

Développement d'une méthode pour le dosage du Cr(VI) et du Cr(III) par HPLC-ICPMS en ESU

E. Alasonati, P. Fiscaro

Mars 2020

Rapport d'étude

Avec le soutien de :
**AGENCE FRANÇAISE
POUR LA BIODIVERSITÉ**
ÉTABLISSEMENT PUBLIC DE L'ÉTAT



Contexte de programmation et de réalisation

Ce rapport a été réalisé dans le cadre du programme scientifique et technique AQUAREF pour l'année 2019, au titre de l'action « D » « Améliorer les opérations d'analyses physico-chimiques ».

Auteur (s) :

Enrica ALASONATI
LNE
enrica.alasonati@lne.fr

Paola FISICARO
LNE
paola.fisicaro@lne.fr

Vérification du document :

Jean-Philippe GHESTEM
BRGM
jp.ghestim@brgm.fr

Matthieu MASSON
INRAE
matthieu.masson@inrae.fr

Les correspondants

AFB : Pierre François Staub, pierre-francois.staub@afbiodiversite.fr

LNE : Sophie Vaslin-Reimann, sophie.vaslin-reimann@lne.fr

Référence du document : Enrica Alasonati, Paola Fisicaro - Développement d'une méthode pour le dosage du Cr(VI) et du Cr(III) par HPLC-ICPMS en ESU - Rapport AQUAREF 2019 - 18 p.

Droits d'usage :	<i>Accès libre</i>
Couverture géographique :	<i>International</i>
Niveau géographique :	<i>National</i>
Niveau de lecture :	<i>Professionnels, experts</i>
Nature de la ressource :	<i>Document</i>

SOMMAIRE

1. CONTEXTE	7
2. MISE EN ŒUVRE DE LA METHODE DE DOSAGE DES ESPECES TRI- ET EXA- VALANTES DE CHROME	8
2.1 Equipement de mesure	9
2.2 Étalons	10
2.3 Échantillons	10
2.4 Étude de la fonction d'étalonnage.....	11
2.5 Étude de l'exactitude de la méthode	12
3. CONCLUSION.....	16
4. BIBLIOGRAPHIE.....	17

DEVELOPPEMENT D'UNE METHODE POUR LE DOSAGE DU CR(VI) ET DU CR(III) PAR HPLC-ICPMS EN ESU
E. Alasonati, P. Fisicaro

RESUME

Dans le cadre du développement de méthodes pour le dosage des polluants spécifiques de l'état écologique pour la matrice eau présentant des difficultés méthodologiques, le LNE a développé en 2019 une méthode de mesure de la spéciation du chrome dans l'eau par chromatographie ionique couplée à la spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (CI-ICPMS) par étalonnage externe. Cette méthode permet un dosage simultané du chrome hexavalent, Cr(VI) et du chrome trivalent, Cr(III). Les caractéristiques de performance de la méthode ont été évaluées en accord avec la norme NF T90-210 par l'étude de la fonction d'étalonnage, de l'exactitude de la méthode et par l'évaluation de la limite de quantification (LQ). Trois matrices ont été utilisées: eau du robinet, une eau minérale naturelle et une eau de surface. Ces trois eaux ont été dopées à trois niveaux de concentration dans le domaine 0,2-10 µg/L. La méthode de dosage du Cr(VI) a été validée dans ce domaine avec une LQ de 0,2 µg/L et une incertitude élargie de 30% au niveau de cette LQ et d'environ 20% en milieu et haut de gamme. La fonction d'étalonnage du Cr(III) était acceptable dans le domaine 0,5-10 µg/L, mais la méthode n'était pas suffisamment robuste pour être validée pour le dosage du Cr(III) dans les eaux étudiées. Les raisons sont discutées dans le rapport et une étude supplémentaire est suggérée pour trouver des solutions aux problèmes de stabilité du Cr(III) et permettre le dosage simultané des deux espèces. Le développement d'une méthode par dilution isotopique, qui est recommandée en littérature pour la correction des possibles interconversions des espèces, est aussi envisagé.

Mots clés (thématique et géographique) :

Spéciation du chrome, chrome (VI), chromatographie ionique, ICP-MS, eaux de surface

DEVELOPMENT OF A METHOD FOR DETERMINING CR (VI) AND CR (III) BY HPLC-ICPMS IN SURFACE WATER

E. Alasonati, P. Fiscaro

ABSTRACT

In the framework of the development of methods for relevant substances on the water matrix presenting methodological difficulties, LNE has implemented in 2019 chromium speciation measurements in water by ion chromatography coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry (IC-ICPMS) using external calibration. Hexavalent -Cr(VI)- and trivalent -Cr(III)- chromium were analysed simultaneously. Method performances have been evaluated in accordance with the French standard NF T90-210 by studying the calibration function, the accuracy of the method and its limit of quantification (LOQ). Three matrices were used: tap water, natural mineral water and surface water spiked at three concentration levels in the range 0.2-10 µg/L. The method to quantify hexavalent chromium has been validated in the targeted range with an LOQ of 0.2 µg/L and an expanded uncertainty of 30% at the LOQ level and of around 20% in the middle and high level. The Cr(III) calibration function was acceptable in the 0.5-10 µg/L range, but the method was not robust enough to be validated for the determination of Cr(III) in the waters studied. The reasons are discussed in the report and an additional study is suggested to find solutions to the Cr(III) stability and allow the simultaneous determination of the two species, as well as to develop an isotope dilution approach, which is recommended in literature for the correction of possible species interconversions.

