

Chapitre I

Dosage des métaux lourds dans les échantillons biologiques par spectrophotométrie d'absorption atomique

par

R. VANDERSTAPPEN et P. VAN HOEYWEGHEN

Les techniques décrites ci-dessous ont également fait l'objet d'une proposition de normalisation de l'Institut belge de normalisation (IBN-BIN) sous la rubrique Doc. 342 SC 5/26 (1976).

1.- Préparation des échantillons

1.1.-

Les échantillons (poissons et crevettes exceptés) sont d'abord séchés à l'air, ensuite à l'étuve : - les végétaux à 75°C durant 16 h ,
- les farines à 100°C durant 3 h .

Si nécessaire, les échantillons seront moulus et homogénéisés.

Les échantillons devant servir aux dosages du mercure seront uniquement séchés à l'air.

1.2.-

Les échantillons de poissons et d'organismes marins (végétaux exceptés) conservés au congélateur à - 20°C , une fois revenus à température ambiante,

seront égouttés sur papier Joseph et une prise adéquate sera effectuée (le cas échéant après homogénéisation).

Si nécessaire, les teneurs en eau seront déterminées séparément.

2.- Dosage du mercure dans les échantillons biologiques (poissons, végétaux, farines, ...)

2.1.- Minéralisation oxydante de l'échantillon par voie humide

2.1.1.- Attaque H_2SO_4/H_2O_2 (végétaux exceptés)

- Une prise de ± 1 g d'échantillon est mise dans un erlenmeyer (250 ml).
- Sur l'erlenmeyer, on fixe un réfrigérant à reflux.
- Par le dessus du réfrigérant, on verse 5 ml d' H_2SO_4 concentré et 2,5 ml d' H_2O_2 (30 %).
- On chauffe légèrement jusqu'à mise en solution de l'échantillon et décomposition de H_2O_2 (3 à 4 min).
- Laisser refroidir la solution et rincer le réfrigérant avec de l'eau bidistillée alors qu'il reste fixé à l'erlenmeyer.

2.1.2.- Attaque $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ (végétaux)

Pour les végétaux, à ± 5 g d'échantillon non séché, on ajoutera successivement par le dessus du réfrigérant (voir 1.1) 3 ml d' H_2SO_4 concentré, 5 ml d' HNO_3 concentré et 5 ml d' H_2O_2 (30 %).

2.2.- Dosage du mercure

2.2.1.- Appareillages et caractéristiques de fonctionnement

- M.A.S. 50 spectrophotomètre d'absorption atomique sans flamme.
- Potentiomètre enregistreur : poissons { réglage : 10 mV
mesure : 5 mV
- végétaux { réglage : 0,2 V
mesure : 20 mV
- Limite de détection : 1×10^{-7} g (soit pour 2 g de poisson en solution $\rightarrow$ limite de détection : 0,05 ppm).

2.2.2.- Standardisation et dosages

- Solution stock de 1000 μg Hg/ml

On pèse 0,68 g de HgCl_2 p.a., à solubiliser dans 30 ml d' H_2SO_4 50 % ; porter ensuite à 500 ml dans un ballon jaugé avec de l' H_2O bidistillée.

- La solution stock est diluée jusqu'à 0,02 μg Hg/ml - H_2SO_4 1 N (+ 5 gouttes KMnO_4 /litre à 5 %).

- De cette solution de 0,02 μg Hg/ml - H_2SO_4 1 N , on pipette successivement 5 , 10 , 15 , 20 , 25 , 30 ml , à mettre dans le flacon doseur du M.A.S. 50 et porter à 150 ml avec H_2SO_4 1 N . Ajouts de : 5 gouttes KMnO_4 5 % et 2 ml NaBH_4 1 % .

On place le tube aérateur dans le flacon doseur et on enregistre les hauteurs des pics en fonction des quantités de Hg .

- Blanc :

On met 5 gouttes de KMnO_4 5 % + 2,5 ml d' H_2O_2 + 5 ml d' H_2SO_4 concentré dans un erlenmeyer (250 ml).

Chauffer doucement pendant 3 à 4 min .

Après refroidissement, on ajoute $\pm$ 3 gouttes de KMnO_4 5 % jusqu'à coloration rose.

