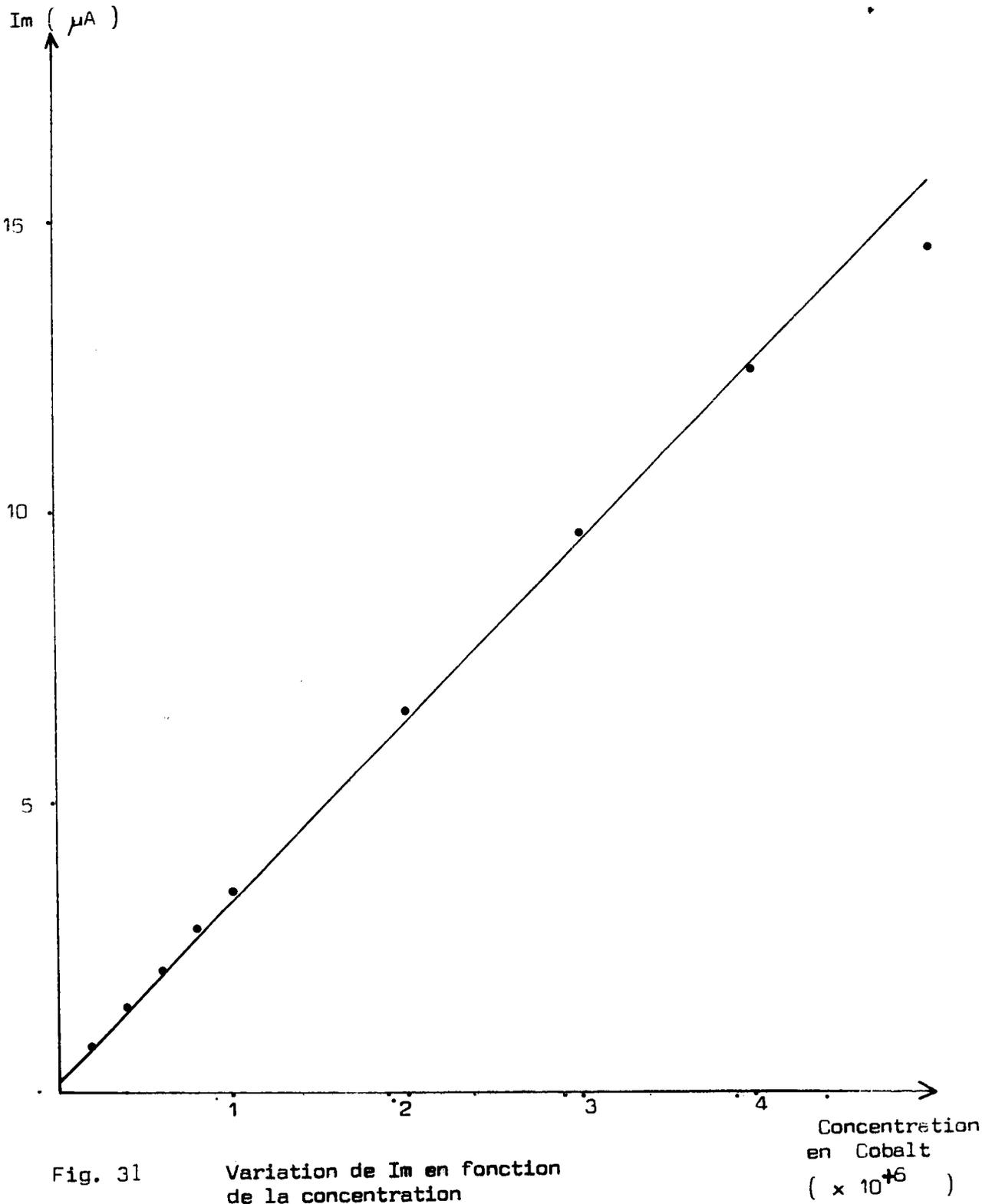


Fig. 31

Variation de I_m en fonction
de la concentration
Domaine $2 \cdot 10^{-7} M - 5 \cdot 10^{-6} M$

Concentration
en Cobalt
($\times 10^6$)

