

## Métaux

### Méthode d'analyse dans le biote

#### 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>Code SANDRE des substances individuelles</b>	Chrome : 1389 Nickel : 1386 Cobalt : 1379 Cuivre : 1392 Zinc : 1383 Arsenic : 1369 Cadmium : 1388 Plomb : 1382
<b>Matrice analysée [code SANDRE du (des) support(s)]</b>	Biote : Végétal [8] Poisson [4] Mollusque [30] Crustacé [20]
<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 dans un four micro-ondes dans un réacteur fermé.</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)</li> <li>- masses élevées (&gt; 100 mg), micro-onde (creusets)</li> </ul> <p>L'extrait est ensuite dilué et ajusté au volume dans un tube en polypropylène puis analysé par ICP-MS</p>
<b>Acronyme</b>	ICP-MS
<b>Domaine d'application</b>	<p>Borne inférieure : LQ (dépend de chaque élément analysé)</p> <p>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, 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 pour une prise d'essai de 200 mg et sans dilution de l'échantillon : <b>50 mg/kg</b></li> </ul>
<b>Paramètres à déterminer en parallèle à l'analyse</b>	Mesure pourcentage d'humidité résiduelle

### Précautions particulières à respecter lors de la mise en œuvre de la méthode

- Pour éviter les contaminations, manipuler sous hotte à flux laminaire.
- Le matériel est nettoyé avant utilisation (ou son absence de contamination a été vérifiée)
- 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)
- Les réactifs utilisés doivent être de pureté suffisante afin qu'ils n'introduisent pas d'erreur significative dans l'analyse.

**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 :

Biote : Corps entier [51], [61], [81], [91], [101], [116], [117], [119], [121], [122], [123], [154]  
Muscle [92], [102], [172]

#### Conditionnement et conservation des échantillons

- Protocole :

Les échantillons doivent être congelés puis lyophilisés avant l'analyse.

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.

- 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.

- Les organismes de petite taille (chironomes, oligochètes ...) sont conditionnés dans des cryotubes en polypropylène puis lyophilisés.

- 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.

- 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

#### Pré-traitement des échantillons liquide ou solide

Séchage (soit par lyophilisation soit en étuve) et broyage si nécessaire

## Analyse

### Volume ou masse de la prise d'essai (mL or mg selon la phase analysée)

Biote : Végétal **100 à 300 mg**  
Poisson / Mollusque / Crustacé :  
**20 à 100 mg avec minéralisation par micro-onde avec mini-réacteurs**  
**100 à 200 mg avec minéralisation par micro-onde avec creusets**

### Minéralisation

- Type d'appareil utilisé (1) :

Deux méthodes de minéralisation peuvent être utilisées selon l'organisme analysé ou la quantité d'échantillon disponible.

Minéralisation avec **digesteur micro-ondes 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 de minéralisation (1) :

Puissance		Rampe (min)	Pression (bar)	Temp °C Control	Palier (min)
MAX	%				
1200W	100	05:00	24.16	050	05:00
1200W	100	05:00	24.16	100	05:00
1200W	100	05:00	24.16	140	20:00
1200W	100	10:00	24.16	160	20:00

- 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)

### Volume ou masse finale avant analyse :

Volume de l'extrait avant analyse :

- 15 mL (compléter le minéralisat avec de l'eau ultra-pure pour atteindre ce volume) : cas des mini-réacteurs (micro-onde) si la prise d'essai est entre 20 et 100 mg
- 50 mL (compléter le minéralisat avec de l'eau ultra-pure pour atteindre ce volume) : cas des creusets (micro-onde) si la prise d'essai est > 100 mg

Volume utilisé lors du dosage par ICP-MS : 10 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

ICP-MS (NF EN ISO 17294-2 avril 2005)

Analyse selon 2 modes :

- mode normal pour les éléments non interférés et mode CCT (Chambre de Collision Réaction) pour les éléments interférés (Cr et As).
- mode CCT : ajout d'un mélange de gaz He/H<sub>2</sub> pendant l'analyse pour corriger les interférences polyatomiques.

