

## Analyse de formes chimiques et de nanoparticules dans les échantillons d'eau : méthodes analytiques, préconcentration et validation

### Determination of Chemical Species and Nanoparticles in Water Samples: Analytical Methods, Preconcentration and Validation

Fabienne Séby, Jean Dumont, Christine Gleyzes, Mathieu Menta, Véronique Vacchina and Maïté Bueno

Volume 28, Number 1, 2015

URI: <https://id.erudit.org/iderudit/1030004ar>

DOI: <https://doi.org/10.7202/1030004ar>

[See table of contents](#)

#### Publisher(s)

Université du Québec - INRS-Eau, Terre et Environnement (INRS-ETE)

#### ISSN

1718-8598 (digital)

[Explore this journal](#)

#### Cite this article

Séby, F., Dumont, J., Gleyzes, C., Menta, M., Vacchina, V. & Bueno, M. (2015). Analyse de formes chimiques et de nanoparticules dans les échantillons d'eau : méthodes analytiques, préconcentration et validation. *Revue des sciences de l'eau / Journal of Water Science*, 28(1), 27–32. <https://doi.org/10.7202/1030004ar>

#### Article abstract

It is now recognized that measurement of the total concentration of an element is not sufficient to obtain information about its environmental impact and its toxicity, elements being present under different chemical forms or as nanoparticles (NPs). Only size fractionation techniques or speciation analysis (identification and determination of the different species of an element) yield this information. This approach needs to have well defined sampling, storage and sample treatment procedures that do not modify the distribution of the chemical forms. Furthermore, taking into account the new EU regulations, this approach also needs more and more sensitive, accurate and robust analytical tools.

Hyphenation between separation techniques based on liquid or gas chromatography or flow fractionation on one hand and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP MS) on the other hand are analytical methods that present the greatest potential for these analyses. An overview of these approaches is detailed in terms of their potential and their analytical performances as well as applications for different elements (As, Hg, Sn, Cr or Sb). Through these examples, the following items will be described :

- The main validation tools such as species isotopic dilution (methylmercury in natural waters) and the use of alternative methods (example of Sb speciation);
- Preconcentration techniques to decrease quantification limits to be in agreement with new regulations (Cr(VI));
- The physico-chemical characterization of colloids in natural waters.

# ANALYSE DE FORMES CHIMIQUES ET DE NANOPARTICULES DANS LES ÉCHANTILLONS D'EAU : MÉTHODES ANALYTIQUES, PRÉCONCENTRATION ET VALIDATION

*Determination of chemical species and nanoparticles in water samples: analytical methods, preconcentration and validation*

---

FABIENNE SÉBY<sup>\*1</sup>, JEAN DUMONT<sup>1</sup>, CHRISTINE GLEYZES<sup>1</sup>, MATHIEU MENTA<sup>1</sup>, VÉRONIQUE VACCHINA<sup>1</sup>  
ET MAÏTÉ BUENO<sup>2</sup>

<sup>1</sup>UT2A, Hélioparc Pau-Pyrénées, 2, avenue du président Angot, 64053 Pau Cédex 9, France

<sup>2</sup>LCABIE/IPREM, Hélioparc Pau-Pyrénées, 2, avenue du président Angot, 64053 Pau Cédex 9, France

Reçu le 15 novembre 2014, accepté le 26 janvier 2015

---

## RÉSUMÉ

Il est maintenant reconnu que la mesure de la concentration totale d'un élément ne permet pas d'obtenir d'information fiable sur son impact environnemental et sa toxicité, ces éléments pouvant être présents sous différentes formes chimiques ou à l'état de nanoparticules (NPs). Il est alors nécessaire de faire appel à des techniques de fractionnement en taille pour les NPs ou à des analyses de spéciation permettant d'identifier et doser les différentes formes chimiques des éléments. Cette approche nécessite de disposer de protocoles d'échantillonnage, de conservation et de préparation d'échantillon stricts qui ne modifient pas la répartition des formes chimiques, notamment. Étant donné les nouvelles exigences des normes, cette approche nécessite également des outils analytiques de plus en plus précis, sensibles et robustes.

