

## Métaux

### Méthode d'analyse dans le biote

#### Références de la méthode

<b>La méthode qui suit est dérivée de la publication suivante</b>	Chiffolleau J.-F., Auger D., Chartier E. et Grouhel A. Dosage de certains métaux traces dans (Ag, Cd, Cu, Cr, Ni, Pb, V, Zn) dans les organismes marins par absorption atomique. Ed Ifremer, 2002, 36p
<b>Norme française et/ou européenne dont est tirée la méthode</b>	NF EN ISO 17294-2, avril 2005, pour le dosage des métaux (dans les eaux)

#### Généralités

<b>Nom de la famille de substances</b>	Métaux
<b>Nom des substances individuelles</b>	Cr, Ni, Co, Cu, Zn, As, Cd, Pb
<b>Matrice analysée</b>	Biote : Végétal Poisson Mollusque Crustacé
<b>Nom de la méthode</b>	ICP-MS
<b>Principe de la méthode</b>	<p>L'échantillon préparé, séché et homogénéisé en vue d'obtenir une prise d'essai représentative est soumis à l'action d'acide nitrique concentré par chauffage soit dans un four micro-ondes dans un réacteur fermé soit avec un bloc chauffant.</p> <p>Le choix de la méthode de minéralisation dépend des organismes ou de la quantité d'échantillon disponible :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- faibles masses (20 à 100 mg), micro-onde (mini réacteurs) ou bloc chauffant (utilisé avec la méthode appropriée)</li> <li>- masses élevées (&gt; 100 mg), micro-onde (creusets) ou bloc chauffant (utilisé avec la méthode appropriée)</li> </ul> <p>L'extrait est ensuite dilué et ajusté au volume dans un tube en polypropylène puis analysé par ICP-MS</p>

<b>Domaine d'application</b>	<p>Borne inférieure : LQ (dépend de chaque élément analysé)          Borne supérieure : dépend de la prise d'essai, du volume de minéralisation et de la dilution de l'échantillon</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- cas de la méthode mini réacteurs (micro-onde) et de la méthode 1 (bloc chauffant), pour une prise d'essai de 100 mg et sans dilution de l'échantillon : <b>30 mg/kg</b></li> <li>- cas de la méthode creusets (micro-onde) et de la méthode 2 (bloc chauffant), pour une prise d'essai de 200 mg et sans dilution de l'échantillon : <b>50 mg/kg</b></li> </ul>
<b>Autres paramètres à déterminer en parallèle à l'analyse</b>	Mesure pourcentage d'humidité résiduelle
<b>Précautions générales à suivre lors de l'analyse</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Pour éviter les contaminations, manipuler sous hotte à flux laminaire.</li> <li>- Le matériel est nettoyé avant utilisation (ou son absence de contamination a été vérifiée)</li> <li>- Le matériel est manipulé et stocké avec les précautions nécessaires pour éviter la contamination (éviter le contact avec les mains, protéger le matériel contre les poussières et les graisses entre deux utilisations, etc)</li> <li>- Les réactifs utilisés doivent être de pureté suffisante afin qu'ils n'introduisent pas d'erreur significative dans l'analyse.</li> </ul>

## Protocole analytique

### Prétraitement

<b>Fraction analysée :</b>	Biote : Corps entier Muscle
<b>Conditionnement et conservation des échantillons</b> - Protocole :	<p>Pour toutes les fractions : les échantillons, s'ils ne peuvent être analysés rapidement (<i>étude de stabilité en cours</i>), doivent être congelés avant l'étape de lyophilisation.</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 répliquats d'analyse.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Les bryophytes sont lavés soigneusement sur site (avec l'eau du milieu) afin d'en extraire le maximum de corps étrangers puis au laboratoire avec de l'eau déminéralisée jusqu'à élimination de toutes les particules solides (dans les 2 cas jusqu'à ce que l'eau renouvelée reste claire) puis triés pour sélectionner les pousses vertes et séchés à l'étuve à 50°C jusqu'à déshydratation complète. Ils sont ensuite broyés avec un broyeur en agate.</li> <li>- Les organismes de petite taille (chironomes, oligochètes ...) sont conditionnés dans des cryotubes en polypropylène puis lyophilisés.</li> <li>- Les organismes de plus grande taille suivent le même processus que les plus petits mais, après la lyophilisation, ils sont broyés le plus finement possible puis homogénéisés.</li> </ul>
- Nature du contenant de stockage :	Les échantillons sont conditionnés dans des tubes ou flacon en polypropylène.

