

# Microdosage de traces de plomb dans le sang, applicable à divers milieux biologiques

Autor(en): **Haerdi, W. / Monnier, D.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **50 (1959)**

Heft 4

PDF erstellt am: **22.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983425>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

# Microdosage de traces de plomb dans le sang, applicable à divers milieux biologiques

Par *W. Haerdi* et *D. Monnier*

(Laboratoire de Chimie minérale, de Chimie analytique et de Microchimie  
de l'Université de Genève)

## I. Introduction

Nous n'insisterons pas sur l'intérêt du dosage du plomb dans le sang, dans l'urine et dans divers milieux organiques et biologiques <sup>1)</sup>. Le dépistage des intoxications au plomb en médecine comme en pharmacie, en criminologie comme dans le contrôle des denrées alimentaires reste un problème d'actualité. Le but de notre travail est de proposer une méthode de dosage du plomb susceptible de s'appliquer à des échantillons de teneur en plomb assez différente et de présenter une précision suffisante. Les opérations doivent être telles qu'au moment de la détermination finale, le volume de la solution ne dépasse pas 0,5 ml. Nous avons choisi une méthode assez sensible afin qu'il soit possible de réduire au maximum la quantité d'échantillon nécessaire, ce qui permet de diminuer ainsi la quantité de réactifs utilisés, la durée des opérations et la concentration des ions étrangers. On évite ainsi perte et contamination et l'analyse s'effectue beaucoup plus rapidement.

Un très grand nombre d'articles traitent du dosage de traces de plomb et devant cette abondance, il est bien difficile de faire un choix pour celui qui n'a pas étudié à fond le problème. Nous ne citerons qu'une faible partie des travaux publiés.

Les diverses méthodes *physico-chimiques* proposées sont les suivantes:

*La spectrophotométrie* <sup>2)</sup>: la plus répandue, utilise surtout la dithizone comme réactif de coloration. Elle est sensible et permet de doser selon la littérature moins de 1 µg de Pb. Malheureusement le réactif est lui-même coloré, de plus il est relativement peu stable (il s'oxyde avec changement de coloration) ce qui fait que la méthode est délicate, assez longue et si elle n'est pas appliquée de façon très rigoureuse, les erreurs peuvent être considérables. De plus, les méthodes de contrôle telle que celle utilisant l'étalon interne, ne présentent pas une grande sûreté, pas plus que le processus qui consiste à établir deux courbes d'étalonnage à deux longueurs d'onde.

*La spectrographie* <sup>3)</sup>: est l'une des méthodes les plus sensibles, par contre elle est moins précise, exige un appareillage coûteux, la mise au point est longue et les dosages ne peuvent être effectués que par des personnes spécialisées. Elle est très rapide lorsqu'on a un grand nombre d'échantillon de même nature à doser.

*La polarographie* <sup>4)</sup>: un peu moins sensible que les précédentes est par contre plus précise, plus rapide et plus sûre. L'emploi de microcuvettes permet d'augmenter la sensibilité absolue.

Après examen, nous avons choisi cette dernière méthode pour nos dosages de plomb dans le sang, qui sont effectués sur un polarographe ordinaire ou sur un polarographe à rayons cathodiques.

La détermination peut être effectuée de diverses façons:

- a) *Directement sur le sang* <sup>5)</sup>, ce mode opératoire ne nous a pas donné satisfaction, les résultats que nous avons obtenus sont très approximatifs.
- b) *Après minéralisation* <sup>6)</sup>, c'est un processus rapide qui n'est applicable que lorsqu'on a des quantités importantes de plomb (cas d'intoxication aigue). Divers ions, le  $F^{+++}$  en particulier, gênent le dosage et augmentent l'erreur.
- c) *Après minéralisation et séparation* <sup>7)</sup>, moins rapide que les précédentes, cette façon de procéder est certainement beaucoup plus sûre et plus générale (malgré le plomb contenu dans les réactifs), puisqu'on polarographie des solutions ne renfermant pratiquement que du plomb. Les sauts de la courbe potentiel-courant sont bien dessinés et les hauteurs peuvent être mesurées avec beaucoup de précision. C'est pourquoi nous choisissons ce mode de faire.

*La minéralisation* des matières organiques <sup>12)</sup>, se fait par voie sèche ou par voie humide. La méthode par voie sèche est peu recommandable. Lors de la calcination à  $500-600^{\circ}$ , une partie du plomb sublime, une autre partie est très fortement retenue par adsorption sur les parois du récipient. La méthode par voie humide que nous appliquerons est meilleure, pour le moins en ce qui concerne les pertes. Pour éviter la contamination il faut faire un choix judicieux du réactif de décomposition qui est en général un acide. Le commerce livre de l'acide nitrique dit exempt de plomb, qui en contient des quantités suffisamment faibles pour que le dosage n'en soit pas gêné pour autant que la quantité de plomb en expérience soit égale ou supérieure au  $\mu g$ .

*Après la minéralisation*, on effectue une séparation afin d'éliminer la plus grande partie des ions gênants. Divers processus ont été proposés: la coprecipitation par le  $SO_4Sr$  <sup>8)</sup>, la séparation sur résines <sup>9)</sup>, l'électrolyse <sup>10)</sup> (risque de perte en plomb sur l'électrode sous forme de  $PbO_2$ ). Mais, l'extraction <sup>11)</sup> semble être la meilleure, elle est proposée par l'American Public Health Association <sup>7)</sup> et c'est sur cette méthode que nous nous sommes basés pour établir notre procédé de séparation.

*En résumé*, nous proposons une minéralisation par voie humide, suivie d'une extraction à la dithizone et d'une détermination polarographique. Nous n'avons pas la prétention de présenter une méthode originale en toutes ses parties. Mais nous avons étudié le résultat de divers travaux parus et ils ont été modifiés afin de les adapter à nos conditions, en un tout cohérent, où toutes les opérations sont décrites minutieusement. Cette méthode appliquée dans nos laboratoires depuis plus d'une année nous a donné toute satisfaction.



