

Filière Technologies du Vivant

Orientation chimie analytique

Diplôme 2009

Harry RAMANANTOANINA

**DEVELOPPEMENT D'UNE METHODE DE
DETERMINATION DU MONOMETHYLE
MERCURE DANS DES ECHANTILLONS DE SOL
ET DE SEDIMENTS PAR SPECTROMETRIE
D'ABSORPTION ATOMIQUE DE VAPEUR
FROIDE AVEC AMALGAMEUR EN OR**

Professeur
Expert

Prof. Romolo Cicciarelli
Dr. Hervé Garraud

Determination of the monomethylmercury in soil and sediments sample by cold vapor atomic absorption spectrometry with gold amalgamator.

Abstract

A simple and precise method has been developed for the determination of trace amounts of methylmercury in soil or sediments matrices by using electrothermal cold vapor atomic absorption spectrometry with gold amalgamator. All mercury species were extracted from the soil by acid digestion (nitric acid 4 M) using closed microwave assisted extraction.

Methylmercury was quantitatively separated from the matrix by solid phase extraction using a cation exchange sorbent followed by solvent extraction with dichloromethane.

The extracted methylmercury was then measured by electrothermal atomic absorption spectrometry gold amalgamator with external calibrations.

Recovery of 47.5 % was achieved for methylmercury in these techniques. The limit of detection of methylmercury was found to be 2.8 µg/l (Eurachem method).

Key words

Mercury, Monomethylmercury, Atomic Absorption spectrometry, Gold amalgamator, Solid phase extraction, microwave assisted extraction

Développement d'une méthode de détermination du monométhyle mercure dans des échantillons de sol et sédiments par spectrométrie d'absorption atomique de vapeur froide avec amalgameur en or.

Résumé

Une méthode simple et précise est développée pour permettre la détermination de traces de monométhyle mercure dans un échantillon de sols ou sédiments par spectrométrie d'absorption atomique électrothermique de vapeur froide avec amalgameur en or. Toutes les formes chimiques du mercure sont extraites du sol par extraction acide nitrique 4 M en utilisant un micro-onde en système fermé.

Le monométhyle mercure est séparé quantitativement de l'extrait acide par extraction en phase solide utilisant un SPE échangeuse de cations suivi d'une extraction liquide/liquide par le dichlorométhane.

Le monométhyle mercure extrait est ensuite analysé par spectrométrie d'absorption atomique électrothermique avec amalgameur en or par étalonnage externe.

Un taux de recouvrement de 47.5 % est trouvé pour le monométhyle mercure dans cette technique. La limite de détection du monométhyle mercure est donnée à 2.8 µg/l (Eurachem).

Mots clés

Mercure, Monométhyle mercure, Spectrométrie d'absorption atomique, Amalgameur en or, Extraction en phase solide, Extraction en milieu acide par micro-onde.

Remerciement

Ce travail de diplôme a été réalisé dans le laboratoire d'Ultra Trace Analyse Aquitaine (UT2A), une cellule d'application du Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS) à Pau (France) entre septembre 2008 et janvier 2009.

Je tiens à exprimer ma profonde et sincère reconnaissance au Docteur Hervé Garraud pour m'avoir accueilli au sein de son groupe. Je remercie aussi très chaleureusement le Professeur Romolo Cicciarelli pour m'avoir encadré durant ces 6 mois en tant que responsable du travail de diplôme. Leurs conseils, leur confiance et leurs encouragements m'ont été d'une aide précieuse tout au long de ce travail.

Je remercie tout particulièrement le Docteur Hugues Paucot, ingénieur à l'UT2A, ainsi que l'ensemble de l'équipe de l'UT2A : Fabienne Séby, Jean Dumont, Didier Montaut, Damien Plaa,.... Aucun remerciement ne sera à la hauteur de leurs témoignages de solidarité et d'amitié.

Ce travail n'aurait pu être réalisé sans l'intervention de Monsieur Sylvain Mallet représentant du Courtage Analyse Service, France (CAS).

Merci à Monsieur David Mirka de l'entreprise Lonza à Viège (Suisse) de m'avoir permis de travailler sur leur DMA 80 durant deux jours.

Merci au Professeur Frans Zonnevjlle et au Docteur Christophe Saudan de m'avoir entendu, soutenu et aidé dans les moments les plus cruciaux de ce travail.

À vous tous qui avez été collègues et amis, je vous suis reconnaissant.

Merci à David Fray d'avoir su interpréter virtuosément le concerto pour clavier (piano) BWV 1052, 1056 et 1058 de Jean Sebastian Bach. Cette musique m'a accompagné durant ces six mois de stage de diplôme.

Liste des abréviations et acronymes

AMA 254	Absorption Mercury Analyzer
Hg	Mercure
T Hg	Mercure total
I Hg	Mercure inorganique
MMHg	Monométhyle mercure
HES_SO	Haute école spécialisée de Suisse occidentale
UT2A	Ultra trace analyse aquitaine, Pau, France
CNRS	Centre national de la recherche scientifique, France
MAE	Microwave assisted extraction
oMAE	Open microwave assisted extracion
cMAE	Closed microwave assisted extraction
SPE	Solid phase extraction
LoD	Limite de détection
LoQ	Limite de quantification
ICP_MS	Inductively coupled plasma mass spectrometry
CV	Coefficient de variation
CAS	Courtage Analyse Service, France
AAS	Absorption atomic spectrometry
DMA 80	Direct mercury analyzer
DRC	Dynamic reaction cell
uma	Unité de masse atomique
BCR	
EDTA	Ethylène diamine tetra acétique
DEDTCA	Acide diéthyledithiocarbamique
Ech.	Échantillon
M	Molaire

Table des matières

1	PARTIE THEORIQUE	8
1.1	Introduction générale	8
1.2	Objectif du travail de diplôme	10
2	PARTIE EXPERIMENTALE	11
2.1	Matériels, réactifs et solvants	11
2.1.1	Matériels	11
2.1.2	Réactifs et toxicité	13
2.1.3	Produits chimiques, solvants et écotoxicité	14
2.2	Instruments d'analyse	15
2.2.1	DMA 80	15
2.2.2	AMA 254	16
2.3	Méthode	17
2.3.1	Dosage du T Hg dans la matrice solide	18
2.3.2	Dosage du T Hg dans l'extrait acide après extraction par micro-onde en système fermé (cMAE)	18
2.3.3	Dosage du T Hg dans l'extrait acide après extraction par micro-onde en système ouvert (oMAE)	18
2.3.4	Détermination spécifique du MMHg par extraction liquide/liquide de l'extrait acide.	19
2.3.5	Détermination spécifique du MMHg par extraction liquide/liquide d'un extrait alcalin	19
2.3.6	Détermination spécifique du MMHg par extraction solide/liquide	20
3	RESULTATS ET DISCUSSION	21
3.1	Optimisation des paramètres physiques de l'AMA 254	21
3.2	Optimisation des paramètres spéciaux de l'AMA 254	23
3.2.1	Le débit de gaz vecteur	23
3.2.2	Température de la cellule de mesure	23
3.3	Optimisation du nettoyage de l'AMA 254	24
3.4	Stabilité du mercure en solution	26
3.4.1	Étude de la stabilité du MMHg et de l'I Hg en milieu acide	26
3.4.2	Étude de la stabilité du MMHg et de l'I Hg en milieu organique	28
3.5	Étude de l'extraction du T Hg dans des échantillons de sol et sédiments par MAE	29

3.6	Étude de l'extraction sélective du MMHg par extraction liquide/liquide	31
3.6.1	Extraction sélective du MMHg en milieu acide par un solvant organique.	31
3.6.2	Extraction organique du MMHg en milieu alcalin	37
3.7	Étude de l'extraction du MMHg par extraction solide / liquide	39
3.7.1	Étude de la rétention du MMHg par un SPE Echangeuse de cations	39
3.7.2	Étude de la rétention du MMHg par un SPE C18	40
3.8	Contrôle qualité	42
3.8.1	Étalonnage du MMHg et de l'I Hg	42
3.8.2	Répétabilité des mesures et représentation de l'effet mémoire	43
3.8.3	Justesse de la méthode	45
3.8.4	LoQ et LoD de la méthode	46
4	CONCLUSION ET PERSPECTIVES	47
4.1	Conclusion générale	47
4.2	Perspectives	48
5	BIBLIOGRAPHIE	49
6	ANNEXE	52

1 PARTIE THEORIQUE

1.1 Introduction générale

Le mercure est l'élément chimique métallique de numéro atomique 80. Son symbole chimique est Hg ; venant du latin « Hydrargyrum » qui signifie argent liquide ou vif-argent. Le mercure se caractérise par son éclat argenté [1] et la tendance qu'il a à former des gouttes qui roulent rapidement sur les surfaces non-planes [1]. Dans les conditions de température de 20°C et de pression de 1 atm, la masse volumique du mercure élémentaire est 13.53 g/ml [2] et sa tension de vapeur est 0.17 Pa [2].

Le mercure fait partie des sept métaux connus de l'Antiquité [3]. À cette époque, les sept métaux étaient assimilés à des corps célestes lesquels correspondant aux sept jours de la semaine [3]. Le nom mercure vient ainsi de la planète mercure et du dieu Romain du commerce et des voyageurs du même nom ; d'où Mercredi (Mercurii dies) [3].

La toxicité du mercure est connue depuis l'époque Romaine [4]. Pline le Jeune [5] (écrivain et homme politiques Romain ayant vécu en 61-114 après J.C) rapportait que des esclaves travaillant dans les mines de mercure ressentaient des malaises. Paracelsus [5] (Médecin Suisse ayant vécu en 1493-1541) décrivait les empoisonnements dus au mercure.

A cause de cela, le mercure éveille la curiosité de l'homme depuis fort longtemps. En 1865, *Hill Hassall A., & al.*, [6] développaient une méthode permettant de déterminer le chlorure et l'urée contenue dans l'urine. L'urée est convertie quantitativement en eau, acide carbonique, diazote et ammoniaque avec une solution de protonitrate de mercure en milieu acide nitrique. En 1891, *Smith E.F., & al.*, [7] publiaient une méthode électrolytique permettant de déterminer le mercure total en phase aqueuse. Cette méthode utilisait une anode rotative pouvant précipiter 500 mg de mercure en 12 minutes. Au début du vingtième siècle, en 1925, *Booth H.S., & al.*, [8] proposaient une méthode colorimétrique permettant de déterminer les traces de mercure total dans des échantillons biologiques. *Booth H.S., & al.*, [8] voulaient déterminer l'efficacité des médicaments à base de mercure grâce au rapport entre son absorption et son excrétion par le corps humain. Le mercure total était observé par colorimétrie en utilisant le sulfure d'hydrogène, le chlorure d'étain, l'iodure de potassium et le thiocyanate d'ammonium comme réactifs. En 1930 une méthode de détermination de mercure total était effectuée par *Willard H.H., & al.*, [9]. Cette méthode consistait à comparer l'efficacité de la réduction de toutes formes de mercure en mercure métallique par l'hydrazine ou le chlorure d'étain. 1967 marque la première grande utilisation de la spectrométrie d'absorption atomique. La même année, *Hingle D.N., & al.*, [10] découvraient que la spécificité d'une méthode de détermination du mercure inorganique par AAS air-acétylène dépend du degré d'oxydation du mercure. Le mercure I serait plus sensible que le mercure II. En 1980, *Locke J., & al.*, [11] élaboraient une méthode de détermination du mercure total en science forensique par ICP-OES, ce qui permit d'avoir un taux de recouvrement élevé en milieu organique.

Cependant, actuellement, le dosage du mercure total ne suffit plus pour déterminer sa toxicité. En effet, toutes les formes de mercure sont toxiques pour tous les êtres vivants [12], mais cette toxicité dépend de la quantité, du type de composés [13] ou de l'accumulation [14] et les temps de rétention dans l'organisme [14]. Les composés de mercure sont capables de réaliser de fortes liaisons avec des groupements contenant du soufre [15]. Ainsi, le mercure peut empêcher l'activité des enzymes [15] (contenant des ponts disulfure) pour catalyser des réactions chimiques de l'organisme, ou détruire des cellules vivantes dont les parois cellulaires contiennent également du soufre [15].

Trois formes de mercure (Hg) existent dans l'environnement et dans les systèmes biologiques : le mercure élémentaire, les formes inorganiques de mercure et les formes organiques de mercure [16]. La plupart des composants organiques de mercure sont considérés comme cancérogènes [17][18], et une exposition répétée à ces composants peut conduire à une perturbation sensorielle [19][20], troubles neurologiques [19][20], constriction du système visuel [20] et absence de coordination de mouvement (ataxie) [20].

Plusieurs techniques et méthode analytiques ont été développées pour identifier et déterminer les formes de mercure dans les échantillons de sol et sédiment. La plupart de ces techniques sont des techniques couplées comprenant une séparation chromatographique suivi d'une détection par spectrométrie atomique (comme la spectrométrie de masse à plasma induit ICP-MS) [21][22]. Ces techniques sont connues pour avoir des limites de détection très faibles, mais un problème subsiste rendant la méthode très limitée : le coût et l'entretien de l'appareil.

Par conséquent, l'analyse chimique a mis au point divers analyseurs de mercure total (AMA 254 , DMA 80,...) ayant un coût relativement abordable, pouvant être facile à entretenir pour des analyses de laboratoire de routine et permettant d'atteindre des limites de détection comparables aux techniques couplées chromatographie ICP-MS. Toutefois, ces méthodes ne permettent d'accéder qu'au mercure total. L'association de cette méthode à des protocoles de séparations des différentes formes chimiques du mercure pourrait permettre la spéciation du mercure.

1.2 Objectif du travail de diplôme

Ce travail de diplôme vise essentiellement l'objectif de pouvoir faire la spéciation du monométhyle mercure dans des échantillons de sol et de sédiment par spectrométrie d'absorption atomique de vapeur froide avec amalgameur en or (AMA 254).

Le monométhyle mercure est un alkylmercure faisant partie des formes organiques de mercure. Il est particulièrement dangereux pour l'homme et pour l'environnement. Il est formés à partir de composé de mercure inorganique sous l'action de microorganismes anaérobies dans les sédiments.