Cette solution est mesurée au M.A.S. 50 après ajout de 2 ml NaBH_4 1 % .

- Ces données permettent le tracé d'une courbe de dosage jusqu'à 0,6 μg Hg (fig. 1).

- Le dosage du Hg des solutions de minéralisation des échantillons se fera également en les versant dans le flacon doseur du M.A.S. 50 et en les portant à 150 ml avec de l'eau bidistillée.

On ajoutera $\pm$ 5 gouttes de KMnO_4 5 % jusqu'à coloration rose (pour détruire éventuellement des restes de matières organiques) ensuite 2 ml NaBH_4 1 % .

Le tube aérateur est mis dans le flacon doseur et on enregistre la hauteur du pic obtenu; son report sur la courbe de dosage renseigne la quantité de Hg correspondante et permet le calcul de la teneur.

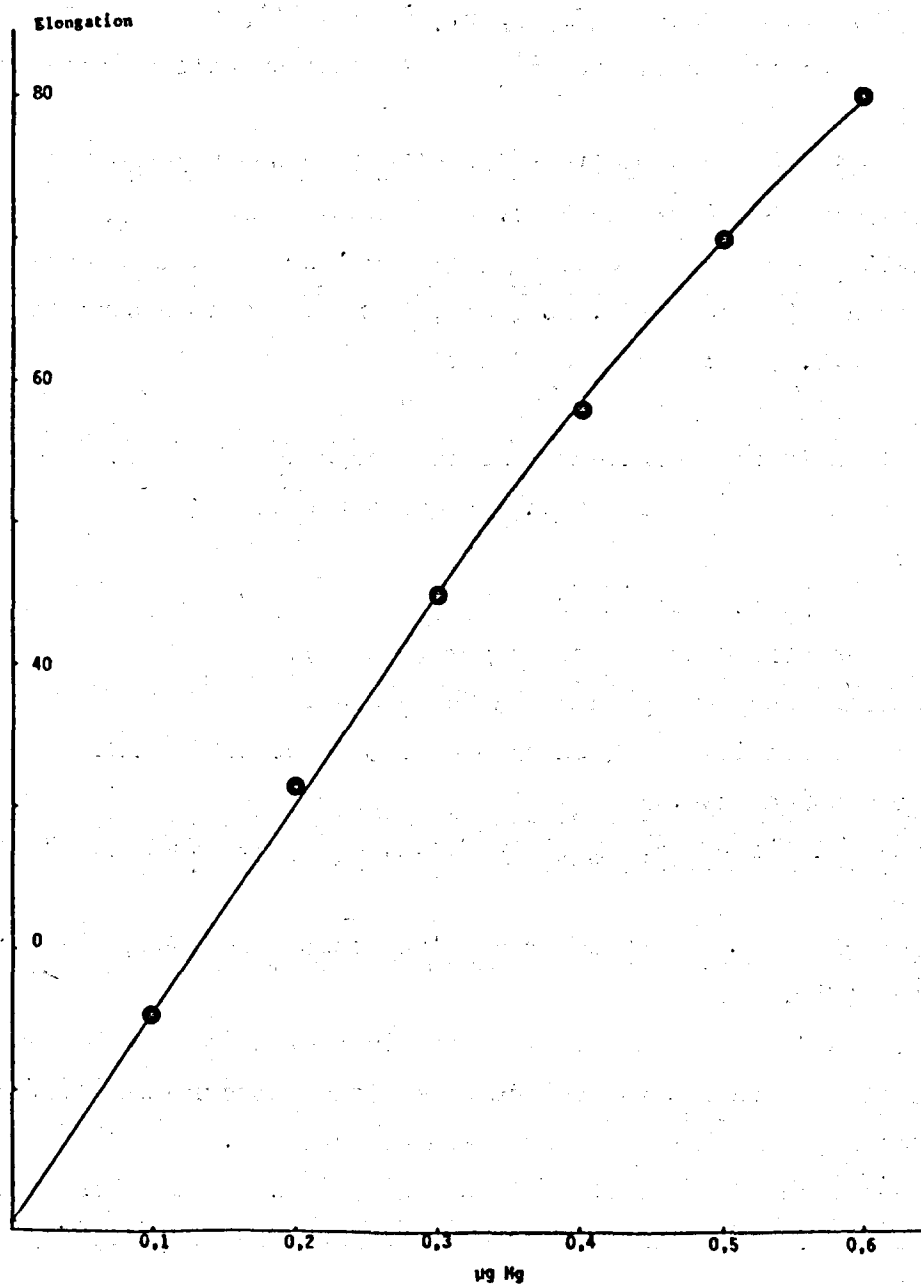


fig. 1.