### Réactifs à utiliser

acide nitrique	dithizone
eau bidistillée	chloroforme
chlorhydrate d'hydroxylamine	acide tartrique
citrate de sodium	nitrate de cadmium
rouge de phénol	nitrate de plomb (acétate)
ammoniaque	azote
cyanure de potassium	

### Matériel

- 5 bechers philips de 150 ml pyrex avec 5 verres de montre
- 6 ampoules à robinet de 100 ml type Squibbs en pyrex
- 6 capsules de verre pyrex de 10 ml
- 4 microcuvettes polarographiques de 1 à 0,3 ml (voir dessin 1)
- diverses pipettes jaugées

## II. Dosage du plomb dans le sang

### Mode opératoire

*Purification et préparation des réactifs.* La purification des réactifs est d'une grande importance car ceux-ci contiennent du plomb en plus ou moins grande quantité. Comme nous dosons de 2 à 10  $\mu\text{g}$  de plomb dans 0,5 ml de solution, il est indispensable que la solution à blanc (réactifs seuls) contienne le moins possible de plomb. Pour les produits «Merck» pro anal. que nous utilisons, la teneur en Pb est garantie inférieure à :

acide nitrique à 65 %	garanti sans Pb (testé à la $\text{DzH}_2$ )
chlorhydrate d'hydroxylamine	0,0005 %
citrate de sodium	0,0020 %
ammoniaque à 25 %	0,0004 %
cyanure de potassium	0,0010 %
acide tartrique	0,0005 %

Comme nous pouvons le constater une purification préalable est de rigueur pour la majorité de ces produits.

*Eau bidistillée.* L'eau distillée ordinaire est redistillée d'un appareil en pyrex. On utilise la fraction moyenne du distillat, sur 5 litres on jette les premiers et les derniers 500 ml. On la conserve de préférence dans un flacon en polyéthylène.

*Chlorhydrate d'hydroxylamine* (solution à 20 %). Dissoudre dans une ampoule à robinet de 100 ml, 20 g de chlorhydrate d'hydroxylamine Merck (produit No 5616) dans 20 ml d'eau bidistillée. Rendre légèrement alcalin au moyen d'ammoniaque. Le Pb est éliminé par extractions successives au moyen de 5 ml d'une solution de dithizone-chloroforme (40 mg/l) jusqu'à ce que la dernière portion de la phase organique reste colorée en vert. Après 2', laver la solution aqueuse au moyen de chloroforme pur jusqu'à ce qu'elle ne présente plus de coloration (le  $\text{CHCl}_3$  lui-même ne doit plus se colorer en vert), l'acidifier légè-

ment avec  $\text{NO}_3\text{H}$ . Pour terminer, on dilue à 100 ml avec de l'eau bidistillée et conserve la solution dans un flacon en polyéthylène ou un flacon brun.

*Citrate de sodium* (solution à 25 ‰). Dissoudre dans une ampoule à robinet de 100 ml, 25 g de  $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3 \cdot 5\frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$  Merck (produit No 6436), dans 20 ml d'eau bidistillée. On élimine le plomb par extractions successives au moyen de 5 ml de dithizone/chloroforme (40 mg/l) jusqu'à ce que la dernière portion de la phase organique reste verte. On élimine l'excès de dithizone de la solution aqueuse par extractions répétées au moyen de chloroforme pur jusqu'à ce que celui-ci soit incolore. Amener à 100 ml. Conserver, de préférence, dans un flacon en polyéthylène.

*Rouge phénol* (solution à 0,1 ‰). Dissoudre 0,05 g de rouge phénol (phénol-sulfophthaléine) Merck (produit No 7241) dans 50 ml d'eau bidistillée.

*Ammoniaque concentré*. Faire passer un courant d'ammoniac provenant d'une bombe dans un flacon brun contenant 500 ml d'eau bidistillée. Refroidir par un bain de glace + sel (2 : 1). Lorsque le volume de la solution a atteint 900 ml, arrêter la réaction (environ 2–3 heures).

*Cyanure de potassium* (solution à 10 ‰). Introduire dans une ampoule de 150 ml, 50 ml d'eau bidistillée et 25 g de cyanure de potassium Merck (produit No 4967). On secoue la solution avec plusieurs portions de 5 ml de dithizone-chloroforme (40 mg/l), jusqu'à ce que la dernière portion reste colorée en vert. La dithizone retenue dans la phase aqueuse est éliminée par extraction au moyen de chloroforme pur jusqu'à ce que la dernière portion de celui-ci reste incolore. La solution aqueuse est alors diluée avec de l'eau bidistillée de façon à avoir un volume de 250 ml. On conserve la solution dans un flacon en plastique (polyéthylène) sur lequel est fixé la pipette de 5 ml servant au prélèvement de la solution. Le volume de solution désirés est amené dans la pipette par simple pression sur le flacon.

*Acide nitrique*. On utilise l'acide nitrique concentré garanti sans Plomb, de la maison Merck (produit No 456) sans purification préalable.

*Solution de dithizone* (solution à 0,002 ‰). Dissoudre 2 mg de dithizone Merck (produit No 3092) dans 100 ml de chloroforme Merck (produit No 2445), solution qui sera utilisée pour la séparation du plomb après minéralisation. La solution peut être conservée dans un flacon brun et au frigo environ 1 mois sans altération.

*Chloroforme pur*. Nous avons utilisé le chloroforme Merck (produit No 2445) sans purification préalable.

*Nitrate de cadmium* (solution à 0,1 mg de Cd par ml). Dissoudre 2,42 mg de  $\text{Cd}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  Merck (produit No 2014) dans un ballon de 10 ml. Compléter au trait de jauge au moyen d'eau bidistillée.

