

ANALYSE DU MERCURE PAR UN PROCÉDÉ SEMI-AUTOMATIQUE APPLICATION AUX ORGANISMES MARINS ET A L'EAU DE MER EN PARTICULIER (1)

par Yves THIBAUD

—Le présent mémoire expose la technique d'analyse qui est utilisée actuellement à l'I.S.T.P.M. pour effectuer des dosages de mercure dans les échantillons d'origine marine, qu'ils soient constitués d'eau de mer, de coquillages ou de poissons.

Cette technique nous permet, d'une part de déterminer les quantités très faibles qui existent généralement en milieu marin et, d'autre part de traiter simultanément un nombre suffisant d'échantillons. —

Elle fait toujours appel à la même méthode spectrophotométrique, celle que nous avons adoptée il y a déjà plusieurs années (THIBAUD, 1971), qui est appelée couramment « absorption atomique sans flamme » ; mais le mode opératoire en lui-même a été notablement amélioré. Nous avons en particulier tenu compte des perfectionnements techniques qui ont été publiés par GOULDEN et Coll. (1971) puis par ARMSTRONG et UTHE (1971).

Observations sur la méthode.

La méthode de dosage du mercure total est désormais classique ; elle est relativement simple dans son principe.

Rappelons qu'elle comprend au niveau du laboratoire les trois étapes suivantes :

- a) la minéralisation de l'échantillon dont le rôle est de détruire les tissus biologiques et d'oxyder à l'état de Hg^{++} les diverses formes chimiques du mercure ;
- b) la réduction-aération qui consiste à ajouter au minéralisat une solution de sulfate stanneux et à entraîner simultanément Hg^0 par un courant d'air ;
- c) la mesure proprement dite qui est effectuée sur la vapeur de mercure, en utilisant un spectrophotomètre émettant dans l'ultraviolet.

Bien que les quantités à doser soient très faibles, le mercure est déterminé de cette manière avec une bonne précision. Les seuils de détection sont particulièrement bas, grâce à la longueur des chemins optiques obtenus avec des cellules en quartz dont les longueurs se situent entre 10 et 30 cm.

Cette méthode est d'une utilisation presque courante ; elle convient pour les échantillons les plus divers : eaux, boissons, aliments, produits biologiques (BOUQUIAUX, 1974).

Nous avons tiré de notre propre expérience plusieurs observations concernant les modes opératoires. Elles se rapportent plus précisément aux procédés de minéralisation et aux interférences au moment de la mesure.

(1) Ce travail a bénéficié d'une aide du Ministère de la Qualité de la Vie.

a) *Procédés de minéralisation.*

Les traitements de l'échantillon par chauffage en milieu acide concentré doivent satisfaire principalement les deux conditions suivantes :

permettre de transformer en Hg^{++} les diverses formes chimiques du mercure, notamment les organomercuriques,

ne pas occasionner des pertes de mercure par chauffage, du fait d'une certaine volatilité de ses composés.

Deux modes opératoires répondent à ces exigences. Dans l'un la minéralisation est effectuée avec un mélange sulfonitrique, en chauffant à ébullition dans des appareils en verre munis de réfrigérants efficaces (MALAIYANDI et BARRETTE, 1972 ; CUMONT et Coll., 1972). Dans l'autre la minéralisation est effectuée en deux stades dans un simple matras. Elle comprend alors un chauff-