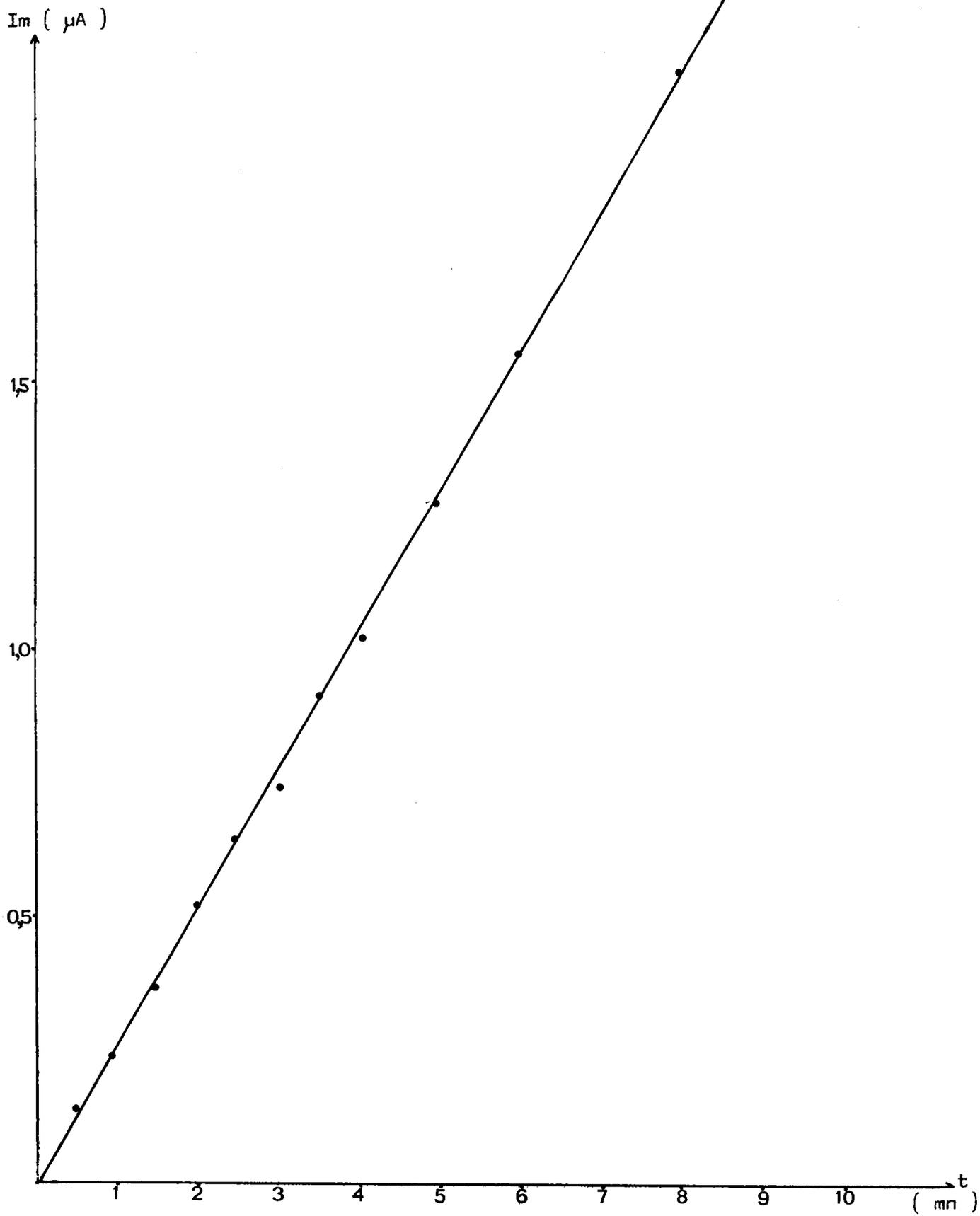


Fig. 32

Variation de I_m en fonction
du temps de préélectrolyse

Concentration en Cobalt : 10^{-7} M

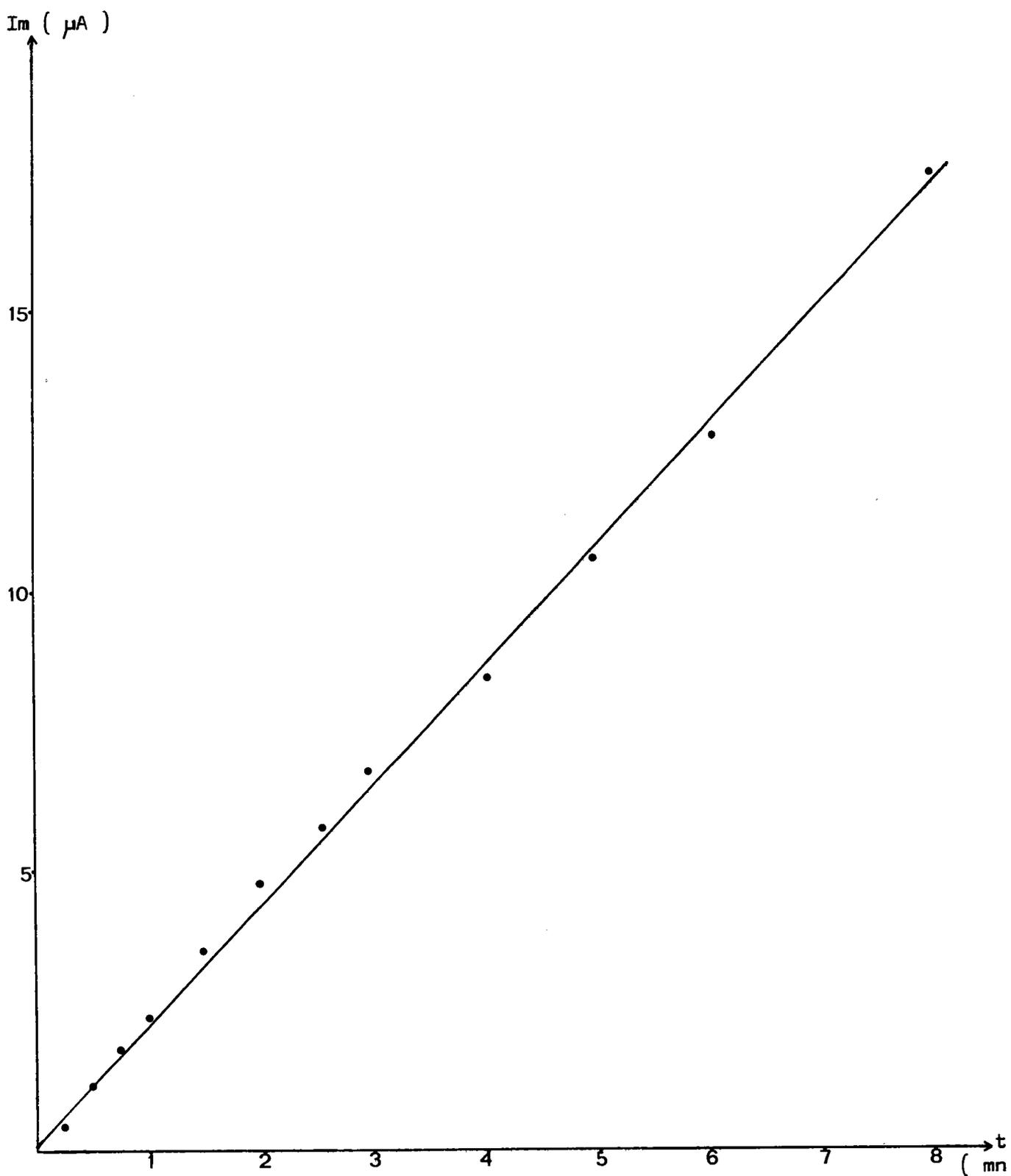


Fig. 33

Variation de I_m en fonction
du temps de préélectrolyse
Concentration en Cobalt: 10^{-6} M

De toute évidence il est préférable, dans ce domaine de concentration, de manipuler en utilisant des temps de préélectrolyse inférieurs ou égaux à trente secondes.

