

Décontamination de la vaisselle de laboratoire en vue d'analyse d'éléments en traces par ICP-OES : Est-ce toujours nécessaire ?

Fatima Bon ¹, Dominique Orignac ¹, Thierry Prunet ¹, Pierre Masson ¹, Mireille Barbaste ¹

Résumé : *La justesse d'une analyse est liée à toutes les précautions prises lors des manipulations des échantillons pour éviter les pertes mais aussi les contaminations. L'environnement de l'analyse est maintenu dans un état de propreté optimal pour limiter ces contaminations. Cela se vérifie autant dans l'équipement des salles de préparation et d'analyse des échantillons (salle blanche par exemple) que dans la propreté des ustensiles au contact des échantillons (spatules, verrerie de laboratoire). Par mesure de précaution, il est d'usage de décontaminer la verrerie de laboratoire avant son emploi par trempage dans des bains d'acide concentré lors de l'analyse des éléments en traces. Cette étape de préparation de l'analyse est souvent dangereuse (manipulation d'acides concentrés), nécessite de nombreuses manipulations (trempage, rinçage), augmente le temps d'indisponibilité de la verrerie et est coûteuse (prix des acides de qualité analytique utilisés). Le but de notre étude est de vérifier la nécessité de la décontamination de la verrerie de laboratoire avant l'analyse d'éléments minéraux en trace sur des échantillons végétaux. Nous proposons une méthodologie permettant la vérification de l'efficacité de la décontamination. Enfin, nous montrons que, dans des conditions d'environnement contrôlées, cette décontamination n'est pas nécessaire.*

Mots clés : Verrerie de laboratoire, décontamination, lavage, analyse, éléments minéraux, traces.

Introduction

Les analystes qui ont des analyses d'éléments en traces à réaliser, par mesure de précaution, mettent leur vaisselle à tremper dans des bains d'acide concentré (souvent de l'acide nitrique concentré à 10 %). Des articles consacrés à l'analyse d'ultra traces, décrivent les précautions prises en terme de lavage de la verrerie sans apporter de preuve de l'efficacité de cette étape particulière (Boutron, 1990, Rhoades Jr, 1996, Adeloju *et al*, 1985). Des études ont porté sur les contaminations apportées par les matières plastiques (Moody *et al*, 1977), et le polypropylène (Dabeka *et al*, 1976). Des méthodes de lavage ont été testées pour le polyéthylène (Laxen *et al*, 1981). Kosta rapporte une décroissance des contaminations apportées par le verre sans donner ni de référence bibliographique, ni de résultats d'analyse. Les études se focalisent généralement sur un type de matériaux, alors qu'au cours de la minéralisation d'un échantillon en vue de son analyse par les éléments en traces, divers contenant peuvent être utilisés (capsules en porcelaine, fioles en verre Duran, entonnoirs en polypropylène). A notre connaissance, il n'existe pas d'étude consacrée aux contaminations apportées ou réduites par le mode de lavage de la verrerie de laboratoire. Or, cette étape de décontamination est consommatrice de temps, génératrice d'accidents (manipulation de fiole mouillées, glissantes dans des bains d'acides) et coûteuse (acide de qualité analytique

¹ US1118 USRAVE – INRA, F-33883 Villenave d'Ornon Cedex

☎ 05 57 12 23 98

✉ barbaste@bordeaux.inra.fr

employé par bouteilles entières dans des bacs de décontamination contenant une dizaine de litres). Des solutions techniques ont été proposées par certains fournisseurs d'appareils scientifiques sous forme de machines à décontaminer. Ces appareillages ne permettent malheureusement pas de traiter de grandes quantités de verrerie de laboratoire, empêchant leur utilisation dans les laboratoires d'analyse de routine (TraceClean system de Milestone ou Mini vessels cleaner commercialisé en France par Analab et par Ambrosia technologies). Les machines à laver et à décontaminer automatiques utilisées dans les laboratoires de biologie ont souvent des cuves en acier inox et ne sont pas compatibles avec l'utilisation d'acides concentrés nécessaires pour la décontamination en éléments minéraux.



