

## **I.5 - Procédures de préparation de l'échantillon pour l'analyse :**

### **I.5.1 - Introduction générale:**

La contamination d'un échantillon par l'analyte et/ou les pertes de l'analyte sont les erreurs systématiques les plus importantes qui peuvent se produire pendant les étapes de préparation telles que le prélèvement, le prétraitement et le stockage de l'échantillon, la décomposition, la séparation et la préconcentration de l'analyte et la détermination finale des éléments. Comme la chimie analytique est une discipline qui vient en aide pour d'autres disciplines afin de résoudre leurs problèmes, une collaboration étroite est nécessaire. L'influence de la contamination et des pertes sur les résultats analytiques devient de plus en plus importante avec des concentrations de plus en plus décroissantes de l'analyte. On doit maintenir dans l'esprit qu'on ne peut jamais complètement éliminer la contamination et les pertes, mais on peut bien réduire leur ampleur à un niveau acceptable.

#### **I.5.1.1 - La contamination :**

Les sources de contamination englobent les matériaux dont les outils et la verrerie sont fabriqués, les réactifs et l'air du laboratoire.

- **Les Matériaux :**

→ **La silice vitreuse** (le quartz artificiel) : un des meilleurs matériaux de verrerie pour l'analyse d'oligoéléments. Parmi ses avantages, les risques de contamination et d'adsorption réduits (surface lisse), la résistance à une température jusqu'à 1200 °C et à la plupart des acides inorganiques (sauf HF et H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> concentré). [19]

→ **Le PTFE (Téflon), le PFA (Téflon) et le TFM (Hostaflon)** : polymères fluorés utilisés souvent pour les récipients de digestion à cause de leur surface non polaire. L'adsorption et la désorption sont donc ainsi minimisées. Ils permettent une température de digestion max d'environ 250°C. Ils résistent à presque tous les acides (y compris HF). Le PTFE n'est pas le meilleur des téflons à cause de sa structure poreuse. Meilleur que lui est le TFM (structure non poreuse), le FEP de surface dense et non polaire est préférable pour le stockage. [19]

→ **Le PE et le PP** : Polymères pour les récipients de stockage, pas aussi bons que le FEP bien qu'ils soient moins chers. [19]

→ **Le carbone vitreux** : Utilisé pour les récipients de digestion en haute température. Il est résistant à la plupart des acides, mais pas aux réactifs d'oxydation (chauffage sous atmosphère inerte). Le risque de contamination est comparativement élevé devant le verre de quartz ou les polymères fluorés. [19]

D'autres sources de contamination sont les impuretés à la surface. Des procédures de nettoyage appropriées sont nécessaires pour les polymères (PE et PP) et pour le téflon : [19]

Procédé de nettoyage du polymère (PE et PP) :

- Essuyer n'importe quel résidu du polymère
- Rincer avec de l'eau bidistillée
- Immerger et/ou remplir avec HCl 1:4 pour au moins 1 semaine
- Rincer avec de l'eau bidistillée
- Immerger et/ou remplir avec HNO<sub>3</sub> 1:4 pour au moins 1 semaine
- Rincer avec de l'eau bidistillée
- Sécher dans un environnement d'air propre

Procédé de nettoyage du téflon :

- Essuyer n'importe quel résidu du téflon
- Rincer avec de l'eau bidistillée
- Placer dans un bain d'acide HCl 1:1 (80 - 90°C) pour au moins 4 h
- Rincer avec de l'eau bidistillée
- Placer dans un bain d'acide HNO<sub>3</sub> 1:1 (80 - 90 °C) pour au moins 4 h
- Rincer avec de l'eau bidistillée
- Sécher dans un environnement d'air propre

Le procédé de nettoyage du quartz est opéré par cuisson à la vapeur d'acide (souvent HNO<sub>3</sub>), et appliqué même aux récipients et aux outils en verre borosilicate, au PTFE, au TFM, au PFA et au carbone vitreux.

Procédure de cuisson du quartz : [19]

- Cuisson à la vapeur de HNO<sub>3</sub> pour au moins 6 h
- Rincer avec de l'eau bidistillée
- Sécher dans un environnement d'air propre

- **Les Réactifs :**

Les réactifs liquides sont les plus importants pour l'analyse de traces et sont disponibles dans le commerce avec une grande pureté. La purification par distillation par ébullition secondaire à l'aide de distillateurs construits avec du quartz ou du PTFE peut être d'une grande utilité. Pourtant elle peut assurer la séparation des impuretés à basses pressions de vapeur seulement telles que les ions métalliques. [19]

- **Les Particules de l'atmosphère :**

On peut suivre certaines étapes pour réduire l'influence des particules de l'atmosphère sur le blanc analytique : [19]

- Effectuer l'étape analytique spécifiée dans un système fermé.
- Couvrir une petite enceinte de travail et l'alimenter par un flux d'air propre ou d'azote.
- Plus coûteuse mais efficace, est une salle propre avec un flux d'air laminaire.

#### **I.5.1.2 - Les pertes :**

La volatilisation, les réactions chimiques ou les réactions avec le matériau des récipients et des outils ou l'adsorption sont les principales origines de pertes :

→ **La volatilisation :** Elle peut être réduite avec des systèmes fermés ou par la réduction de la température.

→ **La réaction avec le matériau des récipients et des outils :** Elle peut être réduite par un propre choix du matériau et ainsi qu'en réduisant la température.

→ **Les réactions chimique :** pouvant mener à la précipitation de l'analyte, sont souvent empêchées par l'addition de réactifs stabilisants.

→ **L'adsorption :** Les effets d'adsorption et de désorption ne peuvent pas être empêchés car il y a toujours un équilibre dynamique. Plus la gamme de concentration de l'analyte est petite, plus il est plus difficile de réduire l'adsorption / la désorption. Seulement l'ampleur peut être réduite par application des étapes suivantes : [19]

- choix de matériaux appropriés pour les récipients;
- traitement du matériau du récipient;

- réduction de la section de la surface du récipient;
- principe simple du récipient;
- équilibration de la surface du récipient.

## **I.5.2 - Echantillonnage :**

### **I.5.2.1 - Introduction :**

La variabilité et l'hétérogénéité des milieux environnementaux, le fait que l'environnement soit un système très dispersif, les multiples formes physico-chimiques que peuvent y prendre les éléments trace, figurent comme autant de facteurs à considérer pour améliorer les techniques, parfois issues du secteur nucléaire. Deux grands défis restent à relever pour les analystes en charge du développement et de l'application des techniques analytiques destinées à identifier et quantifier, de façon fiable et représentative, les espèces élémentaires. Le premier de ces défis concerne la variabilité et l'hétérogénéité intrinsèque du milieu environnemental, notamment des matrices solides telles que les sols et les plantes. La teneur élémentaire d'une plante n'est pas une entité fixe, mais elle change d'un mois à un autre, de jour le jour, et même à chaque heure de la journée, aussi elle diffère entre les diverses parties de la plante elle-même (Goodall et Gregory, 1947; Jones, 1970) [20]. Les comparaisons des analyses entre les feuilles et les pétioles, les tiges et les feuilles, et la partie supérieure et la partie inférieure peuvent aider à évaluer une analyse de plante (Bates, 1971) [20]. Jones (1967) avait noté que la détermination de l'homogénéité ou l'hétérogénéité, peut être une technique utile pour le diagnostic des insuffisances élémentaires dans quelques récoltes. Par exemple, le maïs (*Zea mays* L.), une plante, en déficience de potassium (K), en contient moins dans ses feuilles inférieures que dans ses feuilles supérieures et vis versa (Jones, 1967) [20]. En la matière, la question se pose de la représentativité et donc de la validité d'une mesure réalisée dans les conditions de l'hétérogénéité. Des avancées s'annoncent dans les domaines de l'acquisition des données et de la multiplicité des mesures pour jouer sur la statistique (systèmes miniaturisés à bas coût, appareils portables de terrain, capteurs à reconnaissance spécifique...). Le deuxième défi découle du caractère ouvert et fortement dispersif de

l'environnement. Les espèces (les analytes) d'intérêt s'y retrouvent à l'état de traces voire d'ultra traces et nécessitent donc des techniques de plus en plus sensibles.