Key words: Chromium speciation, chromium (VI), ion chromatography, ICP-MS, surface waters

Liste des abréviations

Cr : Chrome total

Cr(III) : Chrome trivalent

Cr(VI) : Chrome hexavalent

CI : Chromatographie Ionique

ICPMS : spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif

1. CONTEXTE

Le chrome peut exister sous plusieurs états d'oxydation compris entre 0 et VI. Toutefois, les formes les plus stables et les plus courantes sont Cr(0) (forme métallique), Cr(III) trivalent et Cr(VI) hexavalent. Le Cr(VI) est considéré comme la forme de chrome la plus toxique, car elle présente un potentiel d'oxydation et une solubilité élevés et une mobilité importante à travers les membranes des organismes vivants, ainsi que dans l'environnement [1].

Le chrome total fait partie des polluants spécifiques de l'état écologique pour les cours d'eau (Arrêté du 27 juillet 2015) avec une NQE (Normes de Qualité Environnementale) moyenne annuelle de 3,4 µg/L. Une étude des données bancarisées sur Naiades¹ révèle que environ 1,4% des mesures sont supérieures à la NQE avec des valeurs qui peuvent atteindre plusieurs dizaines voire centaine de µg/L. Par conséquent, la connaissance de la spéciation du chrome pourrait apporter une information supplémentaire en termes de risque. A l'heure actuelle, la surveillance du Cr(VI) est effectuée par certaines agences de l'eau avec des LQ de 10 µg/L, supérieures à la NQE.

Au niveau EU le Centre commun de recherche (Joint Research Centre en anglais, JRC) surveille le risque potentiel posé par le Cr(VI) depuis 2014. En janvier 2018, le JRC a reçu des données de surveillance récentes pour le chrome total et le Cr(VI) dans les eaux intérieures (rivières et lacs). Les données écotoxicologiques disponibles ont conduit à une mise à jour des PNEC (Predicted No Effect Concentration) dans les eaux douces, qui ont été fixées à 2,06 µg/L et 1,8 µg/L pour le Cr(VI) et le Cr(III) respectivement. Sur la base de ces valeurs, les quotients de risque (QR) estimés pour les deux espèces sont semblables et inférieurs à 1 : 0,49 pour le Cr(VI) et 0,56 pour le Cr(III). Le JRC a établi une PNEC pour le Cr(VI) aussi pour les eaux côtières et de transition (0,6 µg/L) avec un QR de 1,17. Une enquête plus approfondie sera donc menée sur le risque potentiel posé par le Cr(VI) dans les eaux côtières et de transition, en particulier en recherchant des données de suivi plus récentes, en vue d'une éventuelle inclusion du Cr(VI) dans la troisième liste de vigilance [2].

Une fois dans l'eau, le chrome peut subir un large éventail de transformations (oxydation, réduction, sorption, désorption, précipitation et dissolution) qui peuvent affecter sa répartition entre phases dissoute et particulaire. En conséquence la surveillance du Cr et de ses espèces est très complexe [3]. Des interconversions entre Cr(III) et Cr(VI) ont été fréquemment observées lors de l'échantillonnage, le stockage,

¹ Portail français qui centralise les données sur la qualité des eaux de surface, conçu et géré par l'Office français de la Biodiversité et réalisé par le BRGM.

l'extraction et la mesure des échantillons, conduisant à des résultats inexacts pour la spéciation du chrome [4]. En conséquence, il est important d'assurer l'exactitude de la méthode de dosage du Cr(VI) sans le risque d'artefacts, qui pourrait engendrer des faux positifs ou des faux négatifs.

Les méthodes de dosage normalisées du Cr(VI) dans les eaux sont basées sur des réactions colorimétriques avec le 1,5-diphénylcarbazide (NF T 90-043[5], NF EN ISO 23913[6], NF EN ISO 18412[7]). Cependant, en présence de certains sels métalliques ou en milieu oxydant, la réaction colorée peut être perturbée, ce qui représente une limite importante de ces méthodes. De plus, les défis analytiques de la spéciation du chrome sont liés au développement de méthodes d'extraction qui ne perturbent pas l'équilibre des espèces. Aucune méthode normalisée ne permet de doser simultanément plusieurs espèces de Cr. Néanmoins, un projet de norme ISO a été soumis en 2019 (ISO/NP 24384 "Qualité de l'eau – Détermination du chrome (VI) et du chrome (III) dans l'eau – Méthode par couplage LC-ICP-MS après traitement chélatant") : il propose une méthode robuste et rapide, applicable à la détermination du Cr(VI) et du Cr(III) à des teneurs supérieures à 50 µg/L, dans les eaux usées, les eaux de surface ou les eaux du robinet.

De nombreuses méthodes reposent sur la mise en œuvre de la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) couplée à la spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif (ICPMS) pour effectuer l'analyse de spéciation du chrome (par ex. [8][9][10]). Le Cr(III) soluble existe généralement sous forme de Cr^{3+} , CrOH^{2+} ou $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$ dans les eaux naturelles tandis que le Cr(VI) existe sous forme de HCrO_4^- , CrO_4^{2-} ou $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ [1]. Étant donné que les espèces du Cr(III) sont cationiques (ions chargés positivement) et les espèces du Cr(VI) sont anioniques, elles peuvent être séparées en utilisant la chromatographie à échange d'anions ou de cations [11]. Si la mesure du Cr(VI) seule est relativement simple, la détermination simultanée des deux espèces de Cr est plus difficile à cause de la charge différente en solution. Dans l'analyse d'échantillons réels, la mesure peut également être compromise par la présence d'éléments minéraux dans l'échantillon rentrant en compétition pour les sites de liaison dans la colonne, entraînant de faibles différences en temps de rétention et de faibles taux de recouvrement [9].

