

Prélèvement, préservation et prétraitement des échantillons

Journées physico-chimie à Arras les 16 et 17 juin 2005

Mireille Barbaste¹, Giovanni Caria¹, Henri Ciesielski², Nicolas Proix², Fabienne Trolard³

Résumé : Cet article a pour objet de décrire les différentes étapes de traitement de l'échantillon prélevé sur le terrain et destiné à l'analyse. Des éléments de réflexions, des alertes sur les risques de pertes ou de contamination encouru lors des étapes de conditionnement, transport, stockage, division, séchage, broyage, conservation sont donnés. Les analytes considérés sont les composés organiques et les éléments minéraux pour des matrices environnementales (sols, végétaux, solutions, déchets).

Mots clés : Prétraitement échantillons, sol, végétaux, déchets, ETM, molécules organiques

Introduction

Lors des journées physico-chimie qui se sont tenues à Arras les 16 et 17 juin 2005, une demi-journée a été consacrée à la conservation et au prétraitement des échantillons pour analyses. Les matrices considérées ont été les sols, les végétaux, les solutions et les déchets (boues, composts), en vue des analyses de composés minéraux et organiques en excluant toutefois celles à caractère microbiologique.

Ce document est issu des présentations faites lors de cette session et des discussions qui ont suivi. Compte tenu de la variété des matrices et des analytes, on ne peut envisager l'élaboration de protocoles détaillés et exhaustifs pour le prétraitement des échantillons. L'objectif recherché ici est donc plutôt de fournir quelques éléments de réflexion pour préserver au mieux les caractéristiques qualitatives et quantitatives des grandeurs à mesurer.

1. Généralités

Du prélèvement de « l'échantillon pour laboratoire » jusqu'à la préparation de « l'échantillon pour essai », il convient d'éviter toute dégradation des composés à analyser. Les dégradations peuvent être d'origine :

- physique : volatilisation, adsorption,
- chimique : oxydoréduction, réactions photochimiques,
- biologique : activité microbiologique, réactions enzymatiques.

A ces difficultés s'ajoutent les risques de contamination induits par l'utilisation de récipients et outils de préparation non adaptés.

¹ Inra USRAVE -Analyses végétales et environnementales - BP 81 - 33883 Villenave d'Ornon cedex
☎ 05 57 12 24 04 ✉ barbaste@bordeaux.inra.fr

² Inra Analyses des sols LAS - 273 rue de Cambrai -62000 Arras - ☎03 21 21 86 00 ✉ las@arras.inra.fr

³ Inra GSE -Géochimie des soles et des eaux - Europôle méditerranéen de l'Arbois - BP 80 - 13545 Aix en Provence cedex 04 ☎ 04 42 90 85 41 ✉ trolard@aix.inra.fr

La connaissance de certaines caractéristiques physico-chimiques des composés à analyser peut aider au choix d'une méthode appropriée de prétraitement des échantillons.

On peut citer :

- la température d'ébullition ou la tension de vapeur à température et pression données,
- la sensibilité à certains types de dégradation, photochimique par exemple,
- la solubilité dans l'eau,
- la polarité des composés,
- le coefficient de partage eau-octanol,
- etc.

2. Prélèvement, contraintes particulières, identification des échantillons

Cette opération consiste à produire un échantillon destiné au laboratoire qui soit représentatif de l'entité à caractériser. Si les procédures de prélèvement pour obtenir cette représentativité ne sont pas examinées ici, le mode de prélèvement en lui-même ne peut être complètement occulté car il peut déjà faire appel à des protocoles spécifiques destinés à préserver les grandeurs à mesurer. Par exemple, prélever les solutions du sol à l'abri de l'oxygène est une nécessité pour ne pas modifier les équilibres induits par des conditions réductrices.

Note: *L'obligation de conserver les conditions de milieu peut nous amener à considérer la réalisation in situ des mesures elles-mêmes. Si l'opération s'avère techniquement délicate, il n'en demeure pas moins que la miniaturisation de certaines techniques a déjà permis des progrès importants dans ce domaine.*

Pour certains analytes, on peut également être amené à stabiliser l'échantillon dès que prélevé. Cela peut se traduire, par exemple, par l'addition d'un volume connu de solvant à un échantillon de sol brut, pour éviter la volatilisation de composés organiques de faibles masses moléculaires⁴.