Le couplage de techniques séparatives basées sur la chromatographie (liquide ou gazeuse) ou le fractionnement de flux, d'une part, et la spectrométrie de masse à plasma induit (ICP MS), d'autre part, présente un réel potentiel pour ces analyses. Ces approches sont détaillées d'une manière générale en termes de potentiels et de performances analytiques et des applications sont présentées pour différents éléments (As,

Hg, Sn, Cr ou Sb). Au travers de ces différents exemples, sont particulièrement abordés :

- Les principaux outils de validation, tels que les apports de la dilution isotopique (analyse du méthylmercure dans les eaux naturelles) et l'utilisation de méthodes alternatives (exemple de la spéciation de Sb);
- Les techniques de préconcentration pour abaisser les limites de quantification en réponse à la réglementation (cas du Cr(VI));
- La caractérisation physico-chimique des colloïdes nanoparticulaires dans les eaux naturelles.

**Mots-clés:** *Analyses de spéciation, nanoparticules, méthodes couplées, spectrométrie de masse à plasma induit.*

## ABSTRACT

It is now recognized that measurement of the total concentration of an element is not sufficient to obtain information about its environmental impact and its toxicity, elements being present under different chemical forms or as nanoparticles (NPs). Only size fractionation techniques

or speciation analysis (identification and determination of the different species of an element) yield this information. This approach needs to have well defined sampling, storage and sample treatment procedures that do not modify the distribution of the chemical forms. Furthermore, taking into account the new EU regulations, this approach also needs more and more sensitive, accurate and robust analytical tools.

Hyphenation between separation techniques based on liquid or gas chromatography or flow fractionation on one hand and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP MS) on the other hand are analytical methods that present the greatest potential for these analyses. An overview of these approaches is detailed in terms of their potential and their analytical performances as well as applications for different elements (As, Hg, Sn, Cr or Sb). Through these examples, the following items will be described :

- The main validation tools such as species isotopic dilution (methylmercury in natural waters) and the use of alternative methods (example of Sb speciation);
- Preconcentration techniques to decrease quantification limits to be in agreement with new regulations (Cr(VI));
- The physico-chemical characterization of colloids in natural waters.

**Key Words:** *Speciation analyses, nanoparticles, hyphenated techniques, ICP MS.*

## 1. INTRODUCTION

Il est maintenant reconnu que le dosage des concentrations totales d'un élément n'est plus suffisant pour obtenir une information précise du devenir de cet élément dans l'environnement ou en physiologie humaine ou animale. En effet, ces éléments peuvent exister sous différentes formes chimiques et chacune d'entre elles présente une toxicité, une mobilité, une biodisponibilité ou une réactivité différente. Un des exemples les plus connus est celui du chrome qui existe sous forme de chrome trivalent, espèce jouant un rôle physiologique, et de chrome hexavalent qui est considéré comme un agent carcinogène (GUERTIN, 2005). L'arsenic se présente également sous différentes formes; les formes inorganiques (As(III) et As(V)) qui sont considérées comme les plus toxiques, les formes méthylées peu toxiques, et les formes quaternaires considérées comme inoffensives (HUGUES, 2002 ; SAKURAI, 2002). Les composés organométalliques du mercure et de l'étain sont plus toxiques que les formes inorganiques en raison de leur grande liposolubilité qui leur permet de traverser les membranes biologiques et de bioaccumuler (CECCATELLI *et al.*, 2010). Selon l'IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry), la spéciation est définie comme

étant la distribution d'un élément entre ses différentes espèces chimiques dans un échantillon donné (TEMPLETON *et al.*, 2000). Les analyses de spéciation permettent donc de répondre à de nombreuses questions relatives à l'aspect bénéfice/risque.

Par ailleurs, la caractérisation de nanomatériaux dans les eaux devient un enjeu majeur, car les éléments présents sous forme de nanoparticules sont susceptibles de présenter un impact environnemental différent par rapport à ces mêmes éléments présents à l'état dissous (KLAINE *et al.*, 2012).