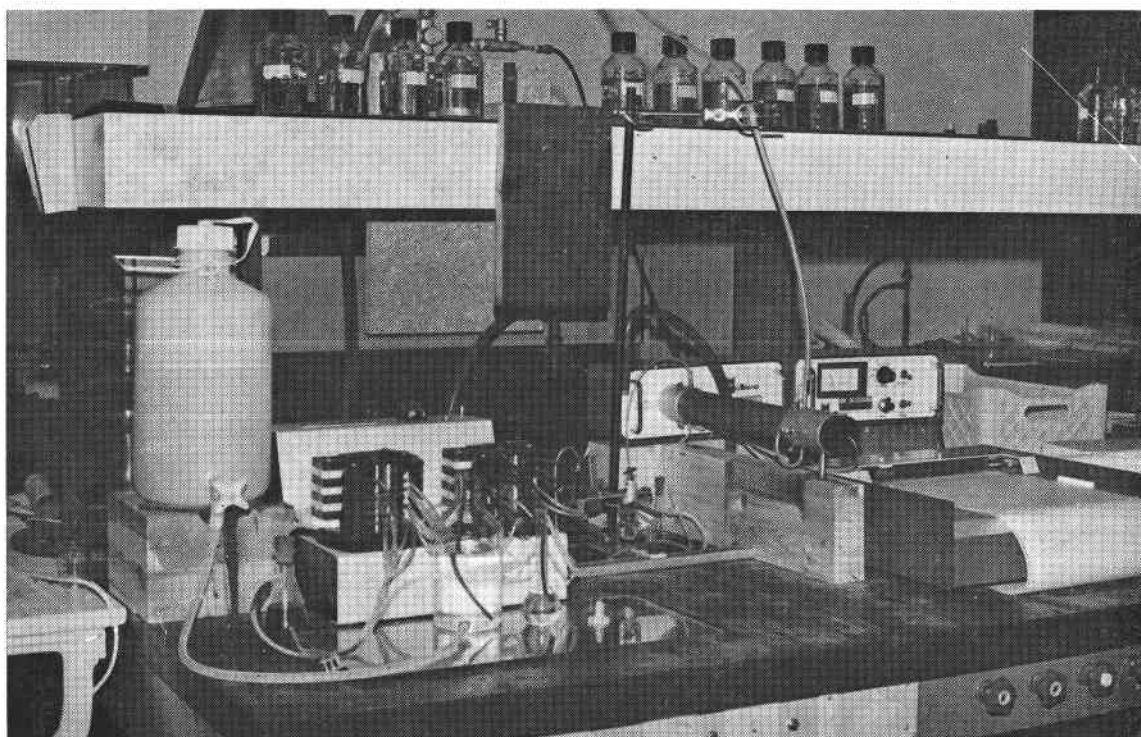


FIG. 1 a. — Vue générale de l'installation.

fage pendant environ 2 h en milieu acide concentré à température modérée (50-60 °C), puis après refroidissement, l'introduction d'une solution de permanganate de potassium.

Le deuxième procédé, nous a donné entière satisfaction dans le cas des produits marins. Nous nous sommes évidemment assurés de sa validité en vérifiant, d'une part que les composés organomercuriques tels que le méthylmercure étaient complètement transformés en Hg^{++} , d'autre part que les pertes en mercure étaient pratiquement nulles au cours du chauffage.

Son principal avantage réside dans le fait qu'un nombre relativement élevé de matras peut être chauffé dans un même bain thermostaté ; ce qui donne la possibilité de travailler facilement en série.

b) *Interférences au stade de la mesure.*

Si les mauvaises conditions de minéralisation conduisent en général à des valeurs plus faibles

que celles existantes dans l'échantillon, d'autres raisons peuvent à l'inverse conduire à des valeurs plus élevées.

Elles sont dues à des composés qui absorbent dans l'ultraviolet, comme le mercure vers 254 nm. Ils sont susceptibles de se former au cours de la minéralisation ou de la réduction et comme Hg^0 , peuvent être libérés de la phase aqueuse sous l'action du courant d'air. De telles interférences n'ont pas été observées à notre connaissance dans les conditions où nous opérons.

Nous mettons évidemment à part certaines causes extérieures aux manipulations telles que la présence d'impuretés dans l'air servant à l'entraînement de Hg^0 , ou encore celles résultant d'un mauvais montage de l'appareillage telles que la remontée d'eau dans la cellule.