### **I.5.2.2 - Techniques de prélèvement :**

Puisqu'il y a un potentiel essentiellement grand pour que l'erreur se produise en raison de la technique d'échantillonnage impropre, seuls des techniciens formés et expérimentés peuvent être responsables de la collecte d'échantillons de tissu sur terrain. Par ailleurs, on trouve parmi les techniques d'échantillonnage proposées une description [20] donnant les instructions suivantes sur le tissu végétal ou les plantes à ne pas prélever :

- Tissu couvert de sol, de poussière, ou de résidu chimique.
- Plantes endommagées par des insectes, mécaniquement blessées, ou malades.
- Tissu des plantes mortes ou tissu mort.
- Plantes sous stress d'humidité ou de température.
- Plantes nettement affectées par stress nutritionnel.
- Plantes d'une rangée frontière ou plantes de fin de rangée.
- Plantes dans des secteurs présentant une infestation.
- Plantes entières à moins que jeunes plantes.

Kenworthy (1969), Chapman (1966), Jones et autres (1971, 1973), Reuter et Robinson (1986, 1997), Jones, Wolf, et Mills (1993), et Mills et Jones (1996) ont décrit les techniques d'échantillonnage du tissu végétal qui ont été généralement acceptées [20]. Ils y ont spécifiées le type de culture, l'étape de croissance, la partie prélevée de la plante, et le nombre de plantes à prélever. Plus de détails encore sur le sujet peuvent bien être trouvés dans d'autres documents comme celui diffusé par l'organisation mondiale de la santé O.M.S [21].

### **I.5.2.3 - Procédures de manipulation :**

La première difficulté concerne le prélèvement des échantillons naturels. Il doit s'effectuer de manière à représenter les variations spatiales et temporelles des concentrations ainsi que les formes chimiques des espèces à caractériser. Viennent ensuite les contraintes de transport et de stockage de ces échantillons : n'engendrer ni contamination, ni perte, ni transformation des analytes.

Le tissu végétal collecté est très périssable, exigeant une manipulation spéciale assurant la conservation du poids sec car la décomposition le réduira, ce qui affectera de manière significative le résultat d'analyse de la plante (Lockman, 1970) [20]. Par conséquent, le tissu végétal frais doit être placé dans des sacs de papier ouverts et propres, partiellement séché à l'air si possible (il doit être placé dans un environnement ouvert et sec pendant 12 à 24 heures, un procédé qui éliminera une grande partie d'eau du tissu), ou maintenu dans un environnement frais pendant l'expédition au laboratoire. Le tissu végétal frais ne doit pas être placé dans des sachets en plastique fermés à moins que le tissu est séché à l'air ou le sac ou le contenant est maintenu au frais (4,0 °C) [20].

Si le tissu végétal collecté est enduit de sol, de poussière, et/ou de résidus chimiques, ceux-ci doivent être enlevés. La décontamination doit être faite sur le tissu frais peu de temps après qu'il a été collecté (procédure traitée en I.5.3.2).

### **I.5.3 - Préparation du tissu végétal pour l'analyse :**

#### **I.5.3.1 - Introduction :**

Dans ce contexte, l'analyse des échantillons des plantes nécessite une succession d'étapes, toutes essentielles à l'obtention d'un résultat juste, précis et permettant une interprétation fiable. Des procédures probantes doivent être suivies pendant **la décontamination, le séchage, la réduction de la granulométrie des particules, le stockage, et la destruction de la matière organique**. Chacune d'elles doit être menée pour augmenter l'exactitude et la fiabilité des résultats analytiques.

#### **I.5.3.2 - Décontamination :**

##### **a) - Principe :**

Les matières végétales doivent être propres et exemptes de substances étrangères, y compris le sol, les particules de poussière et les résidus de vapeur foliaire, ceux-ci peuvent influencer les résultats analytiques. Les éléments les plus souvent affectés par des particules de sol et de poussière sont le fer (Fe), l'aluminium (Al), le silicium (Si), et le manganèse (Mn), particulièrement avec la jeune plante et les récoltes d'herbe. Les jets de résidus nutritifs foliaires et de

fongicide peuvent affecter plusieurs des éléments et doivent être pris en considération dans le procédé de décontamination et lors de l'évaluation des résultats analytiques. Le procédé de décontamination doit être entièrement accompli tout en préservant toujours l'intégrité de l'échantillon. Par conséquent, les procédures de décontamination comportant le lavage et le rinçage devraient seulement être employées pour les échantillons de plantes frais, et entièrement turgides. [22]

**b) - Procédé :** [22]

1- À moins que le tissu de feuille soit visiblement enduit de substances étrangères, la décontamination n'est pas habituellement exigée sauf si Fe (Wallace et autres, 1982; Jones et Wallace, 1992), Al, Si, ou Mn sont à déterminer (Jones et Case, 1990).

2- Quand Al, Si, Mn, et le Fe ne sont pas de premier intérêt, les feuilles des plantes doivent être brossées pour enlever les particules visibles de sol et de poussière.

3- Quand les échantillons de plantes montrent des résidus chimiques visibles et quand Al, Si, Fe et Mn sont les éléments à rechercher, les feuilles doivent être lavées dans une solution détersive 0.1 à 0.3% (Ashby, 1969; Wallace et autres, 1982; Jones et Wallace, 1992), puis rincées à l'eau désionisée. La durée de lavage et rinçage doit être aussi courte que possible (Sonneveld et van Dijk, 1982) afin d'éviter le danger des nitrates ( $\text{NO}_3^-$ ), du bore (B), du potassium (K), et des chlorures ( $\text{Cl}^-$ ) lixiviant des tissus (Bhan et autres, 1959; Smith et Storey, 1976).

4- Après décontamination, les échantillons doivent être séchés immédiatement pour stabiliser le tissu et stopper les réactions enzymatiques.

o Commentaires : [22]

1- Les techniques d'échantillonnage appropriées réduisent la contamination au minimum.

2- La décontamination n'est généralement pas nécessaire pour le tissu qui a été exposé à de fréquentes précipitations et/ou non exposé aux nutriments ou aux pulvérisations de fongicides. Les jeunes plantes et les récoltes qui ont été éclaboussées par le sol font exception à cette règle.

**3-** Le lavage excessif est probablement plus mauvais qu'aucune décontamination puisque les éléments solubles dont B, K et N-  $\text{NO}_3^-$  sont susceptibles de lixivier du tissu.

**4-** Les échantillons doivent être plongés rapidement dans les solutions de lavage et de rinçage. Sonneveld et Van Dijk (1982) ont recommandé une durée de 15 secondes.

**5-** Les concentrations relativement élevées de Al ( $>100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), Fe ( $>100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), et le Si ( $>1,0\%$ ) sont de forts indicateurs de contamination. Le titane (Ti) a été également suggéré comme indicateur de contamination par le sol ou la poussière.

### **I.5.3.3 - Séchage :**

#### **a) - Principe :**

L'eau est éliminée du tissu végétal pour arrêter les réactions enzymatiques et pour stabiliser l'échantillon. L'élimination de l'eau combinée facilite également la réduction complète de la taille particulaire, l'homogénéisation complète, et la pesée précise.

#### **b) - Procédé (au four): [22]**

**1-** Séparer ou détacher les échantillons de tissu et les placer dans des sacs en papier.

**2-** Placer le sac dans le four à air forcé et sécher à  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  pendant 12 à 24 heures.

**Note :** La nature de l'échantillon et sa teneur en humidité affectent la durée de séchage. Une teneur élevée du tissu en carbohydrates peut exiger un autre type de procédé de séchage [22].

#### o Commentaires : [22]

**1-** Des temps de séchage plus longs que 24 heures peuvent être exigées, selon le type et le nombre d'échantillons de plantes dans le four [23].

**2-** Le séchage aux températures inférieures à  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  peut ne pas enlever toute l'eau combinée (Jones et autres, 1991) et peut avoir comme conséquence une homogénéisation faible et des résultats analytiques incorrects. La détermination du Se et du F exige des températures  $< 50 \text{ }^\circ\text{C}$  [23].



**3-** Les températures de séchage supérieures à 80 °C peuvent avoir comme conséquence la décomposition thermique et la réduction du poids sec (Jones et autres, 1991).

**4-** Les enzymes présentes dans le tissu végétal deviennent inactives aux températures supérieures à 60 °C (Tauber, 1949). En conséquence, le séchage à l'air n'assure pas la stabilisation des échantillons et n'empêche pas la décomposition enzymatique. Les échantillons doivent, donc, être correctement séchés aussitôt après leur prélèvement.

**5-** Le séchage rapide d'un nombre limité d'échantillons peut être accompli en utilisant un four à micro-onde, si les échantillons sont tournés souvent et le processus de séchage étroitement surveillé (Carlier et van Hee, 1971; Shuman et Rauzi, 1981; Jones et autres, 1991). L'utilisation d'un four sous vide à 60 °C ou de la technique de séchage par sublimation est aussi recommandée [23].