Pour ces raisons, la notion de spéciation est maintenant prise en compte dans plusieurs directives européennes et la caractérisation de nanoparticules devient également une préoccupation majeure. Il est maintenant reconnu que les techniques d'analyses les plus pertinentes pour répondre à ces objectifs sont les méthodes associant en ligne une séparation et une détection par spectrométrie de masse à plasma induit (ICP MS). Le principe de ces couplages sera donc décrit et illustré à l'aide d'applications à des échantillons d'eau.

## 2. LES TECHNIQUES COUPLÉES POUR LA SPÉCIATION ET LA CARACTÉRI-SATION DE NANOPARTICULES

Les techniques couplées mettent en œuvre une étape de séparation suivie d'une détection spectrométrique, les deux systèmes étant la plupart du temps reliés au moyen d'une interface pour permettre une analyse en ligne (DRESSLER *et al.*, 2011 ; POPP *et al.*, 2010). Pour les analyses de spéciation, la séparation est généralement réalisée par chromatographie en phases liquide (HPLC) ou gazeuse (GC) et la détection par ICP MS s'impose de plus en plus comme le détecteur de choix en raison de sa sensibilité, de sa spécificité, de son potentiel pour les analyses quantitatives et de sa capacité multi-élémentaire. Par ailleurs, la plupart des constructeurs proposent maintenant des couplages automatisés et utilisables en routine.

### 2.1 Le couplage HPLC-ICP MS

Le couplage HPLC-ICP MS est le plus simple à mettre en œuvre puisqu'il ne nécessite pas de traitement chimique des espèces, n'est pas limité par la stabilité thermique des analytes et que les débits de phases mobiles les plus communément utilisés sont tout à fait compatibles avec la source d'ionisation ICP. Ce couplage est très souvent utilisé pour la spéciation de l'As. Si dans les eaux naturelles, l'As est essentiellement présent sous forme d'As inorganique, dans des échantillons plus complexes tels que des eaux interstitielles de sédiments en anaérobie ou

des eaux réductrices, des composés plus complexes peuvent être présents, comme les composés thioarséniés (MAMINDY-PAJANY *et al.*, 2013). Le mode de séparation par HPLC doit donc être adapté pour permettre de séparer au maximum ces espèces. Un chromatogramme typique est montré dans la [figure 1](#).

## 2.2 Le couplage GC-ICP MS

Le couplage GC-ICP MS est techniquement plus compliqué à mettre en place que celui avec l'HPLC et se fait au moyen d'une ligne de transfert. Par contre, la séparation par GC permet de diminuer les effets de matrice par l'introduction dans le plasma d'espèces libérées de leur matrice. De plus, le fait de travailler sous forme gazeuse permet d'assurer 100 % d'efficacité de transport jusqu'au plasma, entraînant d'excellentes limites de détection. L'essentiel des applications du couplage GC-ICP MS dans les eaux concerne la spéciation de l'étain et du mercure. Pour l'étain, trois familles de composés (les butyl-, les phényl- et les octyl-étains) peuvent être quantifiées et les performances analytiques obtenues dans

les eaux sont données ([Tableau 1](#)). Le couplage GC-ICP MS est ainsi la seule méthode capable de répondre aux exigences de la Directive Cadre sur l'Eau (0,2 ng/L pour le tributylétain). En ce qui concerne le MeHg<sup>+</sup>, la limite de quantification est de l'ordre de 5 ng/L.

## 2.3 Le couplage A4F-ICP MS

Le fractionnement par couplage flux force asymétrique (A4F) associé à un détecteur multiangulaire à diffusion de lumière (MALLS) et à l'ICP MS permet la caractérisation de nanomatériaux (A4F-MALLS-ICP MS). La séparation des colloïdes ou des nanoparticules en fonction de leurs tailles et de leurs masses est réalisée dans un canal à l'aide d'un champ de force fluïdique appliqué perpendiculairement au canal dans lequel l'échantillon circule. Les analytes sont ainsi élués par ordre croissant de taille et de masse. Les deux détecteurs faisant suite à l'A4F sont très complémentaires puisque le détecteur MALLS permet d'accéder à la taille et à la forme des nanoparticules et l'ICP MS à leur composition chimique. Ce couplage a été appliqué à la caractérisation de nanoparticules