L'effet néfaste du monométhyle mercure a été mis en évidence en 1956 sur l'île japonaise de Kyushu dans la baie de Minamata. Une maladie du système nerveux inconnu de l'époque se caractérise par un trouble de la vue et de l'équilibre, de perturbations de la sensibilité de la bouche ou des lèvres ou de la langue et d'une perte de mémoire conduisant à une apathie très prononcée. Il s'agissait à l'époque d'une intoxication alimentaire provoquée par le monométhyle mercure. En effet, de 1932 à 1986, une unité de fabrication chimique déversait dans la mer plus de 80 tonnes de mercures métalliques qui étaient utilisées comme catalyseur pour la synthèse de l'acétaldéhyde. Les microorganismes vivant dans le sol et sédiment à proximité de la baie avaient transformé le mercure en monométhyle mercure qui s'était accumulé dans les poissons, nourritures principales de la population. La teneur en monométhyle mercure dans les poissons était de 10 à 30 mg/kg [6]. En ce moment, la valeur limite de cette teneur est limitée dans les aliments de 0.5 à 1 mg/kg [25] par l'union européenne (résolution AP96-4 du Conseil de l'Europe).

Ainsi, déterminer le monométhyle mercure dans le sol ou sédiment est nécessaire pour pouvoir retracer sa bioaccumulation le long de la chaîne alimentaire.

Les points suivants sont mis en évidence pour le déroulement de ce travail :

Optimisation des paramètres de l'instrument d'analyse (temps de séchage, temps de décomposition et temps d'attente) par un plan factoriel à 8 expérimentations.

Comparaison d'une méthode d'extraction acide nitrique 4M de toutes les formes de mercures dans le sol par micro-onde en système ouvert (oMAE) et fermé (cMAE).

Comparaison de l'efficacité de l'extraction en phase solide (SPE) du monométhyle mercure, en utilisant un SPE échangeur de cation et un SPE phase C18.

Comparaison de l'efficacité de l'extraction liquide / liquide du monométhyle mercure dans l'extrait acide par trois solvant organique : l'iso-octane, le xylène et le dichlorométhane.

2 PARTIE EXPERIMENTALE

2.1 *Matériels, réactifs et solvants*

2.1.1 Matériels

Matériel de laboratoire standard.

Des tubes en polypropylène du CAS France pouvant contenir jusqu'à 50 ml de volume sont utilisés. Ces tubes sont à usage unique et sont jetés après utilisation dans des conteneurs appropriés.

Les ustensiles de laboratoire et la verrerie sont nettoyés plusieurs fois avec de l'acide nitrique 5% et rincés avec de l'eau ultra-pure, conformément à la procédure décrite par *Laxen D., & al.*, [25]

L'eau ultra-pure est obtenue par purification de l'eau de distribution par le système Milli Q de Millipor USA de telle sorte qu'elle ait une résistance de 18.2 MΩ/cm.

Tous les réactifs et produits chimiques utilisés sont de degré analytique (analytical grade) et toutes les solutions aqueuses sont préparées avec de l'eau ultra-pure.

La balance analytique Precisa Serie 220 XR du groupe Precisa France est utilisée. La balance analytique peut atteindre une pesée de 125 g et la précision est de l'ordre de 0.01 mg.

Un pH mètre 320 set 1 portatif du groupe WTW France avec un système d'électrode combiné est utilisé. Le pH mètre est calibré avant toutes utilisations par trois solutions standards de calibration à pH 4, 7 et 11.

Un système micro-onde de laboratoire ouvert (oMAE) Microdigest 3.6 de Prolabo Fontenay-sous-bois France équipé avec un contrôle de température et de puissance est utilisé. Le matériel peut extraire trois échantillons simultanément. Des tubes en TFM (Téflon résistant à la température) de contenance de 100 ml sont utilisés pour l'extraction.

Un système micro-onde de laboratoire fermé (cMAE) Multiwave 3000 du groupe Anton Paar de Virginia USA est utilisé. Le cMAE fonctionnait à une fréquence de 2450 Hz en single phase et d'une puissance de 1400 W. Le cMAE possède un carrousel pouvant contenir jusqu'à 16 échantillons. Des tubes en TMF, téflon de haute pureté sont utilisés pour l'extraction.

Un SPE échangeur de cation DigiSEP Blue de SCP Science Montréal Canada (100 mg, 6 ml) est utilisé. La colonne contient une phase stationnaire constituée de méthylacrylate sur la quelle sont greffées un groupement fonctionnel amino di-acétate pouvant retenir entre 0.29 à 0.34 mmol/g d'ion cuivre II. La phase stationnaire est constitué des particules de taille entre 60 et 75 μm dont la surface spécifique des particules vaut 70 à 100 m^2/g . Le SPE est pré conditionné avec de l'acide nitrique 2 M (5 ml), de l'eau ultra-pure (5 ml) et un tampon acétate de 0.1 M à pH 5.5 (5 ml). L'échantillon est passé à travers la phase solide à un débit d'environ 2 à 5 ml par minute. L'élution est faite avec une solution d'acide nitrique 2 M (3 à 5 ml) avec le même débit que l'échantillon.

Un SPE C18 rétention d'organique de SCP Science Montréal Canada est utilisé (100 mg, 6 ml). La colonne contient une phase stationnaire constituée de méthylacrylate et de résine C18. Les particules constituant la phase stationnaire avaient un diamètre entre 60 et 75 μm et une surface spécifique de 620 à 660 m^2/g . Le SPE est conditionné avec une solution ultra-pure de méthanol (5 ml), un tampon hydroxyde d'ammonium à pH 7.8 (5 ml). L'échantillon (5 ml) est passé à travers la phase solide avec un débit de 2.5 à 4 ml par minute. L'élution est faite avec du méthanol ultra-pur ou l'acétonitrile (3 à 5 ml).

Un matériel de référence BCR 580 de l'Union Européenne constitué de sédiment marin est utilisé. Le sédiment certifié contient 132 ± 3 mg/Kg de T Hg et 75.5 ± 3.7 mg/Kg de MMHg. L'analyse du MMHg sur ce sédiment certifié nécessite une pesée d'environ exactement 200 mg pour être reproductible (CV entre 3.3 et 8.6 %).

Un échantillon de sol du laboratoire BABS Spiez (Suisse) est utilisé. La concentration de référence en T Hg était de 1000 mg/Kg.

Deux échantillons de graphite de l'industrie Timcal Graphite et carbon de Bodio (Suisse) sont utilisés.

2.1.2 Réactifs et toxicité

Une solution en milieu acide nitrique 3.5 % d'I Hg de Inorganic Ventures est utilisée. La concentration en Hg dans cette solution est de $1010 \pm 3 \mu\text{g/L}$. Le standard est contenu dans une bouteille en polyéthylène dont la manipulation nécessite beaucoup de précaution car très toxique (T+) et dangereux pour l'environnement (N).

Les risques et sécurité relatifs à ce produit sont :

Risque :

- ✓ Toxique en cas d'ingestion.
- ✓ Peut causer des brûlures.
- ✓ Dangereux et peut être un danger pour la santé au cas d'exposition prolongé.
- ✓ Toxique par inhalation et contact avec la peau
- ✓ Très toxique pour les organismes aquatiques et peut causer des effets divers à long terme sur les organismes aquatiques.

Sécurité :

- ✓ Blouse de protection nécessaire dans le laboratoire, gants et lunettes de protection recommandées.
- ✓ Le matériel et la bouteille doit être mis dans une enceinte fermée munie de l'étiquette très toxique.

Une solution de 1 mg/l en Hg de l'I Hg dans de l'acide nitrique 3.5 % est préparée tous les jours à chaque utilisation.

Un standard de MMHg poudre de Fluka Pestanal analytical standard 33368 est utilisé. Les risques et sécurité relatifs à ce produit sont :

Risque :

- ✓ Très toxique par inhalation
- ✓ Très toxique par contact avec la peau
- ✓ Toxique en cas d'ingestion
- ✓ Dangereux provoquant des effets cumulatifs
- ✓ Très toxique pour les organismes aquatiques et peut causer des effets divers à long terme sur les organismes aquatiques.

Sécurité :

- ✓ Tenir à l'écart de la nourriture, des boissons et des aliments pour animaux
- ✓ En cas de contact avec la peau, rincer immédiatement avec de l'eau et tenir compte d'un avis médical.
- ✓ Blouse de laboratoire fortement recommandée.
- ✓ Le matériel et la bouteille doit être mis dans une enceinte fermée munie de l'étiquette très toxique.

Une solution à 1000 mg/l en Hg de MMHg est faite par dissolution d'environ exactement 25 mg de chlorure de méthyle mercure II dans 20 g de méthanol. La solution est stockée au congélateur. La solution stock de MMHg 10 mg/l en Hg est préparée en diluant 100 fois la solution à 1000 mg/l dans de l'acide chlorhydrique 1 %. Une solution mère de MMHg 1 mg/l en Hg est préparée tous les jours d'analyse dans de l'acide nitrique 3.5 %.

2.1.3 Produits chimiques, solvants et écotoxicité

Les produits chimiques et solvants utilisés sont énumérés dans le tableau suivant (en même temps leur provenance et leur écotoxicité).

Tableau 1 : Liste des produits chimiques et solvants utilisés

Produits chimique	Provenance	Ecotoxicité
Méthanol ultra-pur	JT Baker 8898	F et T
Dichlorométhane pro analysis	Aldrich 270997	Xn
Ethanol ultra-pur	JT Baker 8006	F
Tétrachlorure de carbone pur	JT Baker 7016	N et T
Acide acétique 100 %	JT Baker 6052	C
Acétate d'ammonium 99.9 %	JT Baker 0011	-
DEDTCA 99.8 %	Aldrich 318116	Xi
EDTA 99.8 %	Aldrich 431788	Xi
Acide chlorhydrique 37 %	JT Baker 6070	C
Acide nitrique 69 %	JT Baker 6019	C et O
Xylène pro analysis	JT Baker 8146	Xn
Iso-octane pro analysis	Aldrich 360066	F, Xn et N
Iodure de potassium 99.9 %	Sigma 60399	F
Hydroxyde de potassium	Aldrich P5958	C
Hydroxyde d'ammonium	Aldrich 338818	C et N

B : Danger biologique, C : Corrosif, E : Explosif, F : Inflammable, F+ : Très inflammable, Xn Nocif, Xi : Irritant, N : Dangereux pour l'environnement, O : Oxydant, R : Radioactive, T : Toxique, T+ : Très toxique.

De l'acide nitrique 2 M est préparée par dilution de 8 fois de l'acide nitrique 69 %

De l'acide nitrique 3.5 % (environ 0.5 M) est préparé par dilution de 20 fois de l'acide nitrique 69 %.

Un tampon acétate 0.1 M est préparé en mélangeant 44.7 ml d'une solution aqueuse d'acétate de sodium 0.1 M avec 5.4 ml d'une solution aqueuse d'acide acétique 0.1 M. Le pH du tampon est mesuré et ajusté à pH 5.5 avec l'acide acétique 0.1 M.

2.2 Instruments d'analyse

À cause de pannes récurrentes rencontrées sur l'AMA 254 du laboratoire UT2A (Annexe 1), un DMA 80 de l'entreprise Lonza à Viège (Suisse) est utilisé.

L'AMA 254 et le DMA 80 reposent sur le même principe d'analyse.

2.2.1 DMA 80

Un analyseur de mercure Milestone DMA 80 Monroe Connecticut USA de la Lonza, Visp, Suisse, spectromètre d'absorption atomique constitué d'un four catalytique en quartz et d'un amalgameur en or est utilisé. Le mercure est déterminé par spectrométrie d'absorption atomique de vapeur froide.

Les conditions optimales d'utilisation de l'instrument sont données dans le tableau 1.

Tableau 1 : Condition opératoire du DMA 80

Paramètres	Valeurs
Débit de gaz vecteur	
Température de séchage	200 °C
Temps de séchage	300 s
Température de décomposition	850 °C
Temps de décomposition	180 s
Temps d'attente	45 s
Température de désorption sur l'amalgame	550 °C
Temps de désorption	12 s
Temps de chauffage de l'amalgame	12 s
Temps de raccordement	30 s

2.2.2 AMA 254

Un Analyseur de mercure LECO © AMA 254, spectromètre d'absorption atomique constitué d'un four catalytique en quartz et d'un amalgameur en or est utilisé pour ce travail de diplôme. Le mercure est déterminé par spectrométrie d'absorption atomique de vapeur froide (CV AAS).

Une lampe à mercure fabriqué en République Tchèque à décharge sans électrode opérant à 180 mA est utilisée comme source de lumière. L'absorbance du mercure est mesurée à 254 nm avec une bande passante de 0.7 nm. Le MMHg est converti en mercure élémentaire par le passage dans le four catalytique.

Le four catalytique est constitué de granulés de couleur noir de composition confidentielle délimité aux extrémités du four par des laines de quartz.

Le passage du mercure de l'échantillon vers le four catalytique, l'amalgameur en or et le détecteur se fait à l'aide de l'oxygène comme gaz vecteur.

Les paramètres d'optimisation de l'AMA 254 sont : le temps de séchage, le temps de décompositions et le temps d'attente.

Les températures du four catalytique et de la cellule de détection ainsi que le débit de gaz vecteur sont des paramètres spécifiques et peuvent être modifié.

Deux cellules de mesures sont utilisées : une cellule à haute précision et une cellule à moyenne précision.

L'analyse quantitative est réalisée par étalonnage externe.

Les conditions optimales d'utilisation de l'instrument sont données dans le tableau 2.

Tableau 2 : Condition opératoire de l'AMA 254

Paramètres	Valeurs
Pression de gaz dans l'instrument	$\cong 1$ bar
Température de séchage	130 °C
Temps de séchage	60 s
Température de décomposition	750 °C
Temps de décomposition	150 s
Temps d'attente	45 s
Température de désorption sur l'amalgame	550 °C
Temps de désorption	10 s
Température du four catalytique	600 °C
Température de la cellule de mesure	115 °C

2.3 Méthode

Le diagramme ci-dessous montre la procédure suivie pour la détermination du MMHg dans l'échantillon étudié.