Courbe de dosage du mercure

3.- Dosage du Cu , Pb , Zn , Cd dans des échantillons biologiques
(poissons, crevettes, végétaux, farines, ...) par absorption atomique

3.1.- Préparation de la solution de minéralisation

- On pèse ± 1 g d'échantillon sec (poissons : 5 g non séchés) dans une capsule en platine, qu'on place dans un four à moufle avec montée progressive de la température (5 h) jusqu'à 450°C ; la calcination à cette température se poursuit durant la nuit.

- Les cendres sont reprises avec 2,5 ml d' HNO_3 concentré et introduites dans un erlenmeyer (250 ml), la capsule en platine étant rincée avec un peu d'eau bidistillée; on y ajoutera ensuite 1 ml H_2O_2 (30 %).

- On fixe un réfrigérant sur l'erlenmeyer et on chauffe doucement jusqu'à solubilisation des cendres et décomposition de l' H_2O_2 (3 à 4 min).

- Quand la solution est refroidie, on rince le réfrigérant à l'eau bidistillée.

- La solution est amenée à 50 ml avec de l'eau bidistillée dans un ballon jaugé, on la conservera ensuite dans un flacon en plastique de 50 ml en vue des dosages à effectuer en série.

3.2.- Dosage du cuivre, plomb, zinc, cadmium

3.2.1.- Cuivre

3.2.1.1.- Appareillage et conditions opératoires

- Perkin-Elmer 303 spectrophotomètre d'absorption atomique avec four HGA 70.

- longueur d'onde : 325 nm ;

- four : programme = 7 { séchage : 100°C (20 s)
préchauffage : 1100°C (30 s);

voltage d'atomisation 9 V $\rightarrow$ température d'atomisation : 2400°C (20 s).

- Recorder readout : expansion : 3 .

- Enregistreur : 10 mV .