*Acide tartrique* (solution à 10 ‰). L'acide tartrique entre dans la composition de la solution de base. Dissoudre 10 g d'acide tartrique Merck (produit No 804) dans 50 ml d'eau bidistillée, ajouter 10 ml d'acide nitrique 0,1 M et 5 ml



de la solution de nitrate de cadmium. Amener la solution à 100 ml dans un flacon jaugé, au moyen d'eau bidistillée, la solution contient donc 5  $\mu\text{g}$  de Cd par ml. Cette solution n'est pas purifiée, car pour extraire le Pb de l'acide tartrique, il faudrait alcaliniser la solution (pH 8). Dans ces conditions, une petite partie de la  $\text{DzH}_2$  se dissout dans la solution aqueuse, ce qui a pour effet d'aplatir les sauts des polarogrammes et par la suite de diminuer la sensibilité.

*Nitrate de plomb* (solution à 2  $\mu\text{g}$  par ml). Dans un flacon jaugé de 100 ml, nous introduisons 0,03662 g d'acétate de plomb Merck (produit No 7375), 3 gouttes d'acide nitrique concentré et ajustons le volume à 100 ml au moyen d'eau bidistillée. Dans un autre flacon jaugé de 100 ml, nous introduisons 1 ml de la solution précédente et amenons à 100 ml au moyen d'eau bidistillée. Cette solution sert de référence pour la teneur en plomb des échantillons de sang.

*Azote*. L'azote nécessaire à l'élimination, par barbotage, de l'oxygène dissous dans la solution à polarographier, doit être purifié. On le fait passer successivement dans deux solutions identiques renfermant une partie de pyrogallol à 25 % pour 5 parties de KOH à 40 %. On peut aussi purifier l'azote en le faisant passer sur du cuivre divisé à 400°.

*Nettoyage et conservation de la verrerie*. Les méthodes de lavages ordinaires pour la verrerie utilisée en macroanalyse, ne permettent pas d'éliminer quantitativement les métaux lourds adsorbés par les parois des récipients, elles sont donc insuffisantes. On procédera ainsi: un premier lavage à l'acide nitrique 1 : 1 chaud. Un rinçage à l'eau distillée puis à l'ammoniaque 0,01 N. Pour vérifier la pureté du récipient, on ajoute dans celui-ci 20 ml d'eau bidistillée, amène le pH à environ 9 au moyen d'ammoniaque exempt de Pb et ajoute 0,5 ml de la solution dithizone 0,002 %. Une variation de la coloration de la phase organique indique la présence de traces de métaux lourds. Ces impuretés sont surtout retenues sur les parties rodées des ampoules à robinet. Il faut évidemment utiliser des vaselines exemptes de Pb et n'ayant pas été en contact avec un métal.

*Prise et conservation du sang*. Il va de soi que toutes les précautions sont à prendre en ce qui concerne la prise de sang, afin qu'aucune contamination n'ait lieu à ce moment.

Le sang doit être reçu dans des tubes en pyrex, nettoyés au préalable avec de l'acide nitrique 1 : 1 chaud et rincé à l'eau bidistillée. Le tube est bouché au moyen d'un bouchon de liège propre et neuf ou de caoutchouc pur. L'emploi de veinotube est à recommander («le veinotube», 1, rue du Maréchal Foch, Saint-Savin Aube, France). Un échantillon de sang à analyser sur son volume total n'a pas besoin d'être traité par un anticoagulant. Par contre les échantillons sur lesquels on effectue un prélèvement (plus de 10 ml), seront traités par un anticoagulant comme l'héparine, l'oxalate ou le citrate (0,5 %). Il est recommandé, dans ce cas, de posséder un échantillon de l'anticoagulant afin de vérifier sa teneur en plomb et de pouvoir apporter les corrections nécessaires lors de l'interprétation des résultats.

Il est nécessaire d'avoir 3 à 5 ml de sang pour une analyse. Un volume supérieure à 10 ml n'est pas à recommander car on augmente la durée de la minéralisation. Il faut, en général, pouvoir faire plusieurs analyses sur un sang d'une même prise. Lorsqu'on dispose par exemple de 20 g de sang d'un même individu, il est recommandé de procéder comme suit:

pesée I	3 – 5 g de sang
pesée II	6 – 10 g de sang
pesée III	3 – 5 g de sang + 4 µg de Pb.

Dans le cas où le prélèvement ne dépasse pas 10 ml, on supprime l'une des pesées (I ou II).

Les essais à blanc sont les suivants:

solution IV	réactifs traités comme le sang
solution V	réactifs + 4 µg de Pb traités comme le sang.

(Analyse du Pb contenu dans l'anticoagulant si nécessaire.) Toutes les solutions sont traitées exactement de la même façon. Aux solutions IV et V il est recommandé d'ajouter 0,5 ml d'une solution de NaCl ou de KCl 0,5 M (produits Merck No 6409 ou 4933) comme support de minéralisation.

*Minéralisation du sang.* Les prises sont pesées directement dans des bechers Philips de 150 ml. On place les bechers sur une plaque chauffante et porte la solution à 100° afin d'éliminer l'eau et les autres matières volatiles. On laisse refroidir et ajoute alors au résidu 2 ml d'acide nitrique concentré. On secoue pour mélanger le sang à l'acide. Du mélange s'échappent de faibles vapeurs nitreuses. Une fois que ce dégagement a cessé on place les bechers recouverts d'un verre de montre de 5 cm de diamètre, sur la plaque chauffante froide. On augmente progressivement la température jusqu'à 100° en évitant un dégagement trop violent des vapeurs nitreuses. La solution devient sirupeuse, limpide et se colore en jaune-rouge. La température est maintenue entre 100 et 120°. La minéralisation se fait alors progressivement. L'acide se condense sur les parois du becher et s'écoule de nouveau dans le fond du récipient. On ajoute lorsque c'est nécessaire 0,5 ml d'acide nitrique concentré. Il est important de ne pas dépasser 120° pendant la première heure, on évite ainsi que la réaction soit trop vive, ce qui provoquerait une carbonisation avec production de petites flammes et dégagement gazeux intense de vapeurs brunes et blanchâtres. Ce phénomène peut être à l'origine de pertes car la température est élevée aux points de carbonisation, et de ce fait peut provoquer une volatilisation partielle du plomb. Cette oxydation à reflux à 120° se poursuit jusqu'à ce que la solution devienne jaune claire. Lorsque cette coloration est atteinte (1–3 heures), on augmente progressivement la température de façon à ce que le dégagement des vapeurs nitreuses se poursuive. On évapore alors à sec et ajoute 0,1 à 0,2 ml d'acide nitrique. On répète cette opération jusqu'à obtenir un résidu blanc (l'acide est introduit par le bec du becher). La température est portée à 200–250° et on termine la miné-