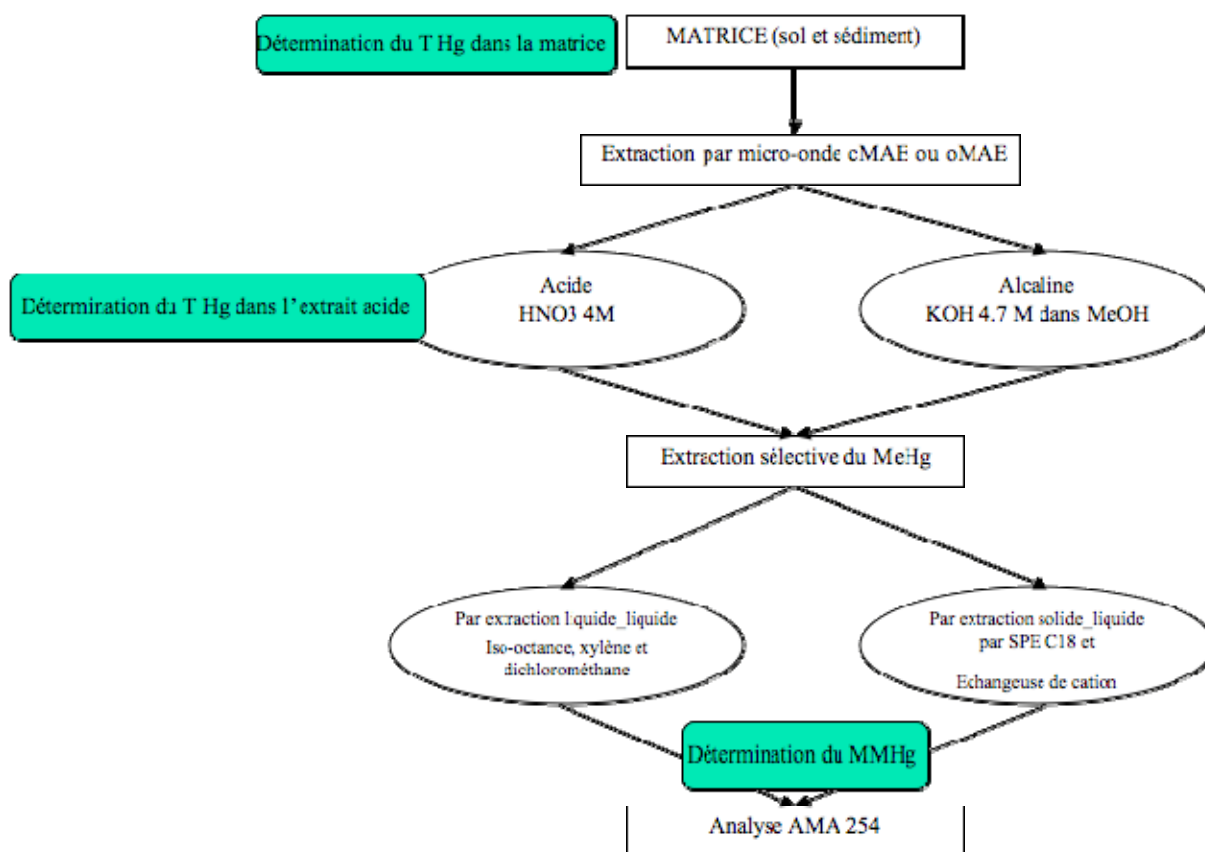


Figure 1 : Organigramme et procédure suivie pour le dosage du MMHg dans les sols et sédiments.

2.3.1 Dosage du T Hg dans la matrice solide

L'échantillon solide est analysé directement par l'AMA 254.

Environ exactement 100 mg de l'échantillon homogénéisé sont placés dans la nacelle en nickel porteuse d'échantillon. L'échantillon est introduit dans le four catalytique à l'aide de la porte-support-échantillon de l'appareil, séché à 130 °C durant 60 secondes puis décomposé à 750 °C durant 150 secondes. 45 secondes sont nécessaires pour l'adsorption du mercure sur l'amalgame.

Le blanc d'analyse est effectué avec la nacelle vide selon la même procédure.

La quantification du T Hg est obtenue par comparaison de l'absorbance mesurée de l'échantillon par rapport à un étalonnage externe.

2.3.2 Dosage du T Hg dans l'extrait acide après extraction par micro-onde en système fermé (cMAE)

Les échantillons de sol ou de sédiment ont été prélevés avec une spatule en acier inoxydable [26] et sont stockés dans un récipient en polypropylène ou PVC [26]. Les échantillons sont placés dans une enceinte aérée où il n'y a pas de grande variation de température.

Conformément à la procédure décrite par *Rahman G.M., & al.*, [27] environ exactement 100 à 1000 mg d'échantillon homogénéisé de sol ou sédiment sont placés dans le matras en téflon du cMAE avec 10 ml d'acide nitrique 4 M. Un barreau magnétique peut être ajouté si le système micro-onde le permet. L'échantillon est irradié par micro-onde durant 10 minutes à 100 °C (avec une puissance de 1200 W). Une rampe de 2 minutes est nécessaire pour passer de la température ambiante à 100 °C. Après irradiation, l'échantillon est laissé à température ambiante durant 10 minutes, filtré à 0.22 µm et stocké dans une chambre froide (5°C) jusqu'à l'analyse. Un blanc d'analyse est préparé selon la même procédure.

Les études effectuées par *Rahman G.M., & al.*, [27] ont permis de constater que les formes de mercure restent stables dans de l'acide nitrique 4 M pendant 2 jours.

L'extrait acide obtenu est dilué de telle sorte que sa concentration soit comprise entre 10 et 200 µg/kg. 100 µl de l'extrait acide dilué et du blanc d'analyse sont placés successivement dans la nacelle support d'échantillon de l'AMA 254. La procédure d'analyse suit le même principe que celui utilisé pour la détermination du T Hg dans la matrice solide.

2.3.3 Dosage du T Hg dans l'extrait acide après extraction par micro-onde en système ouvert (oMAE)

Environ exactement 100 mg de l'échantillon solide homogénéisé sont placées dans le matras en téflon du système micro-onde avec 10 ml d'acide nitrique 4M. L'échantillon est irradié durant 10 minutes à une puissance de 60 W (puissance permettant une température entre 100 et 115 °C). L'échantillon est laissé à température ambiante pendant 30 minutes, filtré à 0.22 µm et stocké à 5°C avant l'analyse.

L'échantillon est dilué et 100 µl de l'extrait acide dilué sont analysés selon la même procédure que celle utilisée pour la détermination du T Hg dans la matrice solide par l'AMA 254.

2.3.4 Détermination spécifique du MMHg par extraction liquide/liquide de l'extrait acide.

L'extraction liquide/liquide est optimisée en prenant en compte trois solvants organiques : iso-octane, dichloromethane et xylène.

3 ml de solvant organique sont ajouté dans 3 ml de l'extrait acide dilué (le rapport de volume est de 1 :1). Le mélange est agité durant 5 minutes et laissé reposer à température ambiante durant 20 minutes jusqu'à formation d'une interface entre les deux phases liquides.

100 µl de la phase organique et de la phase aqueuse sont analysés dans l'AMA 254 selon la même procédure d'analyse que la détermination du T Hg dans la matrice solide.

2.3.5 Détermination spécifique du MMHg par extraction liquide/liquide d'un extrait alcalin

L'extraction alcaline du mercure total par système micro-onde a été optimisé par *Liang L., & al.*, [33]. Cette extraction n'a pas été effectuée.

Un extrait alcalin est imité en préparant une solution à 4.7 M d'hydroxyde de potassium dans du méthanol. Cette solution est ensuite dopée avec 100 µg/L de MMHg et d'I Hg individuellement.

L'extraction liquide/liquide est optimisé en prenant en compte deux solvants organiques : xylène et dichlorométhane.

3 ml du solvant organique est ajouté dans 3 ml de l'extrait alcalin (le rapport de volume est de 1 :1). Le mélange est agité durant 5 minutes et laissé reposer à température ambiante durant 20 minutes. Un mélange ternaire est effectué pour pouvoir distinguer deux phases dans le mélange en ajoutant de l'eau et du xylène lors l'extraction par le xylène et le dichlorométhane respectivement.

100 µl de la phase organique et de la phase aqueuse sont analysés dans l'AMA 254 selon la même procédure d'analyse que celle utilisée pour la détermination du T Hg dans la matrice solide.

2.3.6 Détermination spécifique du MMHg par extraction solide/liquide

Le schéma général de la procédure d'extraction solide/liquide (divisé en cinq étapes) par SPE est présenté dans la figure ci-dessous.

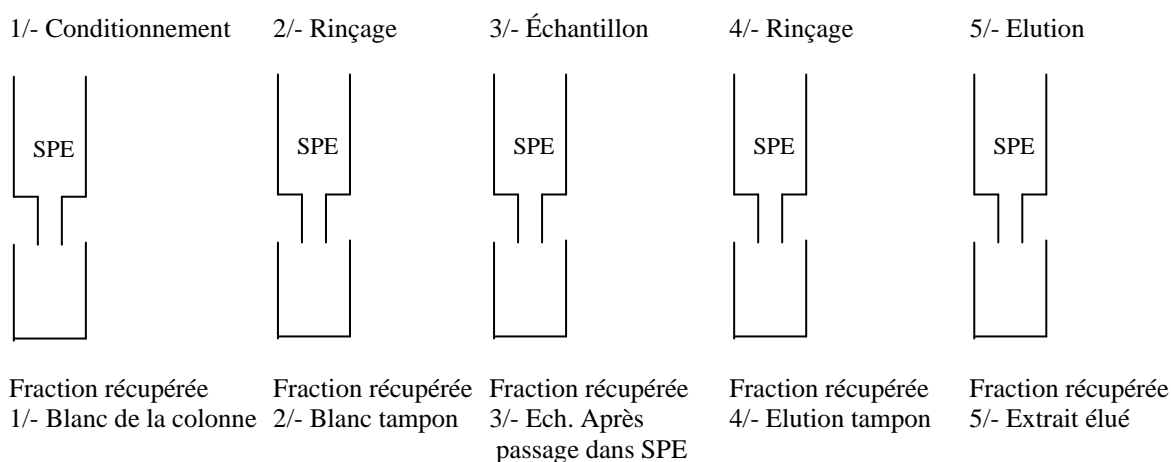


Figure 2 : schéma représentant les cinq étapes de l'extraction en phase solide.

L'extraction sélective du MMHg a été optimisée pour deux types de SPE basés sur des principes de séparation différents : une échangeuse de cations et une SPE C18.

Le tableau ci-dessous montre le déroulement de chaque étape pour les deux différentes SPE.

Tableau 3 : Les étapes du déroulement de l'extraction solide/liquide

SPE	Échangeuse de cations	C 18
Étape		
1/- Conditionnement	5 ml HNO ₃ 2 M	5 ml méthanol pur
2/- Rinçage	5 ml tampon acétate 0.1 M pH 5.5 5 ml eau ultra-pure	5 ml tampon NH ₄ OH 0.1 M pH 7.8 5 ml eau ultra-pure
3/- Échantillon	5 ml d'extrait acide dilué	5 ml d'extrait acide dilué
4/- Rinçage tampon	5 ml tampon acétate 0.1 M pH 5.5	5 ml tampon NH ₄ OH 0.1 M pH 7.8
5/- Éluion	5 ml HNO ₃ 2 M	5 ml méthanol pur

100 µl de l'échantillon et des fractions récupérées sont analysés sur l'AMA 254 selon la même procédure que celle utilisée pour la détermination du T Hg dans la matrice solide.

3 RESULTATS ET DISCUSSION

3.1 Optimisation des paramètres physiques de l'AMA 254

Les paramètres de l'AMA 254 ont été optimisés selon un plan factoriel de 2^3 . Huit expériences à trois répétitions chacune ont été réalisées avec un choix de trois variables dont : le temps de séchage, le temps de désorption et le temps d'attente.

Les paramètres répertoriés influant sur l'intensité du signal du mercure sont : le temps de séchage, le temps de désorption, le temps d'attente, la température de séchage, la température de désorption et le débit de gaz vecteur. Un plan factoriel à six variables pourraient être envisagé et nécessiterait dans le cas d'un modèle du premier degré 64 expériences [34].

Pour alléger l'expérience, trois variables seront maintenues constantes : la température de séchage, la température de décomposition et le débit de gaz vecteur. Les paramètres comme le volume d'injection ou la température de la cellule ou la concentration en MMHg (100 µg/l) étaient de la même façon considérée comme constante.

Le plan factoriel est ramené à l'étude de trois variables : le temps de séchage (A), de décomposition (B) et de désorption (C). Ces trois facteurs ont l'avantage d'être facilement contrôlables via le support informatique de l'instrument d'analyse.

La modélisation mathématique de l'intensité du signal du mercure se traduit par :

$$y = f(A, B, C)$$

Avec y est l'intensité du signal (réponse), A, B et C les paramètres pris en compte. L'expérimentation consistera donc à mettre en évidence les effets de chaque paramètre sur la réponse.

Tableau 12 : Matrice d'expérimentation

Matrice d'expérience			Valeur		
A	B	C	A	B	C
-1	-1	-1	30 s	100 s	15 s
+1	-1	-1	90 s	100 s	15 s
-1	+1	-1	30 s	200 s	15 s
+1	+1	-1	90 s	200 s	15 s
-1	-1	+1	30 s	100 s	60 s
+1	-1	+1	90 s	100 s	60 s
-1	+1	+1	30 s	200 s	60 s
+1	+1	+1	90 s	200 s	60 s

-1 et +1 sont les deux niveaux de variables du plan d'expérience. Ils remplacent le domaine d'étude et les huit réponses du signal sont faites par randomisation (aléatoire).