Dans toutes nos mesures, les paramètres technologiques utilisés sont les suivants :

- . Electrode carbone vitreux recouverte d'un film de mercure
- . Temps de repos 30 secondes
- . vitesse d'agitation 750 tours par minute
- . vitesse de défilement
des potentiels 20 mV par seconde
- . amplitude des impulsions 100 mV
- . fréquence des impulsions 0,5 seconde
- . Potentiel de préélec-
trolyse - 1,8 V/ECS
- . Défilement des poten-
tiels lors de la réoxy-
dation de - 1,1 V à + 0,5 V environ
- . Sensibilité 1,25 à 12,5 μ A

Expérimentalement nous avons constaté que l'utilisation d'impulsions négatives était particulièrement favorable pour le dosage du Cobalt par polarographie impulsionnelle avec redissolution anodique. Il est généralement reconnu que de telles impulsions négatives augmentent la sensibilité et la spécificité en éliminant les courants correspondants aux substances dites irréversibles.

La méthode de dosage est basée sur la technique des ajouts effectués à partir de solutions titrées de Cobalt (10^{-2} - 10^{-4} - 10^{-5} M)

E) Influence de la purge

Afin d'avoir des résultats reproductibles, il est essentiel de purger correctement l'électrode de carbone vitreux. La nécessité de réaliser une purge complète nous a conduit à comparer les trois méthodes suivantes :

- nous effectuons une dizaine de purges cycliques en faisant défiler à grande vitesse (400 mV/s) les potentiels de 0 à + 0,5 V/ECS.

- après l'oxydation du dépôt métallique, nous laissons défiler les potentiels (20 mV/s) avec agitation jusqu'au début de dégagement d'oxygène qui se traduit par une augmentation rapide du courant i

- on se place au potentiel de + 0,5 V/ECS pendant une minute environ sous agitation de la solution.

Les purges ne doivent pas entraîner de problèmes supplémentaires tels qu'un dégagement d'oxygène qui se produit à partir de + 0,5 V/ECS environ. Nous avons pu constater en effet qu'un dégagement d'oxygène se traduisait par une augmentation irrégulière des pics de redissolution du Cobalt.

Ces trois systèmes de purge nous ont donné des résultats satisfaisants. Néanmoins, nous n'avons utilisé au cours de nos manipulations que le second modèle de purge qui permet de contrôler parfaitement le dégagement d'oxygène et d'atteindre des potentiels suffisamment positifs pour éliminer toute trace de mercure et de cobalt sur l'électrode

Il faut noter que l'efficacité de la purge est fonction de l'état de surface de l'électrode. C'est pourquoi après chaque dosage nous polissons régulièrement l'embout de carbone vitreux afin d'avoir une surface parfaitement lisse ; la sensibilité et la reproductibilité des mesures se trouvant ainsi nettement améliorées.

F) Etude des interférences

La position du pic de redissolution anodique du Cobalt (-0,6 - 0,7 V/ECS) nous conduit à envisager les interférences de trois cations couramment rencontrés tant dans l'eau que dans les domaines biologiques, à savoir, le cuivre, le plomb et le nickel.

Les ions cuivriques, fortement complexés par l'ammoniaque ont un potentiel de réoxydation $\text{Cu}^0 - \text{Cu}(\text{NH}_3)_4^{2+}$ très voisin du potentiel de redissolution du Cobalt. Expérimentalement, nous avons pu constater que des ajouts de cuivre (II) se traduisaient par un élargissement puis une augmentation des pics devenant sensible pour un rapport cuivre cobalt égal à 1.

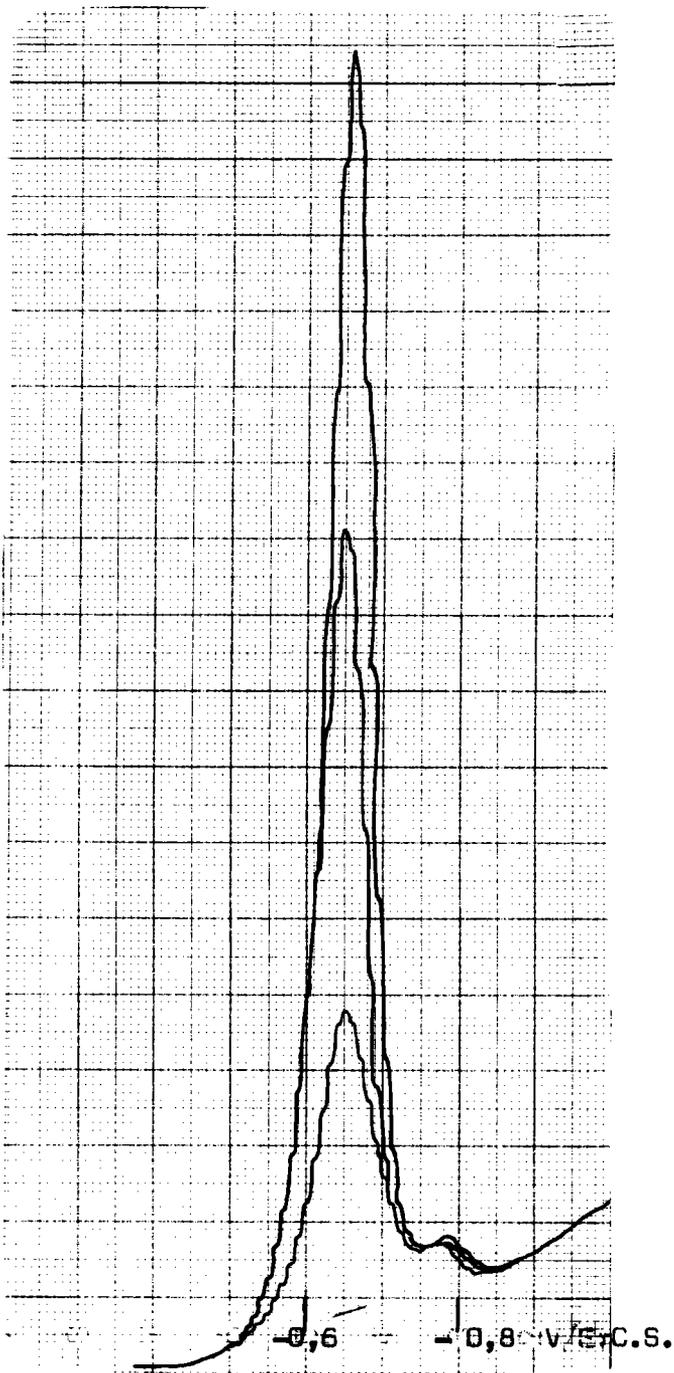
La réoxydation du plomb à un pH voisin de 12,3 conduit à la formation d'ions $\text{Pb}(\text{OH})_4^{2-}$ à un potentiel qui doit être plus négatif qu'en l'absence de milieu basique. Or le pic du plomb se situe en temps normal, en milieu acide à - 0,4V (86), la complexation par les ions OH^- déplace donc le potentiel de réoxydation vers un potentiel se situant dans la même zone que celui du Cobalt.

