

Mono-Méthylmercure Méthode d'analyse dans le biote

Références de la méthode

La méthode qui suit est dérivée de la publication suivante	En cours de rédaction.
Norme dont est tirée la méthode	S/O
Niveau de validation selon Norman	Niveau 1
Code SANDRE de la méthode (suivant niveau de validation)	

Généralités

Nom de la famille de substances	Organo-mercuriels
Nom des substances individuelles	Mono-méthylmercure
Code(s) SANDRE des substances individuelles	6408
Matrice analysée	Biote marin
Acronyme	GC/ICP/MS
Principe de la méthode	Les composés organo-mercuriels sont extraits en présence de TMAH, dérivés puis séparés par GC et enfin ionisés dans un plasma d'argon. Le mercure est ainsi détecté et quantifié par spectrométrie de masse. Le tout se fait en ligne par couplage d'un GC à un ICP/MS.

Domaine d'application	0,03 µg/kg – 10 µg/kg en MeHg
Paramètres à déterminer en parallèle à l'analyse	Teneur en matière sèche
Précautions particulières à respecter lors de la mise en œuvre de la méthode	La vaisselle utilisée pour l'extraction et le dosage est en Téflon® ou en verre borosilicaté, et décontaminée à l'acide au préalable. La décontamination du matériel et toutes les manipulations d'échantillons sont réalisées à l'aide de gants en latex ou en nitrile. Pour éviter les contaminations, les manipulations se font sous hotte à flux laminaire. Les réactifs utilisés doivent avoir un grade de pureté spécifique à l'analyse de traces métalliques.

AVERTISSEMENT : Il convient que l'utilisateur de cette méthode connaisse bien les pratiques courantes de laboratoire. Cette méthode n'a pas pour but de traiter tous les problèmes de sécurité qui sont, le cas échéant, liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur d'établir des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité et de s'assurer de la conformité à la réglementation nationale en vigueur. Certains des solvants utilisés dans le mode opératoire sont toxiques et dangereux. Les manipuler avec précaution.

Il est absolument essentiel que les essais conduits conformément à cette méthode soient exécutés par du personnel ayant reçu une formation adéquate.

Protocole analytique

Prétraitement

Fraction analysée :	<p>Biote : Corps mou Corps entier Foie Muscle</p> <p>Corps entier pour les petits organismes (ex : petits crustacés ou mollusques) ou un organe ou un tissu en particulier (tel que muscle ou foie) pour les organismes plus grands (exemple poisson).</p>
Conditionnement et conservation des échantillons	
- Protocole :	<p><i>Mollusques</i> : détacher les mollusques de leur support délicatement (ils doivent rester vivants) et les épurer en les immergeant 24 heures dans de l'eau de mer décantée (issue de la région de prélèvement). Les mollusques sont ensuite décoquillés et leur chair égouttée sur filtre Buchner en prenant toutes les précautions pour éviter la contamination de l'échantillon. La chair est ensuite broyée, homogénéisée puis congelée.</p> <p><i>Poissons</i> : les poissons sont conservés au froid (voir congelés si le stockage avant dissection excède quelques jours) individuellement dans des sacs en polyéthylène. Ils sont disséqués sous hotte à flux laminaire et l'organe d'intérêt est congelé.</p>
- Nature du contenant de stockage :	Piluliers en verre, en polypropylène ou en polyéthylène pourvus de couvercles en plastique hermétiques.
- Lavage du contenant :	<p>Les piluliers neufs en verre sont lavés avec un détergent pur, rincés à l'eau du robinet puis à l'eau ultrapure. Ils sont passés au four pendant 8 heures à 450°C. Les couvercles sont rincés à l'eau du robinet puis à l'eau ultrapure et séchés à l'étuve (dans des sacs ouverts). Ils sont ensuite stockés dans des sachets fermés.</p> <p>L'ensemble du matériel en plastique (polyéthylène, polypropylène, téflon) est préalablement décontaminé avant usage de la façon suivante :</p> <ul style="list-style-type: none"> - lavage avec un détergent dilué (sans phosphate), puis rinçage à l'eau du robinet chaude - immersion dans une solution d'acide nitrique diluée (HNO₃ de qualité