ralisation en ajoutant à froid 1 ml de perhydrol (produit Merck No 209) et 0,2 ml d'acide nitrique concentré et on évapore à sec.

Le résidu peut alors être repris par 2 ml d'acide nitrique concentré. On chauffe légèrement pour solubiliser les sels et ajoute 10 ml d'eau bidistillée avec laquelle on lave le verre de montre ainsi que le haut du becher. Il faut, pour minéraliser 3–10 ml de sang, environ 3–6 heures. Si notre méthode est relativement longue, elle évite par contre une température trop élevée ce qui réduit au minimum les pertes en plomb par sublimation et par adsorption.

*Séparation du plomb.* La solution limpide et incolore (légèrement jaune s'il y a beaucoup de fer) est introduite dans une ampoule à robinet Squibbs de 50 ml. On y ajoute successivement:

1. 1 ml de la solution de chlorhydrate d'hydroxylamine.
2. 10 ml de la solution de citrate de sodium, que l'on aura utilisée auparavant pour laver le becher ayant contenu la solution après minéralisation.
3. 0,5 ml de la solution de rouge phénol.
4. du  $\text{NH}_4\text{OH}$  concentré, jusqu'au virage du jaune à l'orange de l'indicateur, pH 8–9. En milieu fortement acide, l'indicateur est orange, passe au jaune en milieu légèrement acide et de nouveau à l'orange en milieu alcalin.
5. 5 ml de la solution de cyanure de potassium.

Après avoir bien mélangé les solutions, on procède alors de la façon suivante: le plomb est extrait en secouant la solution aqueuse 1 à 2 minutes avec des portions de 2 ml de la solution de dithizone jusqu'à ce que la dernière portion reste verte. Les diverses fractions chloroformiques sont récupérées dans une autre ampoule à robinet. On lave la solution chloroformique une fois avec 10 ml d'eau bidistillée puis deux fois avec 5 ml. La solution aqueuse est éliminée par décantation et jetée. On ajoute alors à la solution organique 5 ml d'acide nitrique 1 % et secoue 1 à 2 minutes. Le dithizonate de plomb se décompose, la solution chloroformique reprend sa coloration verte originale, tandis que le plomb repasse dans la phase aqueuse. La phase organique est jetée. On lave la solution aqueuse avec deux fois 5 ml de chloroforme pur, pour éliminer les dernières traces de dithizone, opération indispensable pour avoir des polarogrammes bien dessinés.

On fait couler la solution nitrique dans une capsule de verre de 10 ml, lave l'ampoule avec 2 ml d'eau bidistillée que l'on ajoute à la solution nitrique. Enfin, la solution est évaporée à sec au moyen d'une calotte infra-rouge, ce qui évite les pertes par ébullition trop vive. On ne distingue en général pas le résidu.

*Dosage du plomb.* Le résidu invisible de la capsule est repris par 0,5 ml de la solution tartrique qui renferme l'étalon cadmium. On frotte avec une baguette de verre les parois de la capsule pour dissoudre le plomb adhérent à la surface du récipient, puis on introduit la solution dans une microcuve polarographique (fig. 1), et on fait passer un courant d'azote purifié pendant 10 minutes.



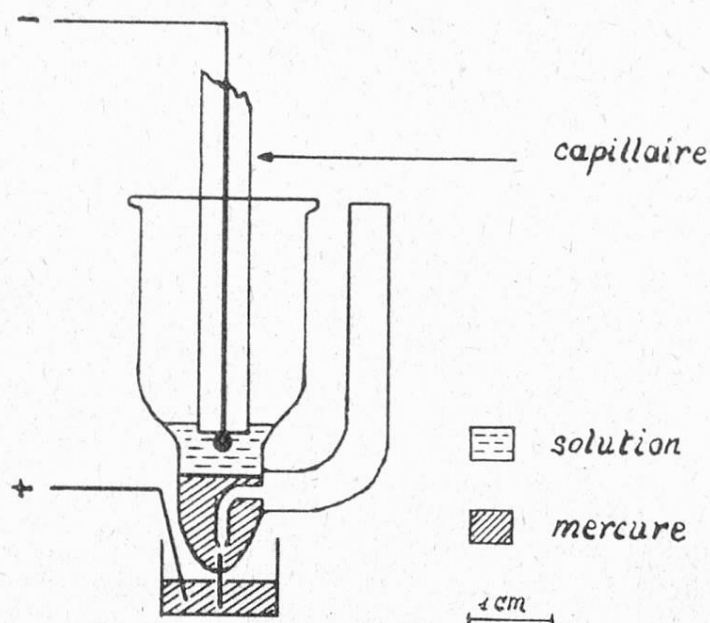


Fig. 1  
Microcuve

On effectue le polarogramme entre  $-0,3$  et  $-0,9$  volt. La courbe présente deux sauts, le premier,  $E^{1/2}$  à  $-0,54$  volt environ est dû à la réduction du plomb, le second  $E^{1/2} - 0,72$  volt vient de la réduction du cadmium (électrode solution-Hg, voir fig. 2).