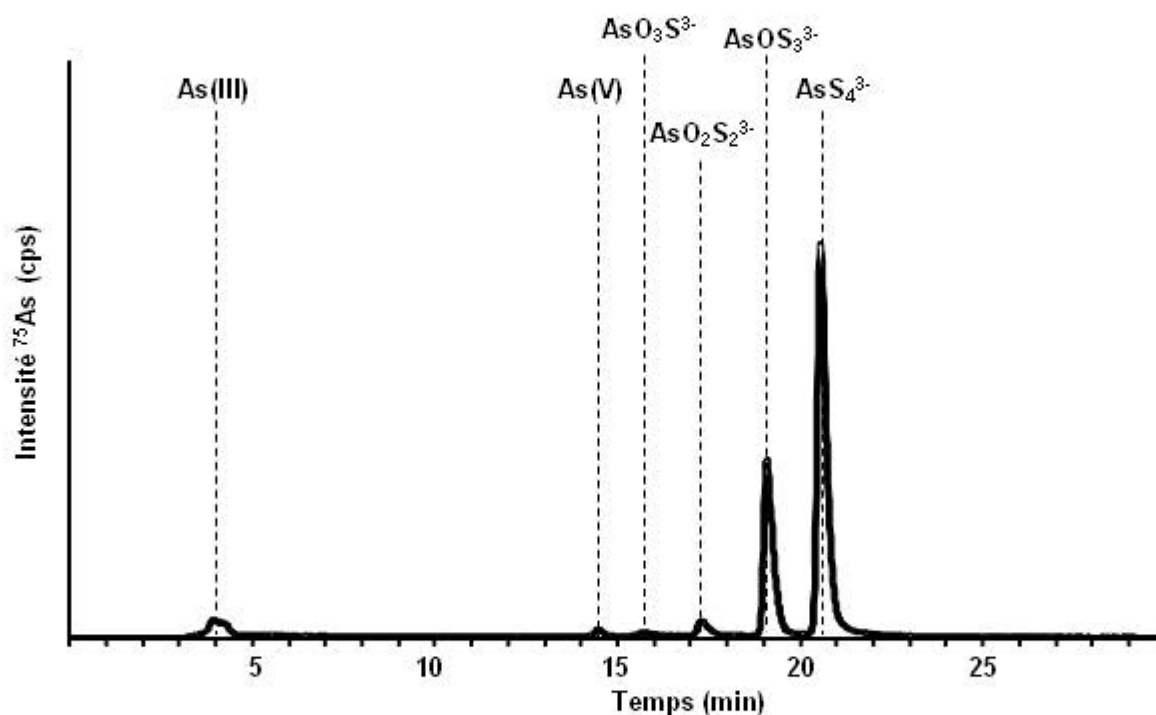


Figure 1. Chromatogramme HPLC-ICP MS typique pour la spéciation de l'As dans des eaux contenant des composés thioarséniés (colonne AS16 (DIONEX), phase mobile : NaOH gradient de 20 à 100 mM).

*Typical HPLC-ICP MS chromatogram for As speciation in waters containing thioarsenates (column AS16 (DIONEX), mobile phase : gradient of NaOH from 20 to 100 mM).*

**Tableau 1. Performances analytiques du couplage GC-ICP MS pour l'analyse des composés organostanniques dans les eaux naturelles (MBT : monobutylétain, DBT : dibutylétain, TBT : tributylétain, MPhT : monophénylétain, DPhT : diphénylétain, TPhT : triphénylétain, MOcT : monoocylétain, DOcT : dioctylétain, TOcT : trioctylétain).**

**Table 1. Analytical performances of GC-ICP MS for organotin compound analysis in natural waters (MBT : monobutyltin, DBT : dibutyltin, TBT : tributyltin, MPhT : monophenyltin, DPhT : diphenyltin, TPhT : triphenyltin, MOcT : monoocytlin, DOcT : dioctyltin, TOcT : trioctyltin).**