<p>- Résultats de l'étude de stabilité (durée de stabilité, température,...) :</p>	<p>« pour analyse » 10 % v/v) pendant au moins 3 jours, puis rinçage à l'eau déionisée.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Immersion dans une solution d'acide chlorhydrique diluée (HCl de qualité « pour analyse » 10 % v/v) pendant au moins 3 jours puis rinçage final abondant à l'eau Milli-Q (18,2 MΩ). <p>Le flaconnage est ensuite séché sous hotte à flux laminaire puis conservé dans des sacs en polyéthylène (dans un endroit sec à température ambiante et à l'abri de la lumière) jusqu'à utilisation.</p>
<p>Filtration :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Type de filtre et méthode de nettoyage : - Type de support de filtration : 	<p>S/O</p> <p>S/O</p>
<p>Pré-traitement des échantillons liquide ou solide</p>	<p>Lyophilisation ou séchage à 50°C, broyage (à l'aide d'un mortier en agate), homogénéisation.</p>

Analyse

<p>Volume ou masse de la prise d'essai (mL ou mg selon la phase analysée)</p>	<p>Biote 500 mg maximum (poids sec)</p> <p>Dans le cas de prises d'essai faibles, il faut s'assurer de l'homogénéité de l'échantillon. On la vérifie en faisant des réplicats d'analyse.</p>
<p>Minéralisation</p> <p>Type d'appareil utilisé</p> <p>Durée et température et de minéralisation :</p> <p>Réactifs utilisés :</p>	<p>Flacon Téflon PFA, bain ultrasonique.</p> <p>4 heures à 50°C.</p> <p><700 µL d'extraits sont prélevés.</p> <p>10 mL de tétraméthylammoniumhydroxyde (TMAH)</p>

Dérivation - Conditions (réactifs, solvants, pH, température et durée)	<p>Dans un flacon en verre borosilicaté avec bouchon téflonné, l'extrait est amené à pH 3,9 par ajout de 10 mL de tampon acétate de sodium/acide acétique (1 M). 0,3 à 1 mL d'isooctane puis 200 µL de NaBPr₄ (4% m/v) sont rapidement ajoutés. Les flacons sont immédiatement bouchés puis vigoureusement agités à la main pendant 5 min.</p> <p>La phase organique est récupérée dans des flacons en verre borosilicaté avec bouchon téflonné.</p>
Extraction - Liquide / Liquide (préciser la nature et le volume du solvant) - Micro-onde (préciser la nature et le volume du solvant ainsi que les paramètres d'utilisation de l'appareil) - SPE (préciser le type de cartouche, la nature et les volumes des solvants de lavage et d'élution) - PFE (T [°] , P, solvant d'extraction, nombre de cycles, % de flush) - Micro extraction (support, durée d'exposition, température, sel) - Autre (préciser)	<p>S/O</p> <p>S/O</p> <p>S/O</p> <p>S/O</p> <p>S/O</p> <p>S/O</p>
Purification (type de purification, paramètres de purification, méthode de concentration)	<p>S/O</p>
Conservation de l'extrait	<p>Conservation 12 heures maximum à -20°C.</p>

Volume ou masse finale avant analyse :	0,5 mL
Méthode analytique utilisée Indiquer les paramètres complets de la méthode (exemple pour la chromatographie : gradient, phase mobile, débit, T °C, colonne, mode de détection) Pour la détection par masse : mode d'ionisation et ions de quantification et de confirmation	<p>GC/ICP/MS</p> <p><u>GC</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Précolonne : MXT1 Silcosteel 5 m, 0,53 µm ▪ Colonne MXT-1 Silcosteel 30m, 0,53 mm, 1µm ▪ Gaz vecteur : hélium à 25 mL/min ▪ Mode splitless ▪ Température d'injection : 250°C ▪ Volume d'injection 5 µL ▪ Programme du four : température initiale 60°C (palier de 2 min), rampe à 60°C/min, température finale 250°C (palier de 1 min) ▪ Passeur automatique (seringue 10 µL) : 3 rinçages à l'isooctane de 8 µL avant injection, 1 rinçage avec l'échantillon de 8 µL et 5 rinçages à l'acétone de 8 µL après injection. <p><u>Ligne de transfert en acier inox</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Longueur : 0,5 m ▪ Température : 280°C (maintenue par une gaine chauffante) ▪ Diamètre externe : 0,53 mm <p>Les analytes sont repris en sortie de colonne par un flux d'Ar préchauffé (250 mL/min) grâce à un système de gainage au niveau de la ligne de transfert (gaz « make-up »).</p> <p><u>ICP</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Débit Ar nébulisateur : 0,47 L/min ▪ Débit Ar « make-up » : 0,23 L/min ▪ Débit Ar plasma : 14,8 L/min ▪ Débit Ar auxiliaire : 1 L/min ▪ Forward power : 1200 W ▪ Sampling depth : 80 <p><u>MS</u> :</p> <ul style="list-style-type: none"> ▪ Isotopes (dwell time) : ¹⁹⁹Hg, ²⁰⁰Hg, ²⁰¹Hg, ²⁰²Hg (30 ms), ²⁰³Tl, ²⁰⁵Tl (5 ms) <p>En addition à l'arrivée du gaz vecteur sortant du GC (transportant les composés du Hg séparés), l'entrée « classique » permet l'introduction d'une solution de thallium (2 µg/L) acidifiée (HNO₃ 1% v/v) et nébulisée qui permet de contrôler continuellement la dérive éventuelle du signal de l'appareil et aussi de maintenir un plasma humide, plus efficace qu'un plasma sec en terme d'ionisation et donc de sensibilité.</p>
Equipement ¹(modèles utilisés) :	GC Focus, Thermo Electron. ICP/MS X7 : Thermo Electron.
Type d'étalonnage	Interne (dilution isotopique)
Modèle utilisé	
Etalons / Traceurs utilisés	Me ²⁰² Hg (dilution isotopique)
Domaine de	0,03 ng/kg – 10 ng/kg en MeHg