Une méthode par chromatographie ionique (CI) couplée à l'ICPMS a été publiée par l'ANSES en juin 2016 [12] : la méthode permet la mesure du Cr(VI) et du Cr(III), mais elle a été formellement validée seulement pour le dosage du Cr(VI). L'objectif de ce travail est de développer une méthode pour le dosage simultané du Cr(VI) et Cr(III) dans les eaux de surface par CI-ICPMS et par étalonnage externe avec une LQ compatible avec la NQE et, si possible, inférieure au µg/L.

2. MISE EN ŒUVRE DE LA METHODE DE DOSAGE DES ESPECES TRI- ET HEXAVALENTES DE CHROME

La présente méthode de dosage du chrome hexavalent et trivalent se base sur le couplage d'une chaîne de chromatographie ionique à un ICPMS. L'approche est largement inspirée de la méthode publiée par l'ANSES [12], qui est une méthode d'utilisation simple par rapport à de nombreuses autres procédures publiées en littérature. La mise en œuvre de la méthode utilisée par l'ANSES et l'application au dosage des deux espèces dans des eaux de surface sont présentées ci-dessous.

2.1 EQUIPEMENTS DE MESURE

Une chaîne de chromatographie ionique (CI) ICS5000 Thermo Analytics a été couplée à un ICPMS Agilent 7700x (équipé d'une cellule de collision octopole), en reliant la sortie de la colonne chromatographique avec le nébuliseur de l'ICPMS au moyen d'un tube PEEK (Polyétheréthercétone). La longueur et le diamètre interne (0.5 mm) de la ligne de transfert doivent être minimisés afin d'éviter un élargissement des pics et une dégradation de la résolution, dus à une diffusion des analytes en sortie de colonne. La vitesse de la pompe péristaltique a été augmentée à 1,5 rpm pour assurer l'évacuation de la chambre de nébulisation. Le logiciel Chromeleon 7 (Thermo Analytics) a été utilisé pour la surveillance de la CI, et le logiciel MassHunter (Agilent Technologies) a été utilisé pour le contrôle de l'ICPMS et pour l'intégration des chromatogrammes. L'acquisition par ICPMS étant pour l'instant démarrée manuellement par l'opérateur après chaque injection sur la CI, le couplage n'est pas automatisé et ne permet pas la programmation de séquences, ce qui limite le nombre de mesures effectuées. Le système sera automatisé dans la suite de ce travail, soit en développant la communication entre le CI Thermo et l'ICPMS Agilent, soit par couplage de la CI à l'ICPMS Thermo ICAP-Q.

Une pré-colonne Dionex d'échange d'anions AG7 2x50 mm, groupe fonctionnel ammonium quaternaire, a été utilisée à température ambiante (-20°C). La phase mobile utilisée en mode isocratique était de l'acide nitrique à 0,4 mol/L avec 1 $\mu\text{g/L}$ d'indium comme étalon interne. Il a été montré dans ce type de colonne que le Cr(III) est fortement retenu et qu'il faut à minima des concentrations d'acide nitrique supérieures à 0,3 mol/L pour arriver à l'éluer correctement [13]. Cependant, des concentrations encore plus élevées, peuvent entraîner la réduction du Cr(VI) et conduire à une perte possible [13]. Pour cette raison, une concentration d'acide nitrique de 0,4 mol/L a été utilisée pour l'élution des deux espèces de Cr dans cette étude.

Le volume d'injection était de 50 μL . Le débit de colonne a été testé dans l'intervalle 0,3-0,5 mL/min (Fig.1). La séparation des deux espèces était satisfaisante dans les trois conditions testées. Un débit de 0,5 mL/min a été privilégié pour préserver le profil d'élution du Cr(III) et pour réduire les temps d'analyses.

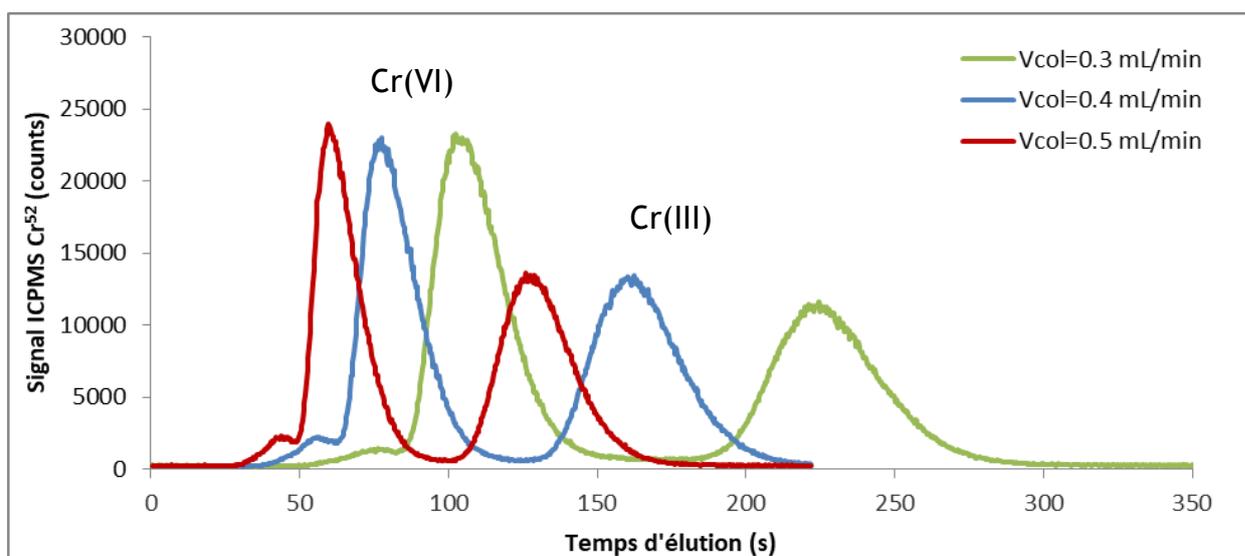


Figure 1. Effet de l'augmentation du débit de colonne sur la séparation de Cr(VI) et Cr(III).