1)

Photos 1 : 1) *Mini vessels cleaner,*



2)

2) *TraceClean system de Milestone*

Les laboratoires actuels sont conçus pour minimiser les sources de pollution des échantillons (atmosphère contrôlée, salles propres, réseaux d'eau purifiée). Dans ces conditions on peut se demander s'il est toujours nécessaire de décontaminer la verrerie de laboratoire en vue de l'analyse d'éléments en traces. Dans cette étude, nous proposons une méthodologie permettant la vérification de l'efficacité de la décontamination de la verrerie de laboratoire, et nous l'appliquons à un cas concret : l'analyse des éléments majeurs et traces sur des échantillons d'origine végétale.

1. Description du matériel et des méthodes

1.1 Conditions ambiantes

L'ensemble des manipulations a été réalisé dans des laboratoires équipés de système d'introduction d'air filtré (salles en surpression). L'ensemble de la verrerie de laboratoire est lavée dans des machines à laver de laboratoire (1300UP, Lancer, Tournefeuille, France). Les détergents employés sont des détergents courants de laboratoire TFD7 et Neutrax PF, (Franklab France, Saint Quentin en Yvelines, France). Le cycle de lavage se termine par un rinçage à l'eau bipermutée. La vaisselle est conservée, couverte, à l'abri de la poussière.

1.2 Instruments

Un ICP-AES Iris Intrepid (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA) équipé d'un nébuliseur ultrasonique U-5000AT+ (CETAC, Omaha Nebraska, USA) a été utilisé pour l'analyse de Cd, Co, Cr, Mo, Ni, Pb sur les échantillons végétaux. Un ICP-AES Vista Pro (Varian, Mulgrave, Victoria Australie) équipé d'un nébuliseur V-Groove a été utilisé pour

l'analyse d'Al, B, Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, P, K, Na, Zn sur les échantillons végétaux. Les deux ICP-AES possèdent une torche comprenant un tube injecteur en quartz de 2,3mm de diamètre. Un ICP-MS Thermo Electron X Series II (Thermo Elemental, Winsford, RU) équipé d'un passeur automatique CETAC modèle ASX 500 (Omaha, Nebraska, USA) a été utilisé pour l'analyse des essais « blancs ». Cet ICP-MS était équipé d'une torche standard possédant un injecteur de diamètre 1,5 et de cônes écrémeur et échantillonneur en nickel. Les conditions opératoires sont décrites par ailleurs (Masson et al, 2007 et 2010).

Les pesées et corrections d'humidité ont été faites grâce à une balance (Mettler Toledo S.A., Viroflay, France) et une étuve sous contrôle métrologique à $103 \pm 5^\circ\text{C}$.

Les minéralisations ont été réalisées grâce à un four à moufle Termolyne 30400 (Memmert, Schwabach, Allemagne), une plaque chauffante Ceran 500 (Schott, Mainz, Allemagne), des filtres sans cendre n°40 Whatmann (Whatman International Ltd, Maidstone Kent, RU).

1.3 Solutions/Solvants

Les minéralisations et mise en solution ont été faites avec de l'acide nitrique concentré à 65% (Baker Analyzed, Deventer, Holland) et de l'acide fluorhydrique à 48% (Baker Analyzed, Deventer, Holland). Les solutions d'étalonnage des appareils ont été réalisées par pesée à partir de Titrisols (Merck S.A., Fontenay sous bois, France). L'eau utilisée pour l'ensemble des préparations de solution étalon et d'échantillon est de l'eau distillée de résistivité contrôlée et supérieure à $0,6\text{M}\Omega$.

1.4 Minéralisation et mise en solution

Dans une capsule en porcelaine, 1g de poudre de végétal sec est pesé et mis à calciner dans un four à moufle à 480°C pendant 5 h. On ajoute 5 ml d'acide nitrique concentré aux cendres recueillies et évaporés à sec. On ajoute 5 ml d'eau distillée dans les capsules et on évapore à sec. Le minéralisat est mise en solution dans 5 ml d'acide nitrique 7,22 N. La solution obtenue est filtrée sur filtre sans cendre et recueillie dans une fiole jaugée de 100 ml. Le filtre est recueilli dans une capsule en céramique et est calciné dans un four à moufle à 550°C pendant 2 h. Les cendres sont transférées dans une capsule téflon. 5 ml d'acide fluorhydrique concentré sont ajoutés aux cendres recueillies et évaporés à sec. 5 ml d'acide nitrique concentré sont ajoutés dans les capsules et évaporés à sec. 5 ml d'eau distillée sont ajoutés dans les capsules et évaporées à sec. Le minéralisat est mise en solution dans 5 ml d'acide nitrique 7,22 N. La solution obtenue est filtrée sur filtre sans cendre et recueillie dans la fiole jaugée contenant déjà la solution issue de la 1^{ère} étape de la minéralisation. La fiole jaugée est complétée à 100 ml avec de l'eau distillée.