¹ Les matériels cités ici constituent des exemples d'application satisfaisante. Ces mentions ne constituent pas une recommandation exclusive, ni un engagement quelconque de la part du rédacteur ou d'AQUAREF

concentration	
Méthode de calcul des résultats	Equation de dilution isotopique
Rendement	S/O
Blancs	Blanc : méthode Soustraction du blanc : Oui

Paramètres de validation de la méthode

Norme utilisée	En cours de validation selon la norme NF T 90-210 (2009).																				
Modèle utilisé	Linéaire																				
Domaine de validation																					
Matériaux de référence certifiés utilisés	IAEA 436 : thon.																				
Blancs analytiques (concentration ou résultat maximum acceptable)	Non renseigné.																				
Rendement	La partie rendements n'est pas effectuée en suivant la norme NF T 90-210. Un MRC de biote contenant du MeHg est analysé afin de déterminer la justesse de la méthode.																				
- par type de matrice	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr style="border-top: 2px solid green; border-bottom: 1px solid green;"> <th style="text-align: left;">IAEA 436</th> <th>n</th> <th>Moyenne</th> <th>Ecart-type</th> <th>RSD%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td style="text-align: left;">Valeur certifiée (mg/kg)</td> <td></td> <td>3,67</td> <td>0,42</td> <td>11,4</td> </tr> <tr> <td style="text-align: left;">Valeur mesurée (mg/kg)</td> <td>27</td> <td>3,70</td> <td>0,22</td> <td>5,8</td> </tr> <tr style="border-bottom: 2px solid green;"> <td style="text-align: left;">Justesse (%)</td> <td></td> <td>100,8</td> <td>6,0</td> <td>5,8</td> </tr> </tbody> </table>	IAEA 436	n	Moyenne	Ecart-type	RSD%	Valeur certifiée (mg/kg)		3,67	0,42	11,4	Valeur mesurée (mg/kg)	27	3,70	0,22	5,8	Justesse (%)		100,8	6,0	5,8
IAEA 436	n	Moyenne	Ecart-type	RSD%																	
Valeur certifiée (mg/kg)		3,67	0,42	11,4																	
Valeur mesurée (mg/kg)	27	3,70	0,22	5,8																	
Justesse (%)		100,8	6,0	5,8																	
- par niveau de concentration - par molécule (si moyenne préciser le nombre de répétitions et l'écart-type)																					
Limite de détection (LD) Limite de quantification (LQ) (indiquez la méthode de détermination en précisant la matrice testée)	La LD méthode correspond à 3 fois l'écart-type des blancs de chaque série d'analyse. LD = 0,003 µg/kg.																				
Spécificité de la méthode (préciser la matrice)	Testée sur de thon (MRC : IAEA 436). Justesse obtenue de 100,8% (n=33) : pas d'interférents identifiés.																				
Incertitudes (%) sur les résultats	Selon la norme XP T90-220 (2003) : Approche contrôle interne																				
- par type de matrice	Facteur d'élargissement : k = 2. Obtenues sur le CRM IAEA 436 (n=27) : 11,7%																				
- par niveau de concentration																					

- par molécule
(reproductibilité avec
méthode de détermination)

Contacts

Auteurs	Bernard Averty et Daniel Cossa
Institut	Ifremer
Adresses mail	daniel.cossa@ifremer.fr