Dans le milieu utilisé, la sensibilité du pic de redissolution du plomb est particulièrement importante (Fig. 33), on peut considérer que les ions Pb^{2+} interfèrent dans le dosage du Cobalt pour un rapport de concentration (Plomb-Cobalt) inférieur à un vingtième.

La présence de nickel (dont les propriétés sont tout à fait voisines de celles du Cobalt) dans une solution contenant des ions Co^{2+} fait baisser très légèrement la hauteur du pic de redissolution. Toutefois, pour une concentration donnée en Nickel, les hauteurs des pics de réoxydation sont reproductibles et restent proportionnelles à la concentration en Cobalt. L'interférence du Nickel est donc nulle.

Etant donné les concentrations respectives en Cobalt, Cuivre, Plomb, que nous serons amenés à rencontrer lors du dosage du Cobalt dans les milieux biologiques, il nous semble donc indispensable de rechercher une technique de séparation du Cobalt des autres éléments.

Des techniques de séparation étudiées (20-87-88-89-90-) la plus avantageuse correspond à l'extraction du Plomb, sous forme d'iodures de Plomb, par la méthylisobutylcétone en milieu acide chlorhydrique 0,1 M.



Courbe N° 1 Pb^{2+} (10^{-8} M)

Courbe N° 2 Pb^{2+} (10^{-8} M)
 Co^{2+} (10^{-7} M)

Courbe N° 3 Pb^{2+} (10^{-8} M)
 Co^{2+} ($2 \cdot 10^{-7}$ M)

Fig. 34

Interférences dues au Plomb

Le cuivre est également extrait. Les ions Cu^{2+} , en présence d'iodures, sont certainement réduits en ions cuivreux avec formation d'iode. Il semble donc que le triiodure cuivreux Cu I_3 soit extrait par la méthylisobutylcétone. La présence d'iode dans la phase organique est caractérisée par une coloration jaune brun. Le Cobalt, dans ces conditions opératoires reste dans la phase aqueuse.

D'après la littérature, un très grand nombre d'autres métaux sont extraits dans les mêmes conditions par la méthylisobutylcétone, en particulier, le Bismuth, l'Etain, l'Antimoine, le Cadmium, le Zinc, l'Arsenic (III).

Certains auteurs (87 - 89) utilisent également la méthylisopropylcétone pour extraire les iodures de plomb en milieu acide.

Les meilleurs résultats sont obtenus avec la méthylisobutylcétone, qui présente l'avantage d'être nettement moins miscible à l'eau que la méthylisopropylcétone. De faibles quantités ne gênent pas pour le dosage du Cobalt par redissolution anodique

1°) Réactifs utilisés

. Méthylisobutylcétone (immédiatement avant l'extraction agiter le solvant avec environ 10 % de son volume d'acide chlorhydrique 0,5 N).

- . Acide Chlorhydrique concentré suprapur MERCK
- . Iodure de potassium
- . Ammoniaque concentré suprapur MERCK
- . Soude concentrée suprapur MERCK
- . Solution de nitrates mercuriques 10^{-4} M

2°) Mode opératoire

A 20 cm³ de solution, ajouter 200 μl d'acide chlorhydrique concentré, un gramme environ d'iodure de potassium solide. Dissoudre. Effectuer plusieurs extractions par la méthylisobutylcétone. Un minimum de trois extractions est nécessaire pour s'assurer de la disparition complète des traces de plomb et de cuivre, car comme nous l'avons vu précédemment, le plomb et le cuivre sont particulièrement électroactifs

dans le milieu utilisé.

Nous avons réussi dans ces conditions à déterminer des concentrations en Cobalt de l'ordre de 10^{-8} M en présence de 1000 fois plus de cuivre et de plomb.

3°) Rappel des conditions opératoires

Avant de vérifier la reproductibilité et la sensibilité des mesures en réalisant des essais systématiques sur des solutions contenant du Cuivre et du Plomb, nous allons rappeler rapidement les conditions opératoires.

Après avoir réalisé l'extraction des éléments interférants par la méthylisobutylcétone, nous prélèverons la quantité voulue (entre 10 et 20 cm³) de la phase aqueuse que nous injectons dans la cellule à polarographe, contenant déjà 30 à 40 cm³ d'eau bidistillée, dans laquelle nous avons fait passer un courant d'azote durant l'extraction afin d'éliminer l'oxygène dissous gênant.

On laisse ensuite barboter ce courant d'azote pendant quelques instants (une à deux minutes).

Etant donné la grande proportion d'iodures restant dans la phase aqueuse après l'extraction par la méthylisobutylcétone, il n'est pas nécessaire d'en rajouter dans la cellule.