**6-** Si les échantillons absorbent des quantités significatives d'humidité pendant le broyage, un séchage additionnel peut être exigé avant de peser pour l'analyse. Sécher jusqu'au poids constant en faisant peser périodiquement.

#### **I.5.3.4 - Réduction de la granulométrie :**

##### **a) - Principe :**

Les échantillons du tissu végétal sont réduits à la dimension particulière de 0,5 à 1,0 mm pour assurer l'homogénéité et pour faciliter la destruction ultérieure de la matière organique.

##### **b) - Procédé : [22]**

**1-** Après avoir séché, les échantillons devront être moulus pour passer un écran de 1,0 mm (la maille 20 mesh) en utilisant le moulin approprié. Une passoire à 20 mesh est adéquate si la partie aliquote de l'échantillon à analyser est > 0,5 g. Cependant, si la partie aliquote de l'échantillon est < 0,5 g, un écran 40 mesh devra être utilisé (Jones et Case, 1990).

**2-** Après mouture, l'échantillon devra être complètement mélangé et des parties aliquotes de 5 à 8 g retirées pour l'analyse et le stockage.

3- En utilisant une brosse ou un système de vide, nettoyer l'appareil de mouture après le broyage de chaque échantillon.

o Commentaires : [22]

1- L'uniforme granulométrie et le mélangeage sont des paramètres critiques pour l'obtention de résultats analytiques précis.

2- Prendre un grand soin lors de la mouture d'échantillons très petits ou dont la matière végétale est pubescente, déliquescente, ou de texture fibreuse. Ces échantillons sont difficiles à moudre et l'opérateur devra laisser suffisamment de temps à l'échantillon pour passer par l'écran afin d'assurer l'homogénéité.

3- La plupart des moulins mécaniques contribuent à la contamination de l'échantillon avec un ou plusieurs éléments (Hood et autres, 1944). L'ampleur de la contamination dépend de l'état du moulin et du temps d'exposition (Jones et Case, 1990). Grier (1966) recommande l'utilisation de l'acier inoxydable pour les surfaces de tamisage et de coupe afin de réduire la contamination au minimum. On doit noter que l'utilisation du corindon peut affecter l'analyse par contamination de l'échantillon par Al, Mg, Ba, Cu et Zn [23].

4- L'entretien courant devra être exécuté sur les moulins pour assurer l'optimum des conditions de fonctionnement. Les couteaux ou les lames devront être maintenus dans de bonnes conditions d'ajustement et de coupe.

#### **I.5.3.5 - Stockage :**

##### **a) - Principe :**

Après réduction et homogénéisation des dimensions particulières, les échantillons doivent être stockés dans des conditions qui réduiront la détérioration au minimum et maintiendront l'intégrité de l'échantillon pour les pesées et le suivi du travail analytique.

##### **b) - Procédé : [22]**

1- Après le broyage et l'homogénéisation, un échantillon représentatif est pris de la matière végétale pour l'analyse et le stockage. L'échantillon doit être placé dans un récipient ou tubes scellés en polyéthylène.

2- Les récipients doivent être stockés dans un endroit sec et frais.

3- Pour l'entreposage à long terme, les échantillons moulus doivent être complètement séchés, scellés, et placés dans des conditions frigorifiées (4 °C) jusqu'à ce que les analyses soient terminées.

o Commentaires : [22]

1- Si des échantillons sont placés au frais (4 °C), dans un environnement obscur, sec, la durée de stockage est indéfinie.

2- Un milieu enveloppé peut également être utilisé pour le stockage d'échantillons; cependant, un peu plus de soin devra être pris dans la manipulation de l'échantillon pour empêcher l'absorption de l'humidité. Le ramassage de l'échantillon moulu dans son enveloppe et sa remise immédiate dans un dessiccateur réduira au minimum l'absorption de l'humidité.

#### **I.5.4 - Destruction de la matière organique :**

Les échantillons de nature organique ou mixte sont sujets à deux étapes distinctes qui prennent place, souvent, simultanément : la minéralisation et la dissolution. Les échantillons de composition purement inorganique sont simplement dissous. Or le choix des techniques de préparation des échantillons et de l'analyse proprement dite dépend de la nature de l'échantillon (organique, inorganique, mixte), des types d'analytes (éléments), de leurs quantités ainsi que de l'information désirée (identification, quantification, forme chimique...). Les échantillons du tissu végétal sont de nature mixte, ce qui signifie que leur dissolution totale ne peut pas être réalisée en une seule étape utilisant un simple réactif. En pratique, le nombre d'étapes et de réactifs nécessaires est dicté par la composition de la matrice.

Les deux méthodes généralement utilisées pour la destruction de la matière organique sont l'incinération sèche (combustion à haute température) et l'incinération humide (digestion acide) [22,24]. Les deux méthodes sont basées sur l'oxydation de la matière organique par l'utilisation des acides et / ou de la chaleur.

Ces étapes, souvent longues et sujettes à contamination ou perte d'analytes, demeurent néanmoins indispensables pour rendre les échantillons compatibles avec les techniques d'analyses des éléments. Les développements sont toujours en cours pour améliorer la sensibilité et la sélectivité des techniques de mesure. Ils

permettront de simplifier, voire de supprimer dans certains cas, ces étapes de traitement.

#### **I.5.4.1 - Incinération sèche :**

##### **a) - Principe :**

La minéralisation de la matière organique est faite par incinération à la pression atmosphérique dans un four programmable. La température généralement admise pour cette étape est de 450-500 °C [24]. Elle est progressivement atteinte suivant une rampe de température préprogrammée et maintenue plusieurs heures. Pour le tissu à teneur élevée en carbohydrates et en huiles, des additifs d'incinération peuvent être exigés pour réaliser la décomposition complète de la matière organique. Le résidu inorganique résultant (cendres) est dissous par un acide approprié (l'acide nitrique ( $\text{HNO}_3$ ) ou chlorhydrique ( $\text{HCl}$ ) dilués, ou un mélange des deux, telle que l'eau régale). La solution finale est diluée si nécessaire pour répondre aux exigences de la gamme du procédé analytique ou de l'instrument utilisé.

##### **b) - Caractéristiques de la méthode : [24]**

Comparée à la digestion humide, l'incinération sèche présente plusieurs caractéristiques utiles :

- La possibilité de traiter un grand nombre d'échantillons en même temps et de pouvoir dissoudre les cendres dans un petit volume d'acide permettant ainsi la préconcentration des oligoéléments dans la solution finale, ce qui est plus utile pour les déterminations des très basses concentrations en analytes.
- Les cendres sont complètement exemptes de matière organique, ce qui est un prérequis pour l'intégrité de la masse inorganique ainsi que pour certaines techniques analytiques comme ICP-MS ou ICP-AES (la nébulisation ultrasonique peut être affectée par la présence de certaines molécules organiques non dissociées).
- les solutions résultantes sont d'aspect très acceptable (clair, incolore et inodore), C'est rarement le cas pour les solutions obtenues avec la méthode de digestion humide.

- Les volumes des réactifs et les manipulations sont réduits.

**c) - Remarques :** [24]

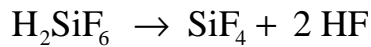
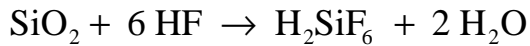
- **Le choix et la conduite de la température d'incinération** doit assurer une décomposition quantitative de la matière organique sans perte partielle ou totale d'analytes par volatilisation (excepté Hg, As, Se) ou incorporation dans un résidu insoluble dans les réactifs habituels. Cette dernière peut être due à des combinaisons avec d'autres constituants de l'échantillon ou également à des réactions avec les parois du creuset (très cher, le platine est le plus approprié matériau bien qu'attaqué par l'eau régale). Les pertes sont réduites au minimum si la température d'incinération est atteinte dans un gradient lent (dans 4 h à partir de la température ambiante) cela empêche n'importe quels points chauds ou auto-ignition de l'échantillon avec la perte conséquente d'analytes. Les pertes peuvent également se produire par dépassement de la consigne de température maximale.

- **L'addition des additifs d'incinération** - généralement MgO et / ou  $Mg(NO_3)_2$  - peut parfois permettre de former pendant le procédé d'incinération moins de composés de As ou de Se volatiles, mais pour un usage courant, le procédé rend nécessaire une validation sérieuse et longue pour chaque type d'échantillon analysé. En outre, l'utilisation des additifs d'incinération augmente de manière significative la teneur en solides dissous dans les solutions.