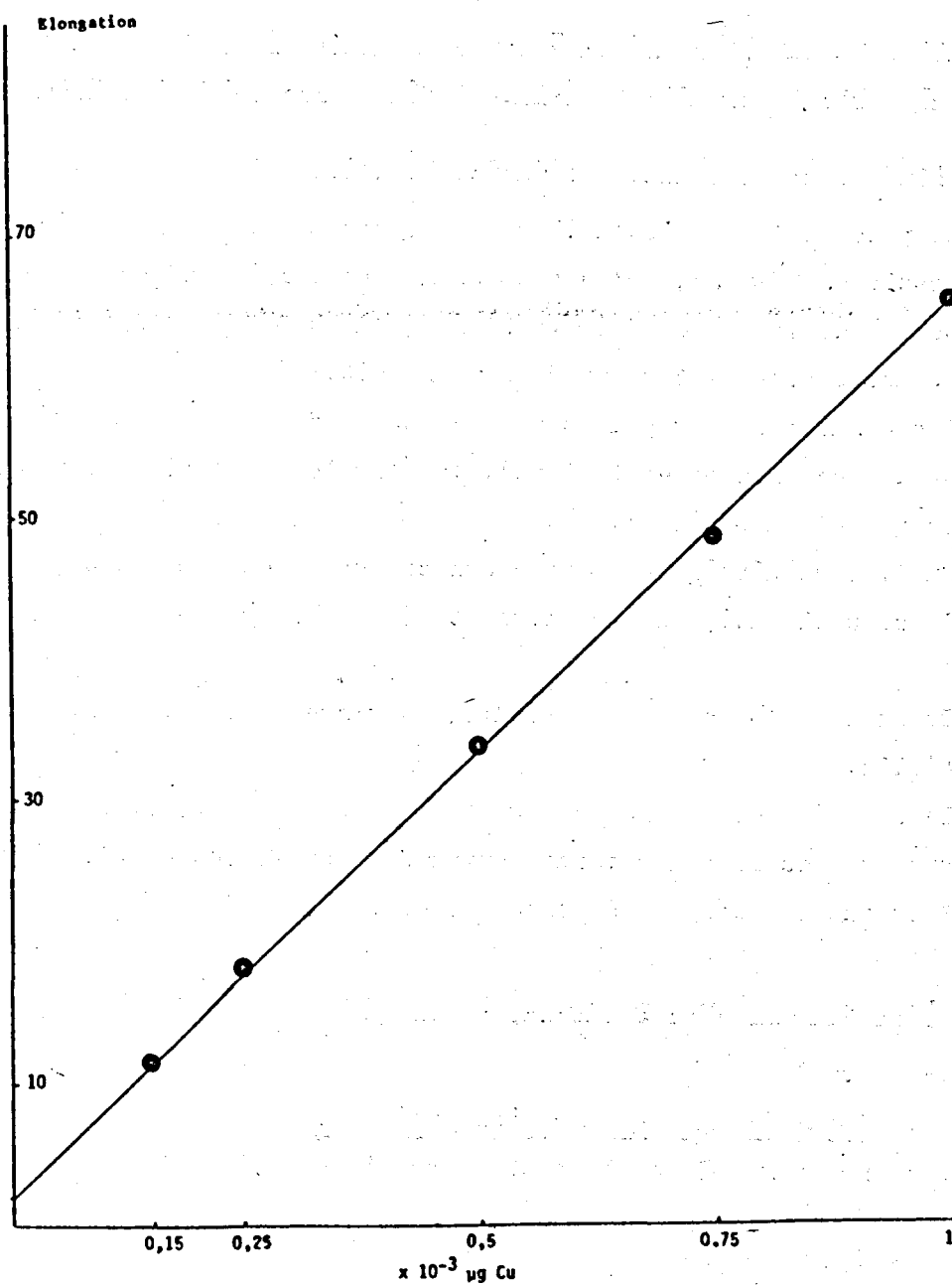


fig. 2.
Courbe de dosage du cuivre

- Limite de détection : 1×10^{-10} g (soit pour 5 g de poisson non séché, dans 50 ml $\rightarrow$ limite de détection : 0,1 ppm).

3.2.1.2.- Standardisation et dosages

- Solution stock de 1000 μ g Cu/ml

On pèse 0,5 g de Cu métal spectro-pur J.M. qu'on solubilise dans 10 ml d' HCl 50 % et 2,5 ml d' H₂O₂ (30 %); porter ensuite à 500 ml dans un ballon jaugé avec de l' H₂O bidistillée.

- Au départ de cette solution stock, par dilutions successives avec H₂O bidistillée, on prépare une solution de 0,1 μ g Cu/ml (200 ml).

- Des solutions standards (100 ml , HNO₃ 5 %) contenant respectivement 0,015 — 0,025 — 0,050 — 0,075 — 0,1 μ g Cu/ml sont ensuite préparées au départ des dilutions précédentes.

- Blanc : HNO₃ 5 % .

- On injecte dans le four 10 μ l de chaque solution standard et on enregistre les hauteurs des pics correspondants.

- Ces données permettent le tracé d'une courbe standard jusqu'à $1,0 \times 10^{-3}$ μ g Cu (voir figure 2).

- 10 μ l de la solution de l'échantillon sont injectés dans le four, on enregistre la hauteur du pic, son report sur la courbe standard renseigne la quantité de Cu correspondante et permet le calcul de la teneur.

3.2.2.- Plomb

3.2.2.1.- Appareillage et conditions opératoires

- Perkin-Elmer 303 spectrophotomètre d'absorption atomique avec four HGA 70.

- longueur d'onde : 283 nm ;

- four : programme = 5 { séchage : 100°C (20 s)
préchauffage : 490°C (20 s);

voltage d'atomisation 8 V $\rightarrow$ température d'atomisation : 2200°C (20 s).

- Recorder readout : expansion : 3 .

- Enregistreur : 10 mV .