1.5 Verrerie de laboratoire

La totalité de la verrerie employée est de la verrerie couramment utilisée dans le laboratoire. Les capsules employées sont des capsules en porcelaine (Morgan Technical Ceramics Haldenwanger, Waldkraiburg, Allemagne) et des capsules en téflon® (Brand GMBH + CO KG, Wertheim, Allemagne). Les fioles sont des fioles de 100 ml de classe A en verre Duran (Brand GMBH + CO KG, Wertheim, Allemagne). Les entonnoirs et les bouchons sont en polypropylène (Brand GMBH + CO KG, Wertheim, Allemagne).

1.6. Description des essais

1.6.a Blancs

Deux lots de 20 capsules en porcelaine, 20 capsules en téflon, 20 fioles, 20 entonnoirs et 20 bouchons, préalablement lavés dans un laveur de laboratoire ont été constitués. Le premier lot a été mis à tremper dans un bac d'acide nitrique concentré à 10 %. Le second lot a été utilisé tel quel. Le protocole de minéralisation et mise en solution décrit ci-dessus a été employé sans échantillon. Les solutions obtenues ont été analysées par ICP-MS.

1.6.b Echantillons de feuille de chêne V464

Deux lots ont été constitués en utilisant la même procédure qu'au **1.6.a**. Puis, le protocole de minéralisation et mise en solution décrit au **1.4** a été employé avec comme échantillon l'échantillon de contrôle de laboratoire de feuille de chêne V464. Les analyses ont été réalisées sur ICP-OES.

1.7 Echantillons de référence

La qualité de l'analyse a été contrôlée par l'utilisation d'échantillons de référence de laboratoire V463 (Maïs) créés à l'USRAVE avec l'aide du BIPEA et par l'utilisation de blancs de préparation. Deux blancs de préparation ont été préparés en fonction du lot de vaisselle analysé (blanc de préparation avec de la vaisselle décontaminée et blanc de préparation avec de la vaisselle non décontaminée). Les valeurs de concentration mesurées pour les blancs sont retirées des valeurs de concentration des échantillons inconnus.

2. Résultats

2.1 Essais sur les blancs

Les résultats obtenus sont donnés dans le **tableau 1**. Pour P, Zn, et Co, les valeurs de concentration se situent en dessous de la limite de quantification et ne permettent pas de conclure. Pour Cd, Al, Ca, Mg, Ni et Pb les variances obtenues (supérieures à 30%) sont importantes et ne permettent pas de conclure quant à la significativité du recouvrement observé. Pour B, Cu, Mn, Cr, un recouvrement des valeurs obtenues pour les deux types de verrerie est constaté. Les données ne sont pas significativement différentes, la décontamination de la verrerie n'apporte pas d'amélioration pour ces éléments.

Pour Fe, K, Mo et Na une différence significative est trouvée entre les deux lots de verrerie. L'enrichissement constaté est respectivement compris entre 1 et 49 $\mu\text{g.l}^{-1}$, 93 et 193 $\mu\text{g.l}^{-1}$, 0,007 et 0,1 $\mu\text{g.l}^{-1}$ et entre 704 et 270 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Ces valeurs sont très faibles et sont très en deçà des concentrations habituellement mesurées dans les végétaux. Afin de vérifier l'enrichissement d'échantillons de plantes, l'essai a été répété sur des échantillons de feuille de chêne.

2.2 Essais sur les échantillons de feuille de chêne

Les résultats obtenus sont donnés dans le **tableau 2**. Pour la totalité des éléments étudiés, la valeur absolue de l'écart relatif entre les moyennes sur 20 répétitions sur les deux lots de verrerie a été comparée à l'incertitude de mesure. L'incertitude de mesure a été évaluée sur la totalité de chaîne d'analyse : de la prise d'essais jusqu'à l'analyse instrumentale via la minéralisation. Il n'y a pas de différence significative entre les valeurs de concentration

obtenues avec de la vaisselle décontaminée et de la vaisselle non décontaminée, les résultats pour les deux lots se recouvrent.