Tableau 13 : Représentation des effets des paramètres

N° de l'essai	Moyenne	Paramètres			Interaction entre paramètres				Réponse
		A	B	C	AB	AC	BC	ABC	
1	+1	-1	-1	-1	+1	+1	+1	-1	0.5393
2	+1	+1	-1	-1	-1	-1	+1	+1	0.5340
3	+1	-1	+1	-1	-1	+1	-1	+1	0.5747
4	+1	+1	+1	-1	+1	-1	-1	-1	0.5604
5	+1	-1	-1	+1	+1	-1	-1	+1	0.5580
6	+1	+1	-1	+1	-1	+1	-1	-1	0.5600
7	+1	-1	+1	+1	-1	-1	+1	-1	0.5780
8	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	+1	0.5573
Diviseur	8	4	4	4	4	4	4	4	
Effet	0.5577	-0.957	1.978	1.123	-0.793	0.023	-1.113	-0.343	

Les effets représentés ci-dessus ont été multipliés par 100.

Le modèle mathématique représentant l'intensité du signal du mercure est :

$$y = 0.5577 - 0.479 \cdot 10^{-2} x_A + 0.989 \cdot 10^{-2} x_B + 0.562 \cdot 10^{-2} x_C - 0.397 \cdot 10^{-2} x_A \cdot x_B + 0.012 \cdot 10^{-2} x_A \cdot x_C - 0.557 \cdot 10^{-2} x_B \cdot x_C - 0.172 \cdot 10^{-2} x_A \cdot x_B \cdot x_C$$

x_A , x_B et x_C sont des variables réduites tel que : $x_i = (X_i - X_{i,0}) / \Delta X_i$,

Avec $X_{i,0}$ la valeur de base (au centre du domaine expérimental niveau 0) ; ΔX_i , différence entre les extrémités du domaine expérimentale.

Cette relation montre que l'optimum devrait être situé au sein du domaine expérimental d'étude de ce plan factoriel. En effet, les effets des paramètres ne sont pas très considérables.

Cependant, l'influence du temps de décomposition dans le four catalytique influe faiblement sur le signal. Il a le plus fort poids positif ($1.978 \cdot 10^{-2}$) montrant que plus on donne du temps à la décomposition, la concentration en mercure se rapproche de l'espérance mathématique.

Par ailleurs, le temps de séchage exerce un poids négatif sur le signal ($-0.957 \cdot 10^{-2}$). Cela montre que sécher plus l'échantillon ferait diminuer le signal.

Les interactions entre facteurs sont généralement négligeables.

Contenu de cette étude, il a été convenu de donner 60 secondes pour le temps de séchage, 150 secondes pour la décomposition et 45 secondes pour l'attente.

3.2 Optimisation des paramètres spéciaux de l'AMA 254

3.2.1 Le débit de gaz vecteur

Le débit de gaz intervient lorsque le mercure passe à travers la cellule de mesure. Sa modification permet d'influencer la sensibilité ou la gamme dynamique de la méthode.

Un accroissement du débit de gaz augmente la gamme dynamique mais diminue la sensibilité de la méthode.

Un décroissement du débit de gaz augmente la sensibilité, mais diminue la gamme dynamique de la méthode.

En effet, cela se produit lors du séjour du mercure dans la cellule de mesure. Si le débit de gaz est important, le mercure passe rapidement devant le détecteur. Le pic du mercure deviendra plus fin, mais il y aura perte de sensibilité.

3.2.2 Température de la cellule de mesure

Chauffer la cellule de mesure permet de garder un flux constant de phase gazeuse avant le détecteur. Il doit être vérifié pour éviter la condensation liquide sur les lentilles ou sur le détecteur.

Le tableau ci-dessous montre la variation de l'intensité relative du signal en fonction de la température de la cuvette et le volume de l'échantillon introduit. L'intensité a été donnée en pourcentage par rapport à la température de 115 °C optimale pour le constructeur. Chaque mesure a été faite une seule fois.

Tableau 14 : Intensité du signal du I Hg 50 µg/l (en Hg) en fonction de la température de la cuvette et du volume d'échantillon.

Température cuvette	85 °C	100 °C	115 °C	125 °C
<i>Volume échantillon</i>				
100 µl	105 %	106 %	100 %	102 %
200 µl	Suspendue	Suspendue	100 %	100 %
400 µl	Suspendue	Suspendue	100 %	105 %

L'expérience est dite « suspendue » quand il y a un problème au niveau de la détection du mercure. En effet, il a été constaté lors de ces expériences que l'intensité de la lampe à Hg diminue considérablement. La cellule n'est pas suffisamment chauffée et de l'eau se condense sur le détecteur, bloquant la lumière.

3.3 Optimisation du nettoyage de l'AMA 254

À forte concentration, le MMHg et l'I Hg provoquent un effet mémoire dans la méthode de mesure. L'effet mémoire se caractérise par la rétention d'une petite quantité de mercure dans l'appareil de mesure. Cette quantité qui se désorbe au cours du temps contamine de nouveaux échantillons. Dans la perspective de pouvoir gérer ce problème, des procédures de rinçages sont faites à chaque analyse. Ainsi, nous avons étudié l'influence de quatre solvants sur le nettoyage de l'AMA 254 en polluant volontairement l'instrument.

Les solvants suivants ont été utilisés pour le nettoyage :

- ✓ Acide chlorhydrique 1 % dans l'eau
- ✓ Dichlorométhane
- ✓ Éthanol
- ✓ Tétrachlorure de carbone

L'intensité relative du signal par rapport au nombre de nettoyage est présentée figure 9.

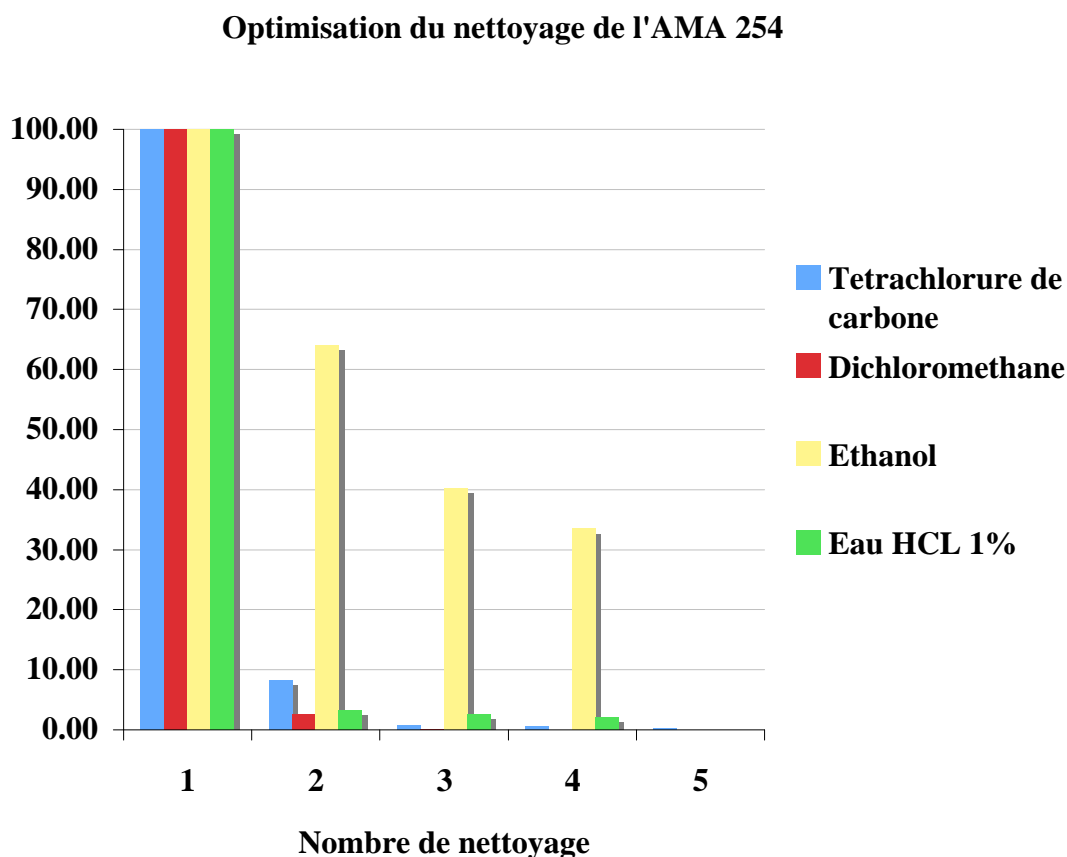


Figure 9 : Optimisation du nettoyage de l'instrument AMA 254. L'intensité relative décrit la quantité de mercure restant après avoir passé un étalon fortement concentré dans l'instrument. Environ exactement 50 mg du BCR 580 a été utilisé comme étalon, et le nettoyage est faite avec 200 uL de chaque solvant.

Selon le graphique ci-dessus, le dichlorométhane semble être le solvant le plus efficace pour nettoyer les contaminations de mercure dans l'instrument.

On remarque sur ce graphique que les solvants contenant du chlore permettent de nettoyer plus facilement l'instrument. L'éthanol par exemple n'enlève que 70 % de la contamination en mercure au-delà de 4 nettoyages.

3.4 Stabilité du mercure en solution

Compte tenu de la problématique du comportement du mercure en solution [28], la stabilité de l'I Hg et du MMHg en milieu acide et organique a été testée. Ces milieux ont été sélectionnés car ils sont utilisés dans les différentes procédures de séparation des formes chimiques du mercure. Les tests ont été faits durant 5 jours, en vérifiant le changement de concentration de l'analyte suivant le mode de conservation. La concentration en I Hg et MMHg était déterminée toutes les 24 heures. Les solutions sont conservées dans des tubes en polypropylène à température ambiante (15°C) entre chaque mesure.

3.4.1 Étude de la stabilité du MMHg et de l'I Hg en milieu acide

L'effet de la concentration en acide nitrique sur la stabilité du mercure inorganique et méthyle mercure a été étudié pour deux différentes concentrations en acide nitrique : 6.5 % et 0%.

Trois concentrations de l'I Hg et du MMHg (10, 50 et 100 µg/L en Hg) sont étudiées car la stabilité dépend de la concentration. Le résultat est donné en pourcentage de recouvrement par rapport à la première mesure (avant le premier jour).

Tableau 4 : Stabilité de l'I Hg 100, 50 et 10 µg/L en milieux aqueux et acide nitrique 6.5 %

Stabilité du I Hg 100 µg/L					
Milieu	1 st jour	2 nd jour	3 rd jour	4 th jour	5 th jour
Aqueux	102 %	105 %	107 %	109 %	110 %
HNO ₃ 6.5 %	99 %	101 %	102 %	103 %	105 %
Stabilité du I Hg 50 µg/L					
Milieu	1 st jour	2 nd jour	3 rd jour	4 th jour	5 th jour
Aqueux	103 %	102 %	105 %	107 %	105 %
HNO ₃ 6.5 %	98 %	99 %	102 %	99 %	97 %
Stabilité du I Hg 10 µg/L					
Milieu	1 st jour	2 nd jour	3 rd jour	4 th jour	5 th jour
Aqueux	97 %	99 %	102 %	104 %	106 %
HNO ₃ 6.5 %	103 %	101 %	96 %	101 %	102 %

Ce test de stabilité a été effectué pour déterminer l'instabilité de l'I Hg en milieu acide. Selon le tableau, la concentration en I Hg reste stable durant une semaine. Cependant, le recouvrement tend à croître au cours du temps (Annexe 4) Cette progression se remarque particulièrement pour les grandes concentrations (100 µg/L).

Un test statistique sur l'aberration : test de David, Hartley et Pearson a permis de constater que les fluctuations des valeurs autour de 100 % sont essentiellement engendrées par l'erreur systématique de mesure.

Tableau 5 : Stabilité MMHg 100, 50 et 10 µg/L en milieu aqueux et acide nitrique 6.5 %

Stabilité du MMHg 100 µg/L					
Milieu	1 st jour	2 nd jour	3 rd jour	4 th jour	5 th jour
Aqueux	97 %	95 %	92 %	91 %	87 %
HNO ₃ 6.5 %	99 %	96 %	96 %	94 %	95 %

Stabilité du MMHg 50 µg/L					
Milieu	1 st jour	2 nd jour	3 rd jour	4 th jour	5 th jour
Aqueux	92 %	96 %	93 %	92 %	92 %
HNO ₃ 6.5 %	98 %	97 %	98 %	95 %	94 %

Stabilité du MMHg 10 µg/L					
Milieu	1 st jour	2 nd jour	3 rd jour	4 th jour	5 th jour
Aqueux	94 %	91 %	80 %	76 %	78 %
HNO ₃ 6.5 %	101 %	97 %	98 %	99 %	99 %

Le MMHg se conserve mal en solution aqueuse. À des faibles concentrations (10 µg/L), une perte de 20 % est constatée.

L'addition d'acide nitrique ne change pas considérablement la stabilité du MMHg. Des pertes sont malgré tout constatées quel que soit le mode de stockage (Annexe 4). La raison principale de ces pertes est l'utilisation d'acide nitrique. En effet, le nitrate entraîne la décomposition du MMHg [29] par oxydation surtout si des ions halogénures [29] sont présents dans la solution.

Le mode de stockage du MMHg peut aussi influencer sa stabilité. En effet, à température ambiante, le MMHg peut être dégradé photochimiquement [30]. Les études de *Sellers P., & al.*, [30] ont permis de constater que la lumière du soleil peut dégrader 15 % du MMHg par mois en milieu acide chlorhydrique 0.5 % pour des solutions inférieures à 10 µg/l.

La solution idéale de conservation du MMHg est l'acide chlorhydrique 0.5 à 1 % [29]. Cependant, l'acide nitrique est utilisé pour pouvoir garder la même matrice que lors de l'extraction acide par micro-onde.

Entre 50 et 100 µg/L (en Hg), l'I Hg et le MMHg restent stables en milieu acide nitrique 6.5 %.

3.4.2 Étude de la stabilité du MMHg et de l'I Hg en milieu organique

Le comportement de l'I Hg et du MMHg est étudié dans deux milieux organiques : le xylène et le dichlorométhane. Cette étude a été effectuée pour pouvoir déterminer la stabilité du MMHg et de l'I Hg en milieu organique après l'extraction liquide/liquide.