Le cas particulier des composés oxygénés de l'azote signalé dans la littérature (ANONYME, 1974) n'a pas non plus à être considéré, car ces composés qui peuvent provenir de l'acide nitrique utilisé pour

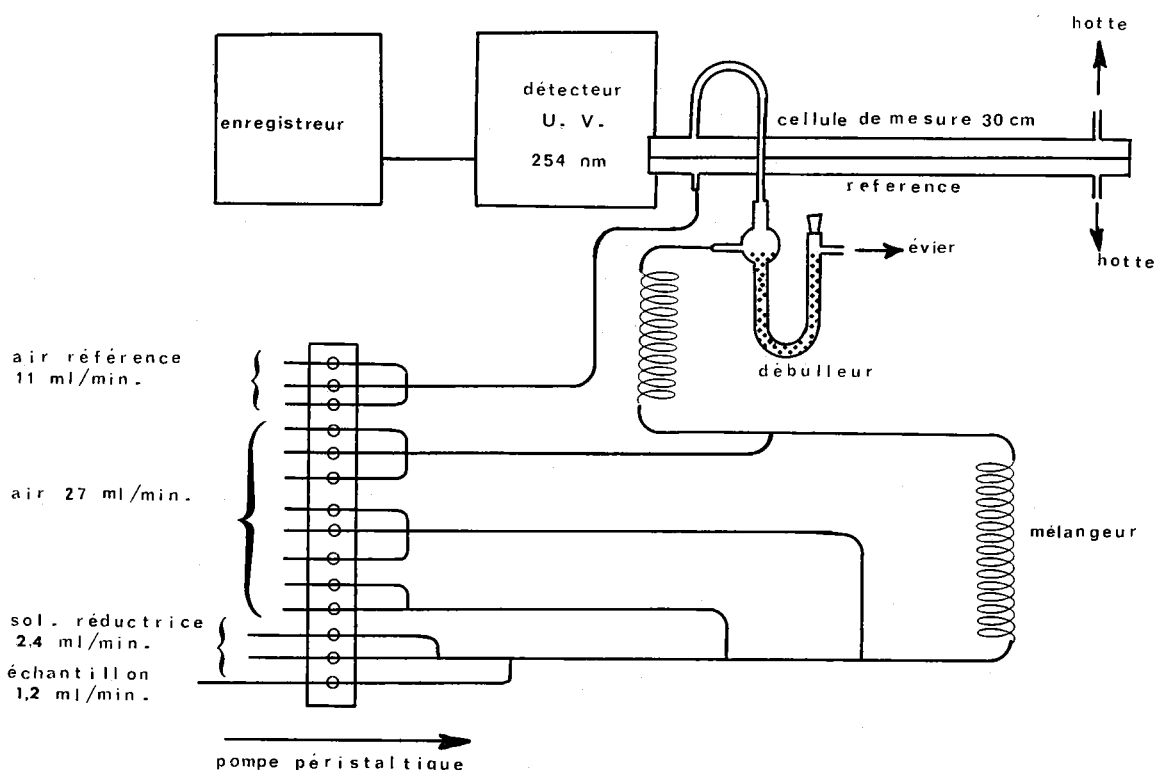


FIG. 1 b. — Représentation schématique de l'installation.

la minéralisation sont éliminés par le traitement à l'eau oxygénée que nous utilisons ; ils sont oxydés à l'état de NO_3^- , et de ce fait restent en solution dans la phase aqueuse.

Mode opératoire utilisé.

a) Appareillage.

Description.

L'ensemble de l'appareillage est représenté très schématiquement sur les figures 1 a et 1 b. Il comprend principalement les trois parties suivantes :

- a) une pompe péristaltique à 16 canaux (HP 16, GILSON MEDICAL ELECTRONICS),

b) un débulleur couplé avec une cellule à fenêtres en quartz de 30 cm qui est elle-même montée sur un détecteur UV (254 nm) (Mercury Monitor, LABORATORY DATA CONTROL),

c) un enregistreur (PM 8100 PHILIPS).

Les mélangeurs et le débulleur sont construits en verre. Les tubes débitmétriques et de liaison sont, pour l'air en « Vinyl » et pour les solutions, qui sont fortement acides, en « Isoversinic ». Les diamètres de ces tubes correspondent aux débits indiqués sur le schéma.

Fonctionnement.

La pompe péristaltique entraîne simultanément la solution à analyser, la solution réductrice de sulfate stanneux et l'air nécessaire à leur mélange et à leur circulation.