Le volume d'échantillon brut prélevé peut être conséquent. Dans les cas les plus simples, il peut faire l'objet d'une réduction sur le terrain⁵ avant d'être transmis au laboratoire. Sinon, c'est dans ce dernier que sera réalisée la réduction.

Enfin, il peut être utile de rappeler que le support portant les données d'identification de l'échantillon doit être conçu pour résister aux conditions de transport et de conservation. En règle générale, le demandeur est libre de choisir son mode d'identification dont la nomenclature sera fonction de la taille et de la complexité du programme ou de la campagne d'analyses. Il va cependant de soi que la procédure retenue doit être compatible avec les possibilités du laboratoire et il peut s'avérer nécessaire de consulter ce dernier au préalable. Lorsqu'on envisage la récupération des données analytiques sur une échelle plus large il est nécessaire de se fixer des règles d'identification homogènes. Un exemple de norme existe pour les sols⁶. Rappelons toutefois qu'un laboratoire accrédité ne peut déroger à des exigences très strictes de confidentialité sans un accord de ses clients et ce, quel que soit le niveau d'intégration des données fournies à un tiers.

⁴ NF ISO 13877 - Qualité du sol – Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance

⁵ NF X 31-100 - Qualité des sols – Echantillonnage – Méthode de prélèvement des échantillons de sol

⁶ NF ISO 15903 – Qualité du sol - Format d'enregistrement des données relatives aux sols et aux sites.

3. Conditionnement, transport des échantillons

Les critères de choix du récipient destiné à contenir l'échantillon brut relèvent souvent du bon sens :

- taille, forme et masse,
- résistance mécanique,
- étanchéité du système de fermeture,
- résistance aux variations de température,
- étanchéité à l'humidité, aux échanges gazeux,
- disponibilité et coût,
- possibilité de réutilisation.

Il convient d'éviter les interactions entre le matériau constitutif et l'échantillon. Les principaux problèmes rencontrés sont :

- adsorption de l'analyte par les parois,
- contamination de l'échantillon par les constituants du récipient,
- réaction entre les constituants de l'échantillon et le récipient.

Les risques seront d'autant plus importants que la surface de contact entre les parois du récipient et l'échantillon sera élevée. Dans la pratique, pour le dosage des composés organiques, on utilisera plutôt le verre. Lorsque des réactions en présence de lumière sont à craindre, ce dernier sera ambré. Les bouchons seront munis de capuchons en PTFE ou de feuilles d'aluminium. Pour les composés minéraux on utilisera plutôt des polymères neutres comme le PTFE (Polytetrafluoroéthylène).

Il existe plusieurs qualités de téflon® (PTFE, PFA...); à chacune correspond des caractéristiques de surface (adsorption, rugosité...). Les fournisseurs peuvent donner les caractéristiques de ces produits.

Certains échantillons peuvent être le siège d'une activité microbologique plus ou moins intense susceptible de les dénaturer et/ou de modifier les valeurs des grandeurs à mesurer. Dans ces cas, on utilisera le transport à froid pour limiter ces phénomènes : congélation lorsque l'échantillon s'y prête ou température proche de 0°C dans le cas contraire ou lorsque les temps de trajet entre le lieu de prélèvement et le laboratoire sont réduits.

Les conditions de transport doivent prendre en compte la sensibilité de l'échantillon à l'écrasement (transport de pêches ou de fraises par exemple). Pour les échantillons fragiles, il est important d'évaluer en plus de la durée du transport les retards possibles (envoi par La Poste, destinataire absent...).

4. Conditions de stockage à l'arrivée au laboratoire

On retrouve les mêmes procédures de conservation que précédemment à savoir, maintien à une température proche de 0°C ou congélation lorsque nécessaire. Mais certains échantillons peuvent rester instables dans ces conditions et doivent être analysés ou stabilisés au plus vite selon les méthodes décrites dans la suite du texte.