Tableau 6 : Stabilité du MMHg et de l'I Hg en milieux organiques

Stabilité du I Hg					
Milieu	1 st jour	2 nd jour	3 rd jour	4 th jour	5 th jour
Xylène	176 %	138 %	80 %	89 %	65 %
Dichlorométhane	0 %	-	-	-	-
Stabilité du MMHg					
Milieu	1 st jour	2 nd jour	3 rd jour	4 th jour	5 th jour
Xylène	80 %	63 %	55 %	49 %	37 %
Dichlorométhane	119 %	121 %	125 %	130 %	126 %

Le transfert de l'I Hg et du MMHg contenus dans l'extrait de sol dans la phase organique est réalisé par extraction liquide/liquide d'une solution à 100 µg/L en Hg en phase aqueuse.

Les deux formes de mercure sont particulièrement instables en phase organique. Contrairement à une phase aqueuse, des réactions chimiques peuvent se produire durant la conservation dans un solvant organique. La réaction de Grignard [31] est un exemple de ces réactions. En effet, le MMHg et l'I Hg peuvent perdre sa polarité en fixant des groupements méthyles sur l'atome de mercure. Dans ce cas, le MMHg devient le diméthyle mercure qui est extrêmement volatil.

De plus, une réaction d'oxydation et réduction peut transformer l'ion mercure II en ion mercure I. L'ion mercure I pratiquement insoluble en milieu organique va former des colloïdes qui vont diminuer la concentration du mercure inorganique en solution.

Les recouvrements sont supérieurs à 100 % lorsque le bilan de matière n'est pas vérifié, à cause de la volatilité des solvants organiques.

Par conséquent, pour des concentrations de moins de 100 µg/L en phase organique, il est recommandé d'analyser les échantillons le jour même de leur préparation.

3.5 Étude de l'extraction du T Hg dans des échantillons de sol et sédiments par MAE

Avant de procéder à la spéciation du mercure, il est nécessaire d'extraire quantitativement cet élément sans modifier sa forme chimique.

Nous avons procédé à l'étude de l'extraction acide du mercure total dans les sols et sédiments à l'aide de deux système micro-onde :

- ✓ cMAE, système micro-onde fermé
- ✓ oMAE, système micro-onde ouvert

Le milieu d'extraction utilisé est de l'acide nitrique 4 M.

Trois sortes d'échantillons solides ont été étudiés

- ✓ Un échantillon de sol dont la concentration en mercure total de référence est de 1000 mg/kg
- ✓ Le matériau de sédiment marin certifié BCR 580 (132 mg/kg en mercure total)
- ✓ Deux échantillons de graphites, utilisés comme échantillons témoins.

Ces échantillons ont été sélectionnés afin de pouvoir justifier la faisabilité de la méthode d'extraction sur les différentes matrices.

Le tableau 7 montre la concentration du T Hg mesuré par chacune des méthodes d'extraction du mercure. La teneur est donnée en mg/kg.

Tableau 7 : Résultats obtenus lors de l'extraction d'un échantillon de sols et sédiments par micro-onde.

	Teneur certifié	oMAE	cMAE	AMA direct
Sol_1	1000 (référence)	16 ± 0.2	1195 ± 13	-
Sol_2	1000 (référence)	-	1096 ± 17	-
BCR 580_1	132 ± 3	$(115 \pm 15)10^{-3}$	130 ± 2	-
BCR 580_2	132 ± 3	-	115 ± 1	-
Graphite T-SLC-30	-	-	$(47 \pm 2)10^{-3}$	< LoD
Graphite T-SLC-50	-	-	$(125 \pm 10)10^{-3}$	< LoD

La teneur en mercure contenue dans le standard certifié de sédiment BCR 580 est trop importante pour une analyse directe sur l'AMA 254. Pour pouvoir mesurer dans la gamme dynamique de l'AMA 254, il faudrait échantillonner entre 1 à 8 mg. Cependant, cette quantité ne permet pas une bonne représentativité du matériau de référence en question car la quantité moyenne de prélèvements recommandé est entre 100 et 200 mg.

En effet, Les techniques de prélèvement des matrice complexe comme le sol sont d'une importance vitale dans l'analyse chimique. La géologie joue un rôle prépondérant car elle détermine la variabilité naturelle de l'échantillon [32]. Ces variabilités naturelles peuvent être étudié par l'application de l'hétérogénéité [32] et le test d'Ingamells [32].

Tableau 7 : Détermination de la constante d'échantillonnage Ks selon d'ingamells

Pesée BCR 580	Intensité moyenne	Ecart-type	CV	Ks
5.0 mg	0.3480	0.1670	48.0 %	11520
7.5 mg	0.6363	0.0324	5.1 %	195
45.0 mg	1.6761	0.1190	7.1 %	2268

Selon le tableau ci-dessus, la constante d'échantillonnage moyenne vaut : 4661. La pesée nécessaire pour avoir au moins un coefficient de variation de 1 % vaut 4.661 g et de 5 % vaut 186 mg.

Ces pesées sont tout à fait conformes aux prescriptions d'utilisation du sédiment BCR 580 de la commission Européenne.

De la même façon, étant donnée que la concentration en Hg dans l'échantillon de sol est dix fois supérieure à celle du BCR 580, l'analyse par l'AMA direct n'est pas effectuée.

Un facteur 100 de différence sur la teneur en mercure total existe entre l'extraction acide par oMAE et cMAE. En appliquant les mêmes conditions pour les deux systèmes à micro-onde, on voit bien qu'elles ne sont pas suffisantes dans un système ouvert. En effet, dans un système micro-onde fermé, la pression qui n'existe pas dans le système ouvert joue un rôle considérable dans l'extraction. De plus, des pertes dues à la volatilité du mercure existent durant l'extraction acide en système ouvert.

Par conséquent, l'extraction acide du mercure total ne peut être quantitative qu'en système fermé dans ces conditions d'utilisation.

3.6 Étude de l'extraction sélective du MMHg par extraction liquide/liquide

Cette étude a été menée pour pouvoir déterminer l'affinité du MMHg et de l'I Hg présents dans les extraits acides du sol avec divers solvant organique utilisés lors de l'extraction liquide/liquide.

Le MMHg et l'I Hg sont préparés dans deux milieux différents souhaitant reproduire la matrice d'extraction par micro-onde :

- ✓ En milieu acide (acide nitrique 4 M), conformément aux études d'extraction du mercure total par micro-onde de *Rahman G.M., & al.*, [27]
- ✓ En milieu alcalin (hydroxyde de potassium 25 % dans du méthanol), conformément aux études d'extraction du mercure total par micro-onde de *Liang L., & al.*, [33]

3.6.1 Extraction sélective du MMHg en milieu acide par un solvant organique.

L'extraction du MMHg en milieu acide a été optimisé en considérant trois solvants organiques. Les choix des trois solvants dépendent de leur polarité ; le dichlorométhane comme solvant polaire, le xylène comme solvant polarisable et l'isooctane comme solvant non-polaire.

Le solvant idéal recherché dans cette étude permettrait d'extraire uniquement le MMHg avec un important taux de recouvrement.

3.6.1.1 Extraction sélective du MMHg par l'isooctane

L'iso-octane est un solvant apolaire. Cette extraction a été considérée car la présence d'un groupement méthyle sur le MMHg peut permettre une bonne affinité de ce composé avec l'iso-octane de part cette partie hydrophobe (Annexe 5)

Les taux de recouvrement du MMHg et de l'I Hg sont donnés figure 4.

Extraction du MMHg et de l'IHg en milieu acide nitrique 4M par de l'iso-octane

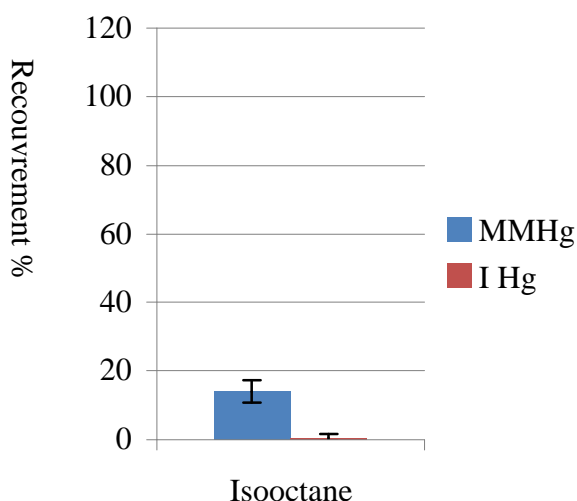


Figure 4 : Taux de recouvrement de l'extraction du MMHg et de l'IHg en milieu acide nitrique 4M. Le rapport de volume était de 1 :1. L'extraction a été faite séparément sur deux standard de MMHg et de l'I Hg 100 µg/L en Hg. L'extraction a été effectuée 3 fois, l'ecartype des mesures pour le MMHg était de 3.26 et pour l'I Hg était de 1.09.

Moins de 20 % du MMHg est extrait par l'iso-octane. L'extraction de l'I Hg est très faible.

Dans un système binaire iso-octane et eau, la charge positive du MMHg est plus forte que sa partie hydrophobe. L'affinité entre le groupement organique hydrophobe du MMHg et l'iso-octane est ainsi très restreint.

Dans la mesure où moins de 20 % du MMHg sont extraits, l'extraction du MMHg par l'iso-octane semble peu judicieuse pour la suite du travail. En effet, ce très faible taux de recouvrement affecte grandement la limite de détection qui est alors équivalente à 10 µg/L.

3.6.1.2 Extraction sélective du MMHg par le xylène

Le xylène est un solvant polarisable. Nous avons pensé qu'à cause de sa nature polaire et non polaire en même temps, le MMHg pourrait avoir plus d'affinité que l'I Hg avec le solvant.

Afin de pouvoir augmenter cette affinité, les tests ont été réalisés sur trois milieux différents :

- ✓ Acide nitrique 4 M
- ✓ Acide nitrique 1 M
- ✓ Eau

Les graphiques ci-dessous montrent le recouvrement de l'extraction des formes de mercure par le xylène (Annexe 5)

Extraction du MMHg et I Hg dans différent milieu acide par du xylène.

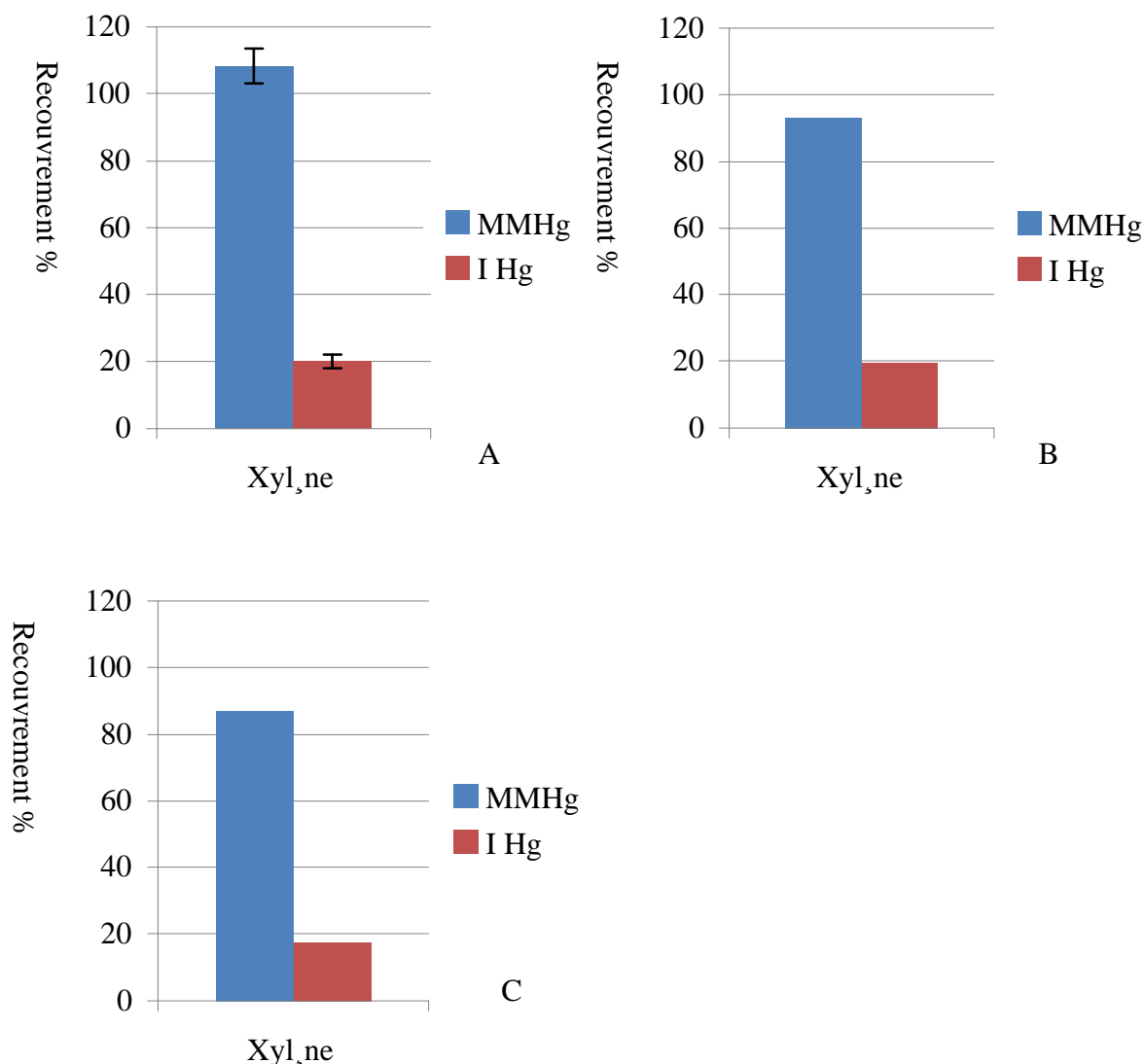


Figure 5 : Taux de recouvrement de l'extraction du MMHg et de l'IHg en milieu acide nitrique 4M (A), acide nitrique 1M (B) et aqueux (C) par le xylène. Le rapport de volume était de 1 :1. L'extraction a été faite séparément sur deux standards à 100 µg/l (en Hg) de MMHg et de l'I Hg. Les données des graphiques B et C étaient faites une seule fois. Les données du graphique A ont été faites 3 fois. Le coefficient de variation du recouvrement de l'extraction du MMHg était de 5 % et de l'I Hg était de 10 %.