Par ailleurs, les écarts types obtenus sur 20 répétitions sont comparables, pour chacun de ces éléments, pour les deux lots de vaisselle. De même les valeurs maximales et minimales (non présentées ici) sont également comparables. Il est à noter, que nous ne possédons pas de valeur d'incertitude pour Na et B. Cependant, les écarts relatifs mesurés pour les deux lots de vaisselle sont faibles (4 % pour ces deux éléments). Nous pouvons en conclure, au vu du niveau de concentration des ces éléments dans les végétaux ($\mu\text{g/g}$) et des valeurs d'incertitudes attendues (de l'ordre de 10 %), que les résultats obtenus sur ces deux lots pour ces éléments sont équivalents.

Elément	Al		B		Cd		Ca		Cr		Co	
Unité	$\mu\text{g/l}$		$\mu\text{g/l}$		ng/l		$\mu\text{g/l}$		$\mu\text{g/l}$		ng/l	
Verrerie ND	195 ± 129	(66)	393 ± 112	(28)	36 ± 11	(31)	547 ± 96	(18)	2,00 ± 0,37	(19)	83 ± 84	(101)
VerrerieD	103 ± 23	(22)	258 ± 62	(24)	48 ± 18	(38)	340 ± 118	(35)	1,61 ± 0,35	(22)	213 ± 118	(55)
LQ	21		10		46		52		0,12		60	
Elément	Cu		Fe		K		Mg		Mn		Mo	
Unité	$\mu\text{g/l}$		$\mu\text{g/l}$		$\mu\text{g/l}$		$\mu\text{g/l}$		$\mu\text{g/l}$		$\mu\text{g/l}$	
Verrerie ND	3,8 ± 0,7	(19)	58 ± 17	(29)	209 ± 31	(15)	228 ± 71	(31)	0,88 ± 0,26	(29)	0,23 ± 0,04	(16)
VerrerieD	2,9 ± 0,7	(24)	32 ± 7	(22)	66 ± 19	(29)	79 ± 33	(42)	0,63 ± 0,10	(16)	0,17 ± 0,02	(11)
LQ	1,4		5		31		8		0,08		0,2	
Elément	P		Pb		Na		Ni		Zn			
Unité	$\mu\text{g/l}$		$\mu\text{g/l}$		$\mu\text{g/l}$		$\mu\text{g/l}$		$\mu\text{g/l}$			
Verrerie ND	12,1 ± 2,9	(24)	0,60 ± 0,33	(55)	936 ± 162	(17)	1,4 ± 0,6	(45)	6,2 ± 2,0	(34)		
VerrerieD	10,5 ± 1,9	(18)	0,92 ± 0,45	(49)	474 ± 80	(17)	1,7 ± 1,0	(60)	6,3 ± 2,2	(36)		
LQ	16,6		0,34		/		0,7		9			

Tableau 1 : moyenne ± écart type sur 20 répétitions (coefficient de variation en %) en $\mu\text{g.L}^{-1}$, analyse par ICP-MS de blancs de préparation (ND = Non Décontaminée, D = Décontaminé, LQ = Limite de quantification)