Les interférences pour le chrome sont décrites dans la norme NF EN ISO 17294. Plusieurs débits de gaz de collision (hélium et hydrogène) ont été testés. Dans ce travail un débit d'hélium de 2 mL/min a été utilisé.

2.2 ETALONS

Les solutions étalons de Cr(VI) ont été préparées à partir d'un sel de dichromate de potassium, $K_2Cr_2O_7$, matériau de référence (standard reference material, SRM) de pureté 99.9931% (136d, NBS - National Bureau of Standards Washington DC). Le dichromate de potassium se dissocie dans l'eau en ions potassium et en ions dichromate pour lequel le chrome se présente à l'état d'oxydation +VI. Les solutions mères ont été préparées dans l'eau ultra-pure à environ 250 mg/L.

Une solution étalon de nitrate de chrome à 1000 mg/L en Cr rapportée au SRM de NIST $Cr(NO_3)_3$ dans HNO_3 0,5 mol/L (Certipur®, Merck) a été utilisée comme étalon pour le Cr(III).

Une solution contenant du Cr(VI) et du Cr(III) à environ 10 mg/L a été préparée quotidiennement par dilution des solutions mères dans une solution de nitrate d'ammonium à 8 g/L. Les dilutions intermédiaires et la droite d'étalonnage sont aussi préparées dans le nitrate d'ammonium. Une gamme d'étalonnage à 5 niveaux a été utilisée dans ce travail et préparée quotidiennement. Les valeurs de concentration pour le Cr(III) et le Cr(VI) utilisées sont les suivants : 0,2 - 0,5 - 1 - 5 - 10 μ g/L en Cr.

2.3 ECHANTILLONS

Pour étudier les performances de la méthode, trois matrices représentatives des eaux naturelles de surface et de consommation humaine ont été utilisées. Il s'agit d'eau de robinet, d'une eau minérale naturelle Evian® et d'une eau de surface collectée dans l'étang de Triveaux à Meudon (Ile-de-France), non filtrée. Les échantillons analysés au cours de cette étude ont été dopés en laboratoire par ajout des quantités requises des étalons décrits au paragraphe 2.2. Après un temps d'équilibration de 15 minutes au minimum, les échantillons ont été directement analysés. Le passeur de la CI est réfrigéré à une température de 4°C. En cas de besoin, ils peuvent être stockés au réfrigérateur à une température voisine de 4°C à l'abri de la lumière. La stabilité n'a pas été évaluée au cours de ce travail. L'ANSES préconise l'utilisation dans les 24 heures de la solution mère à 10 mg/L pour la préparation de la gamme "au risque d'une interconversion des formes du chrome". Pour cette raison les échantillons n'ont jamais été stockés plus de 24 h.

Dans le protocole Anses, les échantillons sont stabilisés avec un stabilisant préparé en mélangeant les composés suivants : 75 mL d'eau ultra-pure, 3,3 g de sulfate d'ammonium, 6,5 mL d'hydroxyde d'ammonium. Dans cette étude, les échantillons ont été stabilisés en suivant la méthode Anses. La stabilisation permet de basculer l'échantillon en milieu alcalin afin de limiter l'interconversion des formes de chrome, et aussi d'éliminer le chlore présent dans les échantillons dans le cas de l'eau du robinet. De même, afin de faciliter l'interaction entre l'échantillon et la phase mobile, les échantillons ont été acidifiés avant analyse en ajoutant 10 μ L d'acide nitrique à 70 % dans le vial d'injection de 1 mL.

2.4 ÉTUDE DE LA FONCTION D'ÉTALONNAGE

Les caractéristiques de performance de la méthode ont été évaluées en accord avec la NF T90-210 [14]. Les cinq niveaux de concentrations suivants ont été choisis pour le Cr(III) et le Cr(VI) : 0,2 - 0,5 - 1 - 5 - 10 µg/L en Cr. Cinq gammes d'étalonnage ont été préparées et analysées dans des conditions de fidélité intermédiaire à partir des étalons de pureté (Cr(VI)) et de concentration (Cr(III)) connue décrits au paragraphe 2.2. Cela a permis de réaliser l'étude de la fonction d'étalonnage dont l'interprétation s'est basée sur l'approche par vérification individuelle par rapport à des "Ecart Maximal Acceptable (EMA) d'étalonnage" définissant l'acceptation des différences pour chaque niveau de concentration des étalons. Les EMA fixés par la méthode ANSES, compatibles avec les besoins de la surveillance DCE, ont été appliqués à ce travail (Tableau 1). Les biais relatifs moyens correspondent à la moyenne de 5 différences observées pour chaque niveau de concentration, rapportée à la concentration théorique.

Concentration théorique (µg/L)	EMA	Biais relatif moyen Cr(VI)	Conclusion	Biais relatif moyen Cr(III)	Conclusion
0.2	60%	21%	acceptable	55%	acceptable
0.5	30%	5%		14%	
1	20%	5%		10%	
5	15%	1%		6%	
10	15%	0%		2%	

Tableau 1. Synthèse de l'étude de la fonction d'étalonnage suivant la norme NF T90-210.

Si on se base sur la moyenne des résultats, la fonction d'étalonnage est acceptable dans le domaine étudié pour les deux espèces. Cependant la norme prévoit que " les p différences (...) soient inférieures à l' $EMA_{\text{étalonnage}}$ fixé pour chaque niveau de concentration j " (Figure 2).