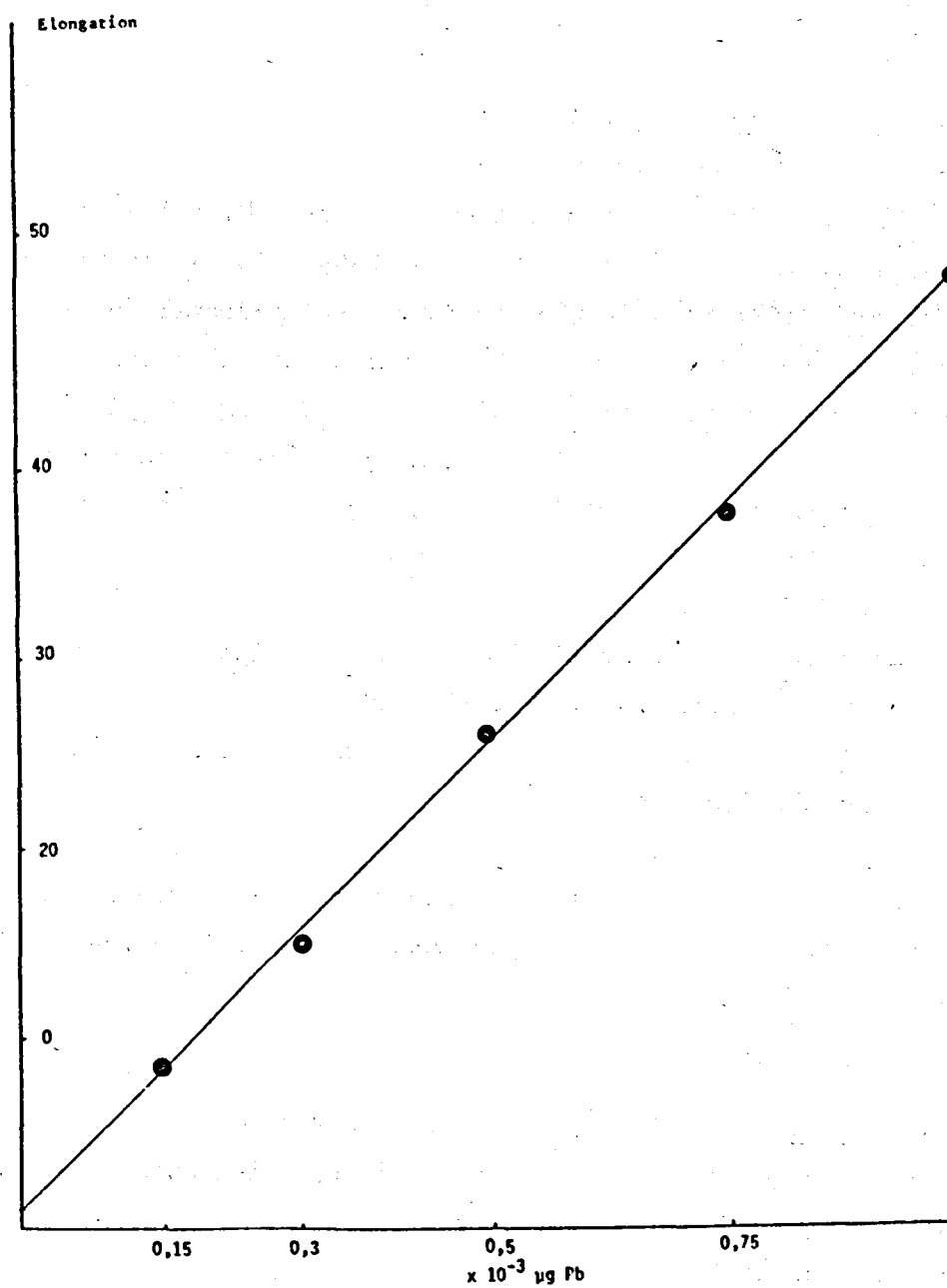


fig. 3.
Courbe de dosage du plomb

- Limite de détection : 1×10^{-10} g (5 g de poisson dans 50 ml → limite de détection : 0,1 ppm).