Paramètres	Unité	MBT	DBT	TBT	MOcT	DOcT	TOcT	MPhT	DPhT	TPhT
LOQ	ng·L <sup>-1</sup>	1	0,1	0,1	1	5	0,5	0,2	0,5	0,2
R <sup>2</sup>		0,995 < R <sup>2</sup> < 1								
Répétabilité injection	%	5,0	2,0	3,8	1,9	3,9	0,9	4,5	5,0	1,9
Répétabilité éthylation	%	5,5	3,1	1,5	2,6	5,1	6,8	4,6	5,1	3,9
Reproductibilité	%	10,5	10,3	8,1	2,9	9,9	2,6	5,6	11,5	4,5
Récupération	%	95	88	97	91	94	98	97	109	101

d'aluminium et d'argent dans des eaux de rejets hospitaliers (Figure 2) (MENTA *et al.*, 2014). Ces résultats montrent que les nanoparticules d'Ag et d'Al présentes initialement dans les eaux de rejet ont un rayon de gyration (Rg) autour de 200 nm et tendent à disparaître suite à un traitement par oxydation. Cette approche analytique permet ainsi d'obtenir en une seule analyse des informations telles que la taille, la distribution en taille, la forme et la composition chimique d'échantillons nanométriques.

### 3. PRÉCONCENTRATION

L'abaissement des limites de détection citées dans les normes ou les teneurs naturellement faibles en certaines espèces (même pour une détection aussi sensible que l'ICP MS) conduit de plus en plus au développement de méthodes de préconcentration.

Par exemple, certains états des États-Unis, comme celui de Californie, envisagent d'abaisser les teneurs maximales en Cr(VI) dans les eaux de boisson de 10 µg/L à 0,02 µg/L. Aucune méthode, même le couplage HPLC-ICP MS, ne permet de répondre à ces exigences, il est donc nécessaire de développer un traitement par préconcentration en amont de l'analyse. La préconcentration du Cr(VI) peut être réalisée sur des cartouches spécifiques, mais il apparaît aujourd'hui que pour des échantillons complexes des risques d'interférence d'une partie du Cr(III) existent. L'approche a donc été modifiée pour développer une élution permettant de s'affranchir de cette interférence. Cette approche est basée sur la rétention du Cr(VI), son élution sans modifier sa spéciation et sa quantification par HPLC-ICP MS. Un facteur de préconcentration de quasiment 10 peut être obtenu de cette façon, ce qui permet

d'abaisser la LQ à 0,01 µg/L pour le Cr(VI) (VACCHINA et SEBY, 2014).

### 4. ASSURANCE QUALITÉ

Dans la mesure où il existe très peu de méthodes normalisées pour les analyses de spéciation, le développement d'une méthode et sa validation doivent être menés de façon rigoureuse. Les problèmes d'étalonnage (disponibilité des étalons, ajouts dosés versus étalonnage externe...) ne seront pas traités en détail ici, pour se focaliser sur l'évaluation de la justesse. L'outil le mieux adapté pour valider la justesse d'une méthode d'analyse est l'utilisation de matériaux de référence certifiés (MRC). Dans le domaine des analyses de spéciation, peu de ces matériaux sont disponibles. Des techniques d'évaluation alternatives doivent alors être envisagées.

#### 4.1 La dilution isotopique

La justesse de l'analyse peut être vérifiée par le calcul du taux de récupération d'une quantité d'espèce chimique ajoutée à l'échantillon. Mais les composés présents à l'état naturel dans les matrices et les composés ajoutés peuvent avoir des taux de pénétration différents ou des transformations des espèces chimiques peuvent se produire pendant la préparation de l'échantillon. La quantification par dilution isotopique représente une alternative à ces problèmes et permet ainsi une meilleure justesse des mesures. La dilution isotopique permet également d'améliorer la précision des résultats; il est maintenant possible de déterminer le méthylmercure dans les eaux en routine avec une précision inférieure à 3 %.