5. Prétraitement de l'échantillon pour laboratoire

Par prétraitement on considère ici une succession d'opérations qui peuvent être faites en amont de la déshydratation et du broyage des échantillons ou même directement avant l'analyse lorsque ces deux dernières opérations ne sont pas nécessaires. On peut citer :

- la séparation des phases solides et liquides. On peut être amené à procéder à une filtration des solutions pour le dosage des anions suivie d'une acidification pour le dosage des cations. Des réactifs spécifiques peuvent être ajoutés pour la conservation de certains éléments comme le mercure ;
- l'élimination de constituants indésirables, consistant, par exemple, en un lavage préalable pour éliminer des dépôts superficiels dans le cas des végétaux. La méthode de lavage ne doit pas être agressive pour le végétal pour ne pas extraire les éléments contenus dans l'échantillon. Les ultrasons par leur action mécanique de surface nettoient sans entamer la surface du végétal. Les surfactants (type triton X) peuvent être utilisés s'ils sont dilués et s'il contiennent des quantités très faibles des éléments à analyser (demander la composition du produit au fournisseur) ;
- la réduction d'un échantillon trop volumineux qu'il convient de réduire alors qu'il est à l'état brut. On pourra utiliser la méthode par quartage dont un exemple est donné ci-dessous (**figure 1**), sachant que dans son principe elle peut s'appliquer à tous les niveaux de la préparation des échantillons et sur des échantillons en poudres, en grains ou en granulats. D'autres techniques de division sont décrites dans les normes T 20-083 et ISO 8213:1986⁷.

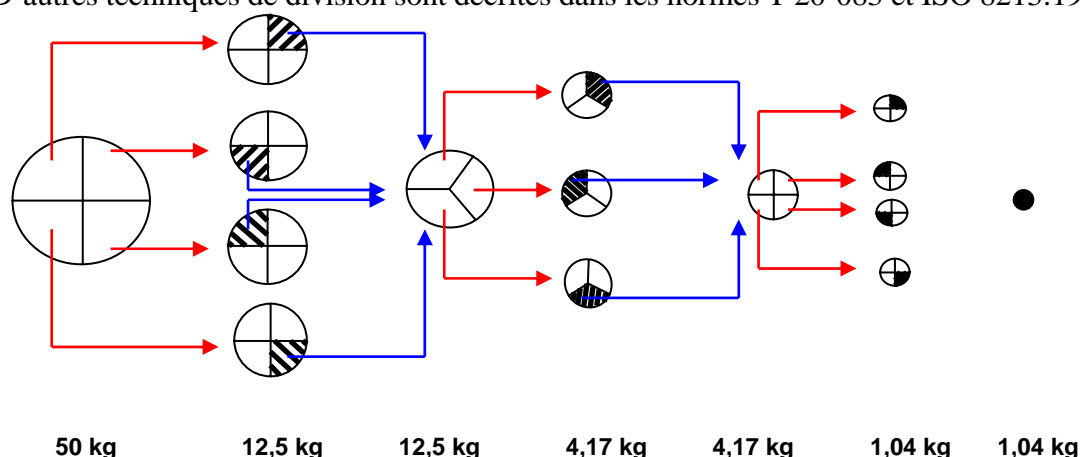


Figure 1 : Exemple de schéma de réduction d'un échantillon (méthode par quartage)

6. Obtention de l'échantillon pour essai

Le prétraitement effectué pour obtenir l'échantillon pour essai doit remplir certaines conditions :

- assurer la représentativité des prises d'essais pour analyses. En règle générale plus la masse prélevée sera faible, plus la granulométrie de l'échantillon pour essai devra être réduite ;
- préserver les quantités initiales des analytes ;
- préserver, si nécessaire, leur(s) forme(s) chimique(s).

⁷ T 20-083 - Produits chimiques à usage industriels - Techniques de l'échantillonnage.

ISO 8213/1986 – Produits chimiques à usage industriel – Techniques de l'échantillonnage – Produits chimiques solides de petite granulométrie et agglomérats grossiers.

En plus des difficultés déjà signalées dans le chapitre généralités, il faudra tenir compte, du degré d'hétérogénéité de l'échantillon et de celui de la répartition de l'analyte.

6.1 Le séchage

Lorsque les analytes se prêtent au séchage à l'air, à l'étuve (à des températures fixées) ou par lyophilisation, la préparation de l'échantillon pour essai se simplifie fortement car dès lors, on peut utiliser des systèmes de désagrégation et de broyage pour réduire la granulométrie et la taille des échantillons.