- **La température d'incinération** est maintenue **plusieurs heures**. Si l'incinération est exécutée sous des conditions optimales, elle mène à des cendres de couleur blanche ou grise claire, sinon elles présentent des taches plus foncées (de grises foncées à noires) attribuables au carbone insuffisamment oxydé. L'humidification par 1 ml d'acide nitrique et la recalcination pour 1 h à la température habituelle peut bien corriger cet aspect.

- **Le mode habituel de dissolution des cendres** (HCl,  $HNO_3$ ) peut mener parfois à des insuffisances graves. Ce procédé n'assure pas la dissolution des composés de silicate et par conséquent de tous les éléments qui y sont liés. Malheureusement, le milieu des plantes contient des concentrations variables en silice qui peuvent atteindre plusieurs pour cent. Dans ce cas-ci, le résidu insoluble est dissous par l'acide fluorhydrique (HF), le seul acide capable de dissoudre les matières à base de

silice par formation des ions hexafluorosilicate ( $\text{SiF}_6^{2-}$ ) qui peuvent être transformés en tétrafluorure de silicium volatile selon les réactions globales du type suivant[25]:



Le silicium est ainsi donc volatilisé et les éléments y associés introduits dans la solution. Ce problème se rencontre avec une ampleur beaucoup plus large dans les digestions humides, à cause de l'indisponibilité des contenants adéquats en PTFE.

#### **d) - Quelques procédés en incinération sèche :**

En ce qui suit on évoquera un résumé de quelques procédés d'incinération sèche pour voir la diversité des combinaisons et des stratégies suivies par différents chercheurs dans leurs investigations :

- Procédé de (Slavica Ražić, et autres, 2004 [26], 2003 [27]) :

- 1- peser dans un creuset 1.0 g de matière végétale séchée, moulue et homogénéisée.
- 2- placer l'échantillon sur plaque chauffante à 100 - 120 °C durant 15 min.
- 3- Déplacer le creuset vers un four à 500 °C pendant 2 heures.
- 4- Après refroidissement, ajouter 10 gouttes d'eau et 4 ml  $\text{HNO}_3$  8M, et retourner à la plaque jusqu'à évaporation à sec.
- 5- Revenir une autre fois au four à 500 °C pendant 1 heure.
- 6- Après refroidissement, ajouter 10 ml  $\text{HCl}$  6M et diluer à 25 ml avec l'eau.
- 7- Les mesures sont faites sur FAAS, FAES et ICP-AES.
- 8- Résultats obtenus pour [26] (n = 26 herbes) et [27] (n = 1 herbe) sont respectivement:

- Cu ( $\mu\text{g/g}$ ) : 4,50 – 14,80 ; Déviation standard = 2,7, Zn ( $\mu\text{g/g}$ ) : 8,4 – 54,5 ;  
Déviation standard = 10,9

- Cu ( $\mu\text{g/g}$ ) : 11,8 – 8,9 , Zn ( $\mu\text{g/g}$ ) : 12,7 – 11,7

- Procédé de (Elzbieta Wieteska et autres, 1995) [28] :

- 1- peser dans un creuset en silice 0,5 g de matière végétale sèche, moulue et homogénéisée.
- 2- déplacer le creuset vers un four à 600 °C pendant 2 heures. Passer au (3.1) ou au (3.2).

3.1- dissoudre les cendres dans 0,5 ml de HCl concentré avec ajout de HNO<sub>3</sub> 1M. La solution est filtrée dans une fiole de 25 ml et diluée au volume avec HNO<sub>3</sub> 1M.

3.2- Ajouter 2 ml de HF et chauffer à sec puis diluer au volume avec HNO<sub>3</sub> 1M.

4- Les mesures sont faites sur FAAS.

5- Résultats obtenus : (n = 1 herbe)

Etape 3.2 : Cu (µg/g) : 3,5 ± 0,3 ; Zn (µg/g) : 55 ± 1

Etape 3.1 : Cu (µg/g) : 3,4 ± 0,4; Zn (µg/g) : 55 ± 2

• Procédé de (Jan Malik, 2007) [29] :

1- peser dans un creuset en silice 1 g de matière végétale sèche, moulue et homogénéisée.

2- déplacer le creuset vers un four à 500 °C pendant 16 heures. La température est graduellement augmentée.

3- Chauffer les cendres dans 3 ml d'eau régale pendant 5 à 10 min à 100 °C.

4- Transférer quantitativement dans des tubes de 20 ml en ajustant le volume avec l'eau désionisée.

5- Les mesures sont faites sur ICP-OES.

6- Résultats obtenus : (31 herbes stimulantes)

Cu (µg/g) : 6 – 66,5, Zn (µg/g) : 4,49 – 60,3

• Procédé de (Chunchao Han et autres, 2007) [30], (K. Ravi et autres, 2003) [31], (S. Rajasekaran et autres, 2005) [32] :

1- peser dans un creuset, 100 g de matière végétale séchée à 60 °C pendant une nuit, moulue et homogénéisée.

2- mettre le creuset dans un four entre 410 et 440 °C. La température doit être en deçà de 450 °C (éviter les pertes en Zn et K) et les cendres exemptes de matières organique.

3- stocker les cendres dans un dessiccateur.

4- Prélever 2 g et les dissoudre dans un mélange (HCl + HNO<sub>3</sub>) (1 : 3) et diluer à 50 ml avec de l'eau.

5- Les mesures sont faites sur AAS.

6- Résultats respectifs obtenus pour [30] (n = 1 herbe), [31] (n = 1 herbe) et [32] (n = 1 herbe) :

- Cu ( $\mu\text{g/g}$ ) : 12,3, Zn ( $\mu\text{g/g}$ ) : 33,2

- Cu ( $\mu\text{g/g}$ ) : 83, Zn ( $\mu\text{g/g}$ ) : 128

- Cu ( $\mu\text{g/g}$ ) : 75, Zn ( $\mu\text{g/g}$ ) : 189

• Procédé de (Massod Mashhadi Akbar Boojar et Faranak Goodarzi, 2006) [33] :

1- peser dans un creuset, 1 g de matière végétale séchée à 60 °C, moulue et homogénéisée.

2- déplacer le creuset vers un four à 550 °C pendant 24 heures.

3- Chauffer les cendres à l'étuve dans un mélange ( $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ ) (5 : 3).

4- Après refroidissement, diluer à 25 ml avec  $\text{HNO}_3$  1M.

5- Les mesures sont faites sur AAS.

• Procédé de (R. Koplík et autres, 1997) [34] :

1- peser dans un creuset, 500 mg de matière végétale CRM sèche, moulue et homogénéisée.

2- déplacer le creuset vers un four à 450 °C avec 3 ml de  $\text{HNO}_3$  65%. La température est graduellement augmentée.

3- Les mesures sont faites sur ICP-MS.

• Méthode décrite par (C. Ray Campbell, C. Owen Plank) [22] employée internationalement et s'est avérée être une technique analytique fiable :

1- Peser 0,5 à 1,0 g de matière végétale sèche (80 °C) qui a été moulue (0,5 à 1,0 mm) et homogénéisée dans un creuset forme haute de 30 ml en porcelaine ou en quartz, ou un bécher de 100 ml Pyrex.

2- Placer les échantillons dans un four à moufle à la T° ambiante.

3- Régler le contrôle de température du four pour permettre une augmentation progressive (2 heures) pour atteindre la température d'incinération (500 à 550 °C) et la maintenir pendant 4 à 8 heures.

4- tourner le bouton du four sur éteint, ouvrir sa porte, et laisser les échantillons refroidir.



5- Contrôler les cendres pour déterminer l'ampleur de la destruction. Si une couleur blanche et propre est obtenue, suivre par l'étape 9, sinon, passer alors à l'étape 6.

6- humidifier le tissu par HNO<sub>3</sub> concentré.

7- mettre le creuset sur une plaque chauffante et évaporer. S'assurer que le résidu est complètement exempt d'humidité avant de le remettre dans le four à moufle.

8- enlever le creuset de la plaque chauffante et répéter les étapes 2, 3, et 4.