Les différents paramètres sont les suivants :

- | | |
|-------------------------------|---|
| . Electrode | carbone vitreux |
| . Electrolyte support | Ammoniaque 0,5 M
Soude 2.10^{-2} M
Iodures de Potassium
Nitrates mercuriques 2.10^{-7} M |
| . Potentiel de préélectrolyse | - 1,8 V/ECS |
| . Temps de repos | 30 secondes |
| . Vitesse d'agitation | 750 tours par minute |

- . Vitesse de défilement des potentiels 20 mV par seconde
- . Amplitude des impulsions négatives 100 mV
- . Fréquence des impulsions 0,5 secondes
- . Balayage des potentiels lors de la réoxydation de -1,1 à + 0,5 V/ECS
- . Sensibilité 1,25 à 12,5 μ A

G) Résultats

Nous avons dans un premier temps testé la méthode de dosage mise au point, en réalisant de nombreux tests de reproductibilité et de sensibilité sur des solutions de Cobalt contenant des quantités importantes de Cuivre et de Plomb ($10^{-5}M$)

Dans un deuxième temps, nous avons appliqué cette technique du dosage du Cobalt dans les milieux biologiques tels que le sang et les urines.

1°) Tests de reproductibilité

Résultats des dosages effectués sur des solutions aqueuses de Cobalt.

Les différents dosages sont rassemblés dans le tableau suivant. Une dizaine de dosages furent réalisés dans chaque domaine de concentration.

Concentration connue en Cobalt dans les solutions aqueuses à polarographe	Concentration trouvée ($\bar{c} \pm t \text{ sm}$)
$2 \cdot 10^{-8}$ ion g/l	$1,99 \pm 0,10 \cdot 10^{-8}$ ion g/l
$2 \cdot 10^{-7}$ ion g/l	$1,94 \pm 0,06 \cdot 10^{-7}$ ion g/l
$2 \cdot 10^{-6}$ ion g/l	$2,02 \pm 0,04 \cdot 10^{-6}$ ion g/l

Tableau IX

2°) Milieux biologiques

Le dosage direct du Cobalt dans les urines et dans le sang n'est pas possible, les milieux biologiques étant trop complexes.

Il est nécessaire d'effectuer une minéralisation préalable afin de détruire toutes les matières organiques présentes.

La technique de minéralisation est la même que dans le cas du bismuth.

a) Urines

Méthode d'attaque :

Prise d'essai : 50 cm³ d'urine

10 cm³ d'acide perchlorique concentré suprapur

5 cm³ d'acide sulfurique concentré suprapur

Le mélange est chauffé sur un bec Bunsen jusqu'à l'obtention d'un résidu totalement sec. En effet, nous avons pu constater lors des manipulations,

- que les pics de redissolution étaient très sensibles à la moindre trace de matière organique.

- que l'acidité, lors de l'extraction par la méthylisobutylcétone, ne devait pas être trop importante,

afin de ne pas modifier considérablement le pH de la solution dans la cellule à polarographe.

Le résidu est repris par 10 ou 20 cm³ d'eau bidistillée. Les conditions de dosage sont alors celles de l'eau.

Des dosages effectués sur quelques urines ont donné les résultats suivants

N° Echantillon	quantité de Cobalt en $\mu\text{g}/24\text{ h}$
1	10
2	28
3	30
4	7,5
5	21
6	15

TABLEAU X

b) Sang total

Prise d'essai : 5 cm³ de sang total

5 cm³ d'acide perchlorique concentré suprapur

3 cm³ acide sulfurique concentré suprapur.

Après minéralisation, le résidu est repris comme précédemment par 10 ou 20 cm³ d'eau bidistillée.

Résultats sur quelques échantillons

N° Echantillon	quantité de Cobalt en $\mu\text{g}/\text{l}$
1	260
2	200
3	224
4	242

TABLEAU XI

La Cobalturie et la Cobaltémie moyennes se situent respectivement, d'après nos quelques chiffres, aux environs de 20 $\mu\text{g}/24\text{ h}$ et 250 $\mu\text{g}/\text{l}$. Il semble souhaitable qu'une étude plus systématique des urines et du sang soit entreprise ultérieurement afin de conclure sur un échantillonnage plus large.

Néanmoins, la méthode que nous avons mise au point constitue une amélioration considérable par rapport à ce qui existait jusqu'à présent. La sensibilité, la reproductibilité et la spécificité permettent une extension de ce dosage du Cobalt à des milieux les plus divers qui nécessiteront évidemment une minéralisation.

CONCLUSION GENERALE

L'objectif de notre recherche qui consistait à mettre au point un dosage du Bismuth et du Cobalt suffisamment sensible et spécifique pour être appliqué aux milieux biologiques, peut être considéré comme atteint.

- Dans le cas du Bismuth, la qualité de la méthode a été vérifiée par une étude systématique, d'une part dans l'eau, et d'autre part dans les milieux biologiques comme le sang, les urines et les os.

Il semble que cette technique donne tout à fait satisfaction aux cliniciens du Centre Hospitalier Universitaire qui n'hésitent pas à nous faire confiance pour confirmer une intoxication.

- Quant au Cobalt, les conditions opératoires pour obtenir une réduction du Cobalt (II) lors de la préélectrolyse, réduction réputée difficile, ont nécessité une étude très systématique. Les résultats obtenus sont très satisfaisants jusqu'à des concentrations très faibles de l'ordre de 10^{-8} M.

La reproductibilité et la spécificité sont tout à fait satisfaisantes pour conduire à des applications les plus diverses.

Le dosage du Cobalt dans le sang et les urines a été effectué dans un nombre restreint de cas; nos résultats obtenus ne nous semblent pas suffisamment nombreux pour permettre une conclusion définitive compte tenu de la dispersion des chiffres rencontrés dans la littérature.