<b>Equipements <sup>1</sup> (modèles utilisés) :</b>	ICP-MS X Series II Thermo Fisher Scientific
<b>Type d'étalonnage</b>	Externe
<b>Modèle utilisé</b>	Linéaire
<b>Etalons / 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 : 0,01-200 µg/L Cr, Co, As et Pb : 0,02-200 µg/L Cu : 0,05-200 µg/L Ni : 0,1 -200 µg/L Zn : 0,2-200 µg/L
<b>Méthode de calcul des résultats</b>	
Rendement	Utilisation du rendement : Non
Blancs	Soustraction du blanc : Oui quand il est supérieur à 10 % de la concentration de l'échantillon.

## Références de la méthode

<b>La méthode 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 dont est tirée la méthode</b>	NF EN ISO 17294-2, avril 2005, pour le dosage des métaux (dans les eaux)
<b>Niveau de validation selon Norman</b>	Niveau 2

## Paramètres de validation de la méthode

<b>Norme utilisée</b>	XP T90-210, 1996 (selon les plans d'expérience A et B)
<b>Domaine de validation</b>	0-200 µg/L
<b>Matériaux de référence utilisés</b>	NIST 2976 : tissus de moule, IAEA 407 : poissons, BCR 278 (IRMM) : moules, TORT 2 (CNRC) : hépatopancréas de homard, BCR 414 (IRMM) : plancton, BCR 60 (IRMM) : plante aquatique.
<b>Blancs analytiques</b> (concentration ou résultat maximum acceptable)	Les blancs sont vérifiés systématiquement et doivent être inférieurs à la LQ

<sup>1</sup> 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

**Rendement****- par type de matrice**

Evaluation de la justesse sur des matériaux de référence certifiés. Les concentrations sont données en mg/kg (poids sec). Résultats obtenus pour la méthode petits réacteurs.

		<b>NIST 2976</b>	<b>IAEA 407</b>	<b>BCR 278</b>	<b>TORT 2</b>	<b>BCR 414</b>	<b>BCR 60</b>
Cr	Conc théorique	0,50 ± 0,16	0,73 ± 0,44	0,78 ± 0,06	0,77 ± 0,15	23,8 ± 1,2	non certifié
	Conc observée	0,53 ± 0,11 n=17	0,60 ± 0,17 n=30	0,75 ± 0,05 n=4	0,82 ± 0,10 n=30	25,25 ± 0,64 n=30	
Ni	Conc théorique	0,93 ± 0,12	0,60 ± 0,36	non certifié	2,50 ± 0,19	18,8 ± 0,8	non certifié
	Conc observée	1,38 ± 0,47 n=16	0,50 ± 0,16 n=30		2,81 ± 0,88 n=30	19,54 ± 0,89 n=30	
Co	Conc théorique	0,61 ± 0,02	0,10 ± 0,04	non certifié	0,51 ± 0,09	non certifié	non certifié
	Conc observée	0,63 ± 0,07 n=17	0,098 ± 0,015 n=30		0,54 ± 0,03 n=30		
Cu	Conc théorique	4,02 ± 0,33	3,28 ± 0,80	9,45 ± 0,13	106 ± 10	29,5 ± 1,3	51,2 ± 1,9
	Conc observée	4,11 ± 0,25 n=12	3,15 ± 0,21 n=30	9,73 ± 0,14 n=4	109,9 ± 4,9 n=30	30,1 ± 1,3 n=30	44,8 ± 6,3 n=6
Zn	Conc théorique	137 ± 13	67,1 ± 7,6	83,1 ± 1,7	180 ± 6	112 ± 3	313 ± 8
	Conc observée	142 ± 8,5 n=17	67,4 ± 2,1 n=30	80,7 ± 5,6 n=4	198 ± 6,3 n=30	112 ± 2,4 n=30	310 ± 32 n=6
As	Conc théorique	13,3 ± 1,8	12,6 ± 2,4	6,07 ± 0,13	21,6 ± 1,8	6,82 ± 0,28	non certifié
	Conc observée	13,8 ± 1,5 n=17	13,5 ± 0,47 n=30	5,92 ± 0,34 n=4	23,2 ± 0,73 n=30	7,02 ± 0,24 n=30	
Cd	Conc théorique	0,82 ± 0,16	0,189 ± 0,038	0,348 ± 0,007	26,7 ± 0,6	0,383 ± 0,014	2,2 ± 0,1
	Conc observée	0,85 ± 0,06 n=17	0,200 ± 0,033 n=30	0,317 ± 0,018 n=4	30,13 ± 0,69 n=30	0,391 ± 0,016 n=30	2,17 ± 0,19 n=6
Pb	Conc théorique	1,19 ± 0,18	0,12 ± 0,12	2,0 ± 0,04	0,35 ± 0,13	3,97 ± 0,19	63,8 ± 3,2
	Conc observée	1,20 ± 0,07 n=17	0,10 ± 0,05 n=30	1,75 ± 0,02 n=4	0,48 ± 0,24 n=30	3,68 ± 0,24 n=30	62,7 ± 5,9 n=6