9- Selon les procédures analytiques, les cendres peuvent être solubilisées en utilisant l'acide approprié ou le mélange des acides.

o Commentaires sur la méthode [22] :

1- Les facteurs de critique se concentrent sur le choix du creuset d'incinération, le nombre d'échantillons, leurs placements dans le four, la température d'incinération, le temps, le choix de l'acide pour la solubilisation des cendres, et le volume final (Jones et Case, 1990). L'analyste a moins de latitude pour le choix de la température d'incinération que le choix des autres paramètres du procédé de digestion. Le placement des creusets et le temps d'incinération dépendent du type et du nombre d'échantillons. Le choix du creuset d'incinération, de l'acide solubilisant, de la température et du volume final dépend des éléments d'intérêt et du procédé analytique suivi. Plusieurs combinaisons de ces facteurs ont été utilisées avec succès.

2- si une cendre blanche propre est obtenue après incinération, les additifs d'incinération ne sont pas requis.

3- les matières végétales avec une teneur élevée en sucres ou en huiles (fortement carbonés) peuvent exiger un additif d'incinération. Les additifs généralement utilisés sont H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%, HNO<sub>3</sub> concentré, ou solutions de [Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O] 7%. Ce dernier est recommandé quand le tissu est analysé pour le soufre (S) comme sulfate (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>). Gorsuch (1970), Horwitz (1980), et Jones et al. (1991) ont fourni des détails sur l'utilisation de ces derniers additifs d'oxydation.

4- L'incinération sèche n'est pas recommandée pour les matières végétales qui sont riches en silicium puisque de bas taux de recouvrement de micronutriments, particulièrement le zinc (Zn), sont fréquemment obtenus.

5- Les techniques d'incinération sèche peuvent avoir comme conséquence des valeurs de Fe et de Al plus basses comparées aux techniques d'incinération humide.

#### **I.5.4.2 - Digestion humide :**

##### **a) - Principe :**

La digestion humide comporte la destruction de la matière organique par l'utilisation de la chaleur et des acides. Un échantillon précédemment sec ou frais est pesé dans un récipient ou tube de minéralisation en verre ou PTFE avec ou sans réfrigérant à reflux et les réactifs y sont ajoutés. Le mélange est chauffé à ébullition en utilisant une source conventionnelle (plaque chauffante, bain de sable, bloc digesteur...) et maintenu le temps nécessaire pour la décomposition et la dissolution de l'échantillon. Après refroidissement, la solution résultante est quantitativement transférée dans une fiole jaugée et une dilution est faite pour répondre aux exigences analytiques.

##### **b) - La conduite d'une digestion humide :**

Comparées aux méthodes d'incinération sèche, les procédures de minéralisation, utilisant des digestions acides, présentent une large gamme de variétés concernant le choix des réactifs et leurs combinaisons ainsi que les dispositifs utilisés pour l'application du procédé. En réalité, un manque de consensus existe, même à l'intérieur d'une même famille d'échantillons. Cependant, les principes de bases peuvent bien être appliqués après une sérieuse considération de tous ce qui concerne la nature de l'échantillon et sa composition, la composition du mélange des réactifs, les dispositifs utilisés, aussi bien que les objectifs de l'analyse. On va essayer de développer en ce qui suit ces points moteurs pour la conduite d'une digestion.

##### **b - 1) - Réactifs :**

La majorité des procédures de digestion humide rend nécessaire le choix d'une combinaison parmi six réactifs. Quatre d'entre eux contribuent principalement à la destruction de la matière organique (les acides, nitrique, sulfurique et perchlorique et le peroxyde d'hydrogène). Les acides, chlorhydrique et fluorhydrique, assurent

plutôt la dissolution des composés inorganiques. Pour connaître leurs actions dans les procédures de dissolution, il est utile de considérer les réactifs séparément :

- **L'acide nitrique** : Il réagit aisément avec les matières organiques aromatiques et aliphatiques, provoquant les réactions d'oxydation, d'estérification et de nitration et menant aux acides carboxyliques simples. Son bas point d'ébullition (120 °C à 68 %) est un facteur qui facilite son élimination après oxydation, mais limite également son efficacité. En présence de l'acide sulfurique (élévation du point d'ébullition du mélange), les matières les plus résistantes se retrouvent partiellement dégradées. L'acide perchlorique (assure l'oxydation après élimination de l'acide nitrique). Le peroxyde d'hydrogène possède des propriétés oxydantes très efficaces. [24,35]
- **L'acide sulfurique** : Il peut causer l'oxydation, la sulfonation, l'estérification, l'hydrolyse des esters, la déshydratation ou la polymérisation. Sa présence dans les mélanges contenant d'autres agents oxydants sert à élever le point d'ébullition (le point d'ébullition H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 98 % est 338 °C) et augmenter ainsi l'action des autres oxydants, bien que son élimination en fin d'oxydation est rendue difficile. Les alcalineux terreux et les oligoéléments comme le plomb causent des difficultés en formant des sulfates insolubles. Les interférences causées par la viscosité et par la présence des sulfates sont incompatibles avec certaines techniques d'analyse. [24,35]
- **L'acide perchlorique** : Un réactif (p.e 203 °C à 70 %) extrêmement efficace dans la destruction de la matière organique. Dans des circonstances exceptionnelles rendant nécessaire l'utilisation de l'acide perchlorique, les échantillons organiques doivent être précédemment oxydés par l'acide nitrique évitant ainsi le risque de son explosion occasionnelle. Un rôle protecteur dans ce genre de digestions est bien assuré par un excès d'acide nitrique. [24,35]
- **Le peroxyde d'hydrogène** : Les mélanges d'acides avec le peroxyde d'hydrogène (p.e 106 °C à 30 %) sont particulièrement efficaces dans l'oxydation de la matière organique. La présence d'acide sulfurique avec lui favorise la production 'in situ' de l'acide permonosulfurique H<sub>2</sub>SO<sub>5</sub> qui introduit des groupes oxygénés dans plusieurs types de molécules organiques.

Le pouvoir d'oxydation se trouve ainsi renforcé par le peroxyde d'hydrogène et par l'action déshydratante de l'acide sulfurique. [24,35]

**b - 2) - Composition de l'échantillon :**

**b - 2 - 1) - Echantillons purement organiques :** [24,35]

Généralement, la minéralisation est réalisée dans des systèmes ouverts ou clos :

- **Les systèmes ouverts :** La digestion humide s'y passe à pression atmosphérique et dont la procédure est déjà susdite en - principe - . Ils ont connu des progrès considérables. Les rampes de minéralisation composées de plusieurs récipients équipés par des réfrigérants à reflux très utiles (limitation des pertes d'analytes par volatilisation et celles des vapeurs d'acides) assurent les minéralisations courantes de grandes séries d'échantillons. Les fours micro-onde comme source de chaleur sont également disponibles dans des versions opérées manuellement ou totalement automatisées.
- **Les systèmes fermés :** La digestion humide s'y passe à haute pression (digestion acide pressurisée) dans des bombes de digestion acide à circuit en PTFE avec ou sans corps en acier inoxydable (résistant aux pressions élevées), ou dans des récipients en quartz haute pression. Ils sont les seuls systèmes à pouvoir pratiquement assurer la décomposition totale de la matière organique dans certains cas difficiles. Ceci est bien favorisé grâce aux effets synergiques de la température et de la pression. Les pertes par volatilisation y sont évitées. Seulement, ils ne sont pas capables de traiter des échantillons dont la matière organique y représente plus de 0,2 g. Dans certains dispositifs, l'acide  $\text{HNO}_3$  seul, est capable de mener la digestion. L'acide perchlorique n'est pas recommandé pour les risques d'explosion. Les bombes sont chauffées par des fours de laboratoire (120 à 200 °C) ou des fours à micro-onde spécifiques [24,36]. la première alternative, au prix significativement inférieur, est en faveur pour des bombes aux circuits en PTFE et le corps en acier inoxydable qui résiste bien aux pressions élevées (150 à 350 bars). Le four micro-onde tolère des bombes au corps totalement en matière plastique (plus basses pressions).