- Lavage du contenant :	Cas des cryotubes en polypropylène : lavés à l'acide, rincés à l'eau déminéralisée et à l'eau ultra-pure
- Résultats de l'étude de stabilité (durée de stabilité, température,...) :	<i>En cours</i>
<b>Filtration :</b>	
- Type de filtre et méthode de nettoyage :	
- Type de support de filtration :	
<b>Pré-traitement des échantillons liquide ou solide</b>	Séchage (soit par lyophilisation soit en étuve) puis broyage

## Analyse

<b>Volume ou masse de la prise d'essai (mL ou mg selon la phase analysée)</b>	Biote : Végétal <b>100 à 300 mg</b> Poisson / Mollusque / Crustacé : <b>20 à 100 mg avec minéralisation par micro-onde avec mini-réacteurs</b> <b>100 à 200 mg avec minéralisation par micro-onde avec creusets</b> <b>20 à 200 mg avec minéralisation par bloc chauffant</b>
<b>Dérivation</b> <sup>[N10]</sup>	
- Conditions (réactifs, solvants, pH, température et durée)	
<b>Extraction</b>	S/O
- 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)	
- ASE (T°C, P, solvant d'extraction, nombre de cycles, % de flush)	
- Autre (préciser)	
<b>Purification</b>	S/O
(type de purification, paramètres de purification, méthode d'évaporation)	

<b>Minéralisation</b>	Deux méthodes de minéralisation peuvent être utilisées																																
Type d'appareil utilisé (1)	Minéralisation avec <b>digesteur micro-ondes</b> CEM : Mars 5 HP-500 Plus. Programme de minéralisation pour les 2 cas : mini-réacteurs (de 7 mL) et creusets (de 100 mL)																																
Durée et température et de minéralisation (1) :	<table border="1"> <thead> <tr> <th colspan="2">Puissance</th> <th rowspan="2">Rampe (min)</th> <th rowspan="2">Pression (bar)</th> <th rowspan="2">Temp °C Control</th> <th rowspan="2">Palier (min)</th> </tr> <tr> <th>MAX</th> <th>%</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td><b>1200W</b></td> <td><b>100</b></td> <td><b>05:00</b></td> <td><b>24.16</b></td> <td><b>050</b></td> <td><b>05:00</b></td> </tr> <tr> <td><b>1200W</b></td> <td><b>100</b></td> <td><b>05:00</b></td> <td><b>24.16</b></td> <td><b>100</b></td> <td><b>05:00</b></td> </tr> <tr> <td><b>1200W</b></td> <td><b>100</b></td> <td><b>05:00</b></td> <td><b>24.16</b></td> <td><b>140</b></td> <td><b>20:00</b></td> </tr> <tr> <td><b>1200W</b></td> <td><b>100</b></td> <td><b>10:00</b></td> <td><b>24.16</b></td> <td><b>160</b></td> <td><b>20:00</b></td> </tr> </tbody> </table>	Puissance		Rampe (min)	Pression (bar)	Temp °C Control	Palier (min)	MAX	%	<b>1200W</b>	<b>100</b>	<b>05:00</b>	<b>24.16</b>	<b>050</b>	<b>05:00</b>	<b>1200W</b>	<b>100</b>	<b>05:00</b>	<b>24.16</b>	<b>100</b>	<b>05:00</b>	<b>1200W</b>	<b>100</b>	<b>05:00</b>	<b>24.16</b>	<b>140</b>	<b>20:00</b>	<b>1200W</b>	<b>100</b>	<b>10:00</b>	<b>24.16</b>	<b>160</b>	<b>20:00</b>
Puissance		Rampe (min)	Pression (bar)					Temp °C Control	Palier (min)																								
MAX	%																																
<b>1200W</b>	<b>100</b>	<b>05:00</b>	<b>24.16</b>	<b>050</b>	<b>05:00</b>																												
<b>1200W</b>	<b>100</b>	<b>05:00</b>	<b>24.16</b>	<b>100</b>	<b>05:00</b>																												
<b>1200W</b>	<b>100</b>	<b>05:00</b>	<b>24.16</b>	<b>140</b>	<b>20:00</b>																												
<b>1200W</b>	<b>100</b>	<b>10:00</b>	<b>24.16</b>	<b>160</b>	<b>20:00</b>																												
Réactifs utilisés (1) :	acide nitrique 65% SUPRAPUR : 2 ou 3 mL pour la méthode mini-réacteurs et 8 à 10 mL pour la méthode utilisant les creusets (varier le volume pour recouvrir la totalité de l'échantillon)																																
Type d'appareil utilisé (2)	Minéralisation avec <b>bloc chauffant</b> CAS Hotblock																																
Durée et température et de minéralisation (2) :	Minéralisation à froid pendant 1 heure Minéralisation à 90°C pendant 3 heures																																
Réactifs utilisés (2) :	5 mL acide nitrique 65% SUPRAPUR																																
<b>Volume ou masse finale avant analyse :</b>	<p>Volume de l'extrait avant analyse :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 15 mL (compléter le minéralisat avec de l'eau ultra-pure pour atteindre ce volume) : cas des mini-réacteurs (micro-onde) et bloc chauffant si la prise d'essai est entre 20 et 100 mg</li> <li>- 50 mL (compléter le minéralisat avec de l'eau ultra-pure pour atteindre ce volume) : cas des creusets (micro-onde) et bloc chauffant si la prise d'essai est &gt; 100 mg</li> </ul> <p>Volume utilisé lors du dosage par ICP-MS : 10 mL</p>																																
<b>Méthode analytique utilisée</b>	ICP-MS (NF EN ISO 17294-2 avril 2005)																																
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>Analyse selon 2 modes :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- mode normal pour les éléments non interférés et mode CCT (Chambre de Collision Réaction) pour les éléments interférés (Cr et As).</li> <li>- mode CCT : ajout d'un mélange de gaz He/H<sub>2</sub> pendant l'analyse pour corriger les interférences polyatomiques.</li> </ul>																																
<b>Equipement (modèles utilisés) :</b>	ICP-MS X Series II Thermo Fisher Scientific																																
<b>Type d'étalonnage</b>	Externe																																
<b>Modèle utilisé</b>	Linéaire																																
<b>Étalons / Traceurs utilisés</b>	Y, Rh et Ho pour corriger les effets de matrice et la dérive de l'appareil																																
<b>Domaine de concentration</b>	Cd : 0,5-200 µg/L Cr, Ni, Co, Cu, As et Pb : 0,1-200 µg/L Zn : 0,5-200 µg/L																																
<b>Méthode de calcul des résultats</b>	Correction par le rendement : Non																																