Au moment de l'arrivée de ce mélange dans le débulleur, il y a séparation entre l'air et la phase aqueuse. Puis, tandis que la phase aqueuse est évacuée vers l'évier, la phase air et la vapeur de mercure provenant de la réduction (Hg^0), poursuivent leur parcours vers la cellule.

L'absorbance de Hg^0 passant dans la cellule de mesure est déterminée avec le détecteur (254 nm) par rapport à l'air qui circule dans la cellule de référence. L'enregistreur placé en fin de l'installation inscrit l'absorption de Hg^0 en fonction du temps.

Le fonctionnement en continu de l'installation permet un passage successif des solutions à analyser. Elle se prête bien à un travail sur des séries.

Une mesure nécessite un temps inférieur à 4 mn. Après l'introduction du tube de pompe dans la solution, il faut attendre 2 mn pour que l'absorption soit stationnaire ; puis encore 2 mn pour que, sans pompage de la solution à analyser la plume de l'enregistreur revienne à la ligne de base.

Étalonnage.

L'étalonnage de l'appareillage est effectué avec des solutions de chlorure mercurique dont les concentrations varient de 0,25 à 15 ng Hg/ml.

Une courbe d'étalonnage est présentée sur la figure 2. Elle est rigoureusement linéaire jusqu'à 12 ng Hg/ml. L'absorption correspondant à 0 ng Hg/ml est très faible ; elle est due au mercure existant comme impureté dans l'eau distillée et les réactifs.

b) Traitement des échantillons.

Cas de l'eau de mer.

L'eau de mer est généralement filtrée sur des filtres « millipore » de porosité 0,45 μ . Cette opération est effectuée soit au moment de l'arrivée des échantillons au laboratoire, soit sur le lieu même des prélèvements.

Au stade suivant, celui de l'analyse, on opère en général sur des séries. Des quantités de 100 ml sont alors prélevées sur chaque échantillon et versées dans différents flacons. Puis sous agitation magnétique, on ajoute à chacune des différentes fractions : 10 ml du mélange sulfonitrique et 6 ml de la solution de permanganate de potassium.

Les flacons sont abandonnés ensuite pendant environ 24 h à température ambiante. On ajoute de nouveau, en agitant, la quantité juste nécessaire d'eau oxygénée pour qu'une solution limpide soit obtenue et on laisse les solutions sous agitation magnétique pendant 15 mn.

Cas des organismes marins.

Des prélèvements comprenant de 50 à 100 g de chair sont effectués sur chaque échantillon d'une série. Ils sont homogénéisés avec des broyeurs électriques ; puis des petites quantités des différents broyats ainsi obtenus sont prélevées et déposées dans différents matras (0,4 à 0,7 g pesé exactement).

Dans chaque matras on ajoute ensuite 6 ml du mélange sulfonitrique. Puis, on les chauffe pendant environ 2 h à 50-60 °C dans un bain thermostaté. La phase grasse surnageante observée parfois dans la solution n'est pas gênante pour la suite de l'analyse.

Après refroidissement on ajoute avec précaution dans chacun des matras, 16 ml de la solution de permanganate de potassium ; on laisse couler goutte à goutte cette solution sous agitation magnétique en refroidissant dans un bain eau-glace. Puis, on abandonne les matras pendant un minimum de 3 h à température ambiante.

On ajoute encore dans chaque matras en agitant bien, quelques ml de la solution d'eau oxygénée ; la quantité minimum pour qu'une solution limpide soit obtenue. On verse la solution dans des fioles jaugées en filtrant si nécessaire sur de la laine de verre, et on complète avec de l'eau distillée.

c) Dosage proprement dit.

Les solutions des échantillons sont pompées dans l'installation après avoir été préparées, comme il est indiqué précédemment, et groupées en séries.