**b - 2 - 2) - Echantillons de composition mixte : [24,35]**

Les procédures et les réactifs sont semblables. Seulement, la dissolution de la partie minérale peut exiger la combinaison de plusieurs acides. L'acide nitrique souvent utilisé seule ou avec  $H_2O_2$  pour les échantillons purement organiques peut être remplacé ici par l'eau régale. Cependant, le problème déjà discuté des silicates avec la méthode d'incinération sèche impose le passage par une étape d'acide fluorhydrique (HF) qui est beaucoup plus difficile à appliquer à cause de plusieurs facteurs, dépendant du dispositif utilisé :

- Les procédures classiques de digestion humide, utilisant des récipients en verre attaqués par le HF, exigent la dissolution dans des récipients en PTFE dont la disponibilité avec les dimensions requises est difficile.
- L'acide fluorhydrique attaque les composés siliceux et par évaporation à sec le silicium est volatilisé et les éléments y associés sont libérés. La surchauffe, due à l'évaporation à sec (ou 'presque à sec') des récipients en PTFE, suscite un risque de détérioration interne prononcée. Le contrôle visuel n'est plus aisé à cause de l'opacité du PTFE. Ce problème peut être surmonté en utilisant des béchers en PTFE mais aucun équipement à reflux ne pourra ainsi être adapté.
- L'évaporation à sec dans un système de chauffage à micro-onde, avec des bombes pressurisées, est pratiquement irréalisable. Des dispositifs ont été conçus laissant échapper et aspirer les vapeurs de chaque bombe vers un collecteur commun et l'évaporation à sec devient ainsi possible pour un système 'fermé'. Les systèmes ouverts sont naturellement plus appropriés pour le déplacement des vapeurs et l'étape d'acide fluorhydrique peut y être opérées avec une vérification manuelle des volumes résiduels afin d'éviter la surchauffe. Les systèmes à micro-onde ouverts automatisés, avec l'imprécision des volumes des réactifs distribués, l'impossibilité de visualisation de l'échantillon et le positionnement de la tête d'aspiration de la vapeur non reproductible, ne peuvent assurer une évaporation à sec sans laisser de sérieux dommages sur les récipients en PTFE.

**c) - Caractéristiques de la méthode : [24,35]**

Quelques avantages et inconvénients peuvent être notés :

- Les températures atteintes sont beaucoup plus basses que celles appliquées en incinération sèche.
- Les pertes d'éléments par rétention sur les parois des récipients de minéralisation sont également moins fréquentes.
- Les réactions des oligoéléments avec d'autres constituants de l'échantillon sont également limitées.
- Des caractéristiques négatives et d'autres positives liées aux réactifs sont perceptibles à travers leurs effets déjà cités, comme la combinaison des réactifs, le programme de chauffage ou la performance du dispositif utilisé.
- La présence du chlore dans l'échantillon ou dans le mélange de digestion : En présence de  $\text{HNO}_3$ , se forme le chlorure de nitrosyle ( $\text{NOCl}$ ) volatile à température très inférieure à celles de volatilisation des autres éléments. En absence de  $\text{HNO}_3$ , les pertes par volatilisation de certains éléments avec des mélanges comme ( $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{O}_2$ ) sont aisées. Ces pertes sont, généralement, favorisées pour autant d'éléments en présence des composés halogènes et sont moindres avec l'utilisation des fusions alcalines.

**d) - Choix d'un procédé :**

Malgré le manque d'un consensus au sujet des procédures de digestion humide et le manque d'une méthodologie généralisée pour les digestions humides avec ou sans micro-onde, il existe un large choix de références dans la littérature traitant les étapes de préparation de l'échantillon.

**e) - Quelques procédés de digestion humide :**

En ce qui suit, on évoquera un résumé de quelques procédés traitant la digestion humide, pour voir la diversité des combinaisons et les stratégies suivies par différents chercheurs dans leurs investigations :

- Procédé de (M. Cesa et autres, 2007) [37] :

1- peser dans un creuset en silice, 150-200 mg de matière végétale sèche (2-3 jours à 40 °C).

2- l'échantillon est minéralisé à 200 °C, 75 bars, dans une solution ( $\text{HNO}_3 + \text{HCl} + \text{H}_2\text{O}_2$ ).

3- Les mesures sont faites par FAAS pour Zn et GFAAS pour Cu. 93% < recouvrement < 111%.

- Procédé de (P. T. Zawislanski et autres, 2000) [38]:

1- peser dans un tube en PTFE, 1-2 g de matière végétale sèche, moulue et homogénéisée.

2- après ajout de  $\text{HNO}_3$  concentré, placer l'échantillon sur plaque chauffante à 60 °C durant 2 h.

3- Après refroidissement, ajouter un mélange ( $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ ) (2 : 1) et chauffer à reflux à 110 °C pendant 24 h.

4- Les mesures sont faites sur ICP-MS. 93% < recouvrement < 114%.

5- Résultats obtenus pour NIST (feuilles) :

Cu ( $\mu\text{g/g}$ ) : (3,4±0,2) - (11,9±1,8), Zn ( $\mu\text{g/g}$ ) : (16,7±1,8) - (86±5)

- Procédé de (Gabriela Jamnická et autres, 2007) [39] :

1- 0.5 g de matière végétale sèche (85 °C, 48 h), moulue et homogénéisée.

2- l'échantillon additionné de 5 ml de  $\text{HNO}_3$  est digéré dans un four micro-onde.

3- Les mesures sont faites par chronopotentiométrie à redissolution galvanoplastique.

- Procédé de (S. Başgel et S.B. Erdemoğlu, 2004) [40] :

1- peser dans un récipient en PTFE, 0.5 g de matière végétale non lavée.

2- le récipient auquel on a additionné 8 ml  $\text{HNO}_3$  concentré, est fermé, placé dans un four micro-onde à la puissance de dégivrage durant 3 min.

3- Après refroidissement, l'échantillon est additionné de 4 ml  $\text{HClO}_4$  concentré et remis au four micro-onde à la puissance de 400 w durant 4 min.

4- Après refroidissement, l'échantillon est additionné de 3 ml HCl concentré et remis au four micro-onde à la puissance de 400 w, graduellement atteinte durant 2 min.

5- Augmentation graduelle de la puissance à 550 w durant 2 min.

6- Augmentation graduelle de la puissance à 700 w durant 4 min.

7- Après refroidissement, l'échantillon est additionné de 1 ml HClO<sub>4</sub> concentré et remis au four micro-onde à la puissance de 700 w durant 3 min.

8- Le contenu est finalement transféré dans une fiole de 50 ml et ajusté au volume par l'eau désionisée.

9- Les mesures sont faites sur ICP-AES.

10- Résultats obtenus : (n = 07 herbes)

Cu (µg/g) : (3,92 ± 0,8) - (35,8 ± 4,2), Zn (µg/g) : (21,9 ± 1,2) - (48,4 ± 2,2)

• Procédé de (Anna Łozak et autres, 2001) [41] :

1- peser dans un récipient en PTFE, 1 g de matière végétale non lavée.

2- le récipient auquel on a additionné 5 ml HNO<sub>3</sub> concentré, est fermé, placé dans un four micro-onde à la puissance de 87,5 w durant 1 min.

3- Après refroidissement pour 1 min, l'échantillon est réchauffé au four micro-onde à la puissance de 157,5 w durant 1 min.

4- Après refroidissement pour 1 min, l'échantillon est réchauffé au four micro-onde à la puissance de 210 w durant 2 min.

5- Après refroidissement pour 10 min, l'échantillon est réchauffé au four micro-onde à la puissance de 245 w durant 2 min.

6- Après refroidissement pour 2 min, l'échantillon est réchauffé au four micro-onde à la puissance de 280 w durant 2 min.

7- Après refroidissement pour 2 min, l'échantillon est réchauffé au four micro-onde à la puissance de 315 w durant 5 min.

8- Après refroidissement pour 10 min, l'échantillon est transféré à une fiole de 100 ml et ajusté au volume à l'eau.

9- Les mesures sont faites sur ICP-MS.

10- Résultats obtenus : (n = 1 herbe)

Cu (µg/g) : 12 ± 0,2, Zn (µg/g) : 51 ± 6,1



- Procédé de (ZDZISŁAW M. MIGASZEWSKI et autres, 1999) [42] :
  - 1- La matière végétale sèche (40 °C, 24 h), moulue (2 mm) et homogénéisée, a été incinérée dans un four à 450 °C.
  - 2- 5 g de l'échantillon incinéré est pesée et digérée dans l'eau régale (15 ml HCl + 5 ml HNO<sub>3</sub>) à 160 °C.
  - 3- Le résidu insoluble est dissout dans 10 ml de HCl concentré puis filtré.
  - 4- Les mesures sont faites sur ICP-AES.
  