L'extraction du MMHg par le xylène dans le milieu le plus acide donne le plus important taux de recouvrement. Cependant, environ 20 % de l'I Hg sont aussi extrait dans ce même milieu.

Par conséquent, cette extraction est fortement limitée par le rapport de concentration entre I Hg et MMHg contenu dans le sol. Si ce rapport vaut 1, cette extraction peut être envisagée. Dans le cas contraire, avec un rapport de 100 à 1000, l'I Hg ferait une interférence au MMHg.

3.6.1.3 Extraction sélective du MMHg par le dichlorométhane

Le dichlorométhane est un solvant polaire. La charge positive du MMHg et doublement positive de l'I Hg constitue le critère de sélection de l'affinité des analytes par le solvant.

Les taux de recouvrement des deux composés de mercure après extraction dans le dichloromethane sont présentés figure 6.

Extraction du MMHg et I Hg dans différent milieu acide par du dichlorométhane.

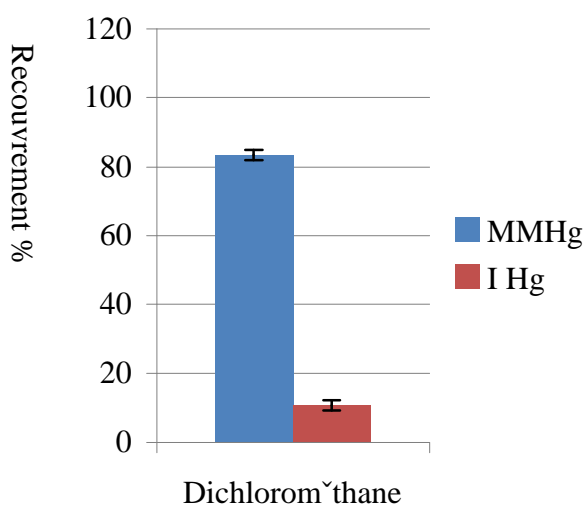


Figure 6 : Taux de recouvrement de l'extraction du MMHg et de l'I Hg par le dichlorométhane. Le rapport de volume était de 1 :1. L'extraction a été effectuée 3 fois sur deux solutions de 100 µg/l en Hg de MMHg et de I Hg dans de l'acide nitrique 4 M. Le coefficient de variation de l'extraction du MMHg était de 2 % et pour l' I Hg de 14 %.

Le dichlorométhane a l'avantage de retenir que 10 % de l'I Hg. Dans les conditions optimales d'utilisation de chaque solvant d'extraction, le dichloromethane semble être le solvant le plus efficace.

Le tableau suivant montre le résumé de chacune de ces trois extractions liquide/liquide.

Tableau 8 : Résumé des résultats

Solvant d'extraction	MMHg extrait	I Hg éliminé	Taux de recouvrement	Facteur de sélectivité
Iso-octane	$13.9 \pm 4.4 \%$	$99.4 \pm 1.5 \%$	86.7 %	0
Xylène	$108.3 \pm 7.1 \%$	$80.0 \pm 2.7 \%$	128.3 %	20
Dichloromethane	$83.5 \pm 1.6 \%$	$89.4 \pm 1.7 \%$	94.2 %	38

Ces essais ont permis de constater que le MMHg est mieux extrait avec un solvant polaire. La polarité joue un rôle spécifique car les deux formes de mercure étudiées possèdent des charges positives.

En mettant le critère de choix du solvant sur le facteur de sélectivité, le dichloromethane est le solvant d'extraction que nous avons retenu dans la suite de ce travail.

3.6.2 Extraction organique du MMHg en milieu alcalin

Les études de *Liang L., & al.*, [33] ont permis de mettre au point une extraction du mercure total dans des échantillons environnementaux après digestion alcalin utilisant l'hydroxyde de potassium dans méthanol 25 %. Des tests ont été faits pour vérifier la faisabilité de l'extraction du MMHg dans une matrice alcaline. Cependant, la méthode reste très limitée car l'interaction entre un solvant organique et un milieu alcalin reste très compliquée (miscibilité). Des mélanges ternaires ont été réalisés pour pouvoir distinguer deux phases dans le mélange.

3.6.2.1 Extraction sélective du MMHg par un système ternaire méthanol, xylène et eau

Dans cette étude, le xylène est utilisé comme principal solvant d'extraction. Cependant, le milieu méthanol KOH n'a pas permis de distinguer les deux phases du mélange. De l'eau a été ajoutée pour pouvoir mettre en évidence la ligne d'équilibre méthanol et xylène.

Les taux de recouvrement des deux composés de mercure après extraction dans le xylène sont présentés figure 7.

Extraction du MMHg et I Hg en milieu organique par de xylène

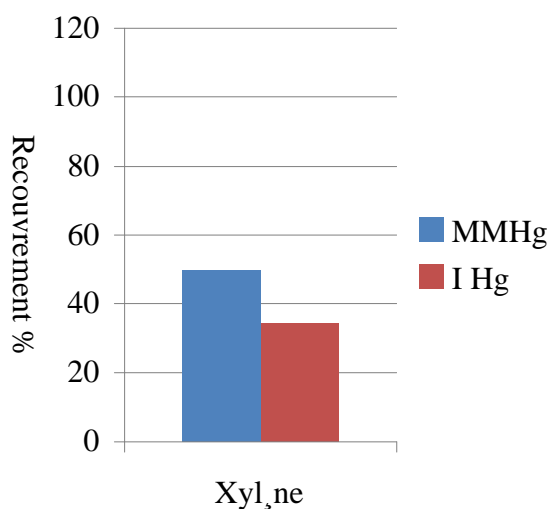


Figure 7 : Taux de recouvrement de l'extraction du MMHg et de l'I Hg dans un milieu alcalin par le xylène. Le rapport de volume était de 1 :1. L'extraction a été effectuée 1 fois sur deux standards de 100 µg/l en Hg de MMHg et de I Hg.

Le système extrait pratiquement le MMHg et l'I Hg dans des proportions similaires. Cette extraction ne permet donc pas de distinguer les deux formes de mercure.

3.6.2.2 Extraction en système ternaire méthanol, dichloromethane et xylène

De la même manière que précédemment, le dichloromethane était le solvant d'extraction utilisé dans cette étude. Étant donné, que le méthanol et dichloromethane est tout à fait miscibles, il a été nécessaire de rajouter du xylène pour distinguer la ligne d'équilibre.

Les taux de recouvrement des deux composés de mercure après extraction dans le dichloromethane sont présentés figure 8.

Extraction du MMHg et I Hg en milieu organique par le dichloromethane

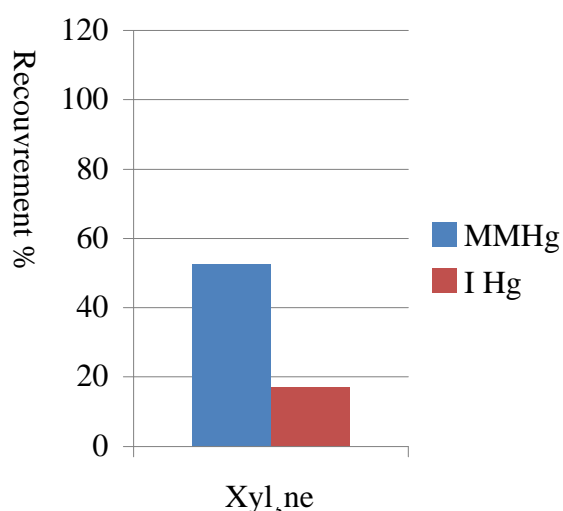


Figure 8 : Taux de recouvrement de l'extraction du MMHg et de l'I Hg dans un milieu alcalin par le dichloromethane. Le rapport de volume était de 1 :1. L'extraction a été effectuée 1 fois sur deux standards de 100 µg/l en Hg de MMHg et de I Hg.

Tableau 9 : Résumé des résultats

Solvant d'extraction	MMHg extrait	I Hg éliminé	Taux de recouvrement	Facteur de sélectivité
Xylène	49.5 %	65.7 %	85.1 %	1
Dichlorométhane	52.6 %	82.9 %	70.0 %	3

Les taux de recouvrement du MMHg de ces deux méthodes d'extraction sont faibles. En effet, une quantité d'eau et de xylène a été ajoutée pour permettre de distinguer la ligne d'équilibre et obtenir deux phases. Cette quantité non négligeable a changé drastiquement le bilan de matière de l'extraction.

Dans ce cas, le dichlorométhane se trouve être le meilleur solvant d'extraction. Mais, compte tenu des problèmes de stabilité et de miscibilité entre les solvants, cette procédure d'extraction spécifique du MMHg reste limitée.

3.7 Étude de l'extraction du MMHg par extraction solide / liquide

L'étude de l'extraction du MMHg par extraction liquide/liquide a permis de montrer que le dichloromthane est le solvant organique le mieux adapté parmi les solvants utilisés. Cependant, une petite part de l'I Hg reste dans la phase organique. Ainsi, des solutions sont anticipées pour pouvoir éliminer le mercure inorganique présent dans la phase organique. Une extraction en phase solide est le meilleur compromis car elle pourrait être mise en place avant ou après la procédure d'extraction liquide/liquide.

Chaque étape de l'analyse par SPE a été optimisée avec l'I Hg et MMHg individuellement. Tous les facteurs comme le pH, la concentration en acide, le volume injecté,... ont été ajustés de telle sorte qu'ils soient similaires aux conditions de l'extraction acide de la matrice de départ (sol et sédiments). La procédure a été optimisée cependant avec une matrice simplifiée (phase aqueuse) faisant abstraction de la complexité de l'extraction du mercure total dans le sol par cMAE.

Étant donné la différence de propriété physico-chimique entre les analytes (L'I Hg est bivalent tandis que le MMHg est monovalent), une SPE contenant une phase stationnaire (C18) capable de séparer les composés selon leur caractère hydrophobe a été utilisé.

De la même manière, une SPE échangeuse de cations capable de séparer les composés suivant leur charge a été étudiée.

La procédure a été effectuée suivant le protocole général recommandé par le constructeur. Chacune des trois solutions provenant du SPE (Fraction récupérée : échantillon après passage dans le SPE, rinçage tampon et élution) est collectée et analysée. Les résultats sont donnés en pourcentage de recouvrement par rapport à l'échantillon de départ.

3.7.1 Étude de la rétention du MMHg par un SPE Echangeuse de cations

Cette étude a été réalisée pour étudier la rétention du MMHg ou de l'I Hg sur une colonne échangeuse de cations. Les essais suivants ont été réalisés :

- ✓ Deux solutions de l'I Hg et MMHg 100 µg/l dans un milieu acide nitrique 3.5 %
- ✓ Un extrait acide dilué 100 fois du sédiment certifié BCR 580 (Extrait acide 1)
- ✓ Un extrait acide dilué 100 fois du sédiment certifié BCR 580 dans lequel est dopé 100 µg/l de MMHg (Extrait acide 2)

Le tableau suivant montre les résultats de l'analyse de chaque fraction élué de la colonne échangeuse de cations. Chaque mesure a été faite deux fois et la procédure SPE une fois.

Tableau 10 : Rétention du MMHg et de l'I Hg par une SPE échangeur de cations.

	Recouvrement en %			
	Ech.	3/. Ech. Après SPE	4/. Tampon	5/. Élution
I Hg 100 µg/l	100	93 ± 1	1	9
MMHg 100 µg/l	100	44 ± 3	30	29
Extrait acide 1	100	57	17	40
Extrait acide 2	100	69	16	24

En travaillant sur les formes de mercure individuelles, la SPE échangeuse de cations semble avoir résolu l'objectif préliminaire de cette étude. En effet, elle permet d'éliminer 93 % du mercure inorganique. Sans tenir compte de l'effet de matrice, cette procédure peut-être réalisée deux ou trois fois pour permettre l'épuisement du mercure inorganique. Cependant, quand on regarde les échantillons réels, seulement 57 % du mercure inorganique sont éliminés. Une partie non négligeable du mercure inorganique est aussi retenue par la colonne.

3.7.2 Étude de la rétention du MMHg par un SPE C18

La colonne SPE C18 est une colonne de chromatographie préparative utilisée pour concentrer des molécules organiques de poids moléculaire élevé avant l'utilisation d'un instrument de chromatographie liquide à haute pression. Dans ce contexte, nous avons pensé mettre en place une méthode de rétention du monométhyle mercure. Pour cela, des agents chélatants sont utilisés pour complexer les molécules de mercure inorganique mais aussi de méthyle mercure pour favoriser leur rétention.

Les échantillons introduits dans la colonne SPE sont :

- ✓ Deux solutions de l'I Hg et MMHg à 100 µg/l (en Hg) dans l'acide nitrique 3.5 %
- ✓ Deux solutions de l'I Hg et MMHg à 100 µg/l (en Hg) dans l'acide nitrique 3.5 %, dans lesquelles ont été ajoutés 5 µM d'EDTA.
- ✓ Deux solutions de l'I Hg et MMHg à 100 µg/l (en Hg) dans l'acide nitrique 3.5 %, dans lesquelles ont été ajoutés 0.03 % de DEDTCA
- ✓ Un extrait acide du sédiment certifié BCR 580 dilué 100 fois (Extrait acide 1)
- ✓ Un extrait acide du sédiment certifié BCR 580 dilué 100 fois dopé avec 100 µg/l de MMHg (Extrait acide 2)
- ✓ Un extrait acide du sédiment certifié BCR 580 dilué 100 fois, dans lequel sont ajoutés 5 µM d'EDTA (Extrait acide 3)
- ✓ Un extrait acide du sédiment certifié BCR 580 dilué 100 fois, dans lequel sont ajoutés 0.03 % de DEDTCA (Extrait acide 4)

Le tableau suivant montre les résultats de l'analyse de chaque fraction élué de la colonne C18. Chaque mesure a été faite deux fois et la procédure SPE une fois. La plupart des concentrations du mercure dans le tampon et dans l'éluant ne sont pas quantifiables car elles sont inférieures à la LoD.