Note : Evoquer un séchage à l'air ou à l'étuve sans référence à la température à laquelle s'effectue l'opération n'a pas de sens. Il en est de même pour la lyophilisation. Terminer une lyophilisation à une température trop élevée revient pour certains composés à les distiller sous vide ! On pourrait conventionnellement fixer ici une limite comme la température ambiante ce qui correspondrait aux valeurs atteintes dans les appareils dépourvus de système de régulation de la température.

Pour les sols on peut se référer au document⁸ qui préconise pour les analyses de caractérisation et le dosage des éléments minéraux un séchage à une température inférieure à 40°C suivi d'une désagrégation des mottes et d'un tamisage à 2 mm. Cette granulométrie convient lorsque les prises d'essai sont supérieures à 2 g. Dans le cas contraire il faut se constituer un sous échantillon broyé à 250 µm.

Note : Le séchage des échantillons de sols change leurs teneurs en eau ce qui peut modifier le comportement de certaines espèces chimiques et en particulier leur niveau d'extractibilité vis-à-vis de réactifs d'extractions partielles. Cela peut constituer une entrave à la compréhension du comportement in situ de ces espèces. En revanche, lorsque l'objectif est la caractérisation, la hiérarchisation des effets, le séchage est obligatoire faute de quoi les mesures seraient dépendantes des conditions climatiques du moment.

Les végétaux sont généralement séchés à une température égale à 103±2°C⁹. Cette température permet d'avoir, *in fine*, après analyse, une valeur de concentration par rapport à la matière sèche et des données comparables d'un laboratoire à l'autre. Elle ne doit pas être appliquée dans le cas où l'on cherche à quantifier des éléments volatils à 103°C : la température de séchage doit être adaptée à l'élément à analyser (<70°C azote, bore, <50°C arsenic, sélénium, mercure). Les végétaux riches en eau comme la tomate ou le kiwi qui doivent être, pour les besoins de l'analyse, séchés à une température inférieure à 50 degrés, pourrissent au cours du séchage. Dans ce cas, l'étape de séchage est éliminée, le végétal est broyé et directement minéralisé (en milieu liquide avec chauffage à reflux). Les végétaux riches en sucres comme les choux sont généralement hygroscopiques (se regorgent d'eau dès qu'ils sont sortis des étuves, rendant la pesée difficile). Dans ce cas il peut être nécessaire d'utiliser une étuve à vide et de prévoir la pesée de matière sèche sous vide. Enfin, certaines molécules soufrées contenues dans certains végétaux tels que les choux et les champignons, par exemple, sont volatiles et seront éliminées en même temps que l'eau et ainsi fausseront les mesures de matière sèche. Certaines graines comme celles du colza ou du tournesol, du fait de leur teneur importante en graisses, forment des pâtes après séchage et broyage, là si, l'application l'autorise, elles seront traitées non séchées et non broyées.

⁸ NF ISO 11464 – Qualité du sol – Prétraitement des échantillons pour analyses physico-chimiques.

⁹ NF V 08-109 - Aliments des animaux – Détermination de la teneur en eau

6.2 Cas particulier de la lyophilisation

Pour conserver les analytes à leur niveau d'origine, l'élimination de l'eau par évaporation (séchage à l'air ou en étuve) peut s'avérer inappropriée à cause des conditions de température, de pression ou de durée qu'elle impose.

L'élimination de l'eau par sublimation peut constituer une alternative intéressante sous réserve de bien maîtriser la température de fin de lyophilisation pour les cas les plus complexes. Certains appareils permettent la régulation de la température de fin d'opération préalablement fixée à une valeur appropriée. Plus cette valeur sera basse et plus la durée de lyophilisation sera longue. En discussion à l'heure actuelle dans les commissions de normalisation européennes, la tendance serait de ne pas dépasser une valeur de +10°C. En fonction de la teneur en eau initiale des échantillons, la lyophilisation peut alors durer plusieurs jours.