- Procédé de (A.E. Mohamed, 1998) [43] :
  - 1- La matière végétale lavée (eau de robinet + eau bidistillée + eau tridistillée), séchée (105 °C, 3 h), moulue et homogénéisée, stockée (PE).
  - 2- 1 g de l'échantillon est pesé et digéré dans un becher en PTFE avec 20 ml du mélange (HNO<sub>3</sub> + HClO<sub>4</sub>) (1 : 1).
  - 3- 3 gouttes de HF ont été additionnées suivies d'un chauffage sur plaque et évaporation presque à sec.
  - 4- Le résidu est refroidi puis dissout dans 5 ml de HCl concentré ajusté à 100 ml par l'eau tridistillée.
  - 5- Les mesures sont faites sur FAAS.
  
- Procédé de (M.M. Özcan et M. Akbulut, 2007) [44] :
  - 1- La matière végétale sèche, moulue, homogénéisée et stockée.
  - 2- 0,5 g de l'échantillon est pesé et digéré dans un creuset d'incinération avec 15 ml de HNO<sub>3</sub> pur dans un four micro-onde à 200 °C.
  - 3- Les cendres sont dissoutes et la solution ajustée à un certain volume avec l'eau ultra pure.
  - 4- Les mesures sont faites sur ICP-AES.
  - 5- Résultats obtenus : (n = 31 herbes)  
Cu (µg/g) : 0 - (11 ± 1,47), Zn (µg/g) : (7,18 ± 0,44) - (48,36 ± 8,45)
  
- Procédé de (Elzbieta Wieteska et autres, 1996) [28] :
  - 1- La matière végétale séchée à l'air, pulvérisée, homogénéisée et stockée (PE).
  - 2- La matière végétale stockée est séchée (85 °C, à poids constant) juste avant digestion et un échantillon de 0,5 g est pesé et chauffé graduellement dans un

réceptacle en silice avec 5 ml d'un mélange de ( $\text{HNO}_3 + \text{HClO}_4$ ) (4 : 1) jusqu'à décoloration puis évaporé à sec. Ensuite, un choix exclusif des étapes (3.1) ou (3.2) est fait.

3.1- Le résidu est dissout dans  $\text{HNO}_3$  1M. La solution est filtrée dans une fiole de 25 ml et diluée au volume avec  $\text{HNO}_3$  1M.

3.2- Le résidu est traité avec 2 ml de HF, chauffé jusqu'à évaporation de l'acide, dissout dans  $\text{HNO}_3$  1 M et la solution est transférée dans une fiole de 25 ml en PE et ajustée au volume par  $\text{HNO}_3$  1 M.

4- Les mesures sont faites sur FAAS.

- Procédé de (Slavica Ražić et autres, 2007) [45] :

1- 0,4 g de matière végétale séchée (80 °C, 12 h).

2- La matière végétale est digérée par 12 ml de  $\text{HNO}_3$  65% et 4 ml de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30%.

3- Après refroidissement, le contenu est filtré à travers un filtre millipore 0.45  $\mu\text{m}$  et la solution est quantitativement transférée dans une fiole de 50 ml et ajustée au volume avec l'eau bidistillée.

4- Les mesures sont faites sur FAAS.

5- Résultats obtenus : (n = 5 herbes)

Cu ( $\mu\text{g/g}$ ) : 8,00 - 10,12 ; Déviation standard = 0,84

Zn ( $\mu\text{g/g}$ ) : 20,5 – 41,9 ; Déviation standard = 9,6

- Procédé de (HUANG Yi et autres, 2006) [46] :

1- 1 g de matière végétale en poudre séchée (105 °C, à poids constant).

2- Le réceptacle en PTFE contenant la matière végétale, est additionnée de 4 ml de HCl 6M et 1 ml de  $\text{H}_2\text{O}_2$  30% puis couvert hermétiquement et placée dans un four micro-onde pendant 4 min pour la digestion.

3- La digestion est refaite 2-3 fois et un refroidissement à l'eau froide est subit par le réceptacle à chaque fois aussi. La solution devra être transparente, avant d'être transférée quantitativement dans une fiole de 50 ml puis diluée à la jauge par l'eau après être additionnée de (3 \* n) ml de NaOH 6M afin d'abaisser l'acidité; (n) est le nombre de digestions.

4- La solution est conservée dans un flacon en PTFE au réfrigérateur.

5- Les mesures sont faites par Polarographie.

- Procédé de (T. M. Sovetkina et autres, 2000) [47] :

1- Un mélange d'ancienne matière végétale "Genseng" transformée.

2- La matière végétale est digérée avec  $\text{HNO}_3$ .

3- Les mesures sont faites par AAS.

4- Résultats obtenus : (n = 1 herbe)

Cu ( $\mu\text{g/g}$ ) : 13,5, Zn ( $\mu\text{g/g}$ ): 22,01

- Procédé de (Mehmet Musa Özcan et autres, 2007) [48] :

1- 0,5 g de matière végétale séchée, moulue.

2- La matière végétale est digérée avec 15 ml de  $\text{HNO}_3$  dans un four micro-onde à 200 °C.

3- La solution est diluée à 100 ml avec de l'eau.

4- Les mesures sont faites par ICP-AES.

5- Résultats obtenus : (n = 20 herbes)

Cu ( $\mu\text{g/g}$ ) :  $(0,04 \pm 0,04)$  -  $(12,18 \pm 1,22)$ , Zn ( $\mu\text{g/g}$ ) :  $(3,32 \pm 3,28)$  -  $(26,00 \pm 6,28)$

- Procédé de (M. Özcan, 2003) [49] :

1- 0,5 g de matière végétale "Condiments" séchée, moulue et stockée.

2- La matière végétale digérée avec 15 ml de  $\text{HNO}_3$  dans un four micro-onde à 200 °C.

3- La solution est diluée à un certain volume avec de l'eau.

4- Les mesures sont faites par ICP-AES.

5- Résultats obtenus : (n = 32 herbes)

Cu ( $\mu\text{g/g}$ ) : 3,02 – 14,4, Zn ( $\mu\text{g/g}$ ) : 5,54 – 49,7

- Procédé de (A.A. Adeniyi, 1993) [50] :

1- 2 g de matière végétale (échantillonnage aléatoire) séchée.

2- La matière végétale digérée avec ( $\text{HNO}_3 + \text{HCl}$ ) (3 :1) et  $\text{H}_2\text{O}_2$  35%.

3- Les mesures sont faites par AAS.

- Procédé de (Nimmagadda Venkata Vijaya Jyothi et autres, 2002) [51] :

1- 1 kg de matière végétale (feuilles d'une seule plante) stocké (le contenant PE a été trempé dans  $\text{HCl}$  (1 : 10) pour 24 h et rincé à l'eau tridistillée), séché à l'air (60

°C, 24 h), moulue et homogénéisée (mortier/pilon en porcelaine). Des portions ont été prélevées dans des creusets en plastique, couverts et propres, et stockées au noir.

2- Un échantillon de 200 mg de ces portions, sèches et homogènes, est pesé, chauffé dans un récipient en PTFE avec 2 ml de HNO<sub>3</sub> 65% sous haute pression à 180 °C pendant 3 h.

3- La solution résultante est dissoute est complétée au volume de 10 ml à l'eau bidistillée.

4- Les mesures sont faites par polarographie (DPASV, électrode de travail HMDE).  
97 < recouvrement Zn < 99%, 99 < recouvrement Cu < 100%.

5- Résultats obtenus : (n = 9 herbes)

Cu (µg/g) : 13,75 – 87,5, Zn (µg/g) : 35,71 – 156,4

• Procédé de (M.G. Sheded et autres, 2005) [52] :

1- 1 g de matière végétale digérée avec un mélange (HNO<sub>3</sub> + HClO<sub>4</sub>) (1 : 1) et 0,5 ml de HF dans un becher en PTFE couvert sur bain de sable. Le chauffage est maintenu jusqu'à obtention d'une solution claire.

2- La solution du becher, à découvert, est évaporée à sec et le résidu repris avec 50 ml de HCl 2N puis doucement dilué et filtré (whatmans n° 1). Le filtrat est dilué à l'eau désionisée.

3- Les mesures sont faites par FAAS.

5- Résultats obtenus : (n = 7 herbes)

Cu (µg/g) : (5,0 ± 1,1) - (32,7 ± 6,4), Zn (µg/g) : (15,4 ± 3,0) - (73,7 ± 3,8)

• Procédé de (Bogdan Suchacz et Marek Wesołowski, 2005) [53] :

1- 50 g environ de matière végétale sèche, moulue et homogénéisée (mortier refroidis à l'eau, 20 °C, 20 s).

2- Un échantillon de 0.5 g de matière végétale est pesé puis digéré avec 2 ml HNO<sub>3</sub> 65% et 2 ml H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% dans un four micro-onde sous pression (40-45 atm) pendant 8 min à la puissance max 650 w.