Il n'est pas nécessaire de travailler sous atmosphère d'azote lorsqu'on utilise un polarographe ordinaire. Quant on travaille avec un polarographe à rayons cathodiques, l'atmosphère d'azote s'impose afin que le saut puisse être amené dans le cadran visuel, pour ce faire, on utilisera des cuves spécialement conçues à cet effet <sup>13)</sup>.

*Remarques.* Le saut du cadmium ne doit pas varier d'un polarogramme à l'autre. Dans le cas contraire, il est nécessaire d'apporter les corrections voulues à la hauteur mesurée du saut du plomb (voir formule page 252).

Nous avons travaillé avec le polarographe Sargent, modèle XXI. La figure 2 rend compte de l'allure d'un polarogramme. Celui-ci représente la réduction de  $4 \mu\text{g}$  de Pb/ml (le volume de la solution au moment de la polarographie étant de  $0,5$  ml, la quantité de plomb au moment de la mesure est donc de  $2 \mu\text{g}$ ). Le second saut es dû au cadmium servant comme étalon interne, sa concentration est de  $5 \mu\text{g/ml}$ . Les constantes de l'appareil sont les suivantes:

sensibilité	$0,008 \mu\text{A/mm}$
damping	1
volt	0 — 2
temps de goutte	3 — 4 minutes

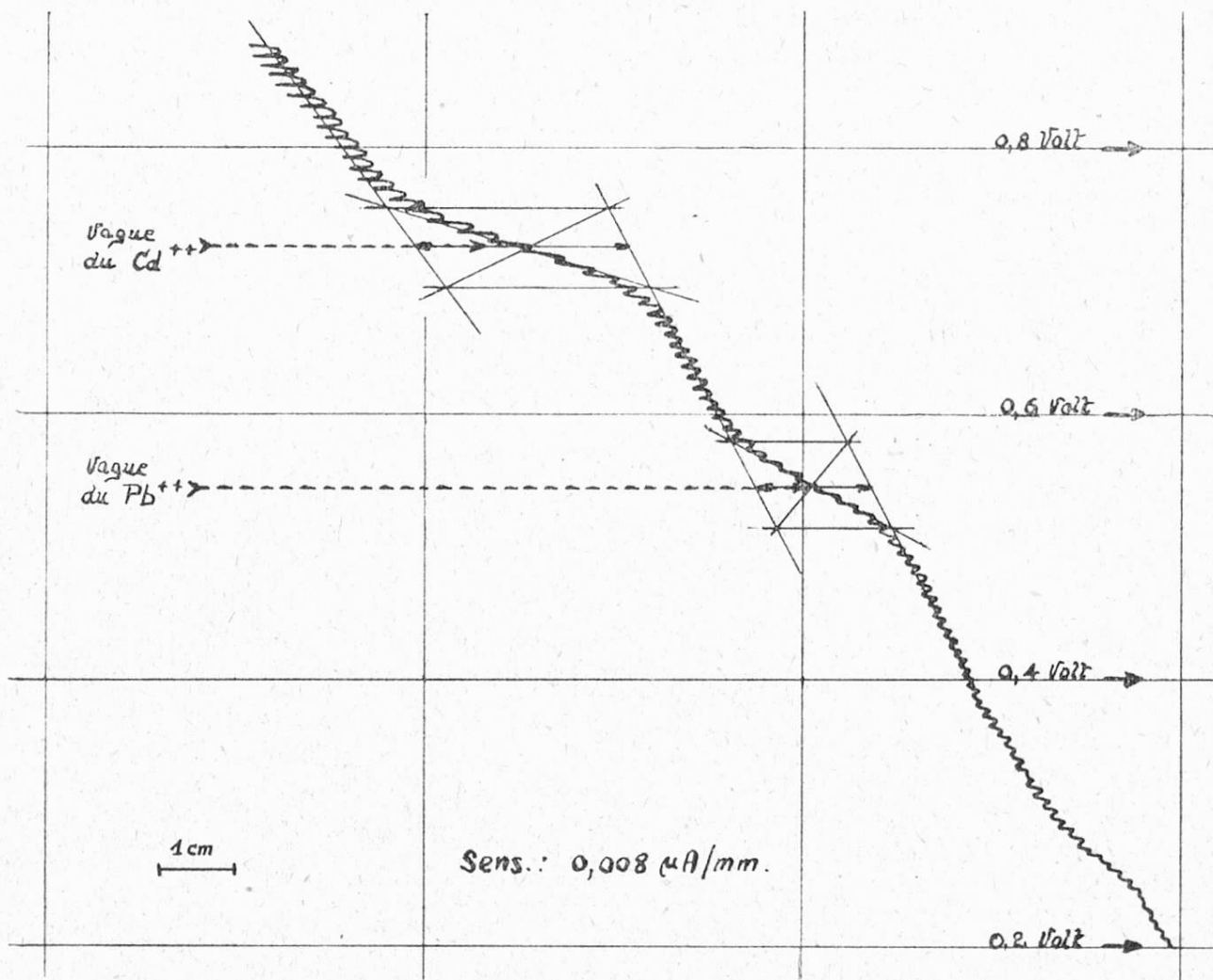


Fig. 2  
Polarogramme

*Détermination des erreurs.* Les erreurs commises au cours de l'analyse peuvent provenir de causes diverses, principalement:

1. Les erreurs inhérentes à l'appareillage (capillaire, hauteur du réservoir, température). Elles sont éliminées grâce à l'emploi du cadmium, qui ajouté en quantité connue avec l'électrolyte de base, sert d'étalon interne. Afin de faciliter cette correction, nous avons établi une formule qui permet de calculer la teneur exacte en plomb. Nous avons effectué une série de polarogrammes de solution renfermant des quantités de cadmium constante ( $5 \mu\text{g/ml}$ ), et variable en plomb. La hauteur du saut du plomb ( $h_{\text{Pb}}$ ) et celle du cadmium ( $h_{\text{Cd}}$ ) sont mesurées et exprimées en  $\mu\text{A}$ . Nous avons déterminé ces valeurs en passant par tous les stades de la séparation décrits dans le mode opératoire. Une correction a été faite ( $h$  corrigé) pour le plomb contenu dans les réactifs et dont la valeur est donnée en hauteur de saut ( $h_0$ ) dans la dernière ligne du tableau 1 et dont nous avons négligé pour celui-ci seulement

la correction par rapport au cadmium. On peut négliger cette correction si la quantité de plomb à doser n'est pas trop faible, ce qui est encore le cas pour le 5<sup>ème</sup> exemple du tableau 1. Il est ainsi possible de déterminer la valeur moyenne du rapport  $h'_{Pb}/h'_{Cd}$ , correspondant à des concentrations égales (par exemple 1  $\mu\text{g/ml}$ ) de ces métaux.

*Tableau 1*  
*Détermination du rapport  $h'_{Pb}/h'_{Cd}$*

Pb $\mu\text{g/ml}$	Cd $\mu\text{g/ml}$	$h_{Pb}$ $\mu\text{A}$	$h_{Pb}$ corrigé ( $h_{Pb} - h_0$ )	$h_{Cd}$ $\mu\text{A}$	D = $h'_{Pb}/h'_{Cd}$
10	5	0,356	0,327	0,256	0,639
8	5	0,277	0,248	0,248	0,625
6	5	0,226	0,197	0,256	0,641
4	5	0,173	0,144	0,264	0,682
2	5	0,099	0,070	0,264	0,664
0	5	0,029	—	(0,240)	—

Moyenne de  $h'_{Pb}/h'_{Cd} = D_m = 0,650$ . La concentration  $x$  en plomb ( $\mu\text{g/ml}$ ) dans l'échantillon inconnu auquel on a ajouté du cadmium de telle sorte que sa concentration soit de  $a$  ( $\mu\text{g/ml}$ ), est calculée au moyen de la formule suivante:

$$x = \frac{h_{Pb} \cdot a}{h_{Cd} \cdot D_m}$$

$h_{Pb}$  = la hauteur du saut du plomb, lue sur le polarogramme

$h_{Cd}$  = la hauteur du saut du cadmium, lue sur la polarogramme

$a$  = concentration du cadmium  $\mu\text{g/ml}$

Ces hauteurs sont exprimées en  $\mu\text{A}$ .

- Les erreurs provenant de la contamination due aux réactifs se manifestent particulièrement au cours de la séparation. Quant aux pertes, elles se produisent lors des diverses opérations. Les unes et les autres peuvent être corrigées par la détermination du plomb dans un essai à blanc (voir dernière ligne du tableau 1). Dans le tableau 2, nous donnons des résultats de dosages effectués sur des solutions aqueuses renfermant des quantités connues de plomb. Toutes les opérations de dosage du plomb ont été faites sauf la minéralisation (correction d'erreurs selon formule citée sous 1).



Tableau 2

Séparation (sans minéralisation) et dosage de quantités connues de plomb  
Volume de la solution au moment de la mesure: 1 ml

Pb ajouté $\mu\text{g}$	Pb trouvé (x) $\mu\text{g}$	Pb corrigé (-0,9) $\mu\text{g}$	Pb retrouvé %	erreur relative %
10	10,7	9,8	98,0	- 2,0
8	8,6	7,7	96,3	- 3,7
6	6,8	5,9	98,3	- 1,7
4	5,0	4,1	102,5	+ 2,5
2	2,9	2,0	100,0	0
0	0,9	—	—	—

Nous constatons que ces erreurs sont très faibles étant donné les quantités en expérience.

3. Au cours de la minéralisation on observe des pertes assez importantes, malgré les précautions prises, dues à la volatilisation et de l'adsorption sur les parois des récipients. On peut les déterminer approximativement par un dosage d'une solution connue de plomb, de façon rigoureusement identique à celle que nous utilisons pour le sang. Le tableau 3 rend compte de ces pertes.

Tableau 3

Perte à la minéralisation  
Volume de la solution au moment de la mesure: 0,5 ml

Pb ajouté $\mu\text{g}$	Pb trouvé (x) $\mu\text{g}$	Pb corrigé (-1,6) $\mu\text{g}$	Pb retrouvé %	erreur relative %
4	5,10	3,50	87,5	- 12,5
4	5,22	3,62	90,5	- 9,5
4	5,30	3,70	92,5	- 7,5
4	5,08	3,48	87,0	- 13,0
0	1,60	—	—	—

Nous constatons que l'erreur moyenne lors de la minéralisation est d'environ - 10 %.

Nous remarquons donc maintenant la raison pour laquelle il est indispensable:

1. de purifier autant que possible les réactifs
2. d'établir un blanc dans les conditions exactes du dosage
3. d'utiliser un étalon interne
4. d'ajouter une quantité de plomb connue dans l'une des prises d'un même échantillon de sang.

Nous avons effectué un très grand nombre de dosage de plomb dans le sang de diverse origine. Nous ne donnerons qu'un exemple pris au hasard.

*Exemple de calcul de la teneur en plomb d'un échantillon de sang complet.*  
Volume de sang à disposition: environ 20 ml. Nous avons fait trois prises soit: a = 5,258 g, b = 5,266 g et c = 10,125 g. En considérant pour le sang une densité de 1,050 à 1,055<sup>14</sup>), nous trouvons pour les volumes correspondants: a = 5,00 ml, b = 5,01 ml et c = 9,64 ml.