## Paramètres de validation de la méthode

<b>Norme utilisée</b>	XP T90-210 (selon les plans d'expérience A et B)					
<b>Modèle utilisé</b>	Linéaire					
<b>Domaine de validation</b>	0-200 µg/L					
<b>Niveau de validation selon Norman</b>	Niveau 2					
<b>Matériaux de référence certifiés utilisés</b>	IAEA 407 : poissons CRM 278 (IRMM) : moules TORT 2 (CNRC) : hépatpancréas de homard CRM 414 (IRMM) : plancton					
<b>Blancs analytiques</b> (concentration ou résultat maximum acceptable)	Les blancs sont vérifiés systématiquement et doivent être inférieurs à la LQ					
<b>Rendement</b>	Les concentrations sont données en mg/kg (poids sec)					
<b>- par type de matrice</b>	<i>En cours</i>					
		<b>IAEA 407</b>	<b>CRM 278</b>	<b>TORT 2</b>	<b>CRM 414</b>	<b>BCR 60</b>
	Cr	Conc théorique : Conc observée :				
	Ni	Conc théorique : Conc observée :				
	Co	Conc théorique : Conc observée :				
	Cu	Conc théorique : Conc observée :				
	Zn	Conc théorique : Conc observée :				
	As	Conc théorique : Conc observée :				
	Cd	Conc théorique : Conc observée :				
	Pb	Conc théorique : Conc observée :				
<b>- par niveau de concentration</b>						

<b>- par molécule</b> (si moyenne préciser le nombre de répétitions et l'écart-type)	
<b>Limite de détection (LD)</b> <b>Limite de quantification (LQ)</b> (indiquez la méthode de détermination en précisant la matrice testée)	Méthode : mode de détermination d'une LQ pré-supposée. De l'eau ultra-pure est dopée et dosée, la LQ est ensuite rapportée à la masse Pour une prise d'essai de 30 mg : Cd, la LQ est de 0,03 mg/kg Cr, Ni, Co, Cu, As et Pb, la LQ est de 0,05 mg/kg Zn, la LQ est de 0,25 mg/kg
<b>Spécificité de la méthode (préciser la matrice)</b>	Testée : Oui dans quelle matrice ? CRM
<b>Incertitudes (%) sur les résultats</b> <b>- par type de matrice</b> <b>- par niveau de concentration</b> <b>- par molécule</b> (reproductibilité avec méthode de détermination)	<i>En cours</i>

## Contacts

<b>Auteurs</b> <b>Institut</b> <b>Adresses mail</b>	Marina Coquery Cemagref Lyon <a href="mailto:marina.coquery@cemagref.fr">marina.coquery@cemagref.fr</a>
---	---