BIBLIOGRAPHIE

1. CAFFEY J.
Changes in the growing skeleton after the administration of the bismuth
Amer. Journ. of diseases of Children, 1937, 57-58
2. VOGT E.C.
Roentgenologic diagnosis of lead Poisoning in infants and children.
J.A.M.A., 1932, 98,125
3. LAGNIER H.
Therapeutique bismuthique et ostéopathies
These Med. Lyon, 1959.
4. RAVAUULT P., LEJEUNE E., PELLET M.
Les ostéoses décalcifiantes d'origine bismuthique. Etude à propos de
14 observations chez l'adulte
Rev. Lyon. Med., 1958, 7, 827-838.
5. SEZE S (de), HIOCO D., MAZABRAVD A. BORDIER Ph.
Ostéoses décalcifiantes mixtes d'origine bismuthique. Rapport de
7 cas.
Rev. Rhum., 1958, 25, 623-624.
6. BRES A., CAUSSANEL J.P., GERAUD G., JAUZACH Ph. GERAUD J.
Encéphalopathie toxique par les sels de bismuth à propos de 18 obser-
vations.
Rev. Med. Toulouse, 1976, 12,801-813.
7. BUGE A., RANCUREL G., POISSON M., DECHY H.
Encéphalopathies myocloniques par les sels de bismuth
Nouv. Presse Med., 1974, 36, 2315-2320.
8. BUGE A., RANCUREL G., POISSON M., CASENGEL J., DECHY H., FRESSINAUD L.,
EMILE J.
20 observations d'encéphalopathies aiguës avec myoclonies au cours de
traitements oraux par les sels de bismuth.
Ann. Méd. interne, 1974, 125, 877-888.

9. BURNS R., THOMAS D.W., BARRON V.J.
Reversible encephalopathy possibly associated with bismuth subgallate ingestion
Br. Med. J., 1974, 1, 220-222.
10. CAMBIER J., DAIROU R.
L'encéphalopathie myoclonique due à l'ingestion des sels insolubles de bismuth
Arch. Fr. Mal. App. Dig., 1975, 64, 5-9
11. LOISEAU P., HENRY P., JALLON P., LEGROUX M., MATINVILLE D., DANGOUMAU J
Encéphalopathie iatrogène par les sels de bismuth
Concours Méd., 1975, 97, 2475-2478
12. LOWE D.J.
Adverse effects of bismuth subgallate, a further report from the Australian drug evaluation committee
Med. J. Aust. 1974, 2, 664-666.
13. MARTIN BOUYER G.
Intoxication par les sels de bismuth administrés par voie orale
Thérapie, 1976, 31, 683-702
14. MICHAUD P.A., REGLI F.
Encephalopathie au cours des traitements oraux par les sels de bismuth.
Schweiz. Med. Wschr., 1976, 106, 550-555.
15. BUGÉ A., HUBAULT A., RANCUREL G.
Les arthropathies de l'intoxication par le bismuth
Rev. Rhum., 1975, 42, 721-729.
16. DREYFUS J.C.
Le cobalt
d'après traité de Biochimie générale, 1967, Ed. Masson et Cie, 3, 574-577.
17. PIER S.M.
The role of Heavy metals in Human health
Texas Rep. Biol. Med., 1975, 33, 85-106.

18. BROWN S.S.
Clinical chemistry and chemical toxicology of metals
Elsevier (North-Holland), 1977, 1.
19. HERAUT L.A.A.
Etude clinique et expérimentale de la toxicité du Cobalt
Thèse, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux, 1962.
20. CHARLOT G.
Méthodes sélectionnées d'analyse chimique des éléments
Ed. Masson et Cie. Chimie analytique quantitative, 1974, 2.
21. JACKWERTH E.
Zur Spurenanreicherung an Aktivkohle
Bestimmung von Elementspuren in Silber und Thallium präparaten durch
Atomabsorptions - Spektrometrie.
Z. Anal. Chem. 1974, 271 , 120-125.
22. MEDINA R.
Bestimmung einiger Spurelemente in reinem Zinn mittels Atomabsorptions-
spektrometrie mit einer Graphitrohrküvette.
Z. Anal. Chem., 1974, 271, 346-349.
23. VASSILAROS G.L.
Spectrochemical determination of trace bismuth and lead in iron-base
and high-temperature superalloys.
Talanta, 1974, 21, 803-808.
24. WELCHER G.G., KRIEGE O.H., MARKS J.Y.
Direct determination of trace quantities of lead, bismuth selenium,
tellurium, and Thallium in high-temperature alloys by iron-flamme
atomic absorption spectrophotometry.
Anal. Chem., 1974, 46, 1227-1231.
25. MOLNAR C.H., WINEFORDNER J.D.
Vitreous carbon furnace with continuous sample introduction for
atomic fluorescence spectrometry
Anal. Chem., 1974, 46, 1419-1422.

26. CADLE S.H., BRUCKENSTEIN S.
Ring-disk electrode study of the reduction and oxidation of bismuth on gold.
J. Electrochem. Soc. 1972, 119, 1166-1169.
- 26'. CADLE S.H., BRUCKENSTEIN S.
Ring disk electrode study of the reduction of bismuth on platinum
Anal. Chem. 1972, 44, 1993-2001.
27. COHEN E.S.
Etude de certains facteurs qui exercent une influence sur les pics anodiques du bismuth et du cuivre lors de leur détermination en submicroquantités d'après la méthode de voltampérométrie anodique par électrode de mercure stationnaire.
C.R. Acad. Bulg. Sci., 1972, 25, 1383-1386.
28. FAGIOLI F., GARAI T., DEVAY J.
Analytical applications of second-harmonic AC polarography. Simultaneous determination of bismuth and antimony.
Ann. Chim. (Italie), 1974, 64, 633-651.
29. FLORENCE T.M.
Determination of trace metals in marine samples by anodic stripping voltametry
J. Electroanal. Chem., 1972, 35, 237-245.
30. GILBERT T.R., HUME D.N.
Direct determination of bismuth and antimony in sea water by anodic stripping voltametry
Anal. Chim. Acta, 1973, 65, 451-459.
31. HASSAN M.Z., BRUCKENSTEIN S.
Voltametry of bismuth (III) at a continuously mercury coated rotating platinum disk-electrode
Anal. Chem., 1974, 46, 1827-1829.
32. KAMENEV A.I., VINOGRADOVA E.N., KHRYATSHEVSKI V.N.
To the determination of copper and bismuth on hanging mercury drop electrode by inverse voltametry
Zh. Anal. Khim., S.S.S.R., 1974, 29, 40-46.