A la prise b, nous avons ajouté une quantité de plomb connue soit 4 µg. La minéralisation, la séparation et le dosage ont été fait sur les 5 solutions suivantes:

1. la prise a
2. la prise b plus les 4 µg de Pb ajouté
3. la prise c
4. une solution aqueuse renfermant 4 µg de plomb
5. l'essai à blanc (réactifs seul).

Tableau 4

Résultats obtenus

Volume au moment de la mesure polarographique: 0,5 ml,  
concentration du Cd: 5 µg/ml

Solutions	$h_{Pb}$ µA	$h_{Cd}$ µA	Pb trouvé (x) µg	Pb corrigé (-0,9 µg) µg	Pb corrigé (+ 10 <sup>0/0</sup> ) µg	µg Pb 100 ml sang
1	0,187	0,257	2,8	1,9	2,1	41,5
2	0,436	0,258	6,5	5,6	6,2 *	43,9
3	0,291	0,254	4,4	3,5	3,9	40,7
4	0,305	0,259	4,5	3,6	4,0	—
5	0,060	0,257	0,9	—	—	—

\*) A la prise 2, nous avons ajouté 4 µg de Pb. Le plomb contenu dans cette prise est donc de: 6,2 — 4,0 = 2,2 µg.

Dans les colonnes 1 et 2 du tableau 4, nous avons relevé les hauteurs en µA des sauts du Pb et du Cd telles que nous les mesurons sur le polarogramme. La colonne 4 donne la concentration absolue du plomb trouvé dans les 0,5 ml de la solution que nous avons polarographiée, cette concentration est calculée au moyen de la formule établie précédemment, multipliée par le volume par lequel le résidu a été repris soit 0,5 ml.

Exemple (solution 1):

$$x = \frac{h_{Pb} \cdot a}{h_{Cd} \cdot D_m} \cdot v = \frac{0,187 \cdot 5}{0,257 \cdot 0,65} \cdot 0,5 = 2,8 \text{ µg de Pb}$$

La valeur de  $D_m$  est donné p. 252.

Les valeurs ainsi obtenues ne sont pas encore corrigées par rapport au blanc, ni par rapport aux pertes. Le plomb introduit par les réactifs est de  $0,9 \mu\text{g}$  (solution 5), cette valeur doit être soustraite des valeurs de la colonne 4 et le résultat est donné dans la colonne 5. La correction due aux pertes est faite par rapport à la solution 4. Sur les  $4 \mu\text{g}$  de Pb que nous avons au début, nous en retrouvons  $3,6 \mu\text{g}$ , soit une perte de  $10 \%$ . Les valeurs de la colonne 5 doivent donc être corrigées en conséquence puisqu'elles ne représentent que les  $90 \%$  du plomb réel. La colonne 6 donne les vraies valeurs du plomb trouvé. La colonne 7 représente les quantités de plomb par  $100 \text{ ml}$  de sang dans les 3 prises a, b et c.

En prenant la moyenne de ces trois valeurs, nous trouvons  $42 \mu\text{g}$  de plomb par  $100 \text{ ml}$  de sang. L'erreur se calcule en prenant la valeur ( $43,9 \mu\text{g}$ ) s'écartant le plus de la moyenne et nous trouvons finalement que le plomb contenu dans cet échantillon de sang complet est de  $42 \mu\text{g} \pm 4,5 \%$ .

*Emploi du polarographe à rayons cathodiques*<sup>15</sup>). Nous n'insisterons pas, dans ce travail, sur l'utilisation du polarographe à rayons cathodiques pour le dosage du plomb, étant donné que son prix relativement élevé ne le met pas à la portée de tous les laboratoires et que son utilisation, dans le cas particulier, n'apporte pas un avantage marquant malgré sa grande sensibilité, du fait que les réactifs contiennent comme nous l'avons vu, une quantité de plomb appréciable et cela malgré leur purification préalable.

Nous tenons cependant à préciser qu'il est possible de diminuer la teneur en plomb de la solution à blanc, en diminuant la quantité des réactifs. Cette manière de faire augmente par contre les difficultés techniques de la séparation, ce que nous avons voulu éviter dans cette étude.

Nous donnerons toutefois pour terminer quelques chiffres ainsi que deux polarogrammes (fig. 3 et 4) afin de montrer jusqu'à quel point on peut augmenter la sensibilité des dosages polarographiques au moyen du polarographe à rayons cathodiques.

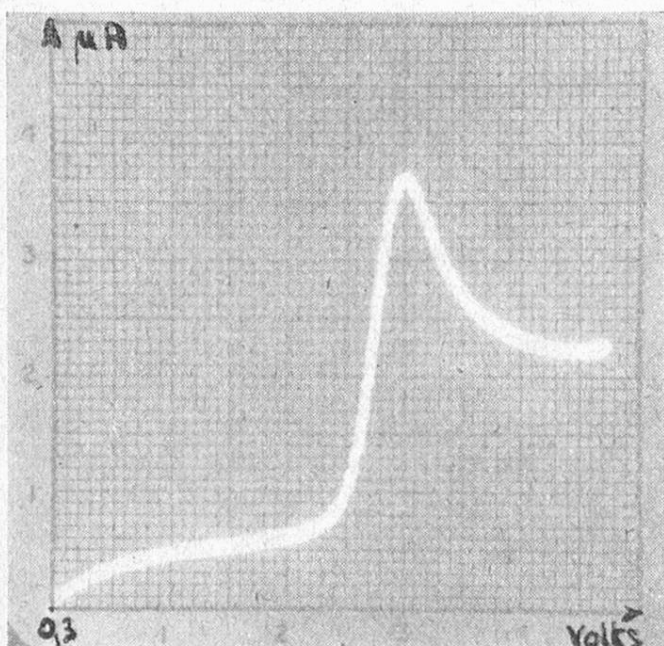


Fig. 3

Elément: Pb. Concentration:  $2 \mu\text{g/ml}$ .  
Solution de base: acide tartrique  $10 \%$  et  $10 \text{ ml HNO}_3$   $0,1 \text{ M}$  pour  $100 \text{ ml}$  de solution. Potentiel de départ:  $0,3 \text{ volt}$ . Potentiel du pic:  $0,60 \text{ volt}$ . Hauteur du saut:  $0,310 \mu\text{A}$ . Facteur d'échelle:  $0,1$ .