3.2.2.2.- Standardisation et dosages

- Solution stock de 1000 µg Pb/ml

On pèse 0,79927 g $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ spectro-pur J.M. à solubiliser dans 50 ml d' HNO_3 50 % ; porter ensuite à 500 ml dans un ballon jaugé avec de l' H_2O bidistillée.

- Des solutions standards de 0,015 — 0,03 — 0,05 — 0,075 — 0,1 µg Pb/ml - HNO_3 5 % sont préparées à partir de la solution stock (idem Cu , voir ci-dessus).

- Blanc : HNO_3 5 % .

- On injecte dans le four 10 µl de chaque solution standard et on enregistre les hauteurs des pics correspondants.

- Ces données permettent le tracé d'une courbe de dosage jusqu'à 1×10^{-3} µg Pb (voir figure 3).

- 10 µl de la solution de l'échantillon sont injectés dans le four; on enregistre la hauteur du pic, son report sur la courbe standard renseigne la quantité de Pb correspondante et permet le calcul de la teneur.

- Pour certains échantillons, il est nécessaire de faire les ajouts dosés à cause des interférences (Ca , K). L'abscisse à l'origine de la droite $y = ax + b$ renseigne la teneur en plomb dans 10 µl de la solution de l'échantillon à moitié diluée.

3.2.3.- Zinc

3.2.3.1.- Appareillage et caractéristiques de fonctionnement

- Perkin-Elmer 107 spectrophotomètre d'absorption atomique avec flamme acétylène (9 psig) - air (9 psig);

- longueur d'onde : 214 nm .

- Limite de détection : 0,05 µg Zn/ml (soit pour 5 g de poisson non séché, dans 50 ml → limite de détection de 0,5 ppm).