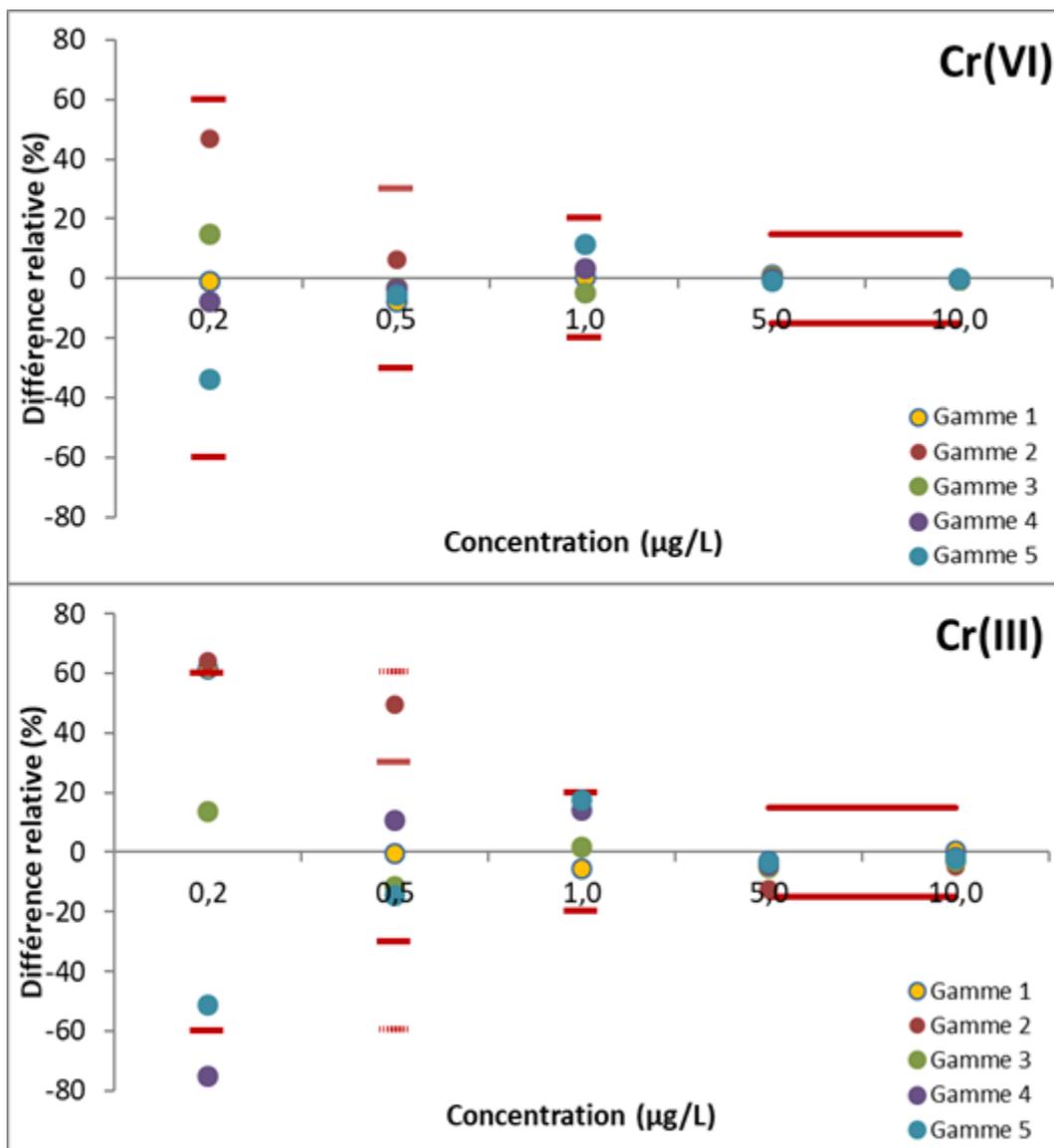


Figure 2. Répartition des différences relatives calculées sur tous les étalons analysés par rapport aux EMA% fixés par l'Anses

Dans ce cas on observe que la fonction d'étalonnage est acceptable dans le domaine étudié pour le Cr(VI), mais pas pour le Cr(III). En effet à 0,2 et 0,5 µg/L certaines différences sont supérieures aux EMA%, même si dans le cas de l'étalon à 0,5 µg/L il peut s'agir d'un artefact isolé de la gamme 2. Il est donc nécessaire de restreindre la validation de l'étalonnage pour le Cr(III) au domaine 0,5-10 µg/L avec une LQ de 0,5 µg/L (EMA=60%, traitillé rouge en Fig.2).

2.5 ÉTUDE DE L'EXACTITUDE DE LA METHODE

Le domaine d'application de cette méthode couvre les eaux naturelles de surface et peut être appliqué aussi à l'eau de consommation humaine.

Trois niveaux de concentration ont été choisis pour estimer l'exactitude de la méthode dans des conditions de fidélité intermédiaire :

- un niveau bas correspondant à la limite de quantification présumée de 0,2 µg/L (niveau 1, EMA=60%) ;
- un niveau moyen de 1 µg/L (niveau 2, EMA=44%);
- un niveau haut de 10 µg/L (niveau 3, EMA=44%).

L'EMA a été fixé par convention à 60 % au niveau de la limite de quantification. A défaut de la possibilité de participer à une comparaison interlaboratoires, le modèle développé par Horwitz et Thompson cité dans la norme NF T90-210 a été appliqué pour calculer les EMA à 44% pour les niveaux 2 et 3 ($C < 0,12 \text{ mg/L}$). Pour le Cr(III) des dopages de la matrice à 0.2 µg/L ont aussi été effectués, puisqu'initialement la LQ était estimée à 0,2 µg/L et n'avait pas encore été augmentée à 0,5 µg/L.