Pas de résultats en grand réacteur

**Limite de quantification(LQ)**  
**Limite de détection (LD)**

(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 (ce test est impossible à réaliser sur des échantillons réels car il n'y en a pas si peu contaminés en As, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb ou Zn). Résultats obtenus pour la méthode petits réacteurs.

Pour une prise d'essai de 30 mg :

Cd, la LQ est de 0,05 mg/kg

Cr, Co, As et Pb, la LQ est de 0,1 mg/kg

Cu, la LQ est de 0,25 mg/kg

Ni, la LQ est de 0,50 mg/kg

Zn, la LQ est de 0,25 mg/kg

**Incertitudes (%) sur les résultats****- par molécule**

(reproductibilité avec méthode de détermination)

Incertitude élargie (%) obtenue par l'approche « contrôle interne ». Résultats obtenus pour la méthode petits réacteurs.

Elément	As			
Niveau concentration (mg/kg)	0.1 à 1	1 à 10	10 à 50	>50
Carte autocontrôle MRC animal		18	18	
Carte autocontrôle MRC végétal		12		

Elément	Cd			
Niveau concentration (mg/kg)	0.05 à 1	1 à 10	10 à 50	>50
Carte autocontrôle MRC animal	13		18	
Carte autocontrôle MRC végétal	10	15		

Elément	Co			
Niveau concentration (mg/kg)	0.1 à 1	1 à 10	10 à 50	>50
Carte autocontrôle MRC animal	31			
Carte autocontrôle MRC végétal		14		

Elément	Cr			
Niveau concentration (mg/kg)	0.1 à 1	1 à 10	10 à 50	>50
Carte autocontrôle MRC animal	39			
Carte autocontrôle MRC végétal			14	

Elément	Cu			
Niveau concentration (mg/kg)	0.25 à 1	1 à 10	10 à 50	>50
Carte autocontrôle MRC animal		17		17
Carte autocontrôle MRC végétal			16	

Elément	Ni			
Niveau concentration (mg/kg)	0.50 à 1	1 à 10	10 à 50	>50
Carte autocontrôle MRC animal	54	38		
Carte autocontrôle MRC végétal			26	

Elément	Pb			
Niveau concentration (mg/kg)	0.1 à 1	1 à 10	10 à 50	>50
Carte autocontrôle MRC animal	70	13		
Carte autocontrôle MRC végétal		21		16

Elément	Zn		
Niveau concentration (mg/kg)	1 à 10	10 à 50	>50
Carte autocontrôle MRC animal			16
Carte autocontrôle MRC végétal			9

## Contacts

**Auteurs**

Marina Coquery

**Institut**

Irstea (Cemagref) Lyon

**Contact**

marina.coquery@irstea.fr