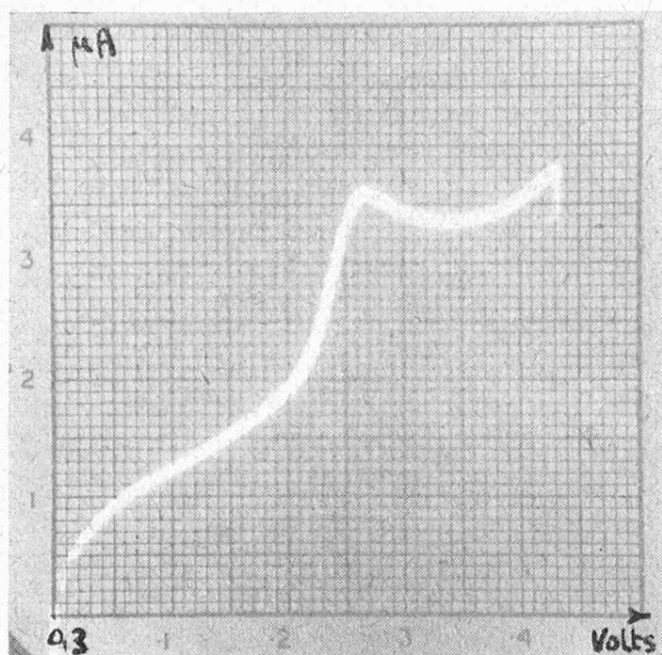


Fig. 4

Elément: Pb, contenu dans la solution de base décrite sous fig. 3. Mêmes remarques que sous fig. 3 sauf, hauteur du saut: 0,040  $\mu\text{A}$ , potentiel du pic: 0,57 volt. Facteur d'échelle: 0,025.

Tableau 5

Comparaison entre le polarographe ordinaire et le polarographe à rayons cathodiques (dosage du plomb)

Caractéristiques	Polarographe Sargent XXI	Polarographe à rayons cathodiques
Limite de dosage Pb solution de base	1 $\mu\text{g/ml}$ invisible	0,05 $\mu\text{g/ml}$ 0,26 $\mu\text{g/ml}$
Limite de sensibilité de l'appareil	0,003 $\mu\text{A/mm}$	facteur d'échelle 0,004

### Résumé

Il est proposé une méthode de dosage polarographique du plomb dans le sang susceptible de s'appliquer à d'autres milieux biologiques. Elle comprend une minéralisation par voie humide, une séparation par extraction à la dithizone et une détermination polarographique du plomb. La méthode est sensible au  $\mu\text{g}$  avec une erreur de  $\pm 10\%$ . Elle se fait à partir de 3—10 ml de sang complet et sur un volume final de 0,5 ml.

### Zusammenfassung

Es wird eine polarographische Methode für die Bleibestimmung im Blut vorgeschlagen, welche auch auf andere biologische Medien anwendbar ist. Sie umfasst eine Mineralisation auf nassem Wege, eine Trennung durch Extraktion mit Dithizon und eine polarographische Bestimmung des Bleis. Die Methode ist auf 1  $\mu\text{g}$  empfindlich, mit einer Genauigkeit von  $\pm 10\%$ . Von 3 bis 10 ml Blut ausgehend, arbeitet man am Ende mit 0,5 ml.

### Summary

Description of a polarographic method for the determination of microgram quantities of lead in blood and other biological media. This method comprises 3 main steps which are: a) wet-ashing of the blood, b) extraction of the lead with dithizone and c) polarography; its sensitivity =  $1 \mu\text{g} \pm 10\%$ .

### Bibliographie

- 1) *E. Kohn-Abrest*, Précis de Toxicologie. Doin & Cie, Paris 1955, p. 250.  
*R. Douris*, Toxicologie Moderne. Vigot Frères, Paris 1951, p. 212.
- 2) *H. Irving et E. Butler*, Analyst **78** (1953) 571.  
*S. L. Tompsett*, Analyst **81** (1956) 330.
- 3) *J. Cholak*, Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. **7** (1935) 287.
- 4) *J. Cholak et K. Bambach*, Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. **13** (1941) 583.  
*M. Jensen*, Bull. Soc. Pharm. Bordeau **96** (1957) 67.  
*M. Brezina et P. Zuman*, Die Polarographie in der Medizin, Akad. Verlag Leipzig 1956, p. 39.
- 5) *J. Teisinger*, Presse Médic. 1938, p. 676.
- 6) *M. Jensen*, Chim. Anal. **37** (1955) 53.
- 7) Methods for determining lead in air and biological materials, American Public Health Association Inc. New-York, 1955.  
*K. Bambach*, Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. **11** (1939) 400.
- 8) *R. Fabre, R. Truhaut et C. Boudine*, C. R. Acad. Sc. **243** (1956) 624.
- 9) *G. Kahle et E. Teil*, Biol. Zbl. **325** (1954) 380.
- 10) *K. Bambach et S. Cholak*, Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. **13** (1941) 504.
- 11) *D. M. Hubbard*, Ind. Eng. Chem., Anal. Ed. **9** (1937) 493.
- 12) *G. Middleton et R. Stuckey*, Analyst **78** (1953) 532.  
*G. Middleton et R. Stuckey*, Analyst **79** (1954) 138.
- 13) *M. Monnier et Coll.* S. Helv. Chim. Acta **42**, 1672 (1959).
- 14) Documenta Geigy, Tables Scientifiques 1955, p. 289.
- 15) Polarographe K 1000, Southern Instruments, Camberley, Grande-Bretagne.