Pour chaque niveau, les trois matrices (Evian®, eau de robinet, eau de surface) ont été étudiées. Le plan d'essais est présenté dans le Tableau 2. Deux échantillons par matrice et par niveau ont été préparés et mesurés en suivant la même procédure sur deux jours différents pour inclure la reproductibilité de la méthode. Enfin chaque échantillon a été mesuré deux fois: la moyenne des signaux ICPMS acquis a été utilisée pour calculer la concentration de l'échantillon en utilisant la fonction inverse d'étalonnage.

	Niveau 1 (LQ) EMA = 60%	Niveau 2 EMA = 44%	Niveau 3 EMA = 44%
série (date)	Echantillon de référence		
05/12/2019	Evian	Evian	Evian
16/12/2019	Evian	Evian	Evian
09/12/2019	Eau du robinet	Eau du robinet	Eau du robinet
13/12/2019	Eau du robinet	Eau du robinet	Eau du robinet
05/12/2019	Eau de surface	Eau de surface	Eau de surface
16/12/2019	Eau de surface	Eau de surface	Eau de surface

Tableau 2. Organisation des essais pour les différents niveaux. Deux répétitions de mesure par échantillon ont été effectuées.

Le **Tableau 3** montre une série de résultats sur le dosage du Cr(VI) et Cr(III) dans les trois matrices, avant et après dopage aux trois concentrations visées. Les concentrations calculées par la fonction inverse d'étalonnage sont comparées aux concentrations nominales déterminées par gravimétrie et les taux de recouvrement sont déterminés. Les blancs « matrice » (eau non dopée) sont soustraits à chaque échantillon dopé.

Echantillon	Cr(VI)			Cr(III)		
	X (µg/L)	X _{grav} (µg/L)	Taux de recouvrement (%)	X (µg/L)	X _{grav} (µg/L)	Taux de recouvrement (%)
Evian	0.374	-	-	< LQ (0.277)		
Evian - niveau 1	0.250	0.203	123	0.402	0.207	194
Evian - niveau 2	0.951	1.041	91	0.992	1.062	93
Evian - niveau 3	11.028	10.354	107	0.684	10.565	6
Eau du robinet	0.338	-	-	< LQ		
Eau du robinet - niveau 1	0.203	0.200	102	0.167	0.204	82
Eau du robinet - niveau 2	1.151	0.985	117	0.918	1.003	92
Eau du robinet - niveau 3	10.424	10.479	99	9.769	10.673	92
Eau de surface	< LQ (0.150)	-	-	< LQ (0.304)		
Eau de surface - niveau 1	0.257	0.232	111	0.514	0.237	217
Eau de surface - niveau 2	1.061	1.051	101	1.015	1.073	95
Eau de surface - niveau 3	10.620	10.259	104	3.537	10.468	34

Tableau 3. Analyse de trois matrices d'eau dopées à trois niveaux de concentration différents. X : concentration calculée par la fonction inverse d'étalonnage en µg/L. X_{grav} : concentration nominale déterminée par gravimétrie en µg/L. Les valeurs indiquées en gris correspondent aux valeurs de dopage de la matrice à 0.2 µg/L en Cr(III) < LQ.

La teneur en Cr(VI) dans les matrices eau minérale et eau de robinet est supérieure à 0.3 µg/kg et dans l'eau de surface la teneur est au niveau de la LQ. Les taux de recouvrement pour le Cr(VI) sont situés entre 90% et 120%. Pour le Cr(III) les concentrations dans les matrices sont inférieures à la LQ, bien que à des niveaux détectables pour l'Evian® et l'eau de surface. Dans deux cas sur trois on observe une surestimation de la teneur de Cr(III) à 0.2 µg/L. Les taux de recouvrement pour le Cr(III) sont révélateurs d'une problématique de stabilité : bien que dans les trois matrices au niveau 2 et dans le cas de l'eau de robinet au niveau 3 les rendements dépassent les 90%, pour l'Evian et l'eau de surface dopée à 10 µg/L les taux sont respectivement de 6% et 34%. Dans une gamme de pH allant du neutre à l'alcalin, le Cr(III) a tendance à précipiter sous forme de Cr(OH)_{3(s)} pratiquement insoluble. En conséquence, dans les pH typiques des eaux naturelles (environ 4-9), Cr(OH)²⁺ et Cr(OH)₃⁰ sont les formes prédominantes du chrome trivalent [15]. La solubilité du Cr(III) est largement régulée par la formation et la précipitation de mélanges d'hydroxydes de chrome insolubles, par exemple le mélange Cr,Fe(OH)₃ qui a une solubilité encore inférieure au Cr(OH)₃ [16]. Par ailleurs, le chrome trivalent a tendance à se complexer avec la matière organique naturelle, notamment les acides fulviques et humiques, ce qui limite sa précipitation [15]. Il en résulte une variété de comportements des espèces du chrome dans différents échantillons qui sera fonction de la nature même de la matrice (pH, teneurs en éléments majeurs, carbonates, matière organique, pour en citer quelques-uns). La préservation de la distribution des espèces est donc l'aspect clé de la méthode de préparation des échantillons, des procédures de stabilisation sont proposées en littérature [17], [1]. Ainsi, l'ajustement du pH de l'échantillon à plus de 7 permet de diminuer le potentiel d'oxydation de l'ion chromate : des analyses répétées ont montré que le Cr(VI) dans les échantillons ainsi stabilisés était stable pendant au moins 24h. Néanmoins, en utilisant cette méthode, le Cr(III) est sujet à hydrolyse et à une éventuelle précipitation, confirmée par une perte observée de Cr(III) dans l'échantillon après stabilisation [9], [18].