33. KHRYASHCHEVSKIJ V.N., STAMOV S.D., KAMENEV A.I., AGASYAN P.K.
On the determination of bismuth (III) by alternating current polarography
Vest. Moskov Univ., 2, S.S.S.R., 1975, 16, 706-709.
34. NGHI T.V., VYDRA F.
The electrochemical stripping determination of bismuth in aqueous and non aqueous media after its extraction.
J. Electroanal. Chem. 1976, 71, 325-332.
35. BOND A.M.
The AC and DC polarographic reduction of bismuth (III) in acidic halide and other media.
Electrochim. Acta, 1972, 17, 769-785.
36. SCHMIDT E., GYGAX H.R., CRAMER Y.
Zur Abscheidung von Antimon und Wismut auf Gold Electroden
Helv. Chim. Acta, 1970, 53, 649-654.
37. NGUYEN HAC HUONG THU, PHAN THE TRAN, PHAN NGOC SON
Dosage du cobalt dans les liquides biologiques
Rev. Inst. Pasteur, Lyon, 1970, 3, 165-170.
38. DELVES H.T., SHEPHERD G., VINTER P.
Détermination of eleven metals in small samples of blood by sequential solvent extraction and atomic-absorption spectrophotometry.
Analyst, 1971, 96, 260-273.
39. MUZZARELLI R.A., ROCCHETTI R.
Atomic-absorption determination of manganese, cobalt and copper in whole blood and serum, with a graphite atomizer
Talanta, 1975, 22, 683-685.
40. LE MEUR J.F., COURTOT-COUCPEZ J.
Dosage de traces d'éléments lourds dissous dans l'eau de mer par spectrophotométrie d'absorption atomique et redissolution anodique sur électrode d'argent amalgamé.
Bull. Soc. Chim., 1973, 3, 929-935.

41. ABDULLAH M.I., ROYLE L.G.
The determination of copper lead, cadmium, nickel, zinc and cobalt
in natural waters by pulse polarography
Anal. Chim. Acta, 1972, 58, 283-288.
42. ANZENBACHER P., KALOUS V.
A polarographic study of anodic peaks of cobalt in thioglycolic acid
medium
Collection Csechoslov. Chem. Commun., 1973, 38, 3362-3364.
43. AYLWARD G.H., LEE R.W., WATTON E.C.
The polarography of Cobalt (II), nickel (II), and zinc (II) in
pyridine, 4 methylpyridine and 2 - methylpyridine.
Chem. Communic. 1970, 23, 1594-1595.
44. BERGE H., DRESCHER A., JEROSCHEWSKI P.
Indirekte inversvoltametrische Bestimmung von Elementen unter Anwendung
von Verdrängungsreaktionen
II. Bestimmung von Kobalt und Nickel
Z. Anal.Chem., 1969, 248, 1-6.
45. BRAININA Kh-Z., KRAPIVKINA T.A.
Concentration of material in polarographic analysis
Communication 12. Determination of Cobalt by means of introsonaphtols.
Zh. anal. Khim. 1967, 22, 1382-1387.
- 45'. BRAININA Kh.Z., KRAPIVKINA T.A.
New analytical applications for sodium diethyldithiocarbamate
Anal. Letters, 1969, 2, 269-282
46. ČAKRT M., BERČIK J., HLADKY Z.
Determination of Cobalt (II) by controlled potential coulometry
Chem. Zvesti, 1973, 27, 446-450.
47. CHAUDHURI H., MAHANTI H.S.
Microdetermination of Ni(II) and Co (II) using Potassium
N-[Tri (hydroxymethyl)methyl] Dithiocarbamate
Indian J. Chem., 1975, 13, 1083-1084.

48. DESHMUKH G.S., NAIK V.S.
Polarographic Behaviour of cobalt in succinic acid
Z(Fresenius) anal. Chem., 1969, 248, 35
49. EPELBOIN I., MICINIC M., MOREL Ph.
Etude de la dissolution anodique du cobalt en milieu sulfurique
Mémoires scientifiques Rev. Metallurg. 1971, 68, 727-731
50. GAUR J.N., GOSWAMI N.K.
Polarographic study of the electrode reaction of cobalt (II) in
aqueous and non-aqueous media
Electrochim. Acta, 1970, 15, 519-524
51. HARVEY B.R., DUTTON J.W.R.
The application of photooxidation to the determination of stable cobalt
in sea water
Anal. Chim. Acta, 1973, 67, 377-385.
52. HAVEL A., HRABANKOVA E., DOLEZAL J.
A study of the oxidation of nickel (II), cobalt (II), and iron (II)
by cathodic stripping voltametry
Chem. anal., 1972, 17, 623-629.
53. HEUSLER K.E.
Über den Mechanismus der elektrochemischen Abscheidung und Auflösung
von Kobalt in Perchloratlösungen.
Z. Elektrochem. 1962, 66, 177-184.
54. JANISZEWSKA L., GALUS Z.
Influence of amalgamation of electrolytically deposited cobalt on the
kinetics of its reduction and oxidation at mercury electrodes
Chem. anal., 1972, 17, 691-702.
55. KEMULA W., GALUS Z.
Application of the hanging mercury drop method to the study of forma-
tion of some metal amalgams.
Bull. Acad. Polon. Sci, Ser. sci. chim., geol. et geogr. 1959, 7,
729-735.

56. KENDALL D.R.
Single sample anodic stripping voltametry of mercury and other heavy metal ions using a glassy carbon electrode and integrated circuit electronics.
Anal. Letters, 1972, 5, 867-873.
57. LUONG L., VYDRA F.
Voltametry with disc electrodes and its analytical application
IX The selectivity of the stripping determination of mercury and the determination of some metals in the presence of mercury at glassy carbon electrodes.
J. Electroanal Chem. Interfacial. Electrochem., 1974, 50, 379-386
58. RAO A.L.J., PURI. B.K.
Polarographic determination of Cd, Co, Mn, Zn, Te (IV) and Cr (VI) in sodium azide solution
Z. Anal. Chem, 1971, 254, 362-363
59. RUVINSKIJ O.E., NEVEROVA A.K., KABATSKIJ A.V.
Catalytic effect of thiourea in polarographic determination of Cobalt (II), iron (II), and manganese (II)
Zh. Anal. Khim, 1975, 30, 2409-2412.
60. SCHULEK E., LASZLOVSZKY J.
Über die Trennung und Bestimmung von Kobaltspuren in Gegenwart Grösserer Mengen von Kupfer, Eisen, Silber und Zink
Mikrochim. Acta, 1961, 1, 41-45.
61. SIERRA F., HERNANDEZ-ARTIGA M.P., HERNANDEZ-CANAVATE J.
Nuevas determinaciones potentiometricas de cobalto (II) con hexacianoferrato (III) en presencia de dietilenotriamino pentaacetico
An Quim. 1976, 72, 221-231.
62. E.S. SOUABNI A., NANGNIOT P.
Dosage des traces de Cd-Co-Cu-Fe-Mn-Pb-Zn dans quelques eaux minérales de Belgique, par oscillopolarographie différentielle à tension imposée
Chim. Anal. 1971, 53, 176-182.