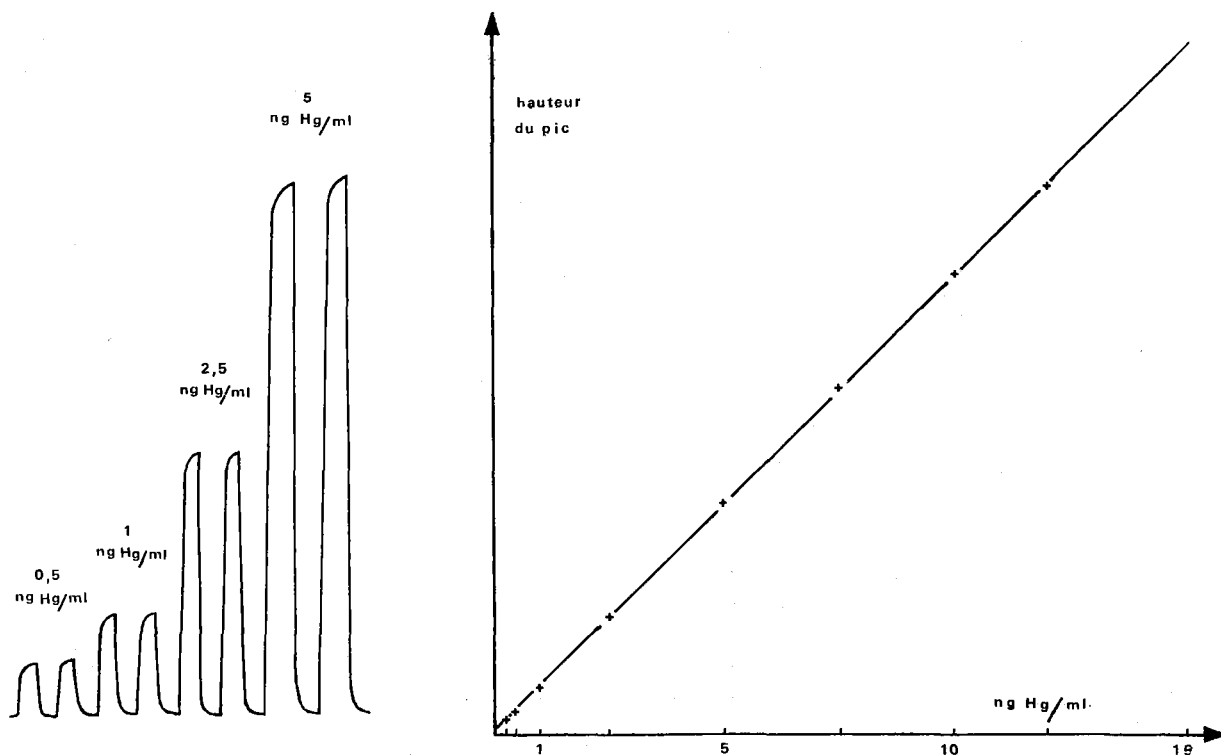


FIG. 2. — Quelques enregistrements correspondant à des solutions dont les concentrations sont connues, et courbe d'étalonnage.

En reportant sur la courbe d'étalonnage les hauteurs des pics enregistrés on détermine facilement pour chaque solution les quantités de mercure en ng/ml. On déduit de ces valeurs, la valeur obtenue pour un blanc (solution ne contenant que les réactifs) qui a été au préalable inséré dans la série.

La quantité totale de mercure contenue dans la prise d'essai est obtenue en ng, en multipliant par le volume de la solution exprimé en ml.

Dans le cas de l'eau de mer, il suffit de diviser cette quantité par 100, pour avoir la teneur en $\mu\text{g/l}$ ou ppb.

Dans le cas des organismes marins, on la divise successivement par 1 000 et par le poids de la prise d'essai exprimé en g, pour avoir les teneurs en $\mu\text{g/g}$, mg/kg ou ppm .

d) *Précautions diverses.*

Beaucoup de facteurs sont susceptibles d'influer sur les résultats ; la pureté des réactifs et la propreté de la vaisselle sont particulièrement importants.

La verrerie doit être traitée par des solutions acides pour éliminer les traces de mercure absorbées sur les parois. Elle est d'abord lavée avec du détergent courant de laboratoire et séchée. Elle est ensuite laissée pendant 12 h dans le mélange sulfochromique. Puis, elle est successivement lavée à l'eau ordinaire, lavée avec une solution d'eau distillée à 5 % d'acide nitrique et rincée à l'eau distillée.