Concernant la méthode Anses, appliquée dans ce travail, la stabilisation se fait aussi par alcalinisation. Cependant la méthode n'a pas pu être validée pour le chrome trivalent puisque lors de l'évaluation de l'exactitude du Cr(III) les résultats obtenus étaient

inacceptables vis-à-vis des tolérances définies, expliqué dans le document par l'interaction du chrome trivalent et des carbonates [12].

Au vu des résultats obtenus dans cette étude (Tableau 3) la méthode appliquée au Laboratoire n'est pas suffisamment robuste pour être validée pour le dosage du Cr(III). Le travail s'est poursuivi par l'étude de l'exactitude de la méthode en accord avec la NF T90-210 qui a été réalisée seulement pour le Cr(VI). Les résultats de l'étude de l'exactitude sont présentés dans le Tableau 4.

Les concentrations par niveau ne sont pas strictement identiques, puisqu'il s'agit de matrices dopées par gravimétrie. En accord avec la norme, les valeurs de référence ont été estimées par la moyenne des concentrations ciblées. Et les valeurs de chaque échantillon analysé ont été calculées par alignement du signal observé et application de la fonction inverse d'étalonnage au signal aligné :

$$y' = y + (\overline{X} - x)b$$

	Niveau 1 - LQ	Niveau 2	Niveau 3
Valeur de référence (REF) (µg/L)	0.202	1.028	10.343
Incertitude-type sur la valeur de référence	0.020	0.103	1.034
EMA%	60%	44%	44%
Nombre de séries	6	6	6
Nombre de répétitions par série	2	2	2
Moyenne générale (z) (µg/L)	0.223	1.062	10.897
Biais	0.021	0.034	0.555
Biais relatif	10%	3%	5%
Écart-type de fidélité intermédiaire ($s_{FI} k=1$)	0.035	0.122	1.255
CV de fidélité intermédiaire en % ($k=1$)	15.7%	11.5%	11.5%

Tableau 4. Synthèse de l'étude de l'exactitude de la méthode pour le Cr(VI)

	$z - 2s_{FI} > REF - EMA$	$z + 2s_{FI} < REF + EMA$	Vérification
Niveau 1 - LQ	0.153	0.293	oui
Niveau 2	0.818	1.306	oui
Niveau 3	8.388	13.407	oui

Tableau 5. Vérification de la validation de la méthode pour le Cr(VI)

Les résultats obtenus confirment la validation de la méthode pour les niveaux d'exactitude choisis (Tableau 5). Les incertitudes ont été évaluées en combinant l'écart-type instrumental (calculé pour chaque niveau comme le maximum entre les écart-

types instrumentaux des 6 séries) et l'écart-type des 6 valeurs calculées par niveau. Les incertitudes élargies ($k=2$) sont de l'ordre de 30% au niveau LQ et d'environ 20% en milieu et haut de gamme.

3. CONCLUSION

En 2019 le LNE a développé une méthode de mesure de spéciation du chrome dans l'eau par chromatographie ionique couplée à l'ICPMS en étalonnage externe. L'approche est inspirée de la méthode publiée par l'ANSES en 2016. Les espèces Cr(VI) et Cr(III) ont été dosées simultanément. Le domaine d'application de la méthode couvre les eaux naturelles de surface et peut être appliqué aussi à l'eau de consommation humaine. Les éléments clés de la méthode analytique ont été décrits dans ce rapport: l'équipement de mesure et les principaux paramètres utilisés, la nature des étalons, la préparation des échantillons et leur stabilisation. Les caractéristiques de performance de la méthode ont été évaluées en accord avec la norme NF T90-210 par l'étude de la fonction d'étalonnage, de l'exactitude de la méthode et par l'évaluation de sa LQ. La fonction d'étalonnage est acceptable dans le domaine 0,2-10 µg/L pour le Cr(VI) et dans le domaine 0,5-10 µg/L pour le Cr(III).

Pour étudier les performances de la méthode trois matrices ont été utilisées: l'eau de robinet, l'eau minérale naturelle Evian® et une eau de surface collectée dans l'étang de Triveaux à Meudon (Ile-de-France). Les taux de recouvrement pour le Cr(VI) étaient compris entre 90% et 120%. Ensuite, l'exactitude de la méthode a été évaluée pour le Cr(VI) en accord avec la NF T90-210. La méthode de dosage du chrome hexavalent est donc validée dans le domaine 0,2-10 µg/L avec une LQ de 0,2 µg/L et une incertitude élargie de 30% au niveau LQ et d'environ 20% en milieu et haut de gamme.

Concernant le Cr(III), les taux de recouvrement dans les trois matrices ne sont pas toujours acceptables, probablement à cause d'une précipitation du Cr(III) liée à la procédure de stabilisation de l'échantillon et aux caractéristiques de chaque matrice. La méthode appliquée n'est pas suffisamment robuste pour être validée pour le dosage du Cr(III). Une étude supplémentaire est nécessaire pour trouver une solution au problème de stabilité du chrome trivalent et pour permettre le dosage exact et simultané des deux espèces.

Une approche alternative basée sur un ajustement du pH à environ 4 pourrait être envisagée [18] bien que cela impliquerait de considérer que les échantillons avec une teneur élevée en CaCO₃ nécessiteraient des quantités variables de HCl pour l'ajustement du pH avec le risque d'une procédure chronophage et peu reproductible. Une étude bibliographique spécifique sera conduite pour évaluer d'autres approches possibles.

Il est important dans les perspectives de cette action d'introduire l'utilisation de la dilution isotopique couplée à la spectrométrie de masse (DIMS). Plusieurs études suggèrent que la dilution isotopique spécifique est un outil approprié pour la correction de ces interconversions, lorsque l'équilibre entre les espèces endogènes et enrichies en isotopies est atteint [4], [19]. Le principe de la DIMS, appliqué à la spéciation du chrome dans plusieurs articles (ex. [1] [20]) et dans la méthode EPA 6800 [21], sera mis en œuvre dans la suite de ce travail.