63. SRIVASTAVA H.P.
Biamperometric determination of copper, lead, manganese, cobalt and nickel with two polarised electrodes
J. Indian Chem. Soc., 1976, 53, 141-142.
64. POINTEAU R., BONASTRE J.
Eléments de polarographie
Ed. Masson et Cie, 1970
65. BARKER G.C., JENKINS I.L.
Square wave polarography
International congress on analytical chemistry, 1952, 77, 685-696.
66. ROSSET R.
Les méthodes polarographiques récentes
Ed. Masson et Cie, Introduction aux méthodes électrochimiques,
1967, 257-303.
67. BARKER G.C., GARDNER A.W.
Polarographie à impulsion
Chim. Anal. 1963, 45, 316-320
68. DELARUE G.
Redissolution anodique de dépôts métalliques sur une électrode d'argent amalgamée par chronoampérométrie linéaire
Bull. Soc. Chim., 1966, 6, 1927-1929.
69. KEMULA W., KUBLIK Z.
Application de la goutte pendante de mercure à la détermination de minimes quantités de différents ions
Anal. Chim. Acta, 1958, 18, 104-117.
70. HERBEUVAL X., MASO J.L., BAUDOT Ph., HUTIN M.F., BURNEL. D.
Application of pulse polarography with anodic stripping voltametry to biological and toxicological analyses for lead and cadmium.
Path. Biol. 1975, 23, 379-386.

71. BILLAUD F.
Dosage de l'argent et du mercure par polarographie impulsionnelle avec redissolution anodique
Thèse, U.E.R. écologie, Metz, 1976.
72. RAKHMONBERDYEV A.D., NAZAROF B.F., STROMBERG A.G.
Limits of detection of bismuth, antimony and cadmium in inversion voltametry at mercury electrodes by using a second difference polarograph
Zh. Anal. Khim., 1976, 31, 2150-2152
73. STULIK K., BEDROS P.
Selective stripping voltametric determinations employing cells for electrolysis with simultaneous ion-exchange or solvent extraction
Talanta, 1976, 23, 563-568.
74. CHARLOT G.
Chimie analytique générale
Méthodes électrochimiques et absorptiométriques - Chromatographie
Masson et Cie, 1971, II.
75. DEVOTO G.
Determinazione del Bismuto nelle urine con la spettroscopia per assorbimento atomico
Boll. Soc. Ital. Bio. Sper. 1968, 44, 1253-1254.
76. WILLIS J.B.
Determination of lead and other heavy metals in urine by atomic absorption spectroscopy
Anal. Chem., 1962, 34, 614-617
77. ALLAIN P.
Le dosage du Bismuth dans les milieux biologiques par absorption atomique sans flamme
Clin. Chim. Acta, 1975, 64, 281-286.
78. BOURDON R., GALLIOT M., PROVILLET F.
Dosage du cuivre, du plomb, du manganèse, du bismuth, du cadmium, et de l'or dans les liquides biologiques par spectrométrie d'absorption atomique sans flamme
Ann. Biol. Clin., 1974, 32, 413-422.

79. LANZA P., CONCIALINI V., BENATI A.
Determination of bismuth content of urine. Polarographic method.
J. Electroanal. Chem., 1968, 17, 395-400.
80. PROCTOR C.D., OESTER Y.T.
Applications of polarography to analytical toxicology.
The polarographic determination of bismuth in the urine
J. Forensic Med. 1958, 5, 89-95.
81. TORLOTIN J.C.
Dosage polarographique du bismuth dans les urines
Ann. Biol. Clin., 1965, 23, 905-912
82. SINKO I., GOMISCEK S.
Die Bestimmung von Blei, Cadmium, Kupfer, Thallium, Wismut and Zink
im Blutserum im Wege der Anodic-stripping-Polarographie
Mikrochim. Acta, 1972, 2, 163-172.
83. MUSUMECI V., CANTONE B., CHIARENZA A., AURISSCHIO A.
Ricerche sperimentali sul comartamento del bismuto nell' organismo
des Coniglio, dopo arratamento con sale liposespo marcato con isotope
 ^{210}Bi .
Minerva Dermatologica, 1957, 32, 441-443.
84. PASCAL P.
Nouveau traité de Chimie minérale
Masson et Cie, 1967, XVII et XVIII
85. BRAININA. Kh.Z.
Stripping Voltametry in Chemical analysis
John WILEY and sons, New-York, Toronto, 1974
86. MASO J.L.
Dosage de métaux lourds par polarographie dans l'eau et dans les
milieux biologiques
D.E.A., 1974, Centre d'Ecologie de Metz
87. MAC CORD W., ZEMP J.W.
Determination of lead in urine
Anal. Chem. 1955, 27, 1171-1172

88. MOELLER T.

Extraction and colorimetric estimation of certain metals as derivatives of 8-Hydroxyquinoline.

Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., 1943, 15, 346-349.

89. TALTITIE N.A., GARCIA W.J.

Radiochemical determination of lead-210 after solvent extraction as iodide and dithizonate.

Anal. Chem., 1965, 37, 851-854.

90. YADAV A.A., KHOPKAR S.M.

Liquid liquid extraction of lead (II) with tributylphosphate

Talanta, 1971, 18, 833-837.