Dans les pratiques actuelles, les boues sont préférentiellement lyophilisées, ainsi que les déchets lorsqu'ils s'y prêtent et ce, à une température finale proche de la température ambiante. Le mode de broyage idéal dans ce cas reste le broyeur à disques car il évite la persistance de particules filamenteuses.

6.3 La conservation de l'échantillon pour essai déshydraté

Les conditions de conservation vont dépendre de la nature des échantillons, des paramètres mesurés et de l'effet stabilisant de l'opération de prétraitement.

En règle générale, l'échantillon devra être préservé des modifications de sa teneur en eau donc conservé dans un récipient fermant hermétiquement. Les reprises d'humidité seront d'autant plus à craindre que la déshydratation aura été poussée à un niveau élevé.

Pour les sols séchés à l'air, on se contente d'un stockage à température ambiante en flacon fermé de l'échantillon désagrégé et tamisé à 2 mm. Dans ces conditions il n'y a pas d'évolution dans le temps des paramètres analytiques sauf ceux en relation avec des éléments possédant différents degrés d'oxydation comme le fer, le manganèse, certains composés organiques et soufrés. Le même mode de stockage est utilisé pour les boues et déchets déshydratés et broyés.

Les végétaux sont conservés, à température ambiante, dans des flacons en matière plastique, étanches et opaques. Une mesure d'humidité résiduelle est nécessaire au moment de la prise d'essai (pesée) pour analyse. Il faut faire attention à la praticité des flaconnages. Ainsi, on préférera des flacons qui se ferment en un quart de tour, qui sont stables (pas besoin de portoirs adaptés), qui se manipulent facilement (préhensibles).

6.4 Le broyage et les broyeurs

On distingue deux types de broyeurs : ceux munis d'un tamis dans lesquels l'échantillon se réduit au fur et à mesure que les particules passent à travers les mailles et ceux constitués d'une enceinte hermétique conservant la totalité de l'échantillon pendant toute la durée du broyage. Dans le premier cas, il convient d'homogénéiser l'échantillon après broyage ce qui est d'autant plus difficile que le gradient de granulométrie des particules est important.

Les opérations de broyage des végétaux restent plus compliquées que pour des sols à cause de la variété des matériaux, des volumes qui peuvent être importants et de la présence possible d'huiles végétales. Les broyeurs doivent être adaptés au végétal. Il existe des broyeurs adaptés

aux végétaux fibreux tels que les pailles : broyeurs à couteaux par exemple et des broyeurs adaptés aux grains : broyeurs centrifuges ou à billes par exemple.

Les broyeurs doivent être non contaminants (éviter les cuves et couteaux inox dans le cas d'analyse de métaux de transition). Les risques de contamination sont d'autant plus élevés que l'abrasion des différentes pièces composant les broyeurs est importante. Cette abrasion peut avoir pour origine le contact avec l'échantillon, elle est alors fonction de la dureté de ce dernier (broyeur à couteaux par exemple) ou encore le contact entre les différentes composantes du broyeur (broyeurs à disques ou à billes par exemple). L'utilisation de matériaux neutres comme l'agate, l'oxyde de zirconium, le titane ou le carbure de tungstène est alors incontournable. Encore faut-il savoir que tous ces matériaux peuvent contenir des impuretés et y penser en cas de problème, le carbure de tungstène peut être à l'origine de contamination en cobalt par exemple.

Le nettoyage des broyeurs est un problème récurrent et on hésite souvent entre l'aspiration, pas toujours efficace, et le jet d'air comprimé avec toutes les difficultés inhérentes à la maîtrise des poussières formées. Le nettoyage à l'eau, à l'alcool, le broyage d'échantillons abrasifs comme le sable pur peuvent constituer des solutions intéressantes lorsque le broyeur et les échantillons s'y prêtent.

6.5 L'utilisation de l'échantillon non déshydraté

Ce paragraphe donne quelques indications pour l'utilisation des échantillons à l'état brut, lorsque la déshydratation n'est pas possible car elle entraîne la perte d'analytes ou elle est inutile comme dans le cas des solutions.