3- La solution résultante est dissoute est complétée au volume de 25 ml à l'eau désionisée.

4- Les mesures sont faites par Voltamétrie inverse. 98,03% < recouvrement < 100,78%.

- Procédé de (R. Koplík et autres, 1997) [34] :

- 1- 500 mg de matière végétale (CRM) est décomposée dans un récipient en PTFE en micro-onde sous pression (2,5 MPa) avec HNO<sub>3</sub> 65% ou un mélange (HNO<sub>3</sub> 65% + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30%) (3 : 1).

- 2- La solution résultante est dissoute est complétée au volume de 50 ml à l'eau ultra pure.

- 3- L'échantillon est dilué à l'eau (1 :1) ou avec HNO<sub>3</sub> 1M (1 : 19).

- 4- Les mesures sont faites par ICP-MS.

- Procédé de (M.N. RASHED, 2002) [54] :

- 1- La matière végétale, lavée (eau de robinet + eau bidistillée), séchée (105 °C, 12 h) et moulue.

- 2- Un échantillon de 2 g est décomposé dans un becher en PTFE avec un mélange (HNO<sub>3</sub> + HClO<sub>4</sub>) (1 : 3).

- 3- Le résidu d'évaporation est dissout dans HCl dilué puis complété au volume de 50 ml à l'eau bidistillée.

- 4- Les mesures sont faites par AAS.

- 5- Résultats obtenus : (n = 5 herbes)

Cu (µg/g) : (4,4 ± 0,5) - (19,6 ± 0,41), Zn (µg/g) : (12,5 ± 1,2) - (50 ± 0,57)

- Procédé de (Safae Berrah El Kheir et autres, 2008) [55] :

- 1- La matière végétale, rincée (eau distillée), séchée (60 °C, 48 h).

- 2- Un échantillon est prélevé est décomposé avec un mélange (HNO<sub>3</sub> + HCl).

- 3- Les mesures sont faites par ICP-MS.

- Procédé de (. Sardans, J. Peñuelas et M. Estiarte, 2007) [56] :

- 1- La matière végétale stockée (4 °C), lavée (eau distillée), séchée (60 °C, à poids constant) et moulue.

- 2- Un échantillon de 100 mg est décomposé avec 2 ml d'un mélange (HNO<sub>3</sub> 60% + HClO<sub>4</sub> 60%) (2 : 1) dans un four micro-onde.

- 3- La solution résultante est diluée à 10 ml.

4- Les mesures sont faites par ICP-MS.

- Méthode décrite par (C. Ray Campbell et C. Owen Plank) [22], **sans four micro-onde** :

1- Peser 0,5 à 1,0 g de matière végétale sèche (80 °C) qui a été moulue (0,5 à 1,0 mm) et complètement mélangée et mise dans un bécher de forme haute ou un tube de digestion.

2- Ajouter 5,0 ml de HNO<sub>3</sub> concentré et couvrir avec un verre de montre ou placer un entonnoir dessus et laisser durant la nuit ou jusqu'à ce que l'écumage s'abaisse.

3- Placer le bécher couvert sur la plaque chauffante ou le tube de digestion dans le bloc digesteur et chauffer à 120 °C pour 1 heure (si l'analyse élémentaire est effectuée par (ICP-AES), le temps de digestion peut être prolongée à 4 heures et les étapes 5 et 6 omises).

4- Enlever le bécher ou le tube de digestion et laisser refroidir.

5- Ajouter 1 à 2 ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 30% et chauffer à la même température. Répéter le chauffage et les additions de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 30% jusqu'à ce que la solution soit claire. Ajouter un additionnel volume de HNO<sub>3</sub> pour maintenir celui de la solution.

6- Une fois l'échantillon digéré est clair, enlever le verre de montre ou l'entonnoir et continuer à chauffer à basse température (80 °C) jusqu'à presque à sec. Le résidu devrait être clair ou blanc si la digestion est complète.

7- Ajouter HNO<sub>3</sub> dilué, HCl ou une combinaison des deux acides et de l'eau désionisée pour dissoudre le résidu et ajuster l'échantillon au volume final, selon l'exigence du procédé analytique suivi.

8- Si HC1O<sub>4</sub> est utilisé, compléter les étapes de 1 à 4. Ajouter 2 ml de HC1O<sub>4</sub> et retourner le bécher à la plaque chauffante ou le tube de digestion au bloc digesteur. Chauffer jusqu'à ce que des fumées blanches apparaissent. Si un bécher est utilisé pour la digestion, réduire la température de la plaque et continuer de chauffer jusqu'à ce que le résidu soit légèrement humide. Enlever le bécher de la plaque et laisser refroidir. Le résidu devra être blanc ou d'un jaune très clair. Si une couleur brune ou jaune foncée reste encore, ajouter 1 ml de HC1O<sub>4</sub> et faire retourner à la plaque chauffante. Quand le résidu est devenu blanc ou jaune très clair, terminer alors par l'étape 7.

- Commentaires sur la méthode :

1- Les facteurs critiques du procédé de digestion humide comportent le choix du récipient de digestion, le contrôle de la température et du temps, la combinaison des acides, et le volume final. Le choix d'un récipient de digestion dépend des analytes d'intérêt et de la source de chaleur. Des blocs de digestion ont été développés et utilisés avec succès. Ils réduisent le temps de digestion et permettent le contrôle très uniforme de la température. Le temps et la température sont inter-liés et dépendent du mélange des acides. Un certain nombre de mélanges a été recommandé dont ceux rapportés par Parkenson et Allen (1975), Zasoski et Buran (1977), Cresser et Parsons (1979), Loup (1982), Adler et Wilcox (1985), Huang et Schulte (1985), Zarcinas et autres (1987), Jones et Case (1990), et Jones et autres (1991). Le procédé avec la digestion humide exige généralement une plus grande surveillance et intervention de l'analyste qu'avec le procédé de l'incinération sèche.

2- L'acide nitrique est utilisé dans la plupart des procédés d'oxydation humides. L'addition de  $H_2SO_4$  est utilisée pour élever la température de digestion tandis que  $HClO_4$  ou  $H_2O_2$  30% sont utilisés pour augmenter la vitesse de la réaction et assurer une complète digestion.

3- La plupart des procédés de digestion humide peuvent être réalisés en utilisant des béchers couverts sur des plaques chauffantes mais les blocs de digestion ont dû être préférés car le contrôle de la température y est plus sûr.

4- L'incinération humide est recommandée pour les matières végétales qui ont une teneur élevée en silicium ou qui contiennent les éléments volatiles (As, Hg, ou Se) qui peuvent être perdus pendant le procédé sec.

5- Les techniques d'incinération humide peuvent donner des valeurs en Fe et en Al plus élevées, comparées à celles obtenues en utilisant la technique d'incinération sèche.

• Procédé de (Campbell and Whitfield, 1991) [22], **avec four micro-onde** :

1- transférer 0,5 à 1 g de matière végétale sèche (80 °C), moulue (1,0 mm) et complètement homogénéisée, dans un flacon erlenmeyer de 50 ml.

- 2- Ajouter 10 à 15 ml (10 ml pour un échantillon de 0,5 g) de  $\text{HNO}_3$  concentré à chaque échantillon et agiter le flacon doucement de sorte que toute la matière végétale soit en contact avec l'acide.
- 3- Placer dans un four à micro-onde particulièrement conçu (voir les commentaires) et laisser digérer pendant 30 minutes à la puissance de 30% (210 watts).
- 4- Affleurer les côtés des flacons erlenmeyer avec  $\text{H}_2\text{O}_2$  à 30%.
- 5- Digérer pendant 5 minutes à la puissance de 60% (390 watts).
- 6- Tandis que l'échantillon est encore chaud, compléter au volume avec l'eau désionisée et homogénéiser.
- 7- Filtrer le contenu (Whatman n°1), et transférer une partie aliquote de 10 ml dans un récipient approprié pour l'analyse.
- 8- Le contenu est prêt pour l'analyse avec ou sans dilution. Le procédé est conçu pour l'analyse élémentaire en ICP-AES.

- Commentaires sur le procédé :

Les procédures de digestion en micro-onde exigent l'utilisation de fours particulièrement conçus pour la manipulation d'acides fumant. Dans le meilleur des cas, l'échappement de la micro-onde traversera un épurateur avant d'être éliminé dans le dispositif d'échappement de fumée. Des précautions de sécurité spéciales sont exigées pour la digestion en micro-onde.