Elément	Al		B		Cd		Ca		Cr		Co	
Unité	$\mu\text{g/g}$		$\mu\text{g/g}$		ng/g		mg/g		$\mu\text{g/g}$		mg/kg	
Verrerie ND	439 ± 12	(3)	23 ± 1	(5)	96 ± 14	(15)	10,6 ± 0,2	(2)	2,65 ± 0,09	(3)	0,135 ± 0,018	(13)
Verrerie D	427 ± 11	(3)	22 ± 2	(10)	94 ± 2	(3)	10,6 ± 0,2	(2)	2,66 ± 0,14	(5)	0,132 ± 0,007	(6)
Ecart relatif entre les moyennes en %	3		4		2		0,1		-0,3		3	
I en %	15				20		10		25		25	
Elément	Cu		Fe		K		Mg		Mn		Mo	
Unité	$\mu\text{g/g}$		$\mu\text{g/g}$		mg/g		mg/g		$\mu\text{g/g}$		$\mu\text{g/g}$	
Verrerie ND	5,8 ± 0,7	(11)	235 ± 7	(3)	3,06 ± 0,05	(2)	1,14 ± 0,02	(2)	1267 ± 16	(1)	0,096 ± 0,007	(7)
Verrerie D	5,8 ± 0,3	(5)	239 ± 6	(3)	3,07 ± 0,06	(2)	1,14 ± 0,02	(2)	1264 ± 21	(2)	0,103 ± 0,006	(6)
Ecart relatif entre les moyennes en %	1		-2		-0,3		-0,1		0,2		-7	
I en %	20		15		10		10		10		15	
Elément	P		Pb		Na		Ni		Zn			
Unité	mg/g		$\mu\text{g/g}$		$\mu\text{g/g}$		ng/g		$\mu\text{g/g}$			
Verrerie ND	0,462 ± 0,008	(2)	2,44 ± 0,06	(2)	166 ± 8	(5)	28 ± 1	(4)	26 ± 1	(4)		
Verrerie D	0,461 ± 0,012	(3)	2,57 ± 0,39	(15)	160 ± 9	(5)	28 ± 1	(3)	25 ± 1	(5)		
Ecart relatif entre les moyennes en %	0,3		-5		4		-0,4		3			
I en %	5		15						10			

Tableau 2 : moyenne ± écart type sur 20 répétitions (coefficient de variation en %), analyse par ICP-OES d'un échantillon de contrôle de feuille de chêne (V464). (ND = Non Décontaminée, D = Décontaminé, I = Incertitude de l'analyse).

Conclusions et perspectives

Les essais réalisés autant sur des blancs que sur des échantillons de végétaux montrent qu'il n'y a pas de différence significative entre des analyses faites en utilisant de la vaisselle décontaminée ou non décontaminée pour l'ensemble des éléments étudiés. La décontamination de la vaisselle ne diminue pas de façon significative la pollution qui pourrait être amenée par la verrerie de laboratoire. De plus, par cette étude, nous avons pu également montrer qu'elle n'apportait pas de pollution significative.

La démarche employée peut être réinvestie dans d'autres laboratoires afin de vérifier les risques de contamination du à l'emploi de verrerie décontaminée ou non en fonction des conditions ambiantes (eau employée pour le lavage, empoussièrement des locaux).

Les résultats obtenus concernaient de la verrerie de laboratoire en usage courant. Nous recommandons de rester vigilant avec de la verrerie neuve (Kosta, 1982) et de contrôler attentivement les blancs de préparations dès l'introduction de nouveau matériel.

Cette étude a permis de montrer que, dans les conditions habituelles de travail dans notre laboratoire, la décontamination de la verrerie de laboratoire est inutile.

Bibliographie

Adeloju S.B., Bond A.M., (1985) Influence of laboratory environment on the precision and accuracy of trace element analysis, *Anal. Chem.*, 57: 1728-1733.

Boutron C.F. (1990) A clean laboratory for ultralow concentration heavy metal analysis, *Fresenius J. Anal. Chem*, 337: 482-491.

Dabeka R.W., Mykytiuk A., Berman S.S. et Russel D.S. (1976) Polypropylene for the sub-boiling distillation and storage of high purity acids and water, *Anal. Chem.*, 48 (8): 1203-1207.

Kosta L., (1982) Contamination as limiting parameter in trace analysis, *Talanta*, 29: 985-992.

Laxen D.P.H., Harrison R.M., (1981) Cleaning methods for polythene containers prior to the determination of trace metals in freshwater samples, *Anal. Chem.*, 53: 345-350.

Masson P., Dalix T., (2007) Détermination simultanée des éléments majeurs et des éléments en traces dans les végétaux par ICP-MS, *Spectratom 2007*, 21-24 mai, Pau, France

Masson P., Dalix T., Bussière S., (2010) Determination of major and trace elements in plant samples by inductively coupled plasma-mass spectrometry, *Communications in soil science and plant analysis*, 41 (3): 231-243.

Moody J.R., Lindstrom R., (1977) Selection and cleaning of plastic containers for storage of trace element samples, *Anal. Chem.*, 49 (14): 2264-2266.

Rhoades C.B. Jr. (1996) Clean laboratory chemistry for the microwave-assisted digestion of botanic samples, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 11; 751-757