Dans le cas de certains poissons, il peut y avoir formation de mousses au niveau du débulleur de l'installation, et en conséquence passage d'eau dans la cellule. Ceci est évité en ajoutant dans la solution réductrice quelques gouttes d'alcool isoamylique, et en pompant la couche surnageante jusqu'au débulleur.

e) *Réactifs.*

La solution réductrice est composée d'un mélange de 1 000 ml d'eau distillée, 200 ml d'acide sulfurique ($d = 1,83$), 60 g de chlorhydrate d'hydroxylamine et 60 g de sulfate stanneux (produits PROLABO).

Les solutions de chlorure mercurique pour étalonnage sont préparées avec de l'eau distillée contenant 5 % d'acide nitrique et 0,015 % de bichromate de potassium (produits PROLABO) ; ce mélange permet d'assurer leur conservation (FELDMAN, 1974).

Une solution mère (1 mg Hg/ml) est d'abord préparée en dissolvant 676,8 mg de HgCl_2 dans 500 ml ; puis ensuite une solution A (10 μg Hg/ml) en diluant à 1 000 ml, 10 ml de la solution mère ; et une solution B (0,1 μg Hg/ml) en diluant à 1 000 ml, 10 ml de la solution A.

Les solutions les plus diluées sont finalement obtenues en ajoutant dans des fioles de 100 ml les quantités suivantes de la solution B :

0,25 ml pour	0,25 ng Hg/ml
0,50 — —	0,50 — —
1,00 — —	1,00 — —
2,50 — —	2,50 — —
5,00 — —	5,00 — —
7,50 — —	7,50 — —
10,00 — —	10,00 — —
12,00 — —	12,00 — —
15,00 — —	15,00 — —

Le mélange sulfonitrique est constitué d'acide sulfurique ($d = 1,83$) et d'acide nitrique ($d = 1,38$) (produits PROLABO) mélangés en quantités égales (1 + 1).

La solution de permanganate de potassium (PROLABO) est à 6 % ; elle est préparée avec de l'eau distillée.

La solution d'eau oxygénée est constituée d'un mélange 1 + 1 d'eau oxygénée 110 volumes (PROLABO) et d'eau distillée.

Résultats obtenus pour l'eau de mer en particulier.

Diverses mesures ont été effectuées sur l'eau de mer afin d'éprouver la technique décrite ci-dessus.

Des quantités connues de mercure ont été ajoutées à 100 ml d'eau de mer naturelle, sous l'une des trois formes chimiques susceptibles d'exister en milieu marin : inorganique (chlorure mercurique), organiques alkyle (chlorure de méthylmercure) ou aryle (acétate de phénylmercure).

Les composés du mercure ont été solubilisés avant d'être ajoutés à l'eau de mer : le chlorure mercurique (PROLABO) par l'acide nitrique (solution à 0,025 µg Hg/ml en milieu nitrique à 5 %) ; le chlorure de méthylmercure (MERCK) également dans l'acide nitrique (solution à 5 % de HNO₃), dilué pour obtenir une solution à 0,1 µg Hg/ml ; l'acétate de phénylmercure (MERCK), en milieu ammoniacal (solution à 20 % d'ammoniaque PROLABO, d = 0,90) et dilué à l'eau distillée de manière à obtenir une solution à 0,1 µg Hg/ml.

Les quantités qui ont été ajoutées aux différents échantillons d'eau de mer, ainsi que les résultats que nous avons obtenus sont rassemblés dans le tableau 1. Une correspondance assez satis-

Numéros des échantillons	Quantités ajoutées en µg Hg			Quantités trouvées en µg Hg
	chlorure mercurique	chlorure de méthylmercure	acétate de phénylmercure	
0	0			0,006
1	0,025			0,017
2	0,05			0,046
3	0,10			0,097
4	0,20			0,205
5	0			0,01
6		0,10		0,100
7		0,10		0,114
8		0,20		0,210
9		0,20		0,211
10			0	0,011
11			0,10	0,126
12			0,10	0,104
13			0,20	0,213
14			0,20	0,240

TABL. 1. — Teneurs en mercure trouvées dans des échantillons de 100 ml d'eau de mer auxquels ont été ajoutées des quantités déterminées de différents composés du mercure.

faisante existe entre les quantités ajoutées et les quantités trouvées ; ceci quelles que soient les formes chimiques d'association du mercure.