4. BIBLIOGRAPHIE

- [1] N. Unceta, F. Séby, J. Malherbe, et O. F. X. Donard, « Chromium speciation in solid matrices and regulation: a review », *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 397, n° 3, p. 1097- 1111, juin 2010, doi: 10.1007/s00216-009-3417-1.
- [2] R. Loos, D. Marinov, I. Sanseverino, D. Napierska, et T. Lettieri, « Review of the 1st Watch List under the Water Framework Directive and recommendations for the 2nd Watch List ». JRC Technical Reports, avr-2018.
- [3] J. Gorny, G. Billon, C. Noiriel, D. Dumoulin, L. Lesven, et B. Madé, « Chromium behavior in aquatic environments: a review », *Environ. Rev.*, vol. 24, n° 4, p. 503- 516, juill. 2016, doi: 10.1139/er-2016-0012.
- [4] D. Huo et H. M. “Skip” Kingston, « Correction of Species Transformations in the Analysis of Cr(VI) in Solid Environmental Samples Using Speciated Isotope Dilution Mass Spectrometry », *Anal. Chem.*, vol. 72, n° 20, p. 5047- 5054, oct. 2000, doi: 10.1021/ac000008r.
- [5] « ISO 11083 et NF T 90-043 : dosage du chrome VI - méthode par spectrométrie d'absorption moléculaire (UV-visible) ». .
- [6] « NF EN ISO 23913 : dosage du chrome VI - méthode par analyse en flux (FIA et CFA) et détection spectrométrique ». .
- [7] « NF EN ISO 18412 : dosage du chrome VI - méthode photométrique pour des eaux faiblement contaminées ». .
- [8] R. E. Wolf, S. A. Morman, P. L. Hageman, T. M. Hoefen, et G. S. Plumlee, « Simultaneous speciation of arsenic, selenium, and chromium: species stability, sample preservation, and analysis of ash and soil leachates », *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 401, n° 9, p. 2733, août 2011, doi: 10.1007/s00216-011-5275-x.
- [9] F. Séby, S. Charles, M. Gagean, H. Garraud, et O. F. X. Donard, « Chromium speciation by hyphenation of high-performance liquid chromatography to inductively coupled plasma-mass spectrometry—study of the influence of interfering ions », *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 18, n° 11, p. 1386- 1390, 2003, doi: 10.1039/B306249J.
- [10] R. B. McCleskey, D. K. Nordstrom, et A. S. Maest, « Preservation of water samples for arsenic (III/V) determinations: an evaluation of the literature and new analytical results », *Appl Geochem*, vol. 19, 2004, doi: 10.1016/j.apgeochem.2004.01.003.
- [11] J. L. Parks, L. McNeill, et M. Edwards, « NOM and alkalinity interference in trace-level hexavalent chromium analysis », *Talanta*, vol. 130, p. 226- 232, déc. 2014, doi: 10.1016/j.talanta.2014.06.052.
- [12] ANSES/LHN/MT-CrVI-Version 2, « Méthode d'analyse du chrome hexavalent dans les eaux ». 2016.
- [13] Kutscher, Daniel, S. McSheehy, J. Wills, et D. Jensen, « Speciation analysis of Cr (III) and Cr (VI) in drinking waters using anion exchange chromatography coupled to the Thermo Scientific iCAP Q ICP-MS ». Thermo Fisher Scientific, Germany and Switzerland, 2016.
- [14] « NF T90-210 : Qualité de l'eau – Protocole d'évaluation initiale des performances d'une méthode dans un laboratoire ». nov-2018.
- [15] B. Markiewicz, I. Komorowicz, A. Sajnog, M. Belter, et D. Baratkiewicz, « Chromium and its speciation in water samples by HPLC/ICP-MS - technique establishing metrological traceability: A review since 2000 », *Talanta*, vol. 132, p. 814- 828, janv. 2015, doi: 10.1016/j.talanta.2014.10.002.
- [16] A. M. Zayed et N. Terry, « Chromium in the environment: factors affecting biological remediation », *Plant Soil*, vol. 249, n° 1, p. 139- 156, févr. 2003, doi: 10.1023/A:1022504826342.

- [17] F. Séby et V. Vacchina, « Critical assessment of hexavalent chromium species from different solid environmental, industrial and food matrices », *Speciat. Anal.*, vol. 104, p. 54- 68, juill. 2018, doi: 10.1016/j.trac.2017.11.019.
- [18] Kutscher, Daniel, S. McSheehy Ducos, et L. Rottmann, « The Migration of Elements from Toys and Speciation of Chromium (VI) in Toy Material Using a Low Cost IC-ICP-MS Solution ». Thermo Fisher Scientific, Germany, 2016.
- [19] G. M. M. Rahman, H. M. S. Kingston, T. G. Towns, R. J. Vitale, et K. R. Clay, « Determination of hexavalent chromium by using speciated isotope-dilution mass spectrometry after microwave speciated extraction of environmental and other solid materials », *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 382, n° 4, p. 1111- 1120, juin 2005, doi: 10.1007/s00216-005-3203-7.
- [20] A. G. Caporale, D. Agrelli, P. Rodríguez-González, P. Adamo, et J. I. G. Alonso, « Hexavalent chromium quantification by isotope dilution mass spectrometry in potentially contaminated soils from south Italy », *Chemosphere*, vol. 233, p. 92- 100, oct. 2019, doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.05.212.
- [21] « EPA method 6800: Elemental and molecular speciated isotope dilution mass spectrometry ». EPA, 2014.