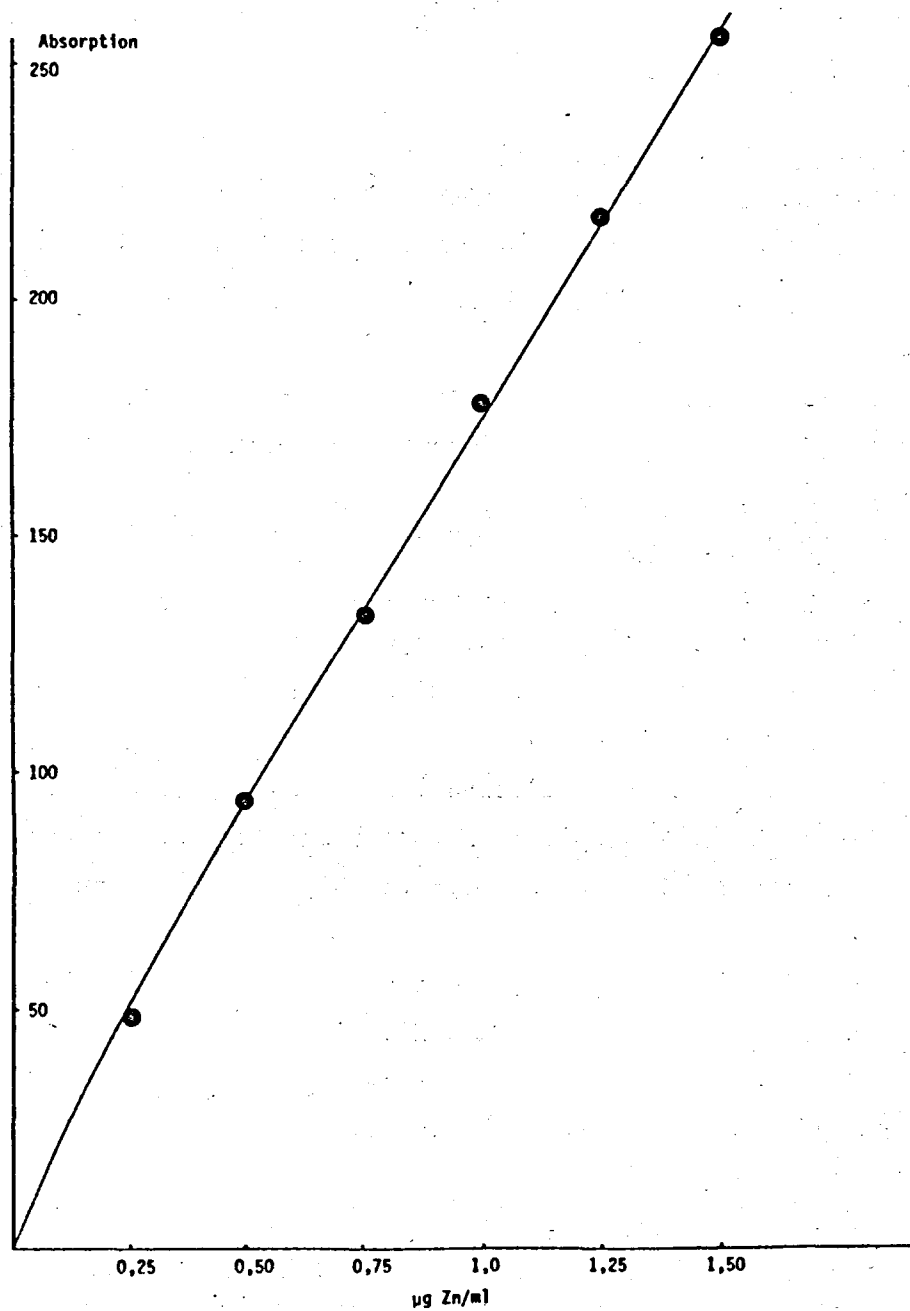


fig. 4.

Courbe de dosage du zinc

3.2.3.2.- Standardisation et dosages

- Solution stock de 1000 μg Zn/ml

On pèse 0,5 g de Zn métal spectro-pur Merck p.a. qu'on solubilise dans 50 ml HCl 50 % ; porter ensuite à 500 ml dans un ballon jaugé avec de l' H_2O bidistillée.

- Des solutions standards de 0,25 — 0,50 — 0,75 — 1,0 — 1,25 — 1,50 μg Zn/ml - HNO_3 5 % sont préparées à partir de la solution stock (idem ci-dessus).

- Blanc : HNO_3 5 % .

- Les solutions standards sont passées dans la flamme et donnent des valeurs d'absorption en fonction des concentrations.

- Ces données permettent le tracé d'une courbe de dosage jusqu'à 1,5 μg Zn/ml (voir figure 4).

- La solution de l'échantillon est aussi passée dans la flamme et sa valeur d'absorption reportée sur la courbe standard donne la concentration en zinc.

3.2.4.- Cadmium

3.2.4.1.- Appareillage et caractéristiques de fonctionnement

- Perkin-Elmer 303 spectrophotomètre d'absorption atomique avec four HGA 70

- longueur d'onde : 229 nm ;

- four : programme = 4 { séchage : 100°C (20 s)
préchauffage : 330°C (30 s);

voltage d'atomisation 8 V $\rightarrow$ température d'atomisation : 2200°C (20 s).

- Recorder readout : expansion : 3 .

- Enregistreur : 10 mV .

- Limite de détection : 1×10^{-11} g (soit pour 5 g de poisson non séché, dans 50 ml $\rightarrow$ limite de détection : 0,01 ppm).

- Il est fait en plus usage de la lampe au deutérium.