Désirant encore, dans le cas particulier de l'eau de mer, effectuer une vérification supplémentaire, nous avons légèrement modifié le traitement chimique qui précède le dosage proprement dit.

Après avoir introduit le mélange sulfonitrique et la solution de permanganate de potassium de la manière indiquée précédemment, nous avons ajouté, jusqu'à décoloration, une solution de chlorhydrate d'hydroxylamine. Puis, nous avons pompé la solution ainsi obtenue dans l'installation (OMANG, 1971).

Nous avons constaté, à la fois par ce dernier procédé et celui que nous avons adopté, que les valeurs trouvées sur des échantillons, auxquels ont été ajoutés 0,20 µg de Hg comme chlorure mercurique, étaient sensiblement les mêmes.

Ce résultat confirme la validité de notre mode opératoire. Il montre que, dans le cas de l'eau de mer, il n'y a pas d'interférences dues à des composés étrangers qui se formeraient soit au moment du traitement par l'eau oxygénée, soit au moment du traitement par le chlorhydrate d'hydroxylamine.

Conclusion.

Le procédé d'analyse du mercure présenté ici, est une application de la méthode appelée habituellement « absorption atomique sans flamme », laquelle est bien connue pour être particulièrement sensible et exempte d'interférences.

L'utilisation de cette méthode, dans les conditions que nous décrivons, nous a permis d'autre part d'obtenir une bonne reproductibilité. Ceci notamment du fait d'un pompage et du mélange des solutions d'une manière automatique. Par ailleurs, le procédé convient parfaitement à un travail sur des séries.

Il convient aussi, et ceci a pour nous la plus grande importance, pour les déterminations des très faibles quantités qui existent dans les échantillons d'origine marine, dans l'eau de mer en particulier.

BIBLIOGRAPHIE

- ANONYME, 1974. — Cooperative Research Report. — *International Council for Exploration of the Sea*, Charlottenlund, Denmark, 39, may 1974, 191 p.
- ARMSTRONG (F.-A.-J.) et UTHE (J.-F.), 1971. — Semi-automated determination of mercury in animal tissue. — *Atomic Absorption Newsletter*, **10** (5), p. 101-103.
- BOUQUIAUX (J.), 1974. — Report of the working group of experts, prepared for the Commission of the European Communities, V-F-1966-74°-Luxembourg, volume 4.
- CUMONT (G.), VIALEX (G.), LELIÈVRE (H.) et BOBENRIETH (P.), 1972. — Contamination des poissons de mer par le mercure. — *Rev. Intern. Océanogr. Méd.*, **23**, p. 95-127.
- FELDMAN (C.), 1974. — Preservation of dilute mercury solutions. — *Anal. chem.*, **46** (1), p. 99-102.
- GOULDEN (P.-D.) et coll., 1971. — Advances in automated Analysis. — *Médiad Inc.*, Tarrytown, N.Y., volume 2.
- MALAIYANDI (M.) et BARETTE (J.-P.). — Metals and other elements: wet oxydation method for the determination of sub-microgram quantities of mercury in cereal grains. — *Journal of the AOAC*, **55**, p. 951.
- OMANG (S.-H.), 1973. — Determination of mercury in natural waters and effluents by flameless atomic absorption spectrophotometry. — *Anal. chim. Acta*, **53**, p. 415-420.
- THIBAUD (Y.), 1971. — Teneur en mercure dans quelques poissons de consommation courante. — *Science et Pêche, Bull. Inst. Pêches marit.*, 209, p. 1-10.
- 1973. — Teneur en mercure dans les moules du littoral français. — *Science et Pêche, Bull. Inst. Pêches marit.*, 221, p. 1-6.