6.5.a Solutions et suspensions

- le cas des solutions limpides ne pose pas de problème particulier ;
- celui des suspensions a déjà été en partie discuté en évoquant la séparation des phases solides et liquides. Certaines méthodes d'analyse se prêtent à une prise d'essai constituée de deux phases, la difficulté est alors d'obtenir une suspension homogène et d'éviter la sédimentation en cours de prélèvement. Il existe dans le commerce des systèmes de type mixer qui assurent le broyage et l'homogénéisation. On peut utiliser les mêmes techniques pour réduire la taille de l'échantillon. On peut également séparer les deux phases qui peuvent constituer deux échantillons distincts, éliminer l'une des phases en supposant qu'elle est exempte de l'analyte recherché, éliminer la phase solide après un traitement approprié (acidification par exemple) provoquant la désorption ou la dissolution de l'analyte recherché.

6.5.b Echantillons solides ou pâteux

La représentativité de l'échantillon pour essai ou des prises d'essai est d'autant plus facile à obtenir que la granulométrie des particules solides est réduite. Pour des échantillons solides humides on peut envisager :

- le broyage cryogénique, l'échantillon est alors préalablement refroidi dans l'azote liquide par exemple ;
- le broyage après déshydratation chimique. Cette méthode convient pour le dosage des composés organiques, on ajoute à l'échantillon du sulfate de sodium et un silicate de magnésium (talc) anhydres. La déshydratation s'effectue à une température de l'ordre de 4°C, l'échantillon est alors prêt pour être broyé et homogénéisé.

Ces deux techniques sont décrites dans le document NF ISO 14507¹⁰ et elles s'appliquent à des échantillons de faible taille, ce qui peut rendre obligatoire la réduction de l'échantillon pour laboratoire encore à l'état brut. Cette réduction peut représenter une réelle difficulté. En règle générale, on procède par petites prises élémentaires prélevées avec un outil adapté et de manière aléatoire pour constituer le sous échantillon qui sera déshydraté chimiquement ou broyé congelé. Si l'échantillon pour laboratoire est particulièrement hétérogène, la quantité sous échantillonnée devra être d'autant plus importante et cette opération devra être répétée autant de fois que nécessaire.

Heureusement tous les cas ne sont pas aussi complexes et on pourra se contenter alors d'une série de prélèvements élémentaires comme décrit précédemment pour constituer directement les prises d'essais pour analyses. Leur taille déterminera leur représentativité, elle pourra être réduite si l'échantillon d'origine se prête à une homogénéisation préalable. Dans le cas des sols on pourra, par exemple, procéder à un émottage manuel ou encore un forçage à travers un tamis de 2 mm.

Conclusion

Des choix que fera le manipulateur pour chacune des étapes décrites ci-dessus, dépendront la qualité de son analyse finale (justesse, précision reproductibilité). Nous avons essayé par cet article de lui fournir des éléments d'aide à la décision.

Pour aller plus loin, quelques recueils ou guides sont disponibles pour les étapes de prélèvement et de minéralisation des échantillons; en particulier: le « Guide d'échantillonnage de plantes potagères dans le cadre de diagnostics environnementaux », ADEME-INERIS (2007) et le recueil du CERTU « Comparaison de méthodes d'analyse des éléments traces métalliques (ETM) et des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) sur les sols et les végétaux » (déc. 2004).

Références

- NF ISO 13877 - Qualité du sol - Dosage des hydrocarbures aromatiques polycycliques. Méthode par chromatographie en phase liquide à haute performance
- NF X 31-100 - Qualité des sols - Echantillonnage - Méthode de prélèvement des échantillons de sol
- NF ISO 15903 - Qualité du sol - Format d'enregistrement des données relatives aux sols et aux sites.
- T 20-083 - Produits chimiques à usage industriels - Techniques de l'échantillonnage.
- ISO 8213/1986 - Produits chimiques à usage industriel - Techniques de l'échantillonnage - Produits chimiques solides de petite granulométrie et agglomérats grossiers.
- NF ISO 11464 - Qualité du sol --Prétraitement des échantillons pour analyses physico-chimiques.
- NF V 08-109 - Aliments des animaux - Détermination de la teneur en eau
- NF ISO 14507 - Qualité du sol - Prétraitement des échantillons pour la détermination des contaminants organiques.

¹⁰ NF ISO 14507 - Qualité du sol - Prétraitement des échantillons pour la détermination des contaminants organiques.