Tableau 11 : Rétention du MMHg et de l'I Hg par une SPE à base C18

	Recouvrement en %			
	Ech.	3/. Ech. Après SPE	4/. Tampon	5/. Éluion
I Hg 100 µg/l	100	11	< LoD	< LoD
MMHg 100 µg/l	100	12	< LoD	< LoD
I Hg 100 µg/l + EDTA	100	9	< LoD	< LoD
MMHg 100 µg/l + EDTA	100	17	< LoD	< LoD
IHg 100 µg/l + DEDTCA	100	12	-	29
MMHg 100 µg/l + DEDTCA	100	15	< LoD	< LoD
Extrait acide 1	100	89	-	5
Extrait acide 2	100	86	-	4
Extrait acide 3	100	97	-	5
Extrait acide 4	100	94	-	6

En regardant les recouvrements, on distingue une grande différence entre l'extraction simplifiée des analytes et l'extraction dans la matrice réelle. Dans une matrice simplifiée, l'I Hg et le MMHg sont retenus par la colonne C18. L'élution est pratiquement impossible avec les solvants standards en HPLC (Méthanol ou mélange eau-méthanol).

Dans la matrice réelle de sédiments, seule une faible partie des analytes reste retenue par la colonne SPE. Dans ce cas, l'élution avec le méthanol est aussi impossible. Cela implique la difficulté de pouvoir distinguer les formes de mercures retenues par la colonne SPE.

Une manière de pouvoir récupérer le mercure retenu serait de chauffer la colonne. Cette procédure n'a pas été effectuée par souci de recyclage et réutilisation de la colonne SPE.

En conséquence de cette différence de reproductibilité, cette procédure a été suspendue. Une optimisation plus approfondie de la méthode doit être effectuée.

3.8 Contrôle qualité

3.8.1 Étalonnage du MMHg et de l'I Hg

La réponse de l'AMA 254 en fonction de la forme chimique du mercure est étudiée. Les deux formes de mercure utilisés sont l'I Hg et le MMHg. La réponse de l'AMA 254 suit la loi de Beer-Lambert sur l'absorption de la lumière dans un milieu connu.

Les courbes d'étalonnage de l'I Hg et du MMHg sont données figure 10.

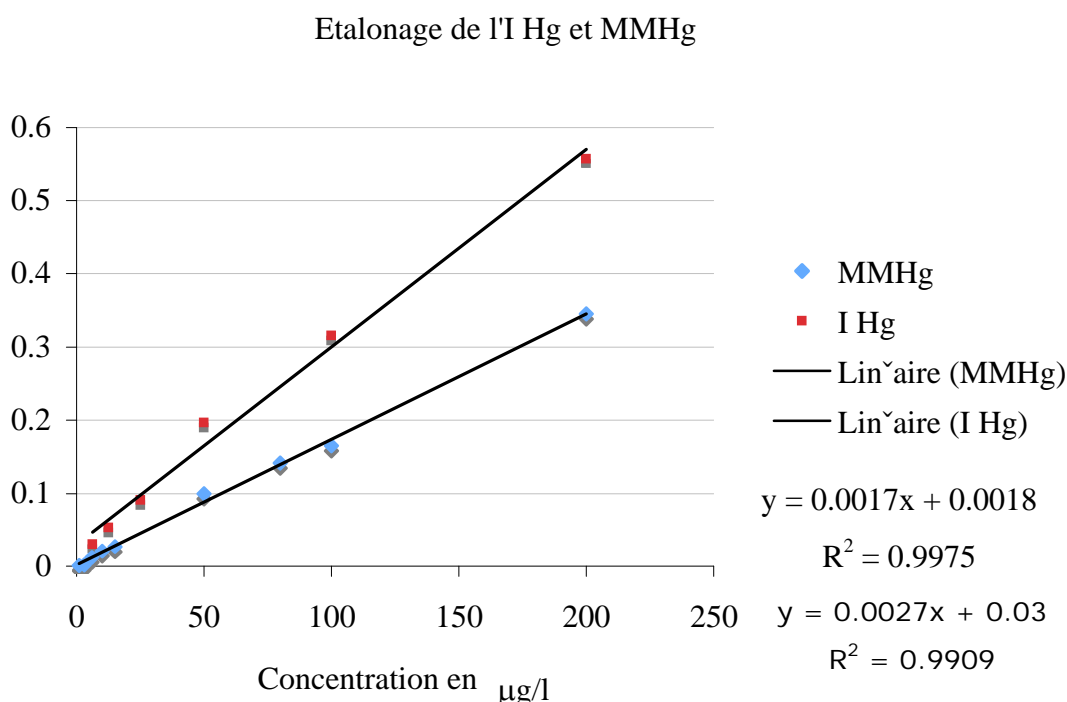


Figure 10 : Courbe d'étalonnage du MMHg et de l'I Hg . Les concentrations sont données en Hg. Chaque mesure a été faite deux ou trois fois. Les coefficients de variation de chaque mesure est montré dans le calcul du LoD. La correction avec le blanc n'est pas effectuée.

La figure 10 montre une différence de sensibilité entre le MMHg et l'I Hg. Avec une pente plus faible pour le MMHg (0.6 fois). Dans le cas idéal, les deux composés ayant les mêmes concentrations en Hg, devrait présenter les mêmes absorbances.

Des pertes en MMHg peuvent se produire lors de l'analyse par l'AMA 254. La phase de séchage de l'échantillon peut en être la principale cause. En effet, le MMHg est beaucoup plus volatile que l'I Hg. Leurs températures d'ébullition sont 170 à 173 °C pour le MMHg et 277 °C pour l'I Hg. Ainsi, quand la température monte (130 °C) dans le four de combustion, les premières molécules de MMHg en phase gazeuse peuvent diffuser à travers les parois du four. Toutefois, l'étude de l'optimisation des paramètres de l'AMA 254 a permis de constater qu'un temps entre 30 et 75 secondes de séchage ne modifie pas la sensibilité. Il faudrait diminuer encore le temps de séchage pour pouvoir conclure.

3.8.2 Répétabilité des mesures et représentation de l'effet mémoire

3.8.2.1 Répétabilité des mesures

La répétabilité de la mesure est déterminée pour trois solutions contenant 60, 90 et 150 $\mu\text{g/l}$ en Hg de MMHg. Les résultats sont montrés figure 11.

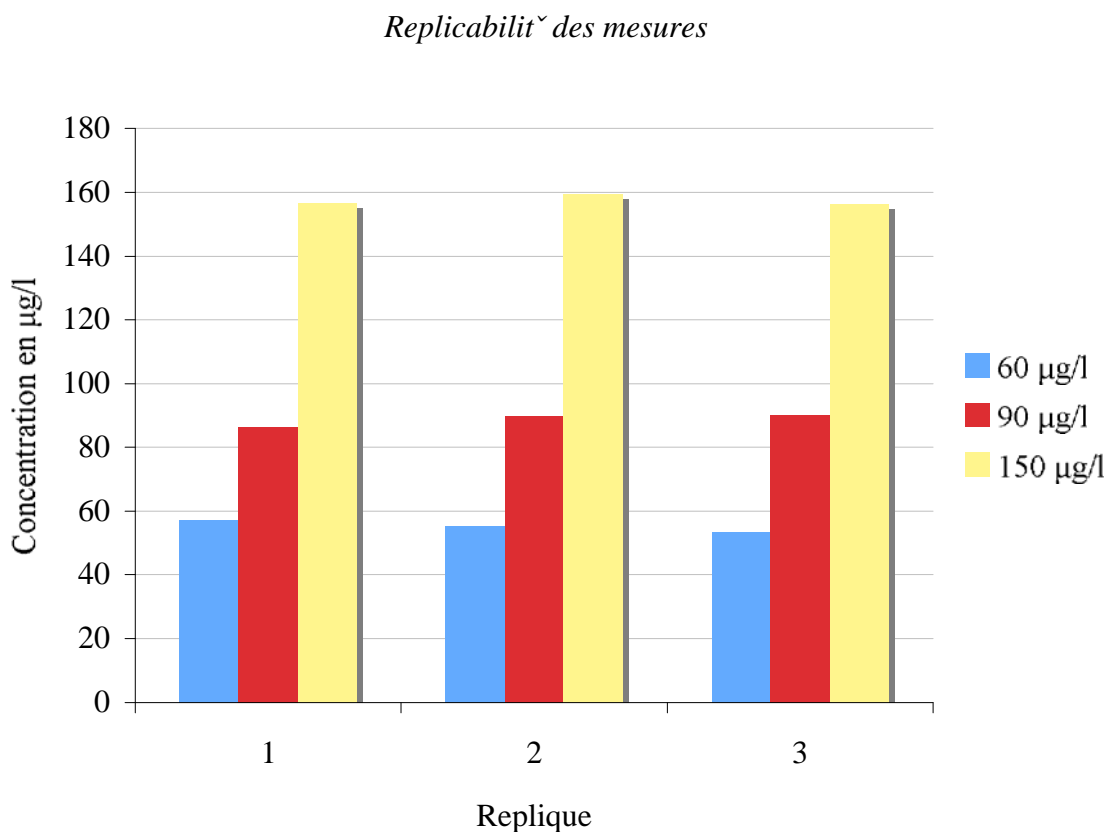


Figure 11 : Répétabilité des mesures de trois solutions d'MMHg à 50, 100 et 200 $\mu\text{g/l}$. Les mesures ont été faites trois fois, et l'intensité relative représente le recouvrement en pourcentage de chaque réplique par rapport à la première mesure.

Pour des solutions de MMHg dont la concentration se situe entre 60 et 150 $\mu\text{g/l}$, les coefficients de variation restent faibles (entre 1 à 4 %).

Toutefois, nous avons constaté que des contaminations croisées entre échantillons se produisent quand on analyse des échantillons de concentrations très différentes successivement. Ces contaminations croisées sont surtout mises en évidence quand la concentration entre les deux échantillons est différente d'un facteur 10.

3.8.2.2 Représentation de l'effet mémoire

Le mercure ayant tendance à se fixer facilement sur les parois des instruments de mesure, il peut présenter un effet mémoire important qui peut compliquer son dosage en présence d'échantillons potentiellement contaminés.

Les risques encourus lors de l'analyse du mercure sont : la contamination d'un échantillon par l'échantillon précédent et un allongement significatif du nettoyage de l'instrument.

Nous avons procédé à l'analyse d'un échantillon de 10 $\mu\text{g/l}$ (en Hg) de MMHg, analysé juste après un échantillon contenant 100 $\mu\text{g/l}$ (Hg) de MMHg.

La figure ci-dessous montre l'intensité du signal d'une solution de MMHg de 10 $\mu\text{g/l}$ (Hg) sur quatre répliques. La quatrième réplique représente l'intensité relative réelle du signal du MMHg 10 $\mu\text{g/l}$.

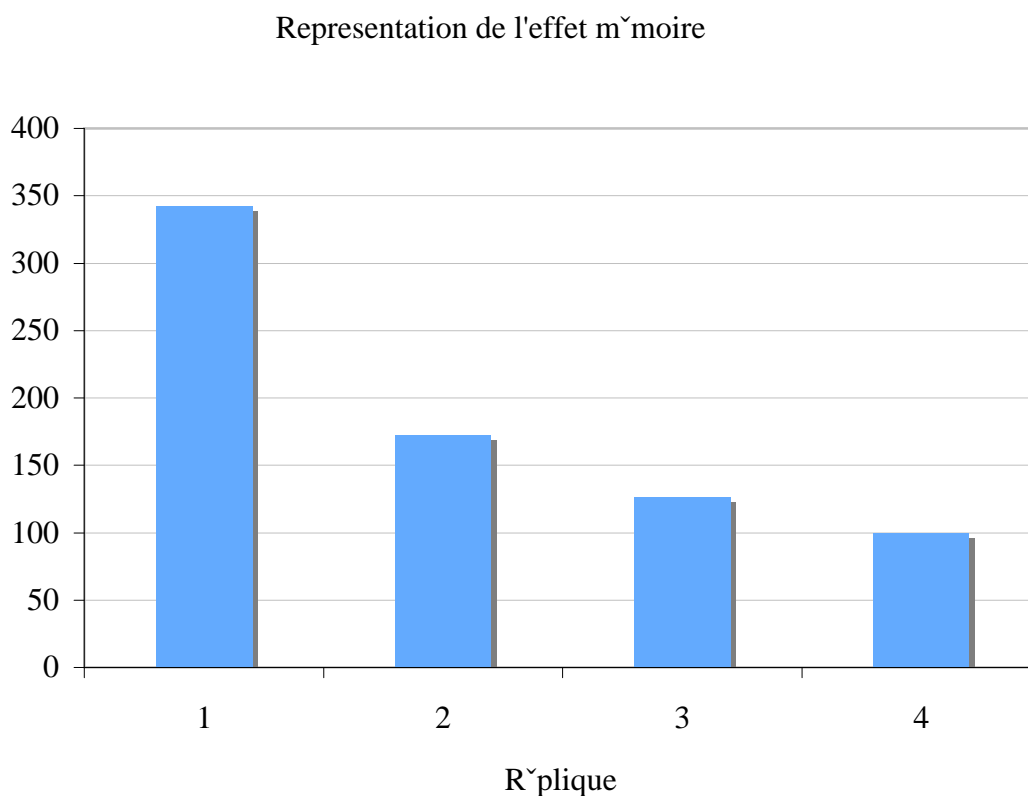


Figure 12 : L'intensité du signal est donnée en pourcentage de recouvrement en fonction de la valeur de la quatrième réplique équivalant au signal du MMHg à 10 $\mu\text{g/l}$ (Hg). Chaque mesure a été faite deux fois entre 4 jours d'intervalle. Le coefficient de variation de la mesure était de 4.9 %, 9.4 %, 3.3 % et 1.4 % respectivement pour la 1st, 2nd, 3rd et 4th réplique.

Cette figure montre que le mercure (MMHg) s'est déposé dans le système, et qu'il s'évacue peu à peu lors du passage d'un autre échantillon.