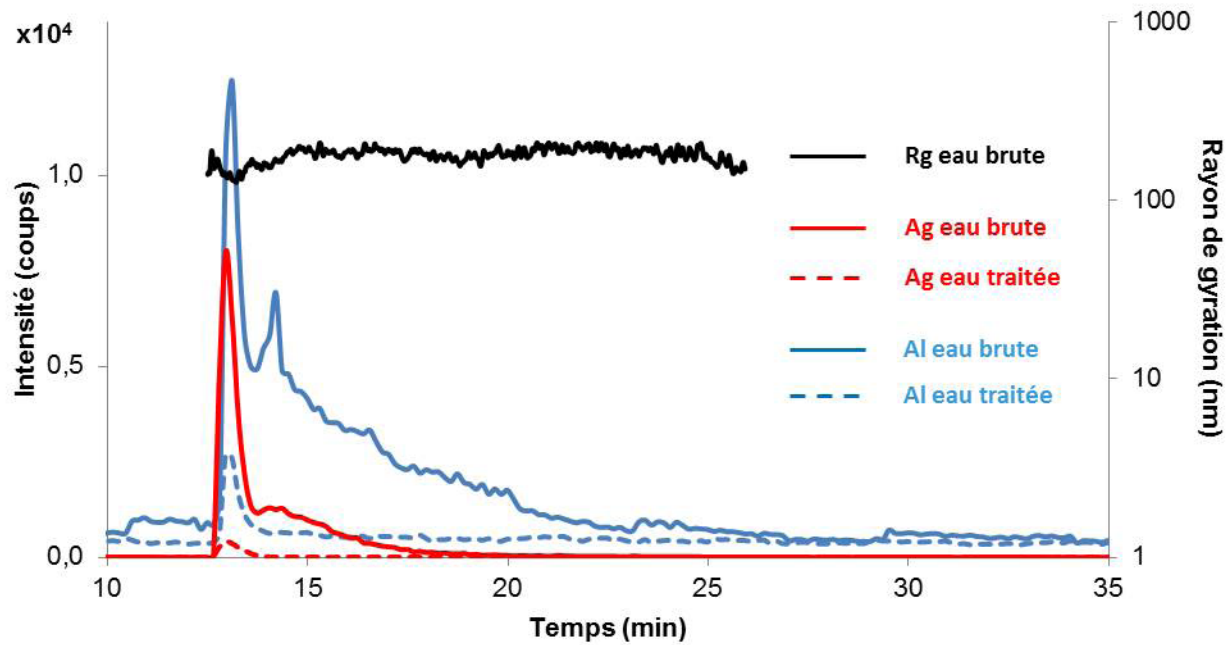


Figure 2. Caractérisation physico-chimique de nanoparticules métalliques dans des eaux de rejet (Rg : rayon de gyration) (MENTA et al., 2014)

*Physico-chemical characterization of metallic nanoparticles in waste waters (Rg : gyration radius) (MENTA et al., 2014)*

Tableau 2. Concentrations en Sb(III) ( $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) obtenues par DPP et HPLC-ICP MS dans des échantillons aqueux (SEBY et al., 2013)

Table 2. *Sb(III) concentrations ( $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$ ) obtained by DPP and HPLC-ICP MS in aqueous samples (SEBY et al., 2013)*

Références	DPP	HPLC – ICP MS
885	$0.17 \pm 0.01$	$0.166 \pm 0.003$
891	$0.159 \pm 0.004$	$0.16 \pm 0.01$
893	$0.133 \pm 0.006$	$0.140 \pm 0.001$
894	$0.152 \pm 0.003$	$0.150 \pm 0.007$
898	$0.166 \pm 0.003$	$0.164 \pm 0.004$
899	$0.166 \pm 0.004$	$0.168 \pm 0.005$

#### 4.2. Utilisation parallèle de deux méthodes analytiques différentes

En l'absence de MRC et d'espèces enrichies isotopiquement, l'un des moyens d'évaluer la justesse d'une méthode analytique est l'utilisation en parallèle de deux méthodes analytiques impliquant des principes, interférences... différents. Ce protocole a notamment été utilisé pour évaluer la justesse du dosage de l'antimoine (III) dans des échantillons aqueux (SEBY *et al.*, 2013). Les méthodes utilisées sont le couplage HPLC-ICP MS qui permet de doser toutes les formes de Sb et la polarographie pulsée différentielle (DPP) qui est spécifique de Sb(III). Les résultats obtenus pour différents échantillons par les deux techniques sont tout à fait comparables (Tableau 2), permettant de valider le dosage du Sb(III) dans ces échantillons.