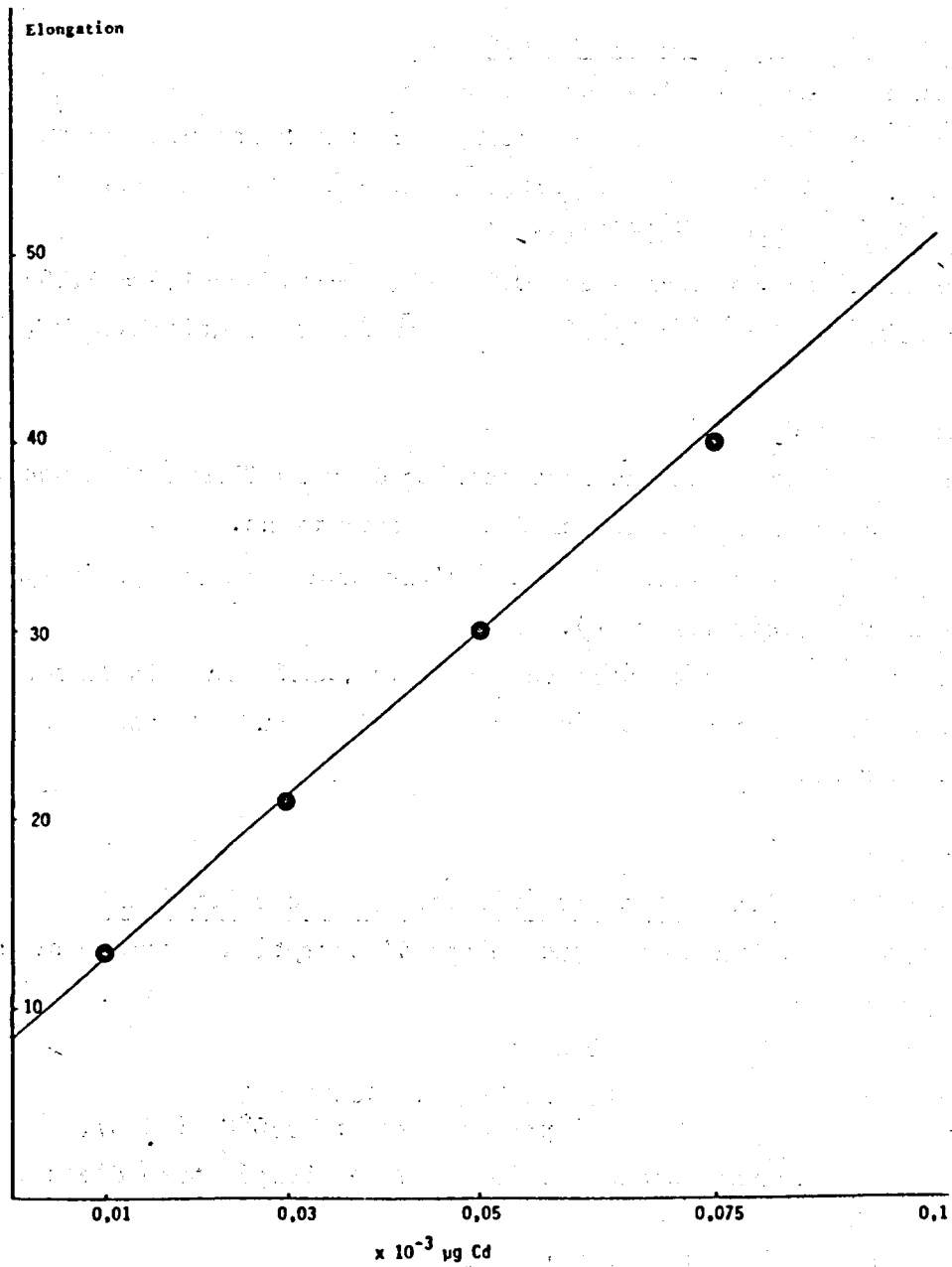


fig. 5.

Courbe de dosage du cadmium

3.2.4.2.- Standardisation et dosages

- Solution stock de 1000 μg Cd/ml

On pèse 0,5712 g CdO spectro-pur J.M. qu'on solubilise dans 50 ml HNO_3 50 % ; porter ensuite à 500 ml dans un ballon jaugé avec de l' H_2O bidistillée.

- Les solutions standards de 0,001 — 0,003 — 0,005 — 0,0075 — 0,01 μg Cd/ml - HNO_3 5 % sont préparées à partir de la solution stock (idem ci-dessus).

- Blanc : HNO_3 5 % .

- On injecte dans le four 10 μl de chaque solution standard et on enregistre les hauteurs des pics en fonction des concentrations.

- Ces données permettent le tracé d'une courbe de dosage jusqu'à $0,1 \times 10^{-3}$ μg Cd (voir figure 5).

- 10 μl de la solution de l'échantillon sont injectés dans le four; on enregistre la hauteur du pic obtenu; son report sur la courbe standard donne la quantité de cadmium correspondante et permet le calcul de la teneur.

N.B. Au cas, où certaines solutions donnent des pics relativement hauts et dédoublés à l'amorce (interférences), les solutions seront diluées davantage pour éviter cet effet.