3.8.3 Justesse de la méthode

La justesse de la méthode a été évaluée en analysant un sédiment marin de référence certifié BCR 580. Les formes de mercure sont extraites du sédiment par extraction acide au moyen d'un micro-onde en système fermé (cMAE). Deux échantillons du sédiment certifié ont été analysés :

- ✓ Sédiment 1
- ✓ Sédiment 2 dans lequel l'extrait acide obtenu par cMAE a été dopé par 100 µg/l de MMHg.

Les deux extraits acides sont élués à travers une colonne SPE C18. Après la cinquième étape du déroulement de la procédure SPE, la fraction éluee par l'acide nitrique 2 M est récupérée.

Les deux fractions récupérées sont extraites par extraction liquide/liquide avec du dichloromethane. La quantité de MMHg dans la phase organique a été analysée ensuite.

Le tableau suivant présente les résultats de la justesse de la méthode.

Tableau 15 : Justesse de la méthode.

Ech.	Teneur certifiée		cMAE	Fraction éluee SPE	Extraction L/L Phase organique	Teneur trouvé
	MMHg	T Hg				
Sédiment 1	75 µg/kg	132 µg/g	130 µg/l	45 µg/l	63 µg/l	120 µg/kg
Sédiment 2	75 µg/kg	132 µg/g	115 µg/l	58 µg/l	72 µg/l	139 µg/kg

La méthode a permis de trouver environ le double de la quantité en MMHg contenue dans le sédiment BCR 580. Il y a toujours un artefact des formes inorganiques de mercure sur le MMHg. Pour pouvoir mesurer le MMHg par cette méthode, il faudrait que la teneur en MMHg ne soit pas inférieure à 30 µg/l et que la concentration en I Hg ne soit pas 2 fois supérieure à celle du MMHg.

3.8.4 LoQ et LoD de la méthode

La détermination du LoD et LoQ du MMHg et de l'I Hg a été faite par deux méthodes :

- ✓ EURACHEM en se basant sur le coefficient de variation des mesures des étalons
- ✓ Ecart-type du blanc

Les deux cellules de mesure installées dans l'AMA 254 ont été utilisées :

- ✓ Une cellule de haute sensibilité
- ✓ Une cellule de moyenne sensibilité

Les résultats obtenus lors de cette étude sont présentés dans le tableau 16.

Tableau 16 : LoD et LoQ du MMHg et de l'I Hg (Annexe 5)

	Eurachem		Ecart-type du blanc		
	Cellule	Moyenne sensibilité	Haute sensibilité	Moyenne sensibilité	Haute sensibilité
MMHg					
	LoD	2 µg/l	3 µg/l	1 µg/l	0.4 µg/l
	LoQ	6 µg/l	9 µg/l	3 µg/l	1 µg/l
I Hg					
	LoD	3 µg/l	-	0.7 µg/l	0.2 µg/l
	LoQ	10 µg/l	-	2 µg/l	0.7 µg/l

Selon la méthode de détermination Eurachem, la LoQ de la méthode est obtenue en fixant le CV de la mesure à 5 %. En faisant une interpolation linéaire et logarithmique des points se trouvant en dessous et en dessus de 5 %, les LoQ calculées sont présentées dans le tableau 16 (la LoD étant 3.3 fois inférieure à la LoQ).

La limite de détection du MMHg et de l'I Hg est très faible. Les résultats obtenus par la méthode Eurachem sont toutefois surévalués par rapport à la méthode basée sur l'écart-type du blanc. En effet, Eurachem tient compte d'un facteur supplémentaire pour le calcul du LoQ. Ce facteur est aussi déterminant dans l'établissement de la droite d'étalonnage.

4 CONCLUSION ET PERSPECTIVES

4.1 Conclusion générale

L'objectif de ce travail était de pouvoir quantifier le monométhyle mercure dans des échantillons de sol. Cette quantification était considérée comme une combinaison de plusieurs procédures de traitement d'échantillon : l'extraction acide par micro-onde en système fermé, l'extraction spécifique solide/liquide du monométhyle mercure par SPE échangeuse de cations et l'élimination du reste du mercure inorganique par extraction liquide/liquide avec du dichlorométhane. Ces trois procédures sont fortement influencées par le rapport de concentrations entre le mercure inorganique et le monométhyle mercure contenu dans le sol.

Actuellement, les programmes de recherches analytiques les plus pertinents vont dans la séparation chromatographique de toutes les formes chimiques de mercure avant analyse par spectrométrie atomique. Cette méthode reste la seule valable pour la spéciation des traces de mercure organique dans un sol.

Par conséquent, le monométhyle mercure ne peut être déterminé quantitativement par la méthode développée dans ce travail si sa teneur est inférieure à 30 µg/kg et si la teneur en mercure inorganique ne dépasse pas le double du monométhyle mercure. Une matrice de sol ou sédiment ayant ces caractéristiques est tout simplement inimaginable car elle outrepasserait l'abondance naturelle des formes de mercure dans la nature.

La méthode étudiée n'est pas tout à fait optimale pour des échantillons de sol ou de sédiments. Toutefois, ce travail a permis de mieux comprendre le potentiel de cette méthode. Il serait maintenant intéressant d'optimiser davantage certains paramètres notamment ceux de l'extraction liquide/liquide pour une application à la spéciation du mercure dans les sols.

Ce stage de diplôme est pour moi une première expérience dans le domaine de la chimie analytique. J'ai pu collaborer et cotravailler avec les personnes les plus réputées dans l'analyse de traces et d'ultra traces des éléments. Ce stage m'a fait découvrir la vie dans un laboratoire analytique dans une structure qui est l'UT2A. L'esprit d'entreprise et le travail d'équipe y est très présent.

Ces six mois passés à l'UT2A m'ont apporté un enrichissement de mes connaissances techniques et scientifiques et j'ai pris conscience de l'importance de l'organisation, seule capable de faire avancer les choses.

Je garderai un très bon souvenir des trois semaines de formation organisées par UT2A sur les techniques d'analyse par ICP-OES et ICP-MS.

4.2 Perspectives

Ce travail de diplôme présente une première partie de l'élaboration d'une méthode simple d'extraction du monométhyle mercure dans les sols.

En perspective,

La rétention du monométhyle mercure par la SPE échangeuse de cations n'est pas tout à fait optimal. La présence de phase contenant des groupements thiols ou mercapto devrait pouvoir améliorer cette extraction. Dans ce cas, les deux formes de mercures seront retenues dans la colonne, mais peuvent être éluées avec de l'acide chlorhydrique 1 M et 6 M pour le monométhyle mercure et mercure inorganique, respectivement.

Le facteur de sélectivité du dichloromethane comme solvant d'extraction du monométhyle mercure est assez élevé. Il peut être amélioré en diminuant la polarité du solvant par ajout d'un autre solvant peu polaire comme le méthanol.

Un système à micro-onde en système ouvert est plus abordable qu'en système fermé. La pression et la montée en température peuvent provoquer des explosion dans un système fermé. Il serait judicieux de pouvoir ré optimiser l'extraction en système ouvert pour qu'il soit plus juste et quantifiable.

Une procédure chromatographique avant l'analyse par l'AMA 254 est envisageable dans la mesure où les extractions liquide/liquide du monométhyle mercure et la chromatographie préparative ne donnent pas des résultats satisfaisants. La majorité des publications scientifiques sur la spéciation du mercure vont dans ce sens.

5 BIBLIOGRAPHIE

- [1] McQuarrie C., & al., *Chimie générale*, Traduction de la troisième édition américaine, De Boeck, Bruxelles 1998, p.32.
- [2] Lide D., & al., *Handbook of chemistry and physics*, 85^{ème} édition, CRC Press, Etats unis 2004, p.6_147-148.
- [3] Depovere P., & al., *La classification périodique des éléments :la merveille fondamentale de l'univers*, 2^{ème} édition, De Boeck, Bruxelles 1997, p.17-104.
- [4] Frei R.W., & al., *Analytical aspects of mercury and other heavy metals in the environment*, Gordon and Breach science publishers, Grande Bretagne 1975.
- [5] Bliefert C., & al., *Chimie de l'environnement : air / eau / sols / déchets*, Traduction de l'allemand, De Boeck, Bruxelles 2000, p.378.
- [6] Hill Hassall A., & al., *On the determination of chlorine and urea in the urine by Liebig's methode with protonitrate de mercure*, The Lancet, Volume 85, Issue 2164, 1865, p.170.
- [7] Smith E.F., & al., *The electrolytic determination of mercury*, Journal of the Franklin Institute, Volume 131, Issue 4, 1891, p.297.
- [8] Booth H.S., & al., *The determination of traces of mercury, the sensitivity of the qualitative tests for mercury, a new method for the detection of mercury sensitive to one part in a billion*, Journal of the American Chemical Society, Volume 47, Issue 11, 1925, p.2625.
- [9] Willard H.H., & al., *Determination of mercury as metal by reduction with hydrazine or stannous chloride*, Journal of the American chemical society, Volume 52, Issue 2, 1930, p.569.
- [10] Hingle D.N., & al., *Some observations on the determination of mercury by atomic-absorption spectroscopy in an air-acetylene flame*, The Analyst, 1967, p. 759.
- [11] Locke J., & al., *The application of plasma source atomic emission spectrometry in forensic science*, Analytica Chimica Acta, volume 113, Issue 1, 1980, p.3.
- [12] Zheng L., & al., *The distribution, occurrence and environmental effect of mercury in chinese coals*, Science of the total environment, Volume 384, Issue 1-3, 2007, p. 374.

- [13] Jin M., & al., Reproductive and developmental toxicities of male mice induced by methylmercury, *Journal of Jilin University Medicine* edition, Volume 31, Issue 4, 2005, p.522.
- [14] Holt D., & al., The toxicity and teragenicity of mercuric mercury in the pregnant rat, *Archives of toxicology*, Volume 58, Issue 4, 1986 p. 243.
- [15] Ravichandran M., & al., Interactions between mercury and dissolved organic matter, *Chemosphere*, Volume 55, Issue 3, 2004, p.319.
- [16] Singh T.K., & al., Control of mercury in biological system, *Asian Journal of chemistry*, Volume 15, Issue 3-4, 2003, p.1840.
- [17] Miller R.W., & al., How environmental hazards in childhood have been discovered : carcinogens, teratogens, neurotoxicants and others, *Pediatrics*, Volume 113, Issue 4 II, 2004, p.945.
- [18] Gamo M., & al., Ranking the risks of 12 major environmental pollutants that occur in Japan, *Chemosphere*, Volume 53, Issue 4, 2003, p. 277.
- [19] Yorifuji T., & al., Long-term exposure to methylmercury and neurologic signs in Minamata and neighboring communities, *epidemiology*, Volume 19, Issue 1, 2008, p. 3.
- [20] Takaoka S., & al., Somatosensory disturbance by methylmercury exposure, *Environmantal research*, Volume 107, Issue 1, 2008, p.6.
- [21] Chen J., & al., Determination of ultra-trace amount methyl-, phenyl- and inorganic mercury in environmental and biological samples by liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry afte cloud point extraction preconcentration, *Talanta*, Volume 77, Issue 4, 2009, p. 1381.
- [22] Berzas Nevado J.J., & al., Determination of monomethylmercury in low- and high-polluted sediments by microwave extraction and gas chromatography with atomic fluorescence detection, *Analytica Chimica Acta*, Volume 608, Issue 1, 2008, p.30.
- [23] Li Y., & al., Gas chromatography-inductively coupled plasma-mass spectrometry for mercury speciation in saefood, *Chinese journal of analytical chemistry*, Volume 36, Issue 6, 2008, p.793.

- [24] Cattani I., & al., characterisation of mercury species in soils by HPLC_ICP_MS and measurement of fraction removed by diffusive gradient in thin films, *Talanta*, Volume 74, Issue 5, 2008, p.1520.
- [25] Laxen D., & al., Cleaning methodes for polythene containers prior to the determination of trace metals in freshwater samples, *Analytical Chemistry* 1981 (53), issue 2, p.345 – 350.
- [26] Yang X., & al., Spatial analysis and hazard assessmanet of mercury in soil around the coal-fired power plant : a case study from the city of baoji Chine, *Environmental geology* Volume 53 Issue 7, Elsevier 2008, p.1381-1388.
- [27] Rahman G.M., & al., Development of a microwave assisted extraction methode and validation of mercury species in soils and sediments, *Journal of Analytical Absorption spectrometry*, Pittsburgh 2005.
- [28] Gardner M., & al., Stability of mercury in seawater samples, *Analytical communications*, Volume 34, 1997, p.245.
- [29] Parker J.L., & al., Preservation and storage techniques for low-level aqueous mercury speciation, *Science of the total environment*, Volume 337, Elsevier 2005, p.253.
- [30] Sellers P., & al., Photodegradation of methylmercury in lakes, *Nature*, Volume 380, Elsevier 1996, p.694.
- [31] Snell J., & al., Stability and reactions of mercury species in organic solution, *The analyst*, Volume 123, 1998, p.905.
- [32] Carrasco P., & al., Heterogeneity and Ingamells's tests of some Chilean porphyry ores, *Australian Institute of mining and metallurgy publication series*, 2005, p. 139.
- [33] Liang L., & al., Simple solvent extraction technique for elimination of matrix interferences in the determination of methylmercury in environmental and biological samples by ethylation-gas chromatography-cold vapor atomic fluorescence spectrometry, *Talanata*, Volume 43, Elsevier 1996, p. 1883.
- [34] Goupy J., & al., Introduction aux plans d'expériences, 2nd édition, Edition DUNOD Paris, Paris 2001.

6 ANNEXE

ANNEXE_1 : Liste chronologique des pannes, erreurs et problèmes liés à l'instrument d'analyse

ANNEXE_2 : Etude de la stabilité du mercure en milieu acide

ANNEXE_3_1 : Extraction du MMHg et de l'I Hg par le xylène

ANNEXE_3_2 : Extraction du MMHg et de l'I Hg par l'iso-octane

ANNEXE_3_3 : Extraction du MMHg et de l'I Hg par le dichloromethane

ANNEXE_4 : Extraction du MMHg et de l'I Hg par du xylène en milieu alcalin

ANNEXE_5 : Détermination du LoQ par la méthode Eurachem

ANNEXE_6 : Pic de l'I Hg à 100 µg/kg