## CONCLUSION

Les analyses de spéciation permettent de mieux comprendre le comportement et la toxicité de certains éléments. Il est possible actuellement de s'appuyer sur un ensemble de techniques analytiques automatisées qui peuvent être utilisées en routine. De plus en plus de laboratoires sont équipés et il s'avère donc maintenant indispensable de développer la normalisation des méthodes de spéciation en incluant les techniques couplées.

Dans le cas des nanoparticules, l'approche par A4F-MALLS-ICP MS tend à se généraliser pour les eaux, mais des essais interlaboratoires sont encore nécessaires afin d'augmenter la comparabilité des données.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- CECCATELLI, S., E. DARE et M. MOORS (2010). Methylmercury-induced neurotoxicity and apoptosis. *Chem. Biol. Interact.*, 188, 301-308.
- DRESSLER, V.L., F. GOLDSCHMIDT ANTES, C. MARQUES MOREIRA S., D. POZEBON et F.A. DUARTE (2011). As, Hg, I, Sb, Se and Sn speciation in body fluids and biological tissues using hyphenated-ICP-MS techniques: a review. *Intl. J. Mass Spectrom.*, 307, 149-162.
- GUERTIN, J. (2005). Toxicity and health effects of chromium (all oxidation states). Dans : *Chromium(VI) handbook*. GUERTIN J., J.A. JACOBS et C.P. AVAKIAN (Editeurs), CRC Press, Boca Raton, FL, USA, pp. 215-234.
- HUGUES, M.F. (2002). Arsenic toxicity and potential mechanisms of action. *Toxicol. Lett.*, 133, 1-16.
- KLAINE, S.J., A.A. KOELMANS, N. HORNE, S. CARLEY, R.D. HANDY, L. KAPUSTKA, B. NOWACK et F. VON DER KAMMER (2012). Paradigms to assess the environmental aspects of manufactured nanomaterials. *Environ. Toxicol. Chem.*, 31, 3-14.
- MAMINDY-PAJANY, Y., P. BATAILLARD, F. SEBY, C. CROUZET, A. MOULIN, A.G. GUEZENNEC, C. HUREL, N. MARMIER et F. BATTAGLIA-BRUNET (2013). Arsenic in marina sediments from the Mediterranean coast: Speciation in the solid phase and occurrence of thioarsenates. *Soil Sed. Contam.*, 22, 984-1002.
- MENTA, M., V. VACCHINA, D. PLAA et J. FRAYRET (2014). Caractérisation physicochimique de nanomatériaux par A4F-MALLS-ICPMS : Exemples d'applications en agroalimentaire, cosmétique et environnement. *SPECTRATOM 2014*, 20 au 23 mai, Pau, France, Communication orale.
- POPP, M., S. HANN et G. KOELLENSPERGER (2010). Environmental application of elemental speciation analysis based on liquid or gas chromatography hyphenated to inductively coupled plasma mass spectrometry - A review. *Anal. Chim. Acta*, 668, 114-129.
- SAKURAI, T. (2002). Biological effects of organic arsenic compounds in seafood. *Appl. Organometal. Chem.*, 16, 401-405.
- SEBY, F., C. GLEYZES, O. GROSSO, B. PLAU et O.F.X. DONARD (2013). Speciation of antimony in injectable drugs used for leishmaniasis treatment (Glucantime) by HPLC-ICP-MS and DPP. *Anal. Bioanal. Chem.*, 404, 2939-2948.
- TEMPLETON, D.M., F. ARIESE, R. CORNELIS, L.G. DABIELLSON, H. MUNTAU, H.P. VAN LEEUWEN et, R. LOBINSKI (2000). Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects and methodological approaches: IUPAC recommendations. *Pure Appl. Chem.*, 72, 1453-1470.
- VACCHINA, V. et F. SEBY (2014). Cr(VI) determination in foodstuff products by HPLC-ICP MS. *Trace Elements in Food-5*, 6 au 9 mai, Copenhague